



T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ BİYOLOJİ ORTAK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**BİPOLAR BOZUKLUK TEDAVİSİNDE KULLANILAN LİTYUMUN
COMET ASSAY İLE GENOTOKSİSİTE AÇISINDAN *İN VİVO* VE *İN
VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ**

AYŞE NUR AKMEHMET

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ALİ İRFAN GÜZEL
PROF. DR. ERSAN KALAY (İKİNCİ DANIŞMAN)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



14/04/2020

Ayşe Nur AKMEHMET

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışma sürecimde benden yardımlarını esirgemeyen, sahip olduğu bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali İrfan GÜZEL'e;

Bilgilerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen çok değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Faruk SAYDAM'a;

Kayıtlı olduğum ortak yüksek lisans programında ikinci danışmanım olan Prof. Dr. Ersan KALAY'a ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalındaki hocalarıma;

Hayvan deneyleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Atilla TOPÇU'ya, lityumun klinik kullanım durumlarıyla ilgili danışmanlıklarından dolayı Doç. Dr. Bülent BAHÇECİ'ye, biyokimyasal testleri yapan Dr. Öğr. Üyesi Medeni ARPA'ya, Dr. Bayram BAŞ'a ve tüm laboratuvar çalışanlarına, histoloji çalışmalarını yapan Dr. Öğr. Üyesi Tolga MERCANTEPE'ye ve Arş. Gör. Tuğba ÇELİK SAMANCI'ya, istatistik çalışmalarında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Tahsin Gökhan TELATAR'a, sitogenetik değerlendirmeleri yaparak yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Deniz TAŞTEMİR'e ve Prof. Dr. Figen EYYÜPOĞLU CELEP'e;

Yüksek Lisans Tezimi TYL-2019-991 nolu proje ile destekleyen BAP Koordinatörlüğüne;

Yüksek lisans dönemim boyunca yanımda olan arkadaşlarım Fatımatüzzehra ŞİPŞAK ve Sümeyye DURUR'a;

Ve hayatım boyunca benden sevgisini ve desteklerini esirgemeyen ve her zaman arkamda olan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe Nur AKMEHMET

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
İÇ KAPAK	
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	xii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Bipolar Bozukluk	2
2.2. Lityum	3
2.3. DNA Hasarı	4
2.3.1. Endojen DNA Hasarı	4
2.3.1.1. Replikasyon Hataları	4
2.3.1.2. Tautomerik Kaymalar	4
2.3.1.3. Deaminasyon	5
2.3.1.4. Baz Kayıpları	5
2.3.1.5. Oksidatif Hasar	5
2.3.2. Eksojen DNA Hasarı	5
2.3.2.1. Baz Analogları	5
2.3.2.2. Alkilleyici Ajanlar	5
2.3.2.3. Çeşitli Kimyasallar	6
2.3.2.4. Fiziksel Ajanlar	6
2.4. Genotoksisite	6
2.4.1. Genotoksisite Testleri	6
2.4.1.1. Kardeş Kromatid Değişimi	6
2.4.1.2. Ames Testi	7

2.4.1.3. Mikronukleus Testi	8
2.4.1.4. Kromozomal Anomali Testi	8
2.4.1.5. Comet Assay	9
2.5. Lityumun Genotoksitesisi	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Kimyasallar	13
3.1.2. Alet ve Cihazlar	14
3.1.3. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı	15
3.1.4. İn Vitro Çalışmalar İçin Kan Örnekleri	15
3.1.5. Solüsyonların Hazırlanması	16
3.1.5.1. Lenfosit Kültürü Solüsyonları	16
3.1.5.2. Comet Assay Solüsyonları	16
3.2. Yöntem	18
3.2.1. Hayvan Deneyleri	18
3.2.1.1. Deney Düzenegi	18
3.2.1.2. Deney Sürecinde Sıçanlardan Kan Örneği Alınması	19
3.2.1.3. Uygulama Sonu Kan ve Doku Örnekleri Alımı	20
3.2.1.4. Biyokimyasal ve Histolojik Çalışmalar	21
3.2.2. İnsan Lenfosit Kültürü	23
3.2.2.1. Deney Düzenegi	23
3.2.2.2. Lenfosit Kültürü Protokolü	23
3.2.2.3. Boyama ve Bantlama	26
3.2.2.4. Sitogenetik Analiz	26
3.2.3. Comet Assay	26
3.2.4. İstatiksel Analiz	28
4. BULGULAR	29
4.1. Hayvan Deneyleri Sonuçları	29
4.1.1. Sıçanların Ağırlıkları	29
4.1.2. Su Tüketimleri ve Altlık Talaş Durumları	30
4.1.3. Biyokimyasal Sonuçlar	31
4.1.4. Histolojik Sonuçlar	34
4.1.5. Comet Assay Sonuçları	37

4.2. İnsan Lenfosit Kültürü Sonuçları	43
4.2.1. Comet Assay Sonuçları	43
4.2.2. Sitogenetik Sonuçlar	47
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	54
7. KAYNAKLAR	55
EKLER	61
Ek 1. Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Onayı	62
Ek 2. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı	63
ÖZGEÇMİŞ	65



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Böbrek HPS metodu	23
Tablo 2. Li ₂ CO ₃ dozları	24
Tablo 3. Sıçanların ağırlıkları	29
Tablo 4. Sıçanların ortalama ağırlık artışları	30
Tablo 5. Sıçanların su tüketimleri	30
Tablo 6. Sıçanların 22 günlük ortalama su tüketimleri (ml)	31
Tablo 7. Sıçanların biyokimyasal değerleri	32
Tablo 8. Sıçanların ortalama serum lityum seviyeleri	33
Tablo 9. Sıçanların ortalama idrar lityum seviyeleri	33
Tablo 10. Sıçanların ortalama CreaC seviyeleri	33
Tablo 11. Sıçanları ortalama BUN değerleri	34
Tablo 12. HPS'ye ait veriler	34
Tablo 13. Kantitatif analiz sonucuna ait veriler	37
Tablo 14. Uygulama öncesi gruplara ait Comet Assay sonuçları	39
Tablo 15. 15. gün Comet Assay sonuçları	41
Tablo 16. 30. gün Comet Assay sonuçları	43
Tablo 17. Kültür öncesi Comet Assay sonuçları	45
Tablo 18. Lenfosit kültürü sonrası Comet Assay sonuçları	47
Tablo 19. Tespit edilen kromozomal anomaliler	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa

Şekil 1. Ames testi uygulaması

7



RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Sayfa
Resim 1. Floresan işaretli SCE'lerin tespiti, propidyum iyodür ile boyama	7
Resim 2. Mikronükleus testinde mikronükleusların görüntüsü	8
Resim 3. Kromozomal anomali örnekleri	9
Resim 4. Comet analizi	11
Resim 5. Comet Assay, 0: DNA kırığı yok; 1-4: DNA kırıkları	12
Resim 6. Sıçan grupları	15
Resim 7. Deney grupları ve oral uygulama	18
Resim 8. İnsizyon ile kan alımı	20
Resim 9. 30. gün örnek alımı	21
Resim 10. Grup 3 ve Kontrol grubunun talaşları	31
Resim 11. Böbrek dokusuna ait ışık mikroskop görüntüsü, H&E boyaması	35
Resim 12. Böbrek dokusuna ait ışık mikroskop görüntüsü, Masson-Goldner boyaması	36
Resim 13. Uygulama öncesi gruplara ait comet görüntüleri	38
Resim 14. Uygulama öncesi Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü	38
Resim 15. 15. gün comet görüntüleri	40
Resim 16. 15. gün Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü	40
Resim 17. 30. gün comet görüntüleri	42
Resim 18. 30. gün Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü	42
Resim 19. Kültür öncesi kan hücrelerinin comet görüntüleri	44
Resim 20. Kültür öncesi Pozitif Kontrol grubunun comet görüntüsü	45
Resim 21. Lenfosit kültürü sonrası comet görüntüleri	46
Resim 22. Lenfosit kültürü sonrası Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü	46
Resim 23. Kromozomal anomali örnek alanları	48

KISALTMA, SİMGE VE FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ace	Asentrik Kromozom
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
AP	Apürinik- Apirimidinik Bölge
BUN	Kan Üre Azotu
chb	Kromozom Kırığı
chtb	Tek Kromatid Kırığı
CHO	Chinese Hamster Ovary
CreaC	Kreatinin
EKT	Elektrokonvulsif Terapi
FDA	Food and Drug Administration
fra	Frajil Bölge
H&E	Hematoksilen- Eozin
HPS	Histopatolojik Skorlama
inv	İnversiyon
LD₅₀	Letal Dozun Yarıısı
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
RTEÜ DHUAM	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
SCE	Sister Chromatid Exchanges
SCGE	Single Cell Gel Electrophoresis
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
SRB	Sülforamidin B
TAS	Total Antioksidan Seviyesi
TOS	Total Oksidan Seviyesi
UV	Ultraviyole

Simgeler

°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
g	Gravite

g/mol	Gram/ Mol
L	Litre
M	Molar
mA	Miliamper
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
µm²	Mikrometre Kare
µg/ml	Mikrogram/ Mililitre
mEq/L	Miliekivalent/ Litre
mg	Miligram
mg/dl	Miligram/ Desilitre
mg/kg	Miligram/ Kilogram
mg/ml	Miligram/ Mililitre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mmol/kg	Milimol/ Kilogram
mmol/L	Milimol/ Litre
N	Normal
nm	Nanometr
pH	Power of Hydrogen
V	Volt

Formüller

8-ISO	8-iso- prostaglandin F2 alfa
AMPH	D-Amfetamin
BrdU	Bromodeoksiüridin
C₂H₃LiO₂	Lityum Asetat
DAG	Diçilgliserol
DAPI	4,6-diamidino-2-fenilindol
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtBr	Etidyum Bromür
GABA	Gama Aminobütirik Asit
GSH	Glutatyon

HCl	Hidroklorik Asit
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
IL-1β	İnterlökin Bir Beta
IL-6	İnterlökin Altı
KCl	Potasyum Klorür
Li₂CO₃	Lityum Karbonat
LiCl	Lityum Klorür
LiOCl	Lityum Hipoklorit
MARCKS	Miristollenmiş Alenin Açısından Zengin C Kinaz Substratı
MTT	3-(4,5-dimetil tiazol-2-yl)-2,5-difenil Tetrazolyum Bromid
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
PBS	Fosfat Tamponu
SOD	Süperoksit Dismutaz
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
YOYO-1	Benzoksazolyum-4-kinolinum Oksazol Sarı Homodimer

ÖZET

Bipolar Bozukluk Tedavisinde Kullanılan Lityumun Comet Assay ile Genotoksisite Açısından *İn Vivo* ve *İn Vitro* Değerlendirilmesi

Bipolar bozukluk toplumda %3 sıklıkta görülen psikolojik bir hastalıktır. Bipolar bozukluğun tedavisinde en çok lityum kullanılmaktadır. Tedavide vazgeçilmez şekilde kullanılan lityumun herhangi bir toksik etki göstermemesi oldukça önemlidir. Lityumun toksik etkisini araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda yüksek dozlarda lityumun biyokimyasal yan etkilere, kromozomlarda bozukluklara ve teratojenik etkiye neden olduğu ve DNA sentezini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında lityumun genotoksik etkiye (DNA kırıklarına) neden olup olmadığının Comet Assay yöntemi ile *in vivo* ve *in vitro* koşullarda araştırılması amaçlandı. *İn vivo* çalışmalar için 32 tane sıçan kullanıldı, *in vitro* çalışmalar için gönüllü 6 bireyden kan alındı. Oluşturulan deney gruplarındaki sıçanlardan alınan kanlarla ve insan lenfosit kültür hücreleriyle Comet Assay yapıldı. Bunun yanı sıra sıçanlardan alınan örneklerden biyokimyasal ve histolojik incelemeler, lenfosit kültürlerinden alınan hücrelerden ise sitogenetik çalışmalar yapıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 25.0 programı kullanılarak yapıldı. Analiz sonuçları sıçanlarda normal dozda lityumun ne genotoksik bir hasara ne de biyokimyasal ve histolojik yan etkilere neden olduğunu gösterdi. Lityumun toksik dozlarının biyokimyasal ve histolojik olarak bir takım yan etkilere neden olduğu ancak DNA kırığı oluşturmadığı görüldü. Benzer şekilde, kültür hücrelerinde de normal ve toksik dozlarda DNA kırıklarına rastlanmadı ancak toksik dozlarda sitogenetik anomaliler görüldü. Sonuç olarak, lityumun toksik dozlarının Comet Assay ile tespit edilebilen düzeyde DNA kırıklarına neden olmadığı ancak sitogenetik anomalilere, biyokimyasal ve histolojik yan etkilere neden olduğu bulundu.

Anahtar Kelimeler: Bipolar Bozukluk, Comet Assay, DNA Kırığı, Genotoksisite, Lityum

ABSTRACT

***In Vivo and in Vitro* Genotoxic Evaluation of Lithium Used in the Treatment of Bipolar Disorder by the Comet Assay**

Bipolar disorder is a psychological disease that is seen in 3% of the population. Lithium is most commonly used for the treatment of bipolar disorder. It is quite important that lithium, which is indispensable in the treatment, should cause any toxic effects. Some studies have been done to find out lithium's toxic effect. It is determined that a high level of lithium caused biochemical side effects, chromosomal disorder, teratogenic effect and inhibits DNA synthesis. In this thesis study, it is investigated whether lithium causes genotoxic effect (DNA breaks) and it is analysed using Comet Assay method *in vivo* and *in vitro*. 32 rats were used for *in vivo* studies, blood was collected from 6 volunteers for *in vitro* studies. Comet Assay was performed in blood samples collected from rats in the experimental groups and human lymphocyte culture cells. And also, biochemical and histological experiments were carried out on the samples taken from rats, and cytogenetic experiments were performed on cells taken from cultured lymphocyte cells. Statistical analysis of the data obtained was performed using SPSS 25.0 program. The analysis showed that normal dose of lithium causes neither genotoxic damage nor biochemical and histological side effects in rats. It has been observed that toxic doses of lithium cause some side effects biochemically and histologically, but do not create DNA breaks. Similarly, DNA breaks were not seen in normal and high doses of lithium in the cultured cells but cytogenetic abnormalities were seen in toxic doses of lithium. As a result, it was found that toxic doses of lithium does not cause DNA breaks at a level detectable with Comet Assay, but may lead to cytogenetic anomalies and biochemical and histological side effects.

Keywords: Bipolar Disorder, Comet Assay, DNA Break, Genotoxicity, Lithium

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bipolar bozukluk intihar riski yüksek olan, kronik seyir gösteren psikolojik bir hastalıktır. Toplumda görülme sıklığı %3 olan bipolar bozukluk, mani ve depresyon atakları ile karakterizedir. Çeşitli endojen ve ekzojen sebeplerden kaynaklanan hastalık bireyin hem kendini hem de çevresini olumsuz etkilemektedir (Yeloğlu, 2017).

Bipolar bozukluğun tedavisinde çeşitli terapi yöntemleri ve antimanik ve antidepresan ilaçlar kullanılır. Bu tedavilerin arasında en yaygın olanı lityumdur. Lityum hem antimanik hem de antidepresan etkili, FDA (Food and Drug Administration) onaylı bir ilaçtır. Lityumun yaygın olarak kullanımının sebebi intihar riskini en aza indirmesidir. Bipolar bozukluk tedavisinde kullanılan lityum yüksek dozlarda kullanılması durumunda toksik etki gösterir (Eroğlu ve Özpoyraz, 2010; Şengül vd., 2004).

Genetik bilgiyi taşıyarak nesilden nesile aktaran DNA (deoksiribonükleik asit), kolay zarar görebilen bir moleküldür ve üzerinde sürekli olarak hasar oluşmaktadır. Oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından onarılmaktadır. Fakat hasarın çok olduğu veya onarım sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda DNA'da hücre ölümüne kadar giden etkiler görülebilir (Fidan, 2005).

DNA zincirinde meydana gelen kırıkları, nükleotit ve kromozom mutasyonlarını kapsayan genel terime genetik toksisite (genotoksisite) denmektedir. DNA hasarını ölçmek için çeşitli genotoksisite testleri geliştirilmiştir. Bu genotoksisite testleri, birçok ajanın genotoksik ve karsinojenik potansiyellerinin tespitinde, bazı hastalıklar sonucu oluşan DNA hasarının tespitinde, genetik hasarın hastalıklarla olan ilişkisinin incelenmesinde, kansere duyarlılık tespiti ve takibinin yapılmasında kullanılmaktadır (Karahana, 2014).

Yapılan bu tez çalışmasında, bipolar bozukluk tedavisinde kullanılan lityum karbonatın (Li_2CO_3) *in vivo* ve *in vitro* olarak normal ve toksik dozlarda genotoksik etkisinin olup olmadığı duyarlı bir yöntem olan Comet Assay ile değerlendirilerek ilacın klinikte kullanım güvenliği konusunda literatüre katkı sağlaması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bipolar Bozukluk

Dünya sağlık örgütü tarafından engelliliğin ilk 10 nedeni arasında kabul edilen bipolar bozukluk taşkınlık (mani) ve çökkünlük (depresyon) durumlarıyla baş gösteren, kişiyi intihara kadar sürükleyen, ciddi ve sürekli tedavi gerektiren bir ruhsal denge bozukluğudur (Grande vd., 2016; Andrezza vd., 2018; Kizilkurt vd., 2018). Manik dönemde benlik saygısında artma, konuşkanlık, uyku ihtiyacının azalması, düşünce yarışması, artan aktivite seviyesi gibi özellikler gözlenirken; depresif dönemde iştahsızlık, uykusuzluk, enerji azalması, konsantrasyon zorluğu, suçluluk, özgüvensiz hissetme ve intihar eğilimi gibi özellikler gözlenir. Bipolar bozukluk, genetik ve biyokimyasal etkenlerden, nöroendokrin sistem bozukluklarından, beyin morfolojisindeki değişikliklerden ve yaşam alışkanlıkları, alkol, bilinçsiz ilaç kullanımı, psikososyal nedenler gibi çeşitli çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır (Yeloğlu, 2017). Bipolar bozukluk, bipolar bozukluk I, bipolar bozukluk II ve eşik altı (subthreshold) bipolar bozukluk olarak gruplandırılır. Bipolar bozukluk II, vaka oranının, birden fazla psikiyatrik hastalığın aynı anda görülmesinin ve intihar davranışlarının fazla olması bakımından bipolar bozukluk I'den ayrılır. Eşik altı bipolar bozukluk ise bipolar bozukluk tanımını tam olarak karşılamayan yani hastalığın bütün özelliklerini göstermeyen bipolar bozukluk çeşididir. Bipolar bozukluğun yaşam boyu prevalansı bipolar bozukluk I için %0.6, bipolar bozukluk II için %0.4 ve eşik altı bipolar bozukluk için %1.4 olup her iki cinste de eşit sıklıkta görülmektedir. Çocukluktan itibaren her yaşta başlayacağı gibi nadiren de olsa yaşlılıkta da başlayabilmektedir. Bipolar bozukluk I ve eşik altı bipolar bozukluk için başlama yaşı yaklaşık 25 iken bipolar bozukluk II için başlama yaşı daha geçtir. Daha çok genç yetişkinlerde ortaya çıktığı için ekonomik açıdan popülasyonu etkilemektedir (Grande, 2016; Merikangas vd., 2011; Ertan, 2008).

Bipolar bozukluğun tedavisinde akut dönem tedavisi ve koruyucu tedavi uygulanmaktadır. Akut dönem tedavisi depresyon, saldırı ve öfke durumlarını önlemek için uygulanırken; koruyucu tedavi depresme ve yinelemeleri önlemek için uygulanır. Hem akut dönem tedavisinde hem de koruyucu tedavide antimanik etkisi olan ilaçlar (lityum, valproik asit, karbamazepin, lamotrijin gibi) ve antidepresan ilaçlar (trisiklik antidepresan, bupropion gibi) kullanılmaktadır. İlaçlardan yararlanamayan hastalarda ve hamilelik gibi ilaç kullanılmayan durumlarda elektrokonvülsif terapi (EKT) uygulanmaktadır. Bunlara

ek olarak tiroid hormonu, psikostimülanlar, fototerapi ve uyku manipülasyonu da tercih edilen terapi yöntemlerindedir (Yeloğlu, 2017; Eroğlu ve Özpoyraz, 2010; Vahip, 1999; National Institute of Mental Health, 2019).

2.2. Lityum

1800'lü yıllarda keşfedilen ve 1950'lerde psikiyatride kullanılmaya başlayan lityum, yüksek çözünürlüklü ve yarılanma ömrü 18-24 saat olan alkali bir metaldir. Lityum hem antimanik hem de antidepresan etkiye sahip olup tedavide daha çok Li_2CO_3 şeklinde kullanılır. Lityum tama yakın oranda gastrointestinal sistem tarafından emilir, glomerula tarafından süzülür ve sonra proksimal tübülde geri emilir. Serum proteinlerine bağlanmadan vücuda heterojen olarak dağılır. Lityumun yaklaşık %90'ından fazlası ilk 12 saatte hızlı, devamında yavaş olmak üzere toplam 48 saatte atılır ancak bir iki hafta sonra dahi idrarda izine rastlanabilir (Eroğlu ve Özpoyraz, 2010; Oktem vd., 2005). Lityum kullanan bireylerde serum lityum konsantrasyonu 0.6-1.2 mEq/L aralığında olmalıdır, 1.5 mEq/L olduğunda toksik belirtiler görülmeye başlar (Özdin ve Sarısoy, 2013). Terapötik etkinin daha iyi olabilmesi için ise serum lityum konsantrasyonu yan etki oluşturmayacak şekilde yüksek tutulmalıdır (Sproule, 2002).

Lityum, bipolar bozukluk tedavisinde en çok kullanılan ilaç olmasına rağmen lityumun etki mekanizması hala tam anlamıyla bilinmemektedir. Lityum klinik semptomlardaki ve beyin yapısındaki değişiklikleri ile beraber hücresel ve hücre içi seviyede değişikliklere neden olur. Örneğin; lityum, nörotransmisyonu ayarlamak için hem pre hem de post sinaptik olarak hareket eder ve dopaminin, glutamatın ve gama aminobütirik asitin (GABA) düzenlenmesinde rol oynar. Bipolar bozuklukta lityum, glutamat ve dopamin yoluyla artan nörotransmisyonu azaltarak ve GABA ile de inhibe olan nörotransmisyonu artırarak işlev görür. Aynı zamanda lityum, inositol, diaçilgliserol (DAG), protein kinaz C, hücre içi kalsiyum ve miristollenmiş alenin açısından zengin C kinaz substratı (MARCKS) gibi nöronlarda çalışan ikinci habercileri etkileyerek işlev görür (Şengül vd., 2004; Malhi vd., 2013).

Lityum, karbonhidrat metabolizmasını etkileyerek kilo değişimlerine neden olabilir, diyabet insipidus oluşturabilir, tiroid hormonunun salgılanmasını azaltabilir (hipotiroidi) veya nadiren de olsa artırabilir (hipertiroidi), hiperparatiroidiye, hiperkalsemiye ve kalp fonksiyonlarında değişiklikler görülmesine neden olabilir. Aynı zamanda lityum kullanan

hastalarda lenfosit ve trombosit sayısında artış görülür (Zencir vd., 2018; Bille vd., 1975; Eker ve Eker, 2010).

2.3. DNA Hasarı

DNA çeşitli endojen ve ekzojen faktörlerden sürekli olarak etkilendiğinden DNA'da çeşitli hasarlar oluşur. Hücrelerde DNA hasarının çok fazla olduğu, hücre başına günde yaklaşık 10^4 'ten fazla hasar meydana geldiği tahmin edilmektedir. Bu hasarlar DNA tamir mekanizmaları tarafından tamir edilir, tamir edilemeyen durumlarda ise hücre apoptozise yönlendirilir. Tamir mekanizmaları tarafından tamir edilemeyen ve apoptozise yönlendirilmeyen hücrelerde çeşitli mutasyonlar oluşur (Dinçer ve Akçay, 2000; Best, 2009; Friedberg vd., 2004).

DNA'da kendiliğinden hasar oluşmasına neden olan endojen faktörler yanlış eşleşme, tautomerik kaymalar, deaminasyon, baz kayıpları (depürinasyon, depirimidinasyon) ve oksidatif hasardır. DNA hasarına neden olan ekzojen faktörler ise çeşitli çevresel faktörler olup baz analogları, alkilleyici ajanlar, çeşitli kimyasallar ve iyonize radyasyon ve ultraviyole (UV) gibi fiziksel ajanları kapsar (Dinçer ve Akçay, 2000; Onur vd., 2009).

2.3.1. Endojen DNA Hasarları

2.3.1.1. Replikasyon Hataları

Replikasyon sırasında meydana gelen, DNA polimerazların yanlış nükleotid eklemesidir. Bu hata 3'-5' ekzonükleazlar tarafından tamir edilebilmesine rağmen düzeltilemeyen hatalar bir sonraki replikasyonda yanlış nükleotid kopyalanmasına neden olur (Bütüner ve Kantarcı, 2006, Klug vd., 2011).

2.3.1.2. Tautomerik Kaymalar

Herhangi bir nükleotidin yapısının molekülde sadece bir proton kaymasıyla izomerine dönüşmesi sonucu oluşur. Normalde timin ve guanin keto formunda, adenin ve sitozin ise amino formunda bulunur. Nadiren de olsa guanin ve timin enol formuna, adenin ve sitozin imino formuna dönüşür ve keto-enol, amino-imino eşleşmesi gibi uygun olmayan bazlar birbirleri ile eşleşmiş olur. Örneğin enol formundaki timin keto formundaki guanin ile eşleşir (Dinçer ve Akçay, 2000; Bütüner ve Kantarcı, 2006, Klug vd., 2011).

2.3.1.3. Deaminasyon

Nükleik asitlerin hidroliz sonucu amino grubunu kaybetmesiyle sitozin urasile, adenin hipoksantine, guanin ksantine ve 5-metil sitozin de timine dönüşür. Bunun sonucunda bazların eşleşme özelliği değişir ve yanlış eşleşmeler meydana gelir (Dinçer ve Akçay, 2000; Kow, 2002, Klug vd., 2011).

2.3.1.4. Baz Kayıpları

DNA'daki baz ve deoksiriboz arasındaki glikozidik bağın, ısınma, alkilasyon veya N-glikozilazların etkisi ile hidroliz olması sonucu baz kayıpları olur. Pürin bazlarının kaybına depürinasyon, pirimidin bazlarının kaybına depirimidinasyon denir. DNA'da glikozidik bağın hidrolizi ile apürinik ya da apirimidinik (AP) bölgeler oluşur. Eğer bu AP bölgeleri tamir edilmezse, replikasyon sırasında o bölgede kalıp rolü oynayacak bir baz bulunmayacaktır ve DNA polimerazlar buraya rastgele bir baz yerleştireceklerdir (De Bont ve Larebeke, 2004, Klug vd., 2011).

2.3.1.5. Oksidatif Hasar

Normal hücrel reaksiyonların yan ürünleri olan serbest oksijen radikalleri (SOR), DNA'da şekere veya baza saldırabilirler. Çeşitli endojen ve ekzojen faktörlerle oluşan SOR'lar bazlarda hasara, baz kayıplarına ve çift ya da tek iplik kırıklarına neden olur (Imlay ve Linn, 1988, Klug vd., 2011).

2.3.2. Ekzojen DNA Hasarları

2.3.2.1. Baz Analogları

Mutajenik kimyasallar olan baz analogları, DNA bazlarına benzeyen ve replikasyon sırasında yeni zincirde onların yerine geçen pürin ve pirimidinlerdir. Örneğin; 5-bromodeoksiüridin bir timin analogudur ve yeni zincirde timin yerine geçerek yanlış eşleşmelere neden olur (Passarge, 2007, Klug vd., 2011).

2.3.2.2. Alkilleyici Ajanlar

Çeşitli çevresel mutajen ve karsinojenlerin en geniş grubu alkilleyici ajanlar olup DNA ile etkileşime geçerek DNA'nın alkillenmesine neden olurlar. Alkilasyon, bir moleküle metil veya etil grubunun eklenmesidir. Örneğin guaninin alkilasyonunda; alkilleyici ajan, guaninin altı konumundaki keton grubu ile reaksiyona girerek 6-metilguanin oluşturur. Bu şekilde 6-metilguanin üç hidrojen bağından birini oluşturamaz

ve bu nedenle sitozin ile eşleşemez, bunun yerine timin ile eşleşir. Böylece, bir sonraki replikasyondan sonra bu molekül guanin-sitozin yerine anormal bir guanin-timin çifti içerir (Passarge, 2007, Klug vd., 2011).

2.3.2.3. Çeşitli Kimyasallar

Kemoterapi ilaçları, mustard gazları, aflatoksin, interkalasyon ajanları ve sigara gibi mutajenik maddeler; DNA baz çiftleri arasına girerek, serbest radikaller üreterek, bazların yapısını değiştirirerek çapraz bağlanmalar, dimer oluşumları ve çift ya da tek iplik kırıkları gibi DNA hasarlarına neden olurlar (Ahluwalia, 2009, Klug vd., 2011).

2.3.2.4. Fiziksel Ajanlar

İyonize radyasyon ve UV gibi ajanlar DNA ile etkileşerek dimerler oluştururlar ve fosfodiester bağlarını kırarlar (Dinçer ve Akçay, 2000; Onur vd., 2009, Klug vd., 2011).

2.4. Genotoksisite

Genotoksisite; her türden DNA hasarı ve kromozom anormalliklerini tanımlayan genel bir terimdir. Genotoksisite belirlenmesinde *in vivo* ve *in vitro* olmak üzere çeşitli testler yapılır. Bu testlere genotoksisite testleri denir ve bunlar; kimyasal maddelerin verdiği zararları, etki mekanizmalarını, ilaçların genetik etkilerini ve UV, radyasyon ve sigara gibi zararlıların etkilerini incelemeye kullanılırlar (Yüzbaşıoğlu vd., 2014, Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).

2.4.1. Genotoksisite Testleri

2.4.1.1. Kardeş Kromatid Değişimi

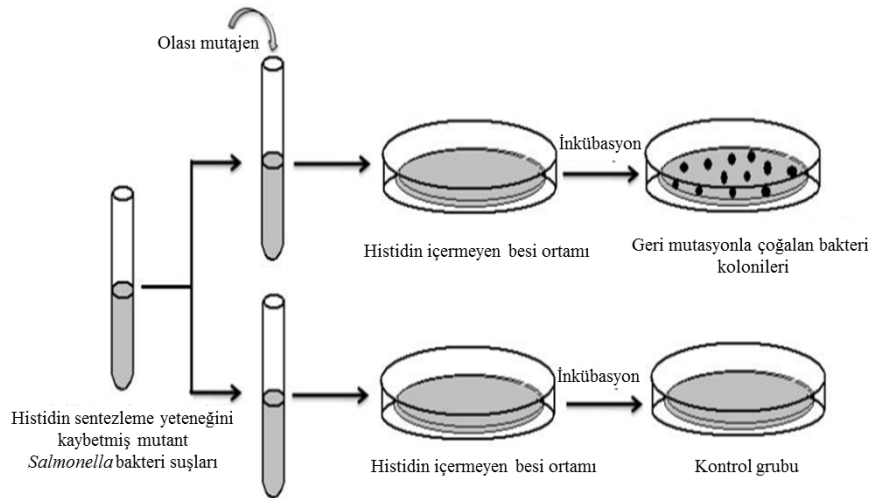
İlk olarak 1950'lerde Taylor tarafından trityum ve otoradyografi kullanılarak görselleştirilen kardeş kromatid değişimi [SCE (Sister Chromatid Exchanges)], kardeş kromatidlerin kırılıp birbiriyle yeniden birleştiği bir işlemdir. SCE çeşitli mutajenik ve karsinojenik maddelerin etkilerini, özellikle de kromozomlardaki yapısal bozuklukları araştıran bir testtir. SCE testinde DNA kırıklarını görebilmek için bir timidin baz analogu olan bromodeoksiüridin (BrdU) kullanılır. BrdU, replikasyon sırasında DNA ipliklerine dahil edilir ve Resim 1'de görüldüğü gibi floresan boyama ile görüntülenir. Bu şekilde tamir edilen DNA kırıkları (normal koşullarda kardeş kromatitler arasında olmaması beklenen bu parça değişimleri) görüntülenmiş olur (Yüzbaşıoğlu vd., 2014, Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Wilson III ve Thompson, 2007; Latt ve Schreck, 1980).



Resim 1. Floresan işaretli SCE'lerin tespiti, propidyum iyodür ile boyama (Pinkel vd., 1985)

2.4.1.2. Ames Testi

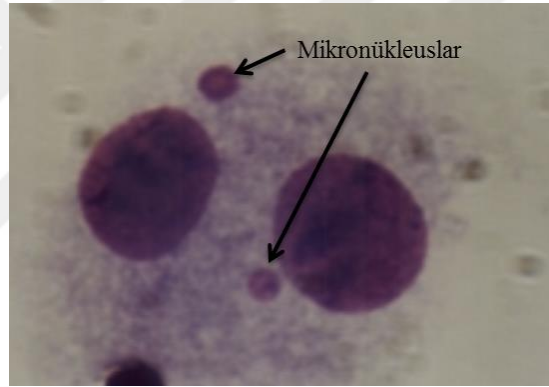
Ames testi (*Salmonella typhimurium* testi/ mikrozom testi); gen mutasyonlarına yol açan maddeleri tanımlamak için kullanılan kısa süreli, kolay ve ucuz bir testtir. Testte *Salmonella typhimurium* bakterisinin histidin veya *Escherichia coli* bakterisinin triptofan geni mutant olan suşları kullanılır. Mutant *Salmonella* suşu histidin olmayan ortamda üreyemezken, tekrar mutasyona uğrayan bu suş histidin olmayan ortamda üremeye başlar yani mutasyon bakterinin esansiyel amino asiti üretme kabiliyetini geri kazandırır. Histidin olmayan ortamda üreyemeyen mutant suşa, test edilecek madde ile muamele edildiğinde tekrar bir mutasyon geçirip histidinsiz ortamda üreme yeteneğine bakılarak toksisite belirlenir (Şekil 1) (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Doak vd., 2012; Mortelmans ve Zeiger, 2000).



Şekil 1. Ames testi uygulaması (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011)

2.4.1.3. Mikronükleus Testi

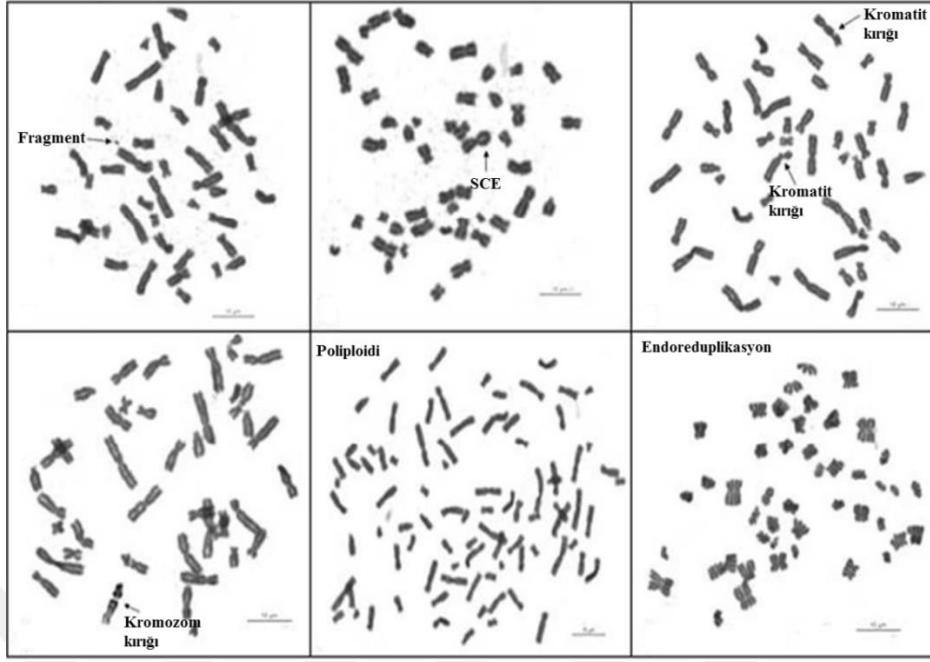
1950'lerde kullanılmaya başlanan mikronükleus testi, kemik iliği veya periferik kandaki eritroblastların incelenmesi tekniğine dayanan bir genotoksisite testidir. Mikronükleuslar; hücre bölünmesi sırasında oluşan, hücre çekirdeği ile bağlantısı olmayan, zarla çevrili sitoplazmadaki kromatin içeren yapılardır (Resim 2). Mikronükleuslar çeşitli DNA boyaları kullanılarak tespit edilir ve mikronükleusların sıklığından anöjenik ve klastojenik ajanların hücrelerde neden olduğu bozukluklar değerlendirilir. Anöjenik ajanlar, anöploidiyi uyaran ajanlardır ve sentromer bölünmelerinde ve iğ iplikçiklerinde hatalara neden olurlar; klastojenik ajanlar ise kromozom bozukluklarına neden olurlar. Kromozom incelemesi gerekmediği için uygulama kolaylığı sağlamaktadır (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Doak vd., 2012; Demirel ve Zamani, 2002; Stopper ve Müller, 1997).



Resim 2. Mikronükleus testinde mikronükleusların görüntüsü (Demirel ve Zamani, 2002)

2.4.1.4. Kromozomal Anomali Testi

Kromozomal anomaliler, çeşitli mutajenlerin neden olduğu, kromozomlardaki yapısal veya sayısal bozukluklardır. Kromozomal anomali testi bu bozuklukları incelemek için kullanılan bir yöntemdir. *İn vivo* ve *in vitro* olarak uygulanabilen bu testte *in vivo* için kemik iliği hücreleri, *in vitro* için ise genellikle periferik kan lenfositleri kullanılır. *İn vitro* kromozomal anomali testi için hücre kültürü ortamına alınan periferik kan lenfositleri mitozu teşvik edici maddenin (fitohemaglutinin) bulunduğu besiyeri içinde 72 saat inkübe edilir. Hücreler toplanmadan iki saat önce ortama hücreleri metafaz evresinde durduracak madde (kolşisin/kolsemid gibi) eklenir ve daha sonra toplanan hücrelerin kromozomları boyanarak mikroskop altında incelenir (Resim 3) (Yüzbaşıoğlu vd., 2014; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).



Resim 3. Kromozomal anomali örnekleri (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011)

2.4.1.5. Comet Assay

Comet Assay ya da tek hücre jel elektroforezi [Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE)] sade, duyarlı, çok yönlü, hızlı ve ekonomik bir test olup DNA kırıklarının ölçer. Yöntem, negatif yüke sahip DNA'daki kırıkların elektrik alanda hareket ettirilmesi prensibine dayanır. Periferik lenfositler veya kültür hücreleri bir mikroskop lamında agaroz içine gömülür, deterjan ve yüksek tuz ile denatüre edilerek DNA'nın süper sarmal yapısı açılır ve sonrasında elektroforeze tabi tutularak kırık DNA'ların anoda doğru göç etmesi sağlanır. Anoda göç eden DNA'lar kuyruklu yıldız (comet) şeklinde görüldüğünden yönteme de bu ad verilir (Collins vd., 1997; Collins, 2004).

Spesifik hücrelerde DNA hasarı ilk olarak Rydberg ve Johanson (1975) tarafından belirlenmiştir. Mikroskop lamında agaroz jel içine gömülmüş hücreler hafif alkali ortamda bekletilerek membranları parçalanır ve DNA sarmalının kısmi açılması sağlanır. Daha sonra nötrale edilen hücreler akridin turuncusu ile işaretlenir ve DNA hasarı, yeşil ve kırmızı floresan oranını ölçerek belirlenir. Yeşil floresan çift iplikli DNA'yı, kırmızı floresan ise tek iplikli DNA'yı gösterir. Daha sonra Ostling ve Johanson (1984), DNA hasar tespitinin hassasiyetini arttırmak için mikro jel elektroforez tekniğini geliştirdiler. Bu teknikle mikroskop lamlarının üzerine agaroz jel içinde hücreler gömülür, yoğun tuz ve deterjan içeren lizis çözeltisinde bekletilerek membranlar parçalanır. Nötr pH ortamında

kısa bir süre elektroforez uygulanır. Kırık DNA, anoda doğru hızlı bir şekilde göç eder. Daha sonra da preparatlar etidyum bromür (EtBr) ile boyanarak DNA göç miktarı belirlenir. Ancak nötral koşullarda proteinler DNA'dan çok fazla uzaklaştırılmadığı için elektroforez işleminde tek sarmal kırıkları tespit edilemez. Bu sorunu ortadan kaldırmak için Singh ve ark. (1988) elektroforezi alkali ortamda (pH>13) gerçekleştirdiler. Bu şekilde günümüzde de uygulanan hem tek iplik kırıklarının hem de çift iplik kırıklarının incelendiği Comet Assay yöntemi ortaya çıkmış oldu (Dinçer ve Kankaya, 2010; Toğay, 2015).

Comet Assay ile hem *in vivo* hem de *in vitro* genotoksisite çalışmaları yapmak mümkündür. Bu yöntemle genotoksik ve mutajenik ajanların etkisi, az miktarda hücre kullanılarak incelenmiş olur. Comet Assay yöntemi basit ve hızlı olduğundan dolayı klinikte birçok hastalığın tanısında ve tedavi sürecinin takibinde, sperm kalitesinin incelenmesinde, bazı ajanların etkilerinin incelenmesinde kullanılır. Bunun yanında beslenme, yaşlanma, egzersiz gibi biyolojik sistemlerin incelenmesi, mesleki mağduriyetin incelenmesi, çevrenin canlı sistemleri üzerinde etkisinin incelenmesi gibi pek çok alanda da Comet Assay yöntemi kullanılır (Collins vd., 1997; Collins, 2004; Dinçer ve Kankaya, 2010).

Comet Assay'in temel aşamaları:

Slaytların hazırlanması: Agaroz jellerin lama tutulması için lamalar en az bir gece önceden %1-1.5'lük agaroz jel ile tamamen kaplanır. Daha sonra sandviç sistemi gibi normal erime noktalı agarozun, hücreleri içeren düşük erime noktalı agarozun, en üstte tekrar normal erime noktalı agarozun olduğu katmanlar oluşturulur. Agarozların konsantrasyonları DNA'nın göçünü etkileyeceği için %0.5-1 arasında olmalıdır (yüksek konsantrasyonlar sınırlı DNA göçüne neden olur). Düşük erime noktalı agarozun içine gömülen hücrelerin göç ederken üst üste düşmemesi için hücre yoğunluğunun fazla olmaması gerekir (Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010).

Lizis: Slaytlar yüksek tuz ve deterjan içeren çözeltide en az bir saat bekletilerek membranlar parçalanır ve DNA serbest kalır. Lizis çözeltisi, jellerin stabilitesini bozmamak için soğuk kullanılmalıdır. Lizis işleminin ardından hücre kalıntılarını, tuz ve deterjanı uzaklaştırmak için slaytlar bidistile su ile yıkanır (Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010).

DNA gevşemesi: Proteinlerin DNA'dan uzaklaşması (kromatin yapının açılması) ve tek sarmal kırıklarının açığa çıkması için slaytlar alkali (pH>13) elektroforez tamponu

içinde bekletilir. Jellerin stabilitesini korumak için soğuk elektroforez tamponu kullanılmalıdır (Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010).

Elektroforez: Alkali DNA gevşemesinin gerçekleşmesinden sonra negatif yüklü DNA'daki kırıklar elektrik alan uygulanarak anoda doğru göç ettirilirlir. Kırık olmayan DNA'lar çekirdekten çıkamaz ve elektroforez sonrasında bir baş ve kırık DNA'ların oluşturduğu kuyruk şekilli yapı yani comet oluşur (Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010).

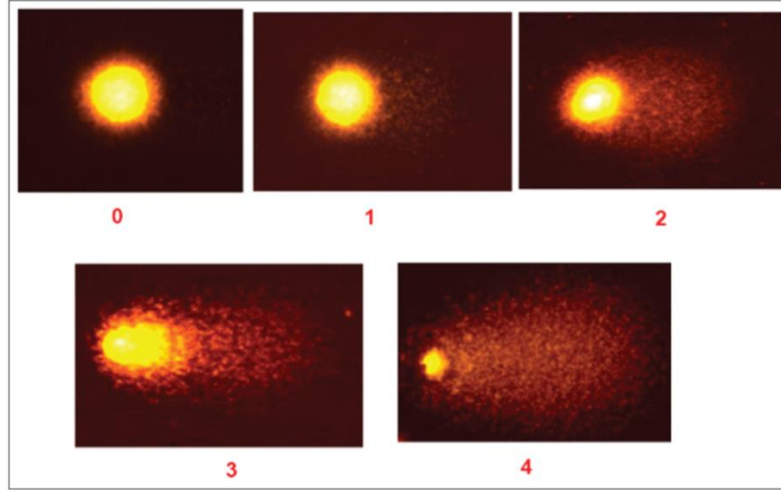
Nötralizasyon: Alkali ortamda elektroforezden sonra slaytlar uygun bir tampon (ph 7.5) ile yıkanarak jeller nötrleştirilir (Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010).

DNA boyanması: Cometlerin görselleştirilmesi için DNA spesifik boyalar kullanılır. En sık kullanılan boyalar EtBr, 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) ve benzoksazolyum-4-kinolinum oksazol sarı homodimer (YOYO-1)'dir (Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010).

Mikroskopta inceleme ve analiz: Boyama işleminden sonra mikroskopta slayt başına 100 comet incelenmelidir. Bir kafa ve DNA parçaları veya iplikçikleri içeren bir cometin analiz edilmesinde kuyruk uzunluğu ve kuyruktaki DNA yüzdesi parametreleri ölçülür ve kuyruktaki DNA yüzdesi ve kuyruk uzunluğunun çarpılması ile kuyruk momenti hesaplanır (Resim 4). İncelenen cometler kuyruk uzunluğuna göre sıfırdan dörde kadar gruplandırılır. Sıfır, kuyruk yok (DNA kırığı yok); bir-dört arası DNA kırığının derecesini gösterir (Resim 5) ((Hartmann vd., 2003; Dinçer ve Kankaya, 2010; Fidan, 2005, Boutet vd., 2013).



Resim 4. Comet analizi (Cell Biolabs Inc, 2019)



Resim 5. Comet Assay, 0: DNA kırığı yok; 1-4: DNA kırıkları (Dinçer ve Kankaya, 2010)

2.5. Lityumun Genotoksitesisi

Bipolar bozukluk tedavisinde kullanılan lityumun genotoksitesisini araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır. 0.5 mg, 1.0 mg ve 1.5 mg dozlarda lityum klorür (LiCl), kromozomlarda kırıkların, boşlukların, satellit yapılarının, delesyonların ve translokasyonların artmasına ve replikasyonda azalmalara neden olur (De La Torre vd., 1976). Farklı dozlarda LiCl (0.212 mg/kg, 2.125 mg/kg ve 21.25 mg/kg), Li₂CO₃ (1.20 mg/kg, 12.0 mg/kg ve 120.0 mg/kg) ve lityum asetat (C₂H₃LiO₂) (0.05 mg/kg, 0.5 mg/kg ve 5.0 mg/kg) fare hücrelerinde kromozomal anomalilere (boşluk, kırık, halka ve Robertsonian füzyon) ve lityum asetat ise SCE'ye neden olur (Sobti vd., 1989). 2.5 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM ve 50 mM LiCl, HL-60 promyelositik lösemi hücrelerinde, kültürde dört günden sonra hücre sayısında azalma oluşturur, 10 mM'ı geçen dozlar canlılığı azaltır (Becker and Tyobeka, 1990). Li₂CO₃ ve LiCl 2-12 mM konsantrasyonlarda insan akciğer alveolar hücrelerinde hücre sayısında ve canlılıkta azalmaya neden olur; 5 ve 10 mM dozlarda ise bazı genlerin [süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz 2 ve moleküler şaperonlarını kodlayan genler] ekspresyonunda azalma, bazı genlerin (p21, glutatyon redüktaz) ekspresyonunda artma oluşturur (Allagui vd., 2007). Chinese hamster ovary (CHO) hücrelerinde 1-5 mM Li₂CO₃ toksik olup letal dozun yarısı (LD₅₀) 5 mM'dır; LiCl'in 6 mM'dan fazlası toksik olup LD₅₀ 15 mM'dır. Li₂CO₃'ün 2.2-10 mM, LiCl'in 5-20 mM konsantrasyonlarında mikronükleuslarda artma olur ve lityum ile muamele edilen hücrelerde anöploidi, çok kutuplu anafazlar ve gecikmeli kromozomlar gözlenir (Pastor vd., 2009).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasallar

- Agaroz (Himedia, Hindistan, 9012-36-6)
- Aseton (Isolab®, Türkiye, 901.027.2501)
- Besiyeri (Gibco™ PB-MAX™ Karyotyping Medium, Amerika Birleşik Devletleri, 12557013)
- Colcemid (Gibco™ KaryoMAX™ Colcemid™ Solution in PBS, Amerika Birleşik Devletleri, 15210040)
- Düşük Erime Noktalı Agaroz (Lonza SeaPlaque™ Agarose, İsviçre, 50101)
- Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA) (Bio Basic Canada Inc., Kanada, 6381-92-6)
- EtBr (Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri, 1239-45-8)
- Entellan® (Merck, Almanya, 1079610100)
- Formalin (Sigma-Aldrich, Almanya)
- Giemsa Boyası (Gibco™ KaryoMAX™ Giemsa Stain Solution, Amerika Birleşik Devletleri, 10092013)
- Gurr Buffer Tablet (Gibco™ Gurr Buffer Tablet, Amerika Birleşik Devletleri, 10582013)
- Hematoksilen&Eozin Boyama Kiti (Merck, Almanya)
- Hidrojen Peroksit (H₂O₂) (Merck, Almanya, 107209)
- Hidroklorik Asit (HCl) (Merck, Almanya, 100317)
- İmmersiyon Yağı (Olympus Corporation, Japonya, Z-81211)
- Lithuril 300 mg 100 Kapsül (Koçak Farma, Türkiye, 8699828150053)
- Li₂CO₃ (Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri, 554-13-2)
- Masson-Goldner Trikrom Boyama Kiti (Merck, Almanya, 100485)
- Metanol (Isolab®, İstanbul, 947.043.2500)
- Nevparin 25.000 IU/5ml (Mustafa Nevzat, Türkiye, 8699541770408)
- Penisilin-Streptomisin (Biological Industries, İsrail, 03-031-1C)
- Potasyum Klorür (KCl) (BBI Life Sciences, Çin, 7447-40-7)
- Tris (Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri, BP152-500)

- Triton® X-100 (Sigma®-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri, 9002-93-1)
- Trypsin (Gibco™ Trypsin (2.5 %), no phenol red, Amerika Birleşik Devletleri, 15090046)
- Sodyum Hidroksit (NaOH) (Himedia, Hindistan, 1310-73-2)
- Sodyum Klorür (NaCl) (Merck, Almanya, 106404)

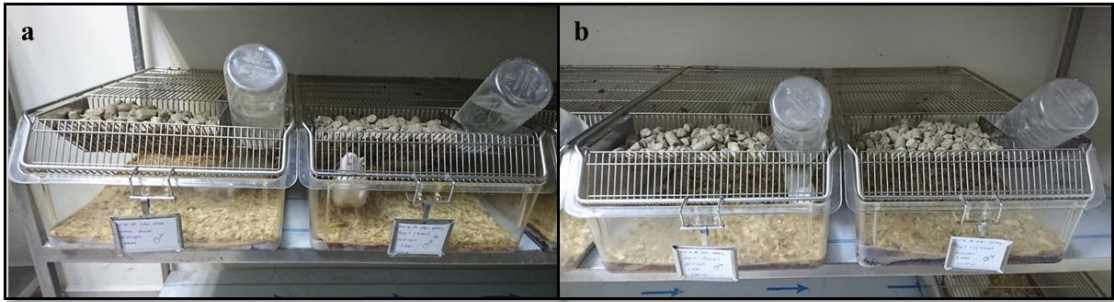
3.1.2. Alet ve Cihazlar

- 1.5 ml'lik Mikrosantrifüj Tüpü (DNaz/ RNaz Free) (Isolab, Türkiye/ İstanbul)
- 15 ml'lik Steril Santrifüj Tüpü (Isolab, Türkiye/ İstanbul)
- Bidistile Su Cihazı (GFL/ 2104, Almanya/ Burgwedel)
- Buzdolabı (Arçelik, Türkiye/ İstanbul)
- Büyük Santrifüj (Hanıl/ Combi-514R, Kore/Gimpo)
- Comet Assay Tankı (Cleaver Scientific/ CSL-COM40, Birleşik Krallık/ Rugby)
- Çalkalamalı İnkübatör Soğutmalı-Soğutmasız (Termal, Türkiye/ İstanbul)
- Doku Boyama Cihazı (Leica/ ST5020, Almanya)
- Doku Takip Cihazı (ThermoScientific™/ Citadel 2000, İngiltere)
- Floresan Mikroskop (BAB Görüntü İşleme ve Analizi Sistemi, Türkiye/ Ankara)
- Güç Kaynağı (Cleaver Scientific/ CS-300V, Birleşik Krallık/ Rugby)
- Hassas Terazı (Pioneer™/ Ohous, Filipinler/ Batangas)
- Isı Bloğu (Wealtec Corp./ HB-1, Amerika Birleşik Devletleri/ Sparks)
- Işık Mikroskobu (Olympus/ CX21, Japonya/ Tokyo)
- Işık Mikroskobu (Olympus/ DM6200, Japonya/ Tokyo)
- Işık Mikroskobu Kamera Sistemi (Olympus/ DP71, Japonya/ Tokyo)
- Lam (Isotherm, Türkiye/ İstanbul)
- Lamel (24 X 60 mm) (Isolab, Türkiye/ İstanbul)
- Manyetik Karıştırıcı (Velp®. Scientifica/ ARE Heating Magnetic Stirrer, İtalya/ Usmate)
- Mikrodalga Fırın (Vestel, Türkiye/ Manisa)
- Mikropipet Seti (Eppendorf Reference, Almanya/ Hamburg)
- Mikro Santrifüj (Nüve/ NF048, Türkiye/ Ankara)
- Otoklav (Nüve/ OT40L, Türkiye/ Ankara)
- Parafin Bloklama Cihazı (Leica/ EG 1150 H, Almanya)

- pH metre (Hanna Instruments/ pH 211, Amerika Birleşik Devletleri/ Rhode Adası)
- Rotary Mikrotom (Leica/ RM2255, Almanya)
- Sınıf II Güvenlik Kabineti (Metisafe, Türkiye/ Ankara)
- Steril Plastik Pastör Pipeti (Citotest, Çin/ Jiangsu)
- Şırınga Filtresi 0.22 µm (Isolab, Türkiye/ İstanbul)
- Tek Kullanımlık Şırınga (Genject®, Türkiye/ Ankara)
- Vortex (Velp®. Scientifica/ ZX 3, İtalya/ Usmate)

3.1.3. Deney Hayvanlarının Temini ve Bakımı

Toplamda 32 tane sekiz haftalık, 238 ± 60 g ağırlığında Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (RTEÜ DHUAM) temin edildi. Hayvanların bakımı ve kullanımı, hayvan deneyleri prosedürleri ulusal kurallara uygun olarak RTEÜ DHUAM'da gerçekleştirildi. Sıçanlar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık ortamda, 22 ± 1 °C'de, $\%60 \pm 10$ nemde bekletildi. Yemleri ve suları *ad libitum* olarak verildi (Resim 6).



Resim 6. Sıçan grupları. (a) Kontrol grubu ve grup 1. (b) Grup 2 ve grup 3.

3.1.4. *In Vitro* Çalışmalar İçin Kan Örnekleri

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde gönüllü olan 3 kadın ve 3 erkek bireyden heparinli enjektörlere yaklaşık 5 ml kan alındı.

3.1.5. Solüsyonların Hazırlanması

3.1.5.1. Lenfosit Kültürü Solüsyonları

Li₂CO₃ Çözeltisi

Kapsül içindeki 300 mg Li₂CO₃ 40 ml bidistile suda çözüldü (7.5 mg/ml) ve filtreden geçirildi.

0.01 M H₂O₂ Çözeltisi

9.8 M olan stok H₂O₂ çözeltisinde 1 µl alındı ve 999 µl bidistile su ile karıştırıldı.

Hipotonik Solüsyon (0.075 M KCl)

0.56 g KCl 100 ml bidistile suda çözüldü. Taze olarak hazırlanıp bir saat 37 °C'de bekletildi.

Fiksatif Solüsyonu (3: 1 Metanol: Asetik Asit)

525 ml metanol ve 125 ml asetik asit karıştırıldı. Taze olarak hazırlanıp -20 °C'de soğutulan çözelti çalışma öncesinde ve çalışma aralarında +4 °C'de bekletildi.

Fosfat Tamponu (PBS)

Bir tablet gurr buffer 1 L bidistile suda çözüldü.

%0.9'luk NaCl Solüsyonu

9 g NaCl 1 L bidistile suda çözüldü.

Giemsa Boyası Solüsyonu

3 ml giemsa boyası, 1 ml aseton ve 48.5 ml PBS tamponu karıştırıldı.

%2.5'lik Tripsin Solüsyonu

2.5 ml tripsin (stok: 10X) ve 49.5 ml %0.9'luk NaCl çözeltisi karıştırıldı.

3.1.5.2. Comet Assay Solüsyonları

Lizis Solüsyonu (pH: 10)

- 2.5 M NaCl
- 100 mM EDTA
- 10 mM Tris
- %1 Triton X-100

1 L solüsyon hazırlamak için 146.1 g NaCl (moleküler ağırlığı 58.44 g/mol) tartıldı. 0.5 M'lık EDTA çözeltisinden 200 ml, 0.5 M'lık Tris çözeltisinden 20 ml alındı. Bütün kimyasallar toplamı 950 ml olacak şekilde bidistile suda manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözüldü. Solüsyonun pH'sı 3 M'lık NaOH kullanılarak 10'a ayarlandı ve son hacim 1 L'ye tamamlanarak solüsyon otoklavlandı. %1 triton X-100 her kullanımda taze olarak eklendi.

Elektroforez Tamponu

- 1 mM EDTA
- 300 mM NaOH

Solüsyon önce konsantre olarak hazırlandı. 1 L, 5X konsantre stok tampon hazırlamak için; 0.5 M'lık EDTA çözeltisinden 10 ml alındı. Moleküler ağırlığı 40 g/mol olan NaOH'ten 60 g tartıldı. Kimyasallar 900 ml bidistile suda manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözüldü. Son hacim 1 L'ye tamamlanarak tampon çözelti otoklavlandı.

1X elektroforez tamponu hazırlamak için 100 ml 5X'lik tampon çözeltiden alıp 900 ml bidistile su ile 1 L'ye tamamlandı.

Nötralizasyon Tamponu (pH: 7.5)

- 0.4 M Tris

1 L tampon hazırlamak için 1 M'lık Tris çözeltisinden 200 ml alındı. 700 ml bidistile suda manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözüldü. Tamponun pH'sı 1 M'lık HCl kullanılarak 7.5'a ayarlandı. Son hacim 1 L'ye tamamlandı ve tampon çözelti otoklavlandı.

PBS Tamponu

Bir tane Gurr Buffer Tablet 1 L bidistile suda çözüldü.

%1.5'lik Agaroz

1.5 g agaroz 100 ml PBS içinde mikrodalgada çözüldü.

%0.5'lik Agaroz

0.5 g agaroz 100 ml PBS içinde çözülerek hazırlandı. İşlem sırasında 65 °C ısı bloğunda bekletildi.

%0.5'lik Düşük Erime Noktalı Agaroz

0.5 g düşük erime noktalı agaroz 100 ml PBS içinde çözülerek hazırlandı. İşlem sırasında 37 °C ısı bloğunda bekletildi.

EtBr Çözeltisi

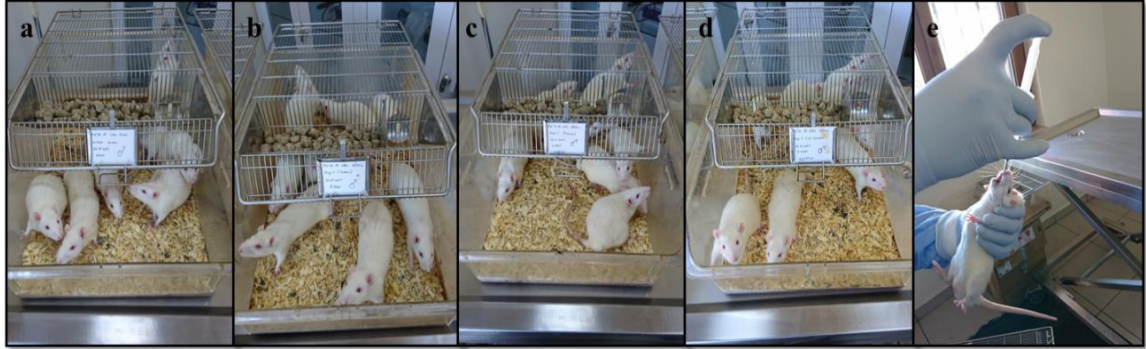
20 µg/ml Et-Br çözeltisi için 5 mg/ml stok EtBr solüsyonundan 6 µl alınıp saf su ile 1.5 ml'ye tamamlandı. Mikrosantrifüj tüpü alüminyum folyaya sarıldı ve +4 °C'de saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hayvan Deneyleri

3.2.1.1. Deney Düzenliği

Sıçanlar her grupta 8 hayvan olacak şekilde kontrol, terapötik (grup 1), toksik (grup 2) ve iki kat toksik (grup 3) grupları olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna bidistile su, grup 1'e 25 mg/kg Li₂CO₃, grup 2'ye 50 mg/kg Li₂CO₃ ve grup 3'e 100 mg/kg Li₂CO₃ uygulandı (Albayrak vd., 2013; Mwaheb, 2016). Tüm uygulamalar 1 ml olacak şekilde gavaj tekniği ile oral olarak yapıldı (Resim 7). Sıçanların su tüketimleri ve altlık talaşlarını kirletmeleri günlük olarak izlendi.



Resim 7. Deney grupları ve oral uygulama. (a) Kontrol grubu. (b) Grup 1. (c) Grup 2. (d) Grup 3. (e) Oral uygulama.

Gruplardaki sıçanlar tartıldı ve grubun ağırlık ortalamasına göre Li₂CO₃ uygulama miktarları düzenlendi:

Grup 1 Li₂CO₃ solüsyonu

Ortalama ağırlıkları 265 g olarak tartılan hayvanlara 25 mg/kg Li₂CO₃ uygulamak için 6.625 mg Li₂CO₃ gerekmektedir. 300 mg olan bir kapsül Li₂CO₃ 45.28 ml bidistile suda çözülerek solüsyon hazırlandı.

Grup 2 Li₂CO₃ solüsyonu

Ortalama ağırlıkları 261 g olarak tartılan hayvanlara 50 mg/kg Li₂CO₃ uygulamak için 13.05 mg Li₂CO₃ gerekmektedir. 300 mg olan bir kapsül Li₂CO₃ 22.99 ml bidistile suda çözülerek solüsyon hazırlandı.

Grup 3 Li₂CO₃ solüsyonu

Ortalama ağırlıkları 251.25 g olarak tartılan hayvanlara 100 mg/kg Li₂CO₃ uygulamak için 25.125 mg Li₂CO₃ gerekmektedir. 300 mg olan bir kapsül Li₂CO₃ 11.94 ml bidistile suda çözülerek solüsyon hazırlandı.

15. gün gruplardaki sıçanlar tekrar tartıldı ve grubun ağırlık ortalamasına göre Li₂CO₃ uygulama miktarları tekrar düzenlendi:

Grup 1 Li₂CO₃ solüsyonu

Ortalama ağırlıkları 300.625 g olarak tartılan hayvanlara 25 mg/kg Li₂CO₃ uygulamak için 7.5 mg Li₂CO₃ gerekmektedir. 300 mg olan bir kapsül Li₂CO₃ 40 ml bidistile suda çözülerek solüsyon hazırlandı.

Grup 2 Li₂CO₃ solüsyonu

Ortalama ağırlıkları 300.625 g olarak tartılan hayvanlara 50 mg/kg Li₂CO₃ uygulamak için 15 mg Li₂CO₃ gerekmektedir. 300 mg olan bir kapsül Li₂CO₃ 20 ml bidistile suda çözülerek solüsyon hazırlandı.

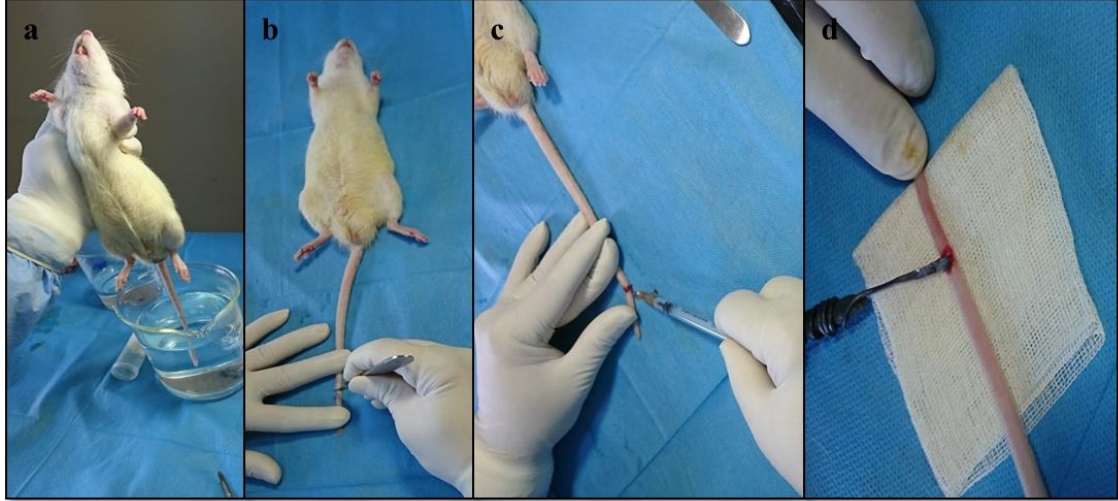
Grup 3 Li₂CO₃ solüsyonu

Ortalama ağırlıkları 271.25 g olarak tartılan hayvanlara 100 mg/kg Li₂CO₃ uygulamak için 27.125 mg Li₂CO₃ gerekmektedir. 300 mg olan bir kapsül Li₂CO₃ 11.06 ml bidistile suda çözülerek solüsyon hazırlandı.

3.2.1.2. Deney Sürecinde Sıçanlardan Kan Örneği Alınması

Comet Assay için sıçanlardan, 1. günde (Li₂CO₃ verilmeden önce) ve 15. günde kan alımı yapıldı. İnsizyon ile sıçanların kuyruklarından kan alındı. Öncelikle kuyruk ılık

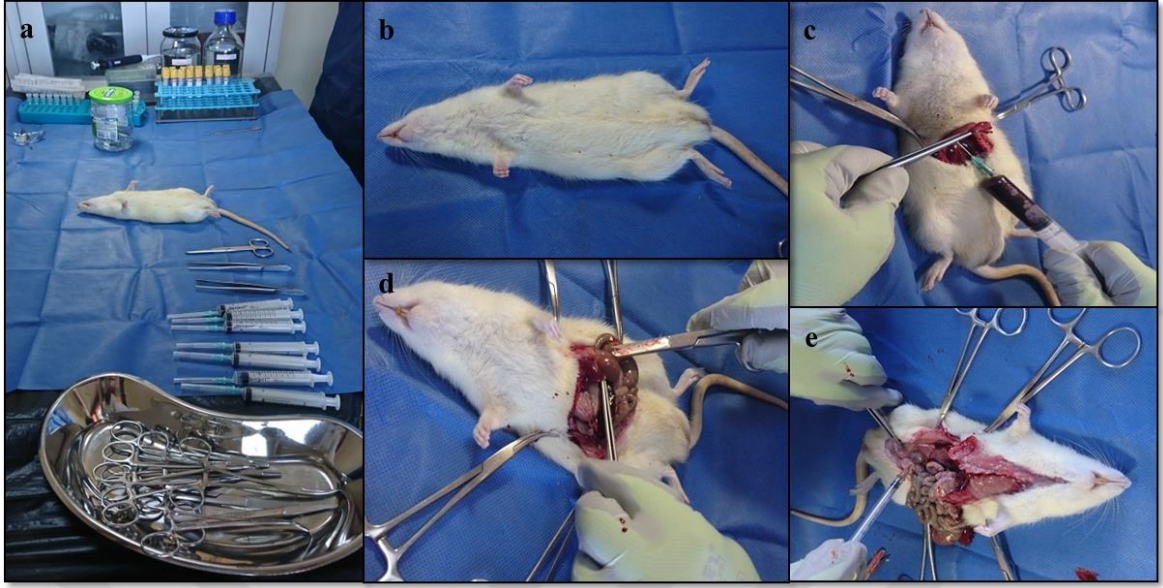
suda bekletildi. Bistüri ile kuyruğa ince bir kesik atılıp çıkan kan heparinli insülin enjektörüne alındı. Daha sonra kesik bölgesi katater ile yakıldı ve bölge batikon ile temizlendi (Resim 8).



Resim 8. İnsizyon ile kan alımı. (a) Kuyruğun ılık suda bekletilmesi. (b) Bistüri ile kesik atılması. (c) Çıkan kanın heparinli enjektöre alınması. (d) Kuyruğun kateter ile yakılması.

3.2.1.3. Uygulama Sonu Kan ve Doku Örnekleri Alımı

Deney uygulaması sonu olan 30. günde 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin kullanarak sıçanlara anestezi uygulandı. Biyokimyasal ölçümler için sıçanların kalplerinden enjektör ile yaklaşık 10 ml kan iki tane sarı kapaklı serum tüpüne alındı. Comet Assay için 500 µl kan heparinli 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alındı. Sıçanların mesanesinden idrarları insülin iğnesi ile çekilerek 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alındı. Organlar (kalp, karaciğer, böbrek, beyin, testisler, troit) ileride başka çalışmalar yapılabilir düşüncesiyle formaldehit içine alındı (Resim 9).



Resim 9. 30.gün örnek alımı. (a) Çalışma ortamı. (b) Anesteziye sokulan sıçan. (c) Sıçanın karından kan alınması. (d) Sıçanın böbreğinin alınması. (e) Mesaneden idrarın alınması.

3.2.1.4. Biyokimyasal ve Histolojik Çalışmalar

Serum tüplerine alınan kan örneklerine ve idrar örneklerine ait böbrek fonksiyon testleri olan kan üre azotu (BUN) ve kreatinin (CreaC) Recep Tayyip Erdoğan Üniversite Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında hizmet alımıyla yapıldı.

Sıçanların böbreklerinin histolojik analizleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

Histolojik Analizler

Genel anestezi altında uyutulan sıçanlardan alınan böbrek dokuları transvers düzlemde 1.5 cm³'lük parçalara ayrıldı. Böbrek dokusuna ait örneklerin tespit olması için %10'luk nötral formalin solüsyonunda 36 saat bekletilerek fiksasyon işlemi uygulandı. Daha sonra böbrek dokusu örnekleri doku takibi cihazına yerleştirilip sırası ile %50 (2 kez), %60, %70, %80, %96, %100 (2 kez)'lük etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi, sonrasında da ksilen serilerinde bekletilerek dokuların şeffaflaştırılma işlemi gerçekleştirildi. Son aşamalarda ise dokular yumuşak (1 saat) ve sert (3 saat) parafinde bekletildi. Daha sonra sert parafin ile bloklama işlemine hazırlık için doku takip kasetleri içinde doku takip cihazına, ardından da dokuların parafine gömülmesi

için parafin bloklama cihazından kalıplar içine parafin aktarılarak bloklandı. Böbrek dokusuna ait parafin bloklardan rotary mikrotom ile 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler boyama işlemlerine başlanmadan önce 60°C sıcaklıkta 1 saat süreyle etüvde inkübe edildi. Ardından kesitler Hematoksilen&Eozin (H&E) ve Masson-Goldner trikrom boyama kiti ile boyama cihazında boyandı.

H&E Boyama Yöntemi

- Isı maruziyetiyle başlatılan deparafinizasyon işlemi ksilen serilerinden geçirilerek tamamlandı.
- Rehidratasyon işlemi için %100, %96, %90, %80, %70'lik etanol serilerinden geçirilen ve musluk suyuna tutulan kesitler distile suda bekletildi.
- Harris hematoksilen ile boyama işleminden geçirildi.
- Musluk suyunda tutuldu.
- Eozin Y ile boyandı.
- Musluk suyundan geçirildi.
- %70, %80, %90, %100'lük etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi.
- Ksilen serileri ile şeffaflaştırma yapıldı.
- Kesitlerin üst kısımlarına entellan ile lamel kapatıldı.

Masson-Goldner trikrom boyama yöntemi

- Kesitler deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerinden geçirildi.
- Hematoksilen solüsyonu ile boyandı.
- Musluk suyu altında yıkandı.
- %1'lik asetik asit maruziyeti sonrası Azophloxine solüsyonunda bekletildi.
- %1'lik asetik asit solüsyonu maruziyetinden sonra Tungstophosphoric acid orange G solüsyonunda bekletildi.
- %1'lik asetik asit solüsyonu maruziyeti sonrası Light green SF solüsyonunda bekletildi ve ardından tekrar %1'lik asetik asit solüsyonunda bekletildi.
- %70, %96, %100 (2 kez) etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon sağlandı
- Ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi.
- Kesitler üzerine entellan ile lamel kapatıldı.

Kantitatif ve Semikantitatif Ölçümler

H&E ile boyalı böbrek dokusu kesitleri ışık mikroskopunda, deney grupları bakımında körleştirilmiş iki histopatolog tarafından, her bir preparatta rastgele 30 farklı alanda DP2-BSW programı vasıtasıyla Bowman kapsülü, proksimal ve distal yüzey alanları ölçüldü.

H&E ve Goldner's masson trikrom ile boyalı böbrek dokusu kesitlerinde Histopatolojik Skorlama (HPS) metoduna göre atrofik Bowman kapsülü ve intertübüler alanlardaki fibrozis Tablo 1'de gösterildiği gibi, deney grupları bakımından körleştirilmiş iki kör histopatolog tarafından, her bir preparatta rastgele olarak seçilmiş 20 farklı alanda değerlendirildi.

Tablo 1. Böbrek HPS metodu

Skor	Yüzde (%)
0	Hasar yok
1	0-25
2	25-50
3	50-75
4	>75

3.2.2. İnsan Lenfosit Kültürü

3.2.2.1. Deney Düzenegi

Lityumun tedavi ve toksik düzeylerdeki olası etkilerini değerlendirmek üzere insan lenfosit kültürü yapıldı. Bu amaç için biri normal kontrol, biri pozitif kontrol ve üç adet de ilaç uygulanan (terapötik, toksik ve iki kat toksik) gruplar olmak üzere beş grup oluşturuldu. Bireylerden alınan kan örnekleri gruplara dağıtıldı. İlaç uygulamaları kültür başladıktan 24 saat sonra yapıldı. Terapötik gruba (grup 1) 1 mM Li₂CO₃, toksik gruba (grup 2) 2.5 mM Li₂CO₃, iki kat toksik gruba (grup 3) 5 mM Li₂CO₃ eklendi. Pozitif kontrol grubuna ise kültür bitimine 10 dk kala 1 mM H₂O₂ eklendi (Özdin ve Sarısoy, 2013; Allagui vd., 2007; Rueff vd., 1993).

3.2.2.2. Lenfosit Kültürü Protokolü

Lenfosit hücre kültüründe ve preparatların hazırlanmasında; Topaktaş ve Rencüzoğulları'nın (1995, 2010) ve Taştımır ve Demirhan'ın (2008) uygulamalarından ve Perry ve Thompson'ın (1984) protokolünden faydalanıldı.

Hücre ekimi

- Kontrol, Grup 1, Grup 2, Grup 3 ve Pozitif Kontrol olarak ayarlanan deney grupları için tüplere dörder ml tam lenfosit kültür besiyeri eklendi.
- Kültür tüplerine steriliteye dikkat edilerek beşer damla heparinize kan ilave edildi. Kapakları kapatılan tüpler parmak darbeleriyle dikkatlice homojenize edildi.
- Kültür tüpleri 37 °C'deki nemli etüv içine 45°'lik eğim olacak şekilde yerleştirildi.
- 72 saat sürecek olan kültür işlemi başlatıldı ve tüpler her gün bir defa dikkatli bir şekilde karıştırılarak homojenize edildi.

Li₂CO₃ ekleme

- Kültürün 24. saatinde kültür tüplerine Tablo 2'de gösterildiği gibi üç farklı konsanstrasyonda olacak şekilde daha önce hazırlanıp filtreden geçirilen Li₂CO₃ çözeltisinden ilave edildi.

Tablo 2. Li₂CO₃ dozları

Grup	Li₂CO₃ Dozu	Eklenen Li₂CO₃ Dozu
Grup 1	1 mM	40 µl
Grup 2	2.5 mM	100 µl
Grup 3	5 mM	200µl

Kolsemid ekleme

- Kültür süresinin bitimine iki saat kala (70. saatte) her tüpe 0.5 µg/ml olacak şekilde 200 µl kolsemid ilave edildi. Tüpler hafifçe sallanıp karıştırıldıktan sonra inkübatöre alındı.

H₂O₂ ekleme

- Kültürün bitimine 10 dk kala Pozitif Kontrol grubuna 1 mM olacak şekilde 250 µl H₂O₂ ilave edildi.

NOT: Bu işlemlerin hepsi steril kabinde gerçekleştirildi.

Hasat

- 72 saatlik kültür süresinin bitiminden sonra tüpler 500 g'de (gravite) 5 dk santrifüj edildi ve tüplerde yaklaşık 0.7 ml'lik kültür ortamı kalıncaya kadar süpernatant atıldı.

NOT: Tüpte kalan kısım iyice karıştırıldıktan sonra yaklaşık 50 µl ayrılarak Comet Assay yapıldı.

- Her tüpe tüpün kenarından, hafifçe çalkalanarak, damla damla 8 ml hipotonik çözeltiden (0.075 M KCl) ilave edildi ve iyice karıştırıldı.
- Daha sonra ağzı kapatılan tüpler inkübatöre (37 °C) alınarak 15 dk bekletildi.
- İnkübatörden alınan tüpler üzerine buzdolabında soğutulmuş olan fiksatiften (3: 1 Metanol: Asetik asit) 9 damla eklenerek hafifçe karıştırıldı ve +4 °C'de 10 dk bekletildi. Daha sonra 500 g'de 5 dk santrifüjlendi.
- Yaklaşık 0.7 ml kalacak şekilde süpernatant kısmı atıldı ve tüpün dip kısmına hafifçe vurularak hücre pelleti homojenize edildi.
- Tüplere kenarından yavaş yavaş 9 ml soğuk fiksatif ilave edilerek dikkatli bir şekilde homojenize edilip önce buzdolabında 10 dk daha sonra da inkübatörde (37 °C) 15 dk bekletildikten sonra 500 g'de 5 dk santrifüjlendi.
- Yaklaşık 0.7 ml kalacak şekilde süpernatant kısmı atıldı ve tüpün dip kısmına hafifçe vurularak hücre pelleti homojenize edildi.
- İşlem sıvısının iyice berraklaştığını görünceye kadar üç kez tekrarlandı.
- Santrifüj sonrası tüpte yaklaşık 1 ml sıvı bırakılarak preparat hazırlama işlemine geçildi.

Preparat hazırlama

- Lamlar 1 N nitrik asit içinde bir gece bekletildi. Akan suda iyice yıkanan lamlar saf su içinde +4 °C'de bekletildi.
- Hücre süspansiyonu pastör pipet ile dikkatli bir şekilde birkaç kez karıştırılıp homojen hale getirildi.
- Pipete çekilen süspansiyondan hafif eğik bir şekilde tutulan ıslak lam üzerine 20-30 cm mesafeden farklı alanlara gelecek şekilde 4-5 damla hücre süspansiyonu damlatıldı.
- Yaşlandırmak için ise inkübatörde (37 °C'de) iki gün bekletilir.

3.2.2.3. Boyama ve Bantlama

Thermo Fisher Scientific KaryoMAX™ giemsa boyası kullanıldı ve önerilen protokol uygulandı.

Şaleler hazırlandı:

- 1. şale: %2.5'lik tripsin
- 2. şale: %0.9'luk NaCl
- 3. şale: %0.9'luk NaCl
- 4. şale: Giemsa boyası
- 5. şale: PBS tamponu
- 6. şale: PBS tamponu

Boyama ve bantlama

- İnkübatörden çıkarılan preparatlar şaleye dizildi ve üzerine tripsin solüsyonu ile dolduruldu. 10 saniyeden 2 dakikaya kadar farklı sürelerde deneme yapıldı ve uygun inkübasyon 40 saniye olarak belirlenip kalan preparatlara uygulandı.
- Preparatlar %0.9'luk NaCl içine alınarak 3 kez yıkandı.
- Daha sonra şaleye dizilen preparatların üzerine giemsa boyası koyularak 5 dk'den 20 dk'ye kadar farklı sürelerde deneme yapıldı ve uygun inkübasyon 8 dk olarak belirlenip kalan preparatlara uygulandı.
- Preparatlar PBS içine alınarak 3 kez yıkandı.
- 50 °C etüvde kurutulan preparatların üzerine entellan ile lamel kapatıldı.

3.2.2.4. Sitogenetik Analiz

Sitogenetik analizde her bir örnek için en az 50 metafaz plağı sayısal ve yapısal kromozom anomalileri açısından ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.3. Comet Assay

Hayvan deneylerinden ve insan lenfosit kültüründen elde edilen örnekler kullanılarak Comet Assay yapıldı. Cleaver Scientific Comet Assay protokolü uygulandı.

Lamların Hazırlanması

- Lamlar 1 N nitrik asit içinde bir gece bekletildi. Akan suda iyice yıkanan lamlar saf su içinde bir gece bekletildi.

- Lamlar %1.5'luk agaroz ile kaplanıp bir gece +4 °C'de bekletildi.
- 110 µl %0.5'lik agaroz lama koyulup üzerine lamel kapatıldı. +4 °C'de 15 dk bekletildi.
- Lamel dikkatlice kaldırıldı.
- 5 µl örnek ve 65 µl %0.5'lik düşük erime noktalı agaroz 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpünde mikropipet ile hafifçe pipetaj yapılarak karıştırıldı ve lamda agaroz üzerine koyuldu, lamel kapatıldı. +4 °C'de 15 dk bekletildi.
- Lamel dikkatlice kaldırıldı.
- Üzerine 75 µl %0.5'lik agaroz koyuldu ve lamel kapatıldı. +4 °C'de 15 dk bekletildi.
- Lamel dikkatlice kaldırıldı.

Lizis ve Elektroforez

- 100 ml +4 °C'de lizis solüsyonu içine 1 ml triton X-100 eklendi, iyice karıştırıldı.
- Preparatlar hazırlanan lizis solüsyonuna koyularak +4 °C'de bir saat bekletildi.
- Preparatlar elektroforez tankına yerleştirildi, dolacak şekilde 1X elektroforez tamponu koyuldu. Karanlıkta 30 dk bekletildi.
- 25 V, 300 mA'de 20 dk yürütüldü.
- Preparatlar 100 ml nötralizasyon tamponunda dikkatlice yıkandı.

Boyama

- 20 µg/ml EtBr'den 25 µl damlatılıp lamel kapatıldı.

Görüntüleme

Boyama yapılan preparatlar floresan mikroskop kullanılarak 20X büyütmede görüntüledi. Görüntüleme G-filtre kullanılıp 560 nm dalga boyunda inceleme yapıldı.

Sayım ve Değerlendirme

Her bir örnek için 100 comet incelenip BAB Bs200 Pro Plus programı ile değerlendirdi ve hasar derecesi istatistiksel olarak analiz edildi. Bu analizde elektroforez sonrası hücrelerin çekirdeklerinin oluşturduğu kuyruk uzunluğu, kuyruk momenti ve kuyruktaki % DNA miktarı dikkate alınarak kontrol ve uygulama grupları karşılaştırıldı.

3.2.4. İstatiksel Analiz

İstatiksel analizler SPSS 25.0 programı kullanılarak yapıldı. Lityum uygulama dozları bakımından oluşturulan gruplarda aritmetik ortalamaların, standart sapmaların ve gruplar arasındaki farkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanıldı. Histolojik verilerde gruplar arasındaki farklar Kruskal Wallis ve Tamhane T2 testleri ile analiz edildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Hayvan Deneyleri Sonuçları

4.1.1. Sıçanların Ağırlıkları

Sıçanların deney başlangıcı, 15. gün ve deneyin sonlandırıldığı 30. güne ait ağırlıkları Tablo 3’de verilmiştir. Tablo 4’de gösterilen 30 günlük ağırlık artış ortalamalarının istatistik sonuçlarına göre Kontrol grubunun ağırlık artış ortalamasının diğer gruplara göre anlamlı derecede fazla olduğu görüldü.

Tablo 3. Sıçanların ağırlıkları

ÖRNEK	1. Gün Ağırlık	15. Gün Ağırlık	30. Gün Ağırlık
Kontrol			
K1	245 g	280 g	350 g
K2	179 g	237 g	300 g
K3	230 g	297 g	340 g
K4	223 g	272 g	310 g
K5	238 g	269 g	325 g
K6	228 g	276 g	282 g
K7	225 g	290 g	300 g
K8	238 g	268 g	322 g
ORTALAMA	225.27 g	273.625 g	316.125 g
Grup 1 (25 mg/kg)			
G1-1	250 g	334 g	320 g
G1-2	260 g	314 g	322 g
G1-3	295 g	311 g	330 g
G1-4	270 g	313 g	340 g
G1-5	277 g	272 g	340 g
G1-6	241 g	288 g	364 g
G1-7	262 g	283 g	313 g
G1-8	260 g	290 g	304 g
ORTALAMA	264.375 g	300.625 g	329.125 g
Grup 2 (50 mg/kg)			
G2-1	254 g	270 g	320 g
G2-2	236 g	284 g	340 g
G2-3	255 g	286 g	295 g
G2-4	265 g	288 g	300 g
G2-5	250 g	316 g	335 g
G2-6	262 g	310 g	380 g
G2-7	268 g	321 g	360 g
G2-8	298 g	330 g	*
ORTALAMA	261 g	300.625 g	332.857 g
Grup 3(100 mg/kg)			
G3-1	244 g	245 g	292 g
G3-2	236 g	230 g	295 g
G3-3	266 g	303 g	270 g
G3-4	253 g	247 g	345 g
G3-5	258 g	277 g	325 g
G3-6	268 g	310 g	330 g
G3-7	240 g	276 g	305 g
G3-8	245 g	282 g	305 g
ORTALAMA	251.25 g	371.25 g	371.25 g

*: Sıçan deneyin 24. gününde öldü

Tablo 4. Sıçanların ortalama ağırlık artışları

Karşılaştırılan Gruplar	Ortalama Ağırlık Artışları	p Değeri
Kontrol / Grup 1	90.38 / 64.75	0.0013
Kontrol / Grup 2	90.38 / 71.86	0.0095
Kontrol / Grup 3	90.38 / 57.13	0.0002
Grup 1 / Grup 2	64.75 / 71.86	0.3840
Grup 1 / Grup 3	64.75 / 57.13	0.3316
Grup 2 / Grup 3	71.86 / 57.13	0.0322

4.1.2. Su Tüketimleri ve Altlık Talaş Durumları

Sıçanların 22 günlük su tüketimleri Tablo 5’de verilmiştir. Tablo 6’de gösterilen su tüketim ortalamalarının istatistik sonuçlarına göre Grup 3’ün ortalamasının diğer gruplara göre anlamlı derecede fazla olduğu bulundu.

Tablo 5. Sıçanların su tüketimleri

Gün	Kontrol (mL)	1. Grup (mL)	2. Grup (mL)	3. Grup (mL)
1. gün	350	350	400	750
2. gün	400	400	450	725
3. gün	400	400	450	725
4. gün	400	400	450	725
5. gün	270	270	325	675
6. gün	350	325	425	450
7. gün	325	380	400	590
8. gün	300	280	375	500
9. gün	375	300	375	500
10. gün	335	300	390	490
11. gün	390	350	390	550
12. gün	325	330	360	405
13. gün	300	330	350	540
14. gün	350	300	430	500
15. gün	335	325	300	480
16. gün	275	275	350	450
17. gün	400	400	300	455
18. gün	400	350	400	525
19. gün	300	300	285	455
20. gün	300	300	300	350
21. gün	350	345	325	470
22. gün	350	355	390	280
ORTALAMA	344.54	334.77	373.63	526.81

Tablo 6. Sıçanların 22 günlük ortalama su tüketimleri (ml)

Karşılaştırılan Gruplar	Ortalamalar	p Değeri
Kontrol / Grup 1	344.54 / 334.77	0.9721
Kontrol / Grup 2	344.54 / 373.63	0.5665
Kontrol / Grup 3	344.54 / 526.81	<0.0001
Grup 1 / Grup 2	334.77 / 373.63	0.3125
Grup 1 / Grup 3	334.77 / 526.81	<0.0001
Grup 2 / Grup 3	373.63 / 526.81	<0.0001

Sıçanların altlık talaşlarında Grup 3’de Kontrol grubuna oranla daha fazla kirlenme gözlemlendi (Şekil 11).



Resim 10. Grup 3 ve Kontrol grubunun talaşları. **(G3)** Grup 3 (100 mg/kg). **(K)** Kontrol grubu.

4.1.3. Biyokimyasal Sonuçlar

Sıçanların biyokimyasal değerleri Tablo 7’da verilmiştir.

Tablo 7. Sıçanların biyokimyasal değerleri

ÖRNEK	Serum Lityum (mmol/L)	İdrar Lityum (mmol/L)	CreaC (mg/dl)	Bun (üre/2,14)
Kontrol				
K1	<0.101	<0.101	0.51	21.495
K2	<0.101	<0.101	0.47	18.691
K3	<0.101	<0.101	0.50	18.224
K4	<0.101	<0.101	0.48	20.093
K5	<0.101	<0.101	0.53	21.962
K6	<0.101	<0.101	0.51	25.701
K7	<0.101	<0.101	0.50	19.626
K8	<0.101	<0.101	0.47	18.691
ORTALAMA	<0.101	<0.101	0.496	20.56
Grup 1 (25 mg/kg)				
G1-1	0.240	4.29	0.46	13.551
G1-2	0.284	1.38	0.45	19.626
G1-3	0.300	4.674	0.48	14.439
G1-4	0.246	>6.891	0.51	17.29
G1-5	0.284	>6.891	0.49	17.29
G1-6	0.276	1.166	0.57	18.691
G1-7	0.196	>6.891	0.54	18.224
G1-8	0.275	*	0.51	15.888
ORTALAMA	0.263	4.597	0.501	16.875
Grup 2 (50 mg/kg)				
G2-1	0.185	2.238	0.44	18.691
G2-2	0.317	3.16	0.47	17.757
G2-3	0.455	4.063	0.49	16.822
G2-4	0.482	6.784	0.51	17.689
G2-5	0.310	>6.891	0.56	18.691
G2-6	0.414	6.761	0.51	15.888
G2-7	0.345	>6.891	0.52	18.224
G2-8	**	**	**	**
ORTALAMA	0.358	5.255	0.5	17.689
Grup 3 (100 mg/kg)				
G3-1	0.573	>6.891	0.44	17.757
G3-2	0.520	6.432	0.47	18.691
G3-3	0.804	>6.891	0.48	18.691
G3-4	0.800	4.521	0.54	19.626
G3-5	***	*	0.48	15.888
G3-6	0.812	*	0.51	18.691
G3-7	0.604	*	0.48	16.355
G3-8	0.313	*	0.46	14.019
ORTALAMA	0.632	6.184	0.482	17.465

*: Sıçanların mezhanesi boştu, idrar alınmadı

** : Sıçan deneyin 24. gününde öldü

***: Sonuç alınmadı

Tablo 8’de gösterilen ortalama serum lityum seviyelerinin istatistik sonuçlarına göre Kontrol grubunun diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu ve Grup 3’ün Grup 1 ve Grup 2’ye göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu.

Tablo 8. Sıçanların ortalama serum lityum seviyeleri

Karşılaştırılan Gruplar	Ortalamalar	p Değeri
Kontrol / Grup 1	<0.101 / 0.263	0.0213
Kontrol / Grup 2	<0.101 / 0.358	0.0003
Kontrol / Grup 3	<0.101 / 0.632	<0.0001
Grup 1 / Grup 2	0.263 / 0.358	0.3028
Grup 1 / Grup 3	0.263 / 0.632	<0.0001
Grup 2 / Grup 3	0.0358 / 0.632	0.0002

Tablo 9’de gösterilen ortalama idrar lityum seviyelerinin istatistik sonuçlarına göre Kontrol grubunun diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu bulundu.

Tablo 9. Sıçanların ortalama idrar lityum seviyeleri

Karşılaştırılan Gruplar	Ortalamalar	p Değeri
Kontrol / Grup 1	<0.101 / 4.597	0.0003
Kontrol / Grup 2	<0.101 / 5.255	<0.0001
Kontrol / Grup 3	<0.101 / 6.184	<0.0001
Grup 1 / Grup 2	4.597 / 5.255	0.8933
Grup 1 / Grup 3	4.597 / 6.184	0.4812
Grup 2 / Grup 3	5.255 / 6.184	0.8297

Tablo 10’da gösterilen ortalama serum CreaC değerlerinin istatistik sonuçlarına göre anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 10. Sıçanların ortalama CreaC seviyeleri

Karşılaştırılan Gruplar	Ortalamalar	p Değeri
Kontrol / Grup 1	0.496 / 0.501	0.9903
Kontrol / Grup 2	0.496 / 0.5	0.9903
Kontrol / Grup 3	0.496 / 0.482	0.8410
Grup 1 / Grup 2	0.501 / 0.5	0.9999
Grup 1 / Grup 3	0.501 / 0.482	0.6756
Grup 2 / Grup 3	0.5 / 0.482	0.7408

Tablo 11’de gösterilen ortalama BUN değerlerinin istatistik sonuçlarına göre Kontrol grubunun diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu.

Tablo 11. Sıçanları ortalama BUN değerleri

Karşılaştırılan Gruplar	Ortalamalar	p Değeri
Kontrol / Grup 1	20.56 / 16.875	0.0046
Kontrol / Grup 2	20.56 / 17.689	0.0412
Kontrol / Grup 3	20.56 / 17.465	0.0199
Grup 1 / Grup 2	16.875 / 17.689	0.8593
Grup 1 / Grup 3	16.875 / 17.465	0.9317
Grup 2 / Grup 3	17.689 / 17.465	0.9967

4.1.4. Histolojik Sonuçlar

Kontrol grubu böbrek dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde normal yapıdaki glomerul içeriğine sahip Bowman kapsülü ve tübüller gözlemlendi. Bununla beraber proksimal tübüllerin fırçamsı kenar yapıları oldukça belirgin olarak izlenmekteydi (Resim 11a-b; Resim 12a-b). Grup 1 böbrek dokusu kesitlerinde ise Bowman kapsülü, proksimal tübül ve distal tübüllerin tipik yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 11c-d; Resim 12c-d). Bunun aksine Grup 2 böbrek dokusu kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde ise Bowman kapsüllerinde büzülme, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyonlar saptandı. Bunun yanında intertübüler alanlarda vasküler konjesyon gözlemlendi (Resim 11e-f; Resim 12e-f). Benzer olarak Grup 3'e ait böbrek dokusu kesitlerinde Bowman kapsüllerinde büzülme, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyonlar saptandı (Resim 11g-h; Resim 12g-h).

Kontrol grubu ve Grup 1 böbrek kesitlerinde HPS skoru arasında herhangi bir fark gözlemlenmedi. Bunun aksine Grup 2 ve Grup 3'de kontrol grubuna kıyasla atipik glomerul sayısında ve intertübüler alanlardaki fibrozisdeki artışa bağlı olarak HPS skorunun arttığı saptandı (Tablo 12).

Tablo 12. HPS'ye ait veriler

Grup	Atipik glomerül	Fibrozis	HPS skoru
Kontrol	0.00 (0-0,5)	0.00 (0-0)	0.00 (0-1)
Grup 1	1.00 (0-1) ^a	0.00 (0-1) ^a	1.00 (1-1,5) ^a
Grup 2	2.00 (2-2) ^{a,b}	2.00 (2-2) ^{a,b}	4.00 (3,5-4) ^{a,b}
Grup 3	2.00 (2-2) ^b	1.00 (1-1) ^{c,d}	3.00 (3-3) ^e

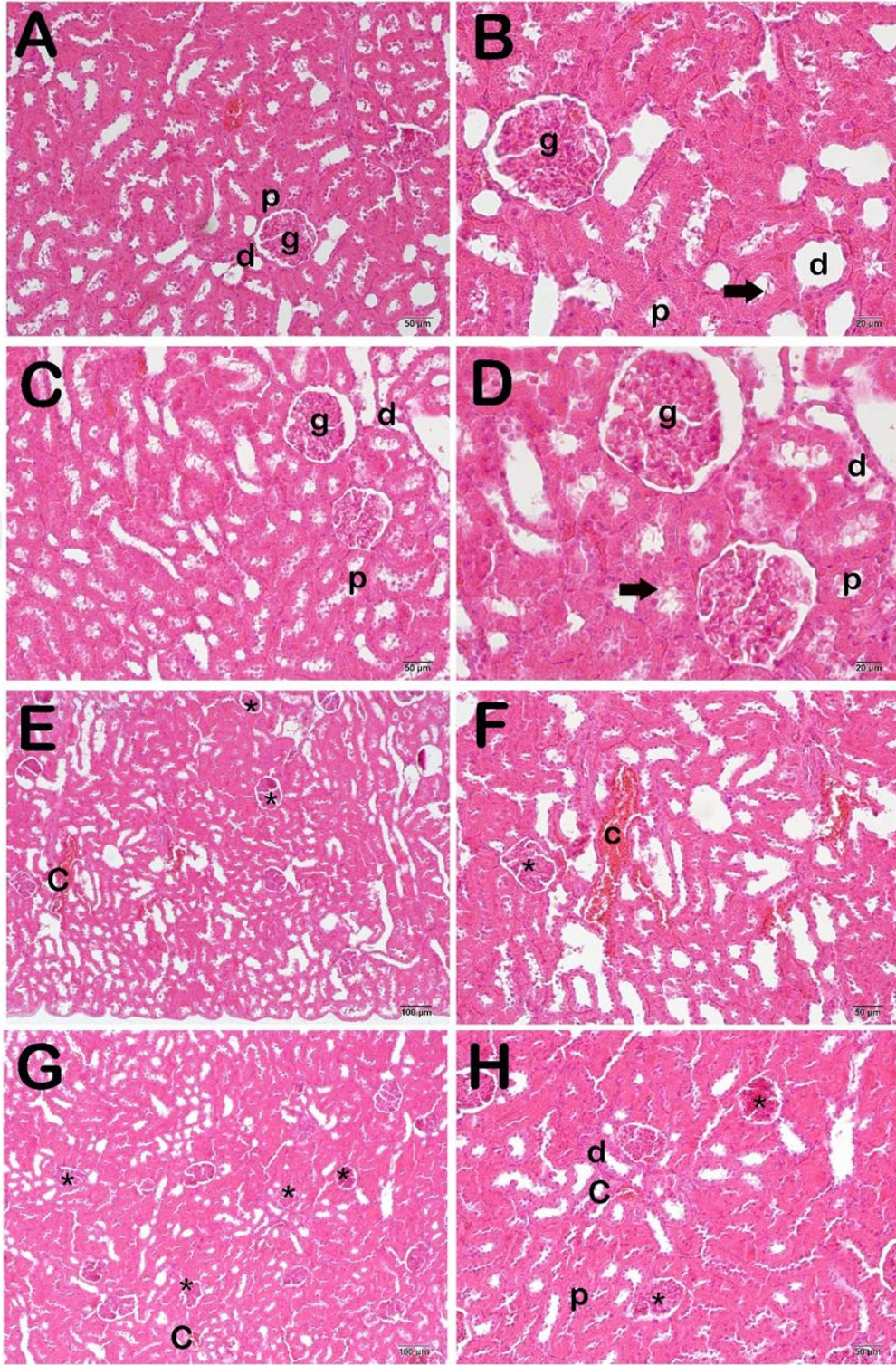
^ap= 0.000 kontrol grubuna kıyasla

^bp= 0.000 Grup 1 grubuna kıyasla

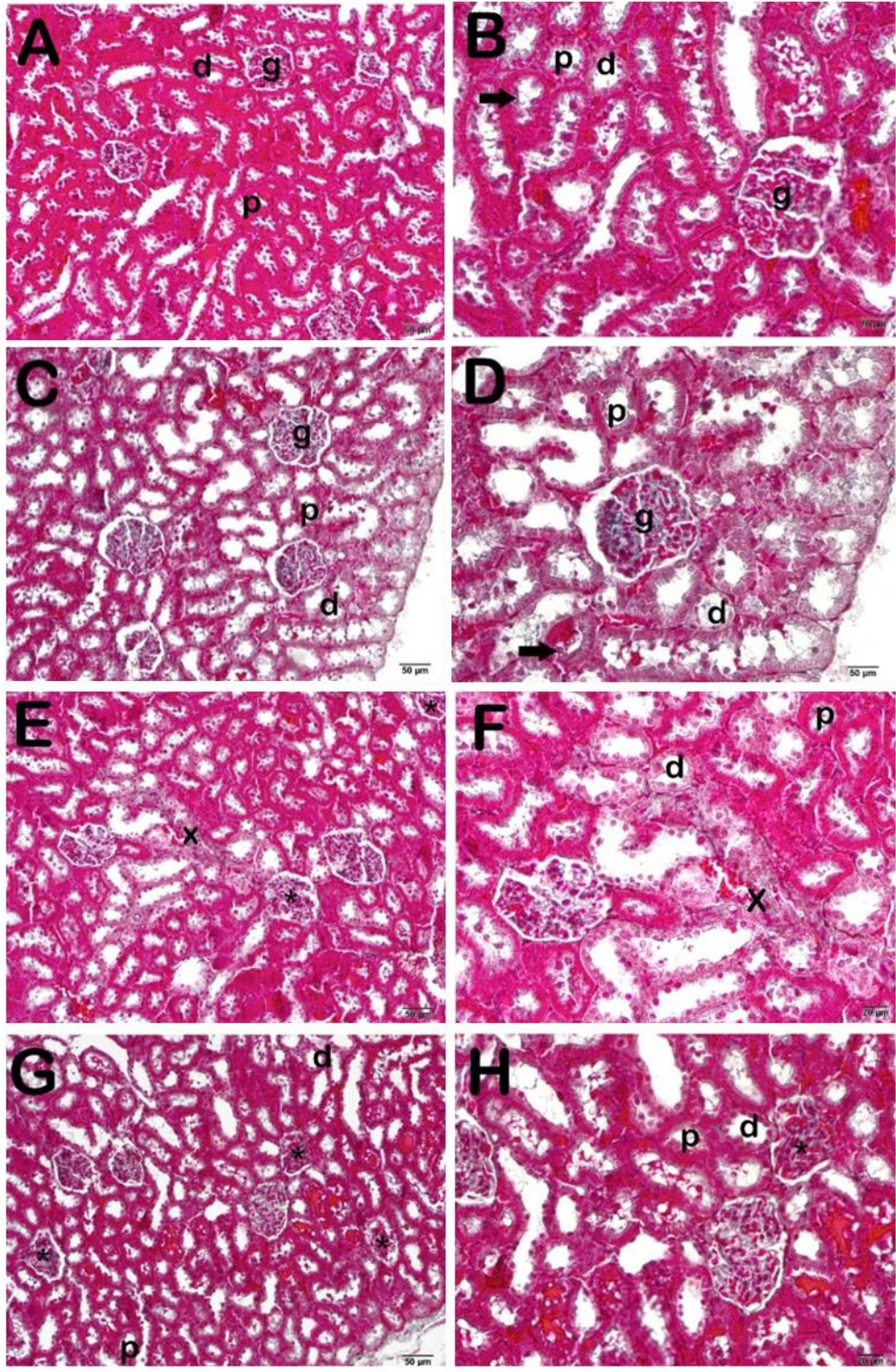
^cp= 0.0038 Grup 1 grubuna kıyasla

^dp= 0.001 Grup 2 grubuna kıyasla

^ep= 0.046 Grup 2 grubuna kıyasla



Resim 11. Böbrek dokusuna ait ışık mikroskop görüntüsü, H&E boyaması. p: proksimal tübül. d: distal tübül. g: glomerul. ok: fırçası kenar. *: Bowman kapsüllerinde büzülme. c: vasküler konjesyon. (A)(x20)- (B)(x40) Kontrol grubuna ait kesitler. (C)(x20)- (D)(x40) Grup 1'e ait kesitler. (E)(x10)- (F)(x20) Grup 2'ye ait kesitler. (G)(x10)- (H)(x20) Grup 3'e ait kesitler.



Resim 12. Böbrek dokusuna ait ışık mikroskop görüntüsü, Masson-Goldner boyaması. p: proksimal tübül. d: distal tübül. g: glomerul. ok: fırçamsı kenar. *: Bowman kapsüllerinde büzülme. c: vasküler konjesyon. x: interstisyel alanda fibrozis. (A)(x20)-(B)(x40) Kontrol grubuna ait kesitler. (C)(x20)-(D)(x20) Grup 1'e ait kesitler. (E)(x20)-(F)(x40) Grup 2'ye ait kesitler. (G)(x20)-(H)(x40) Grup 3'e ait kesitler.

Tablo 13’da görüldüğü gibi Kontrol grubunun ve Grup 1’in Bowman kapsülü, proksimal ve distal tübüllerinin yüzey alanları arasında herhangi bir fark gözlemlenmedi. Bunun aksine Grup 2 de, Kontrol grubuna kıyasla Bowman kapsülünün yüzey alanında azalma, proksimal ve distal tübüllerin yüzey alanlarında ise artış gözlemlendi. Benzer olarak Grup 3 proksimal ve distal tübüllerin yüzey alanlarında ise artış gözlemlendi.

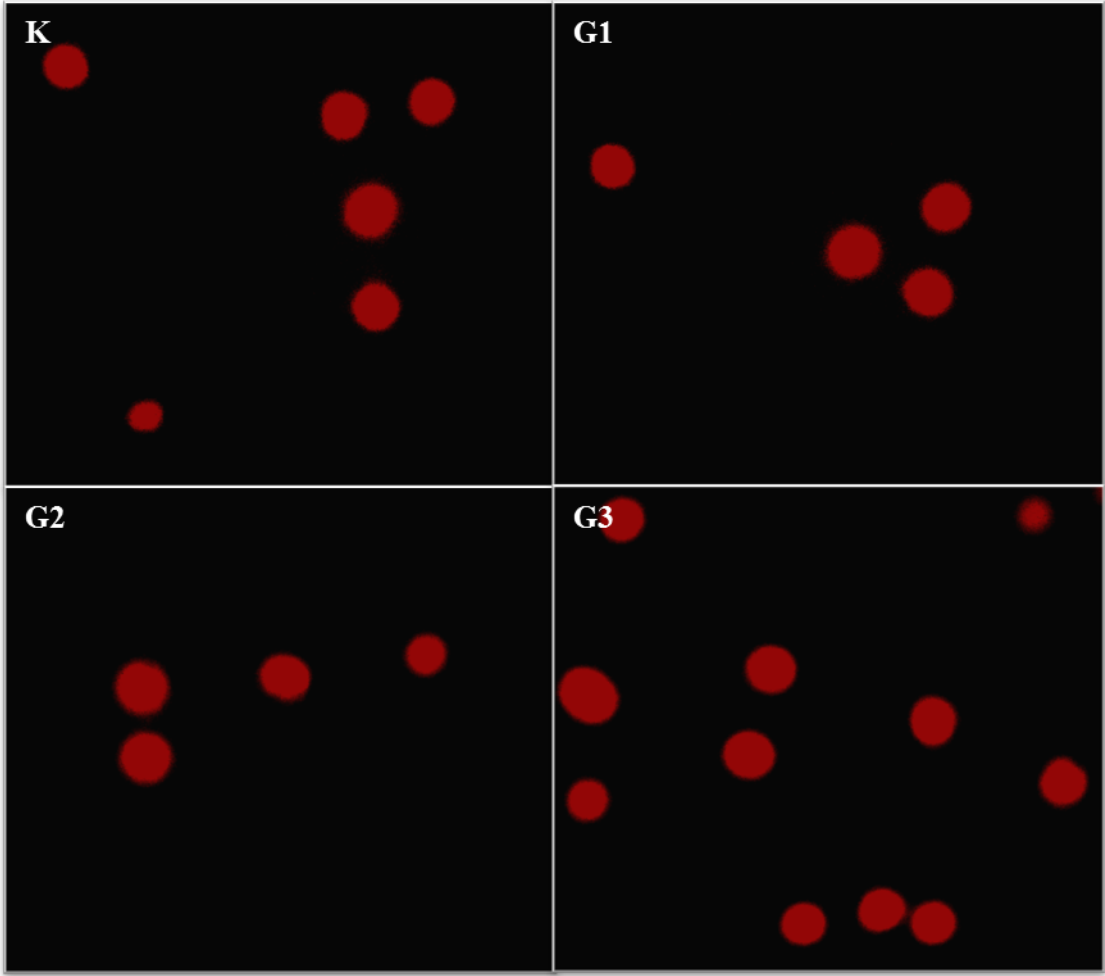
Tablo 13. Kantitatif analiz sonucuna ait veriler (Aritmetik ortalama \pm Standart sapma)

Gruplar	Bowman kapsülü yüzeysel analı (μm^2)	Proksimal tübül yüzeysel analı (μm^2)	Distal tübül yüzeysel alanı (μm^2)
Kontrol	5351.68 \pm 2263.86	568.53 \pm 149	711.38 \pm 122.47
Grup 1	6454.28 \pm 1742.95 ^c	1034.52 \pm 265.03	1053.27 \pm 149.01
Grup 2	4191.10 \pm 810.88 ^{a,b}	3391.21 \pm 2833.14 ^{e,h}	3349.23 \pm 3796.18 ^{g,k}
Grup 3	7066.66 \pm 1342.20 ^d	3592.40 \pm 3017 ^{f,i}	1224.94 \pm 298.27 ^l

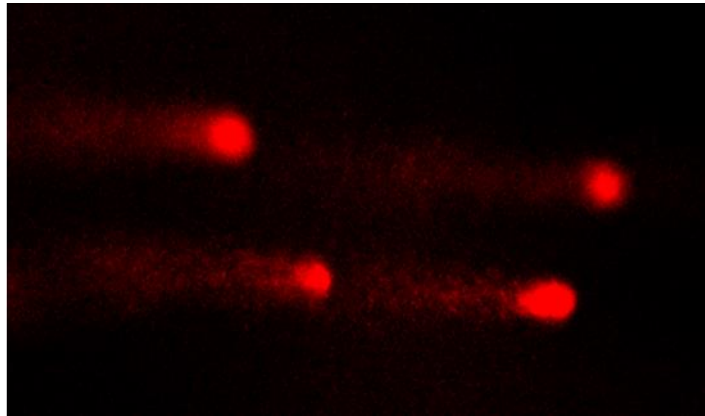
^a*p* =0.028 Kontrol grubuna kıyasla
^b*p* =0.07 Grup 1 grubuna kıyasla
^c*p* =0.07 Grup 2 grubuna kıyasla
^d*p* =0.01 Grup 2 grubuna kıyasla
^e*p* =0.009 Kontrol grubuna kıyasla
^f*p* =0.005 Kontrol grubuna kıyasla
^g*p* =0.038 Grup 1 grubuna kıyasla
^h*p* =0.021 Grup 1 grubuna kıyasla
ⁱ*p* =0.008 Kontrol grubuna kıyasla
^j*p* =0.025 Grup 1 grubuna kıyasla
^k*p* =0.043 Grup 1 grubuna kıyasla

4.1.5. Comet Assay Sonuçları

Tüm gruplardan deneyin ilk günü alınan kanlarla yapılan Comet Assay sonuçlarına ait örnek alanlar Resim 13’de verildi. Hazırlanan preparatlarda her grupta 100 adet çekirdek incelendi ve görsel olarak comet görüntüsü tespit edilmedi. Pozitif Kontrol grubu olan H₂O₂ ile muamele edilen preparatlarda oluşan cometler Resim 14’de gösterildi. Çekirdeklerin analiz programı ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen ortalama değerler Tablo 14’de verildi. Pozitif Kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken (*p*<0.0001), Kontrol, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı bir fark görülmedi (*p*>0.05).



Resim 13. Uygulama öncesi gruplara ait comet görüntüleri. (**K**) Kontrol. (**G1**) 1. Grup. (**G2**) 2. Grup. (**G3**) 3. Grup.



Resim 14. Uygulama öncesi Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü

Tablo 14. Uygulama öncesi gruplara ait Comet Assay sonuçları (SS: Standart Sapma)

Gruplar	Kuyruk Uzunluğu Ortalama ± SS	Kuyruk Momenti Ortalama ± SS	Kuyruktaki % DNA Ortalama ± SS
Kontrol	3.125±2.687	1.219±1.138	37.25±7.317
Grup 1	1.206±0.6308 ^a	0.4375±0.3207 ^a	29.08±16.33 ^a
Grup 2	1.369±0.4256 ^{b,c}	0.5303±0.2406 ^{b,c}	40.13±19.24 ^{b,c}
Grup 3	1.650±0.3522 ^{d,e,f}	0.5504±0.3299 ^{d,e,f}	32.40±18.34 ^{d,e,f}
Pozitif Kontrol	113.9±35.71 ^{g,h,i,j}	107.9±46.78 ^{g,h,i,j}	83.96±28.88 ^{g,h,i,j}

^a $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla

^b $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla

^c $p>0.05$ Grup 1'e kıyasla

^d $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla

^e $p>0.05$ Grup 1'e kıyasla

^f $p>0.05$ Grup 2'e kıyasla

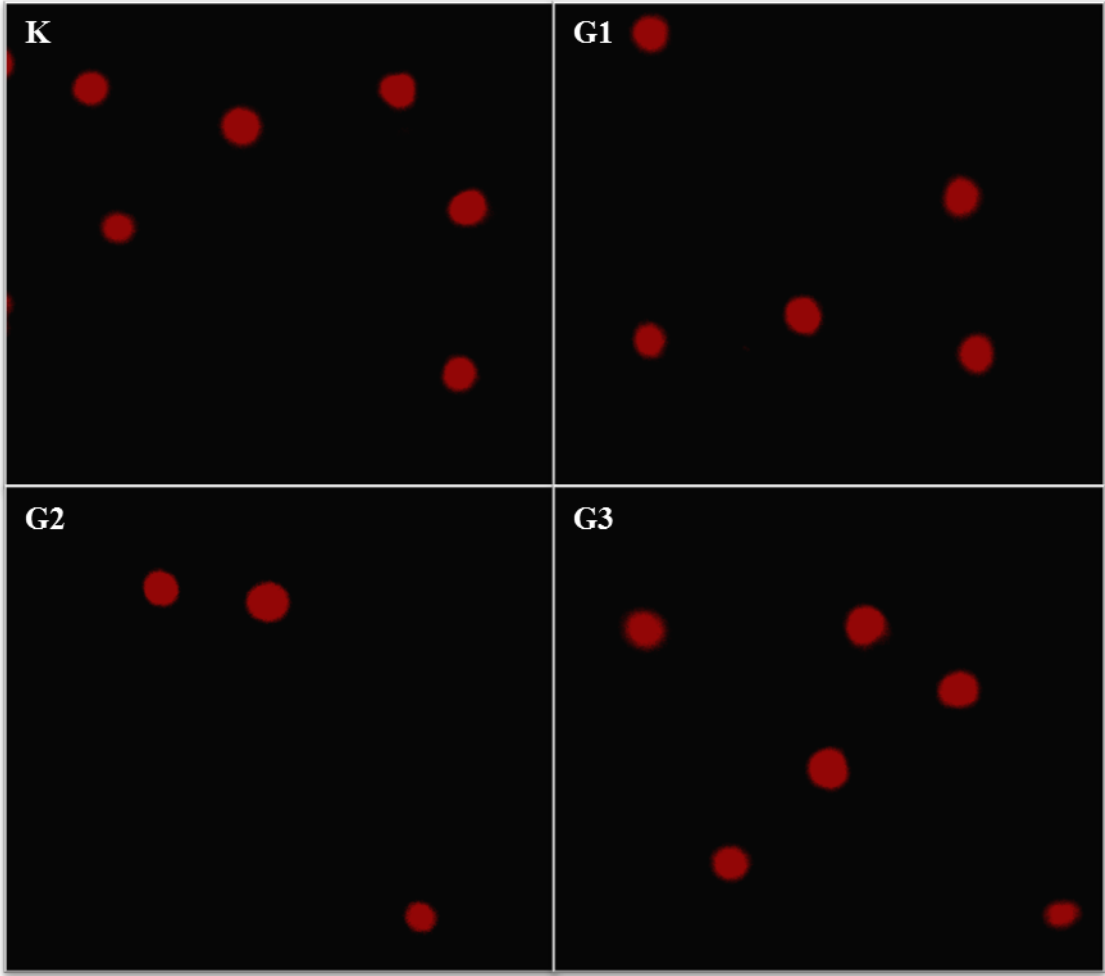
^g $p<0.0001$ Kontrol grubuna kıyasla

^h $p<0.0001$ Grup 1'e kıyasla

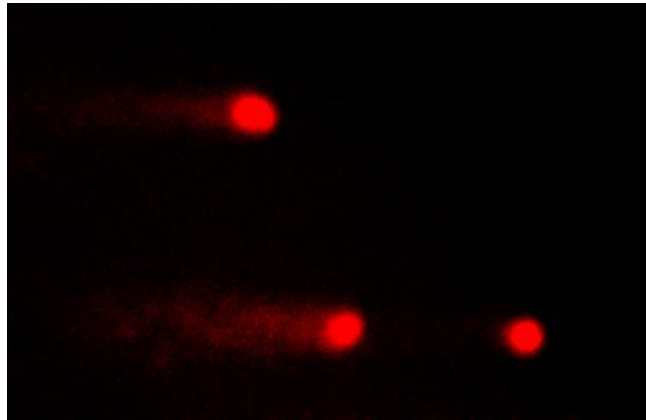
ⁱ $p<0.0001$ Grup 2'e kıyasla

^j $p<0.0001$ Grup 3'e kıyasla

Tüm gruplardan 15. günde alınan kanlarla yapılan Comet Assay sonuçlarına ait örnek alanlar Resim 15'de verildi. Hazırlanan preparatlarda her grupta 100 adet çekirdek incelendi ve görsel olarak comet görüntüsü tespit edilmedi. Pozitif Kontrol grubu olan H₂O₂ ile muamele edilen preparatlarda oluşan cometler Resim 16'da gösterildi. Çekirdeklerin analiz programı ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen ortalama değerler Tablo 15'de verildi. Pozitif Kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken ($p<0.0001$), Kontrol, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$).



Resim 15. 15. gün comet görüntüleri. (**K**) Kontrol. (**G1**) 1. Grup. (**G2**) 2. Grup. (**G3**) 3. Grup.



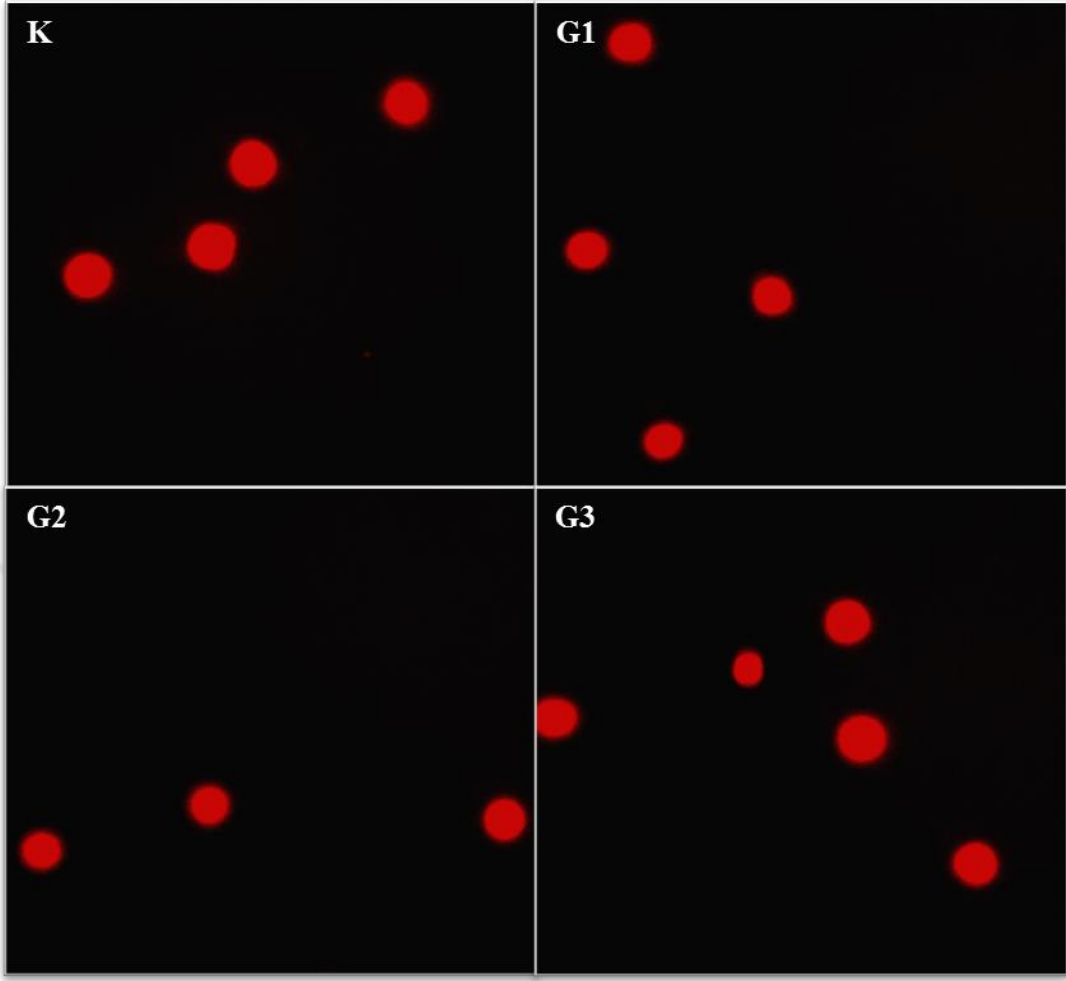
Resim 16. 15. gün Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü

Tablo 15. 15. gün Comet Assay sonuçları (SS: Standart Sapma)

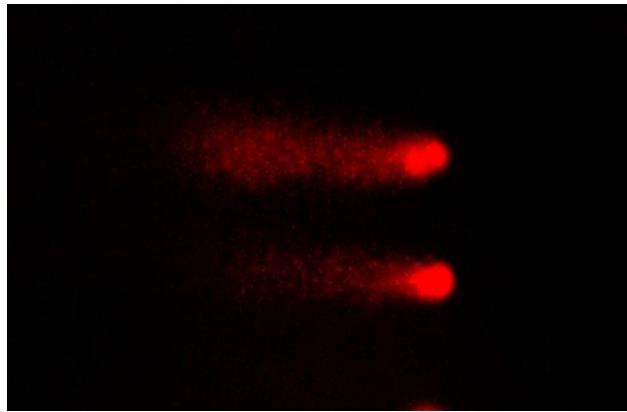
Gruplar	Kuyruk Uzunluğu Ortalama ± SS	Kuyruk Momenti Ortalama ± SS	Kuyruktaki % DNA Ortalama ± SS
Kontrol	0.519±0.99	0.045±0.021	7.672±2.163
Grup 1	0.493±0.090 ^a	0.042±0.016 ^a	7.442±1.534 ^a
Grup 2	0.479±0.049 ^{b,c}	0.036±0.008 ^{b,c}	6.834±1.164 ^{b,c}
Grup 3	0.458±0.075 ^{d,e,f}	0.035±0.011 ^{d,e,f}	6.791±1.285 ^{d,e,f}
Pozitif Kontrol	142.7±99.79 ^{g,h,i,j}	141.6±33.61 ^{g,h,i,j}	99.24±0.422 ^{g,h,i,j}

^a $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla
^b $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla
^c $p>0.05$ Grup 1'e kıyasla
^d $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla
^e $p>0.05$ Grup 1'e kıyasla
^f $p>0.05$ Grup 2'e kıyasla
^g $p<0.0001$ Kontrol grubuna kıyasla
^h $p<0.0001$ Grup 1'e kıyasla
ⁱ $p<0.0001$ Grup 2'e kıyasla
^j $p<0.0001$ Grup 3'e kıyasla

Tüm gruplardan 30. günde alınan kanlarla yapılan Comet Assay sonuçlarına ait örnek alanlar Resim 17'de verildi. Hazırlanan preparatlarda her grupta 100 adet çekirdek incelendi ve görsel olarak comet görüntüsü tespit edilmedi. Pozitif Kontrol grubu olan H₂O₂ ile muamele edilen preparatlarda oluşan cometler Resim 18'de gösterildi. Çekirdeklerin analiz programı ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen ortalama değerler Tablo 16'da verildi. Pozitif Kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken ($p<0.0001$), Kontrol, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$).



Resim 17. 30. gün comet görüntüleri. (**K**) Kontrol. (**G1**) 1. Grup. (**G2**) 2. Grup. (**G3**) 3. Grup.



Resim 18. 30. gün Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü

Tablo 16. 30. gün Comet Assay sonuçları (SS: Standart Sapma)

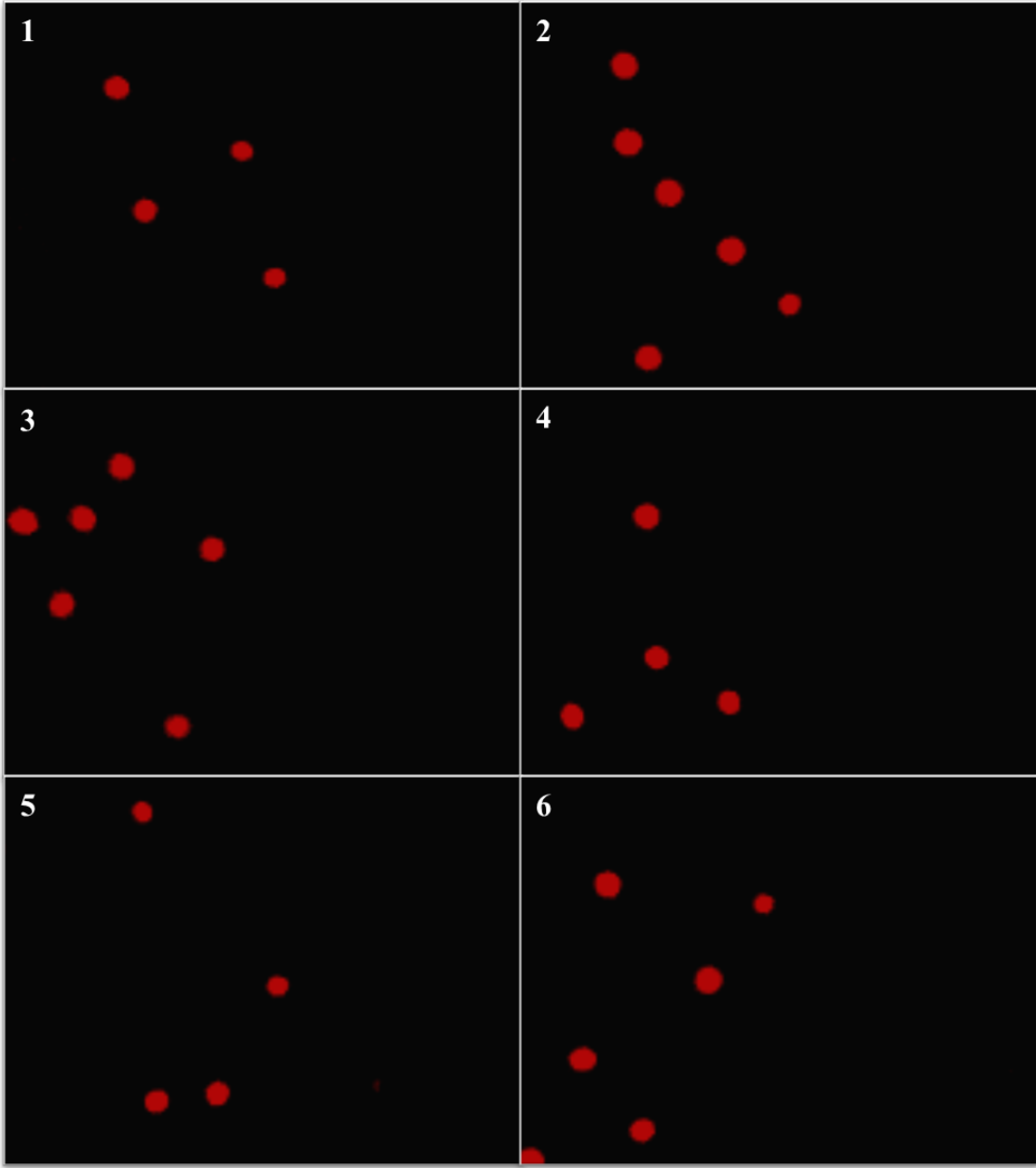
Gruplar	Kuyruk Uzunluğu Ortalama ± SS	Kuyruk Momenti Ortalama ± SS	Kuyruktaki % DNA Ortalama ± SS
Kontrol	0.509±0.073	0.036±0.004	6.406±0.909
Grup 1	0.487±0.060 ^a	0.033±0.010 ^a	6.064±1.262 ^a
Grup 2	0.508±0.034 ^{b,c}	0.031±0.005 ^{b,c}	5.717±1.060 ^{b,c}
Grup 3	0.549±0.066 ^{d,e,f}	0.333±0.008 ^{d,e,f}	5.590±1.587 ^{d,e,f}
Pozitif Kontrol	116.0±36.28 ^{g,h,i,j}	109.7±47.32 ^{g,h,i,j}	87.82±27.76 ^{g,h,i,j}

^a $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla
^b $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla
^c $p>0.05$ Grup 1'e kıyasla
^d $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla
^e $p>0.05$ Grup 1'e kıyasla
^f $p>0.05$ Grup 2'e kıyasla
^g $p<0.0001$ Kontrol grubuna kıyasla
^h $p<0.0001$ Grup 1'e kıyasla
ⁱ $p<0.0001$ Grup 2'e kıyasla
^j $p<0.0001$ Grup 3'e kıyasla

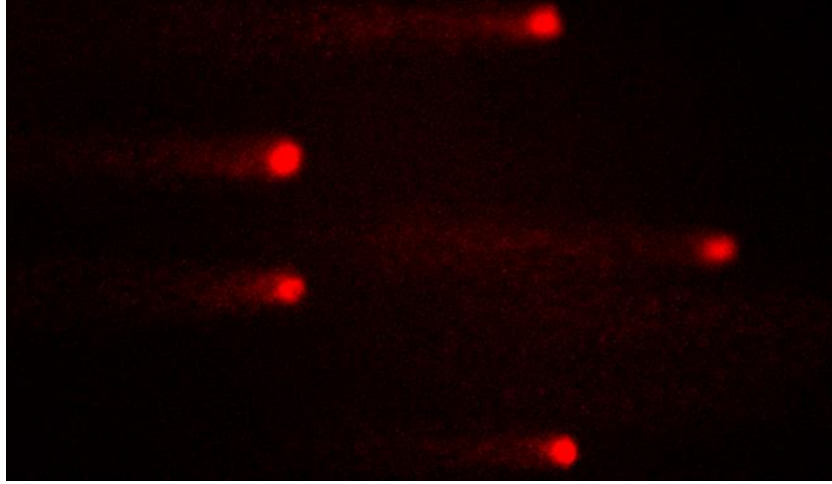
4.2. İnsan Lenfosit Kültürü Sonuçları

4.2.1. Comet Assay Sonuçları

Gönüllülerden alınan kan hücreleri ile kültür öncesinde yapılan Comet Assay sonuçlarına ait örnek alanlar Resim 19'de verildi. Hazırlanan preparatlarda her grupta 100 adet çekirdek incelendi ve görsel olarak comet görüntüsü tespit edilmedi. Pozitif Kontrol grubu olan H₂O₂ ile muamele edilen preparatlarda oluşan cometler Resim 20'de gösterildi. Çekirdeklerin analiz programı ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen ortalama değerler Tablo 17'de verildi. Pozitif Kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken ($p<0.0001$), Kontrol, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$).



Resim 19. Kültür öncesi kan hücrelerinin comet görüntüleri. (1) 1. birey. (2) 2. birey. (3) 3. birey. (4) 4. birey. (5) 5. birey. (6) 6. birey.



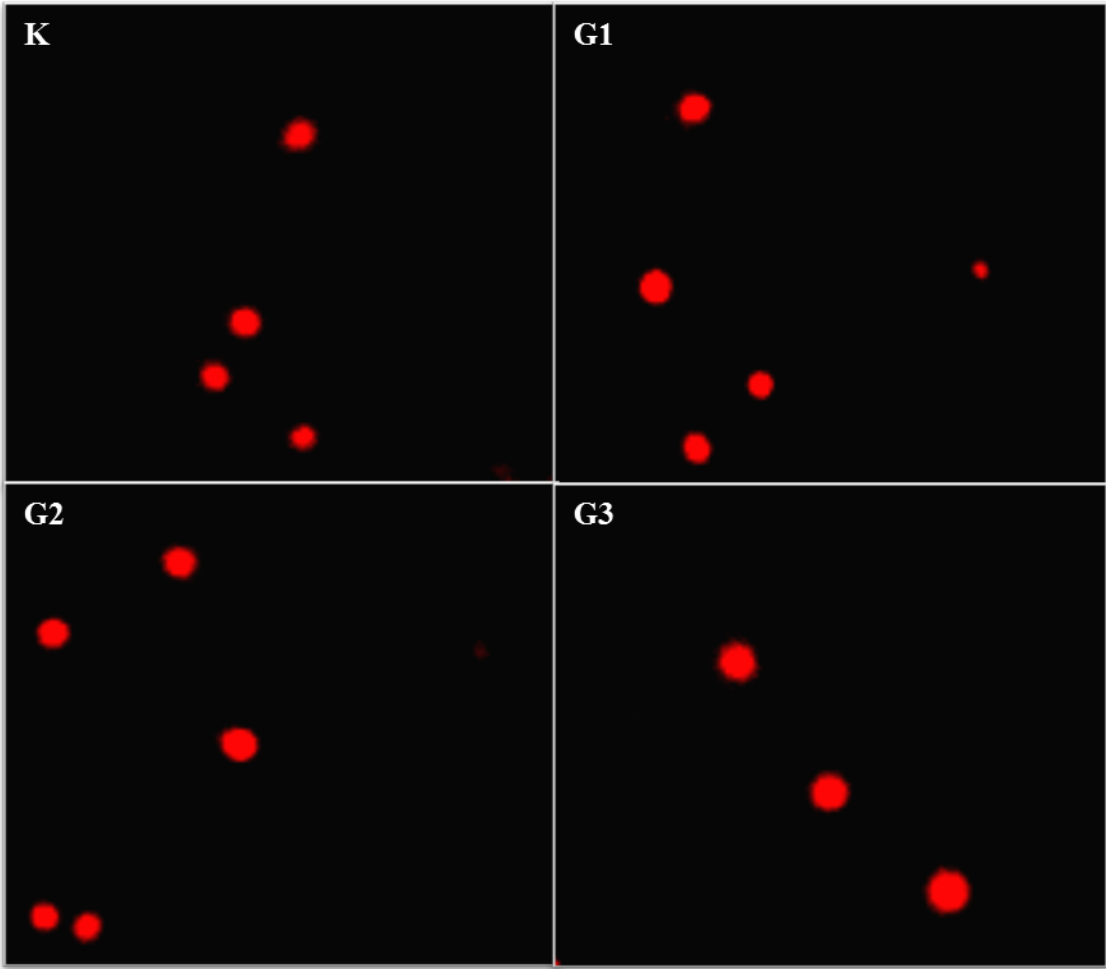
Resim 20. Kültür  ncesi Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü

Tablo 17. Kültür  ncesi Comet Assay sonuçları (SS: Standart Sapma)

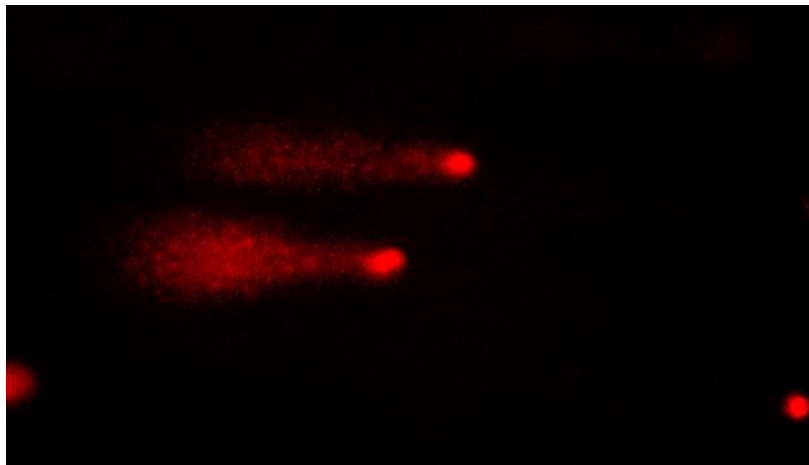
Gruplar	Kuyruk Uzunluğu Ortalama \pm SS	Kuyruk Momenti Ortalama \pm SS	Kuyruktaki % DNA Ortalama \pm SS
Kontrol	0.552 \pm 0.062	0.131 \pm 0.011	23.89 \pm 1.914
Grup 1	0.542 \pm 0.095 ^a	0.145 \pm 0.042 ^a	25.98 \pm 5.323 ^a
Grup 2	0.579 \pm 0.155 ^{b,c}	0.170 \pm 0.141 ^{b,c}	26.57 \pm 12.20 ^{b,c}
Grup 3	0.551 \pm 0.156 ^{d,e,f}	0.119 \pm 0.028 ^{d,e,f}	21.94 \pm 2.563 ^{d,e,f}
Pozitif Kontrol	101.9 \pm 18.70 ^{g,h,i,j}	101.4 \pm 18.97 ^{g,h,i,j}	99.53 \pm 0.516 ^{g,h,i,j}

^a p >0.05 Kontrol grubuna kıyasla
^b p >0.05 Kontrol grubuna kıyasla
^c p >0.05 Grup 1'e kıyasla
^d p >0.05 Kontrol grubuna kıyasla
^e p >0.05 Grup 1'e kıyasla
^f p >0.05 Grup 2'e kıyasla
^g p <0.0001 Kontrol grubuna kıyasla
^h p <0.0001 Grup 1'e kıyasla
ⁱ p <0.0001 Grup 2'e kıyasla
^j p <0.0001 Grup 3'e kıyasla

Lenfosit kültürü hücreleri ile yapılan Comet Assay sonuçlarına ait örnek alanlar Resim 21'de verildi. Hazırlanan preparatlarda her grupta 100 adet çekirdek incelendi ve görsel olarak comet görüntüsü tespit edilmedi. Pozitif Kontrol grubu olan H₂O₂ ile muamele edilen preparatlarda oluşan cometler Resim 22'de gösterildi. Çekirdeklerin analiz programı ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen ortalama değerler Tablo 18'da verildi. Pozitif Kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken (p <0.0001), Kontrol, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı bir fark görülmedi (p >0.05).



Resim 21. Lenfosit kültürü sonrası comet görüntüleri. (**K**) Kontrol. (**G1**) 1. Grup. (**G2**) 2. Grup. (**G3**) 3. Grup.



Resim 22. Lenfosit kültürü sonrası Pozitif Kontrol grubu comet görüntüsü

Tablo 18. Lenfosit kültürü sonrası Comet Assay sonuçları (SS: Standart Sapma)

Gruplar	Kuyruk Uzunluğu Ortalama ± SS	Kuyruk Momenti Ortalama ± SS	Kuyruktaki % DNA Ortalama ± SS
Kontrol	0.485±0.131	0.035±0.013	6.456±0.932
Grup 1	0.507±0.080 ^a	0.036±0.016 ^a	6.265±1.797 ^a
Grup 2	0.514±0.076 ^{b,c}	0.033±0.009 ^{b,c}	5.784±1.081 ^{b,c}
Grup 3	0.500±0.050 ^{d,e,f}	0.030±0.006 ^{d,e,f}	5.456±0.927 ^{d,e,f}
Pozitif Kontrol	90.506±26.172 ^{g,h,i,j}	86.978±27.252 ^{g,h,i,j}	86.367±9.477 ^{g,h,i,j}

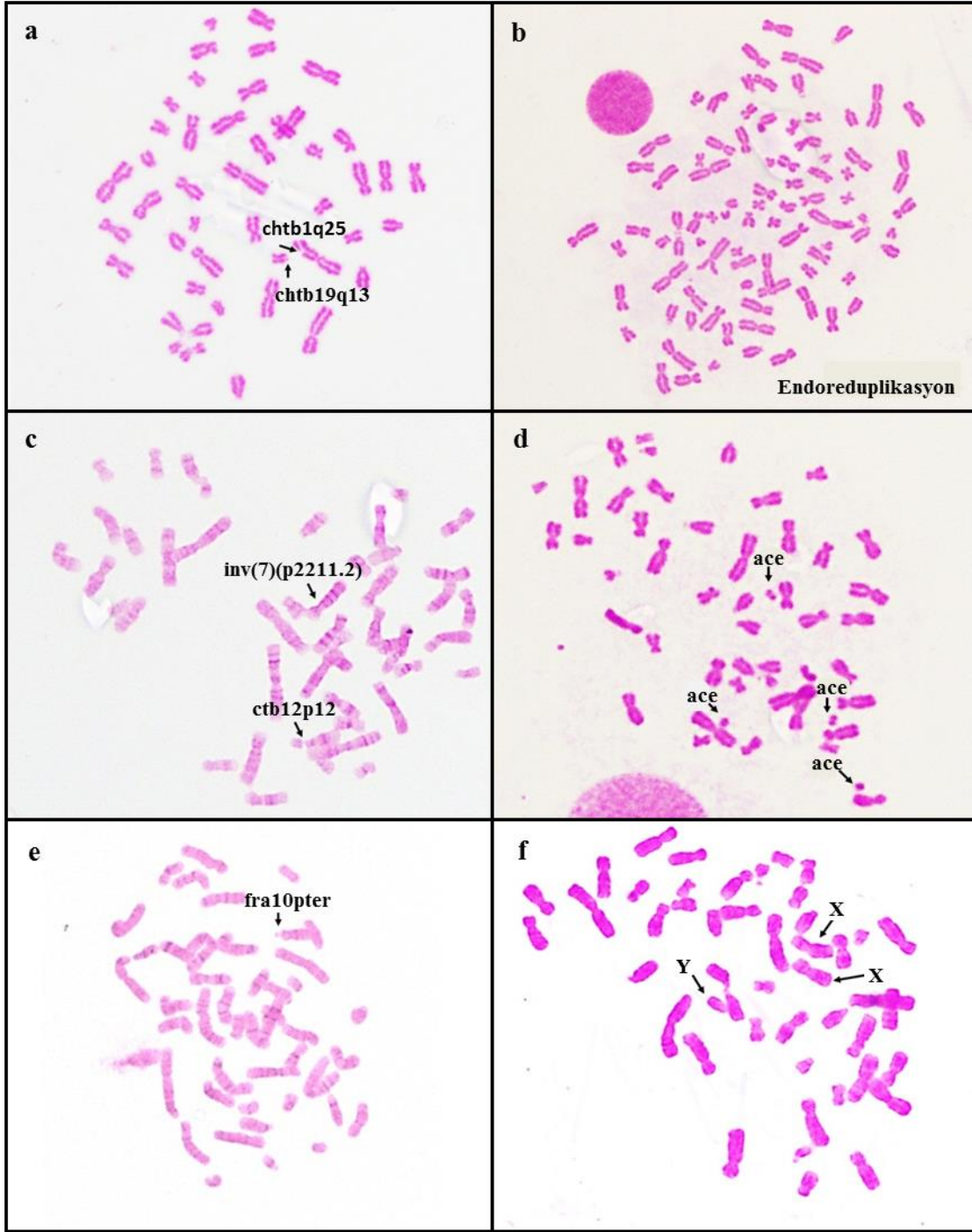
^ap>0.05 Kontrol grubuna kıyasla
^bp>0.05 Kontrol grubuna kıyasla
^cp>0.05 Grup 1'e kıyasla
^dp>0.05 Kontrol grubuna kıyasla
^ep>0.05 Grup 1'e kıyasla
^fp>0.05 Grup 2'e kıyasla
^gp<0.0001 Kontrol grubuna kıyasla
^hp<0.0001 Grup 1'e kıyasla
ⁱp<0.0001 Grup 2'e kıyasla
^jp<0.0001 Grup 3'e kıyasla

4.2.2. Sitogenetik Sonuçları

Her bir grup için incelenen preparatlarda (Kontrol: 196, Grup 1: 249, Grup 2: 154, Grup 3: 200) gözlenen anomaliler ve bunların toplam metafaz plağına göre yüzdelik değerleri Tablo 19'da verilmiştir. Kromozomal anomalilerini gösteren örnek bölgeler Resim 23'de gösterilmiştir.

Tablo 19. Tespit edilen kromozomal anomaliler

Gruplar	Anomaliler						% Anomali Sayısı
	Frajl Bölge (fra)	Tek Kromatid Kırığı (chtb)	Kromozom Kırığı (chb)	İnversiyon (inv)	Asentrik Kromozom (ace)	Diğer	
Kontrol	fra6p21	chtb1q25 chtb19q13				Endoreduplikasyon 47,XY,+18	2.5
Grup 1	fra2pter	chtb1p22				Endoreduplikasyon	1.2
Grup 2	fra5q31 fra1q21 fra1pcent fra1q21 fra1q21	chtb9q11	chb12p12	inv7p22q11.2 inv7p22q11.2	50,XX,+4ace 47,XX,+ace	Endoreduplikasyon	7.8
Grup 3	fra14q24 fra10pter fra1p34 fra2p23					Endoreduplikasyon Multi Kırık 47,XY,+19 47,XXY Anöploidi	4.5



Resim 23. Kromozomal anomali örnek alanları. (a) chtb1q25 ve chtb19q13. (b) Endoreduplikasyon. (c) inv(7)(p22q11.2) ve ctb12p12. (d) ace. (e) fra10pter. (f) 47,XXY.

5. TARTIŞMA

Mani ve depresyon durumlarından oluşan bipolar bozukluk, görülme sıklığı %3 olduğu ve yaklaşık 25 yaşlarında ortaya çıktığı için toplumu sosyoekonomik açıdan etkilemektedir. Toplum ve bireyin kendini olumsuz etkileyen bipolar bozukluğun tedavisinde ilk tercih olarak lityum kullanılmaktadır. FDA onaylı lityumun etkilerini araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır ancak etki mekanizması hala tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Lityumun güvenle kullanılabilmesi için konsantrasyonunun 0.6-1.2 mEq/L aralığında olması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarla konsantrasyonun 1.5 mEq/L olduğu durumlarda toksik etki gösterdiği bulunmuştur (Özdin ve Sarısoy, 2013).

Lityumun terapötik ve toksik dozlarda etkisini araştıran çeşitli çalışmalar yapılmış olsa da literatürde DNA üzerindeki etkisini gösteren sınırlı sayıda *in vitro* çalışma bulunmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında, normal, toksik ve iki kat toksik Li₂CO₃ dozlarının, genotoksisite çalışmalarında hassas olduğu bilinen Comet Assay yöntemi ile *in vivo* ve *in vitro* DNA hasarı oluşturup oluşturmadığını araştırmak ve aynı zamanda biyokimyasal, histolojik ve sitogenetik etkilerini belirlemek amaçlandı.

In vivo değerlendirmeler için Sprague Dawley cinsi sıçanlardan Li₂CO₃ uygulaması öncesi, 15. gün ve deneyin son günü olan 30. günde kan alınarak Comet Assay yapıldı. Her bir örnek için 100 hücre incelendi ve hücrelerde oluşan kuyruk uzunluğu, kuyruk momenti ve kuyruktaki % DNA miktarı ölçülerek deney gruplarında hasar olup olmadığı pozitif kontrole (H₂O₂ uygulaması ile oluşan DNA hasarına) oranla istatistiksel olarak değerlendirildi. Deney sonunda serum ve idrar örneklerinde biyokimyasal değerlere bakıldı ve böbrek dokusunda histopatolojik incelemeler yapıldı. Ayrıca benzer şekilde planlanan *in vitro* çalışmada ise insan lenfosit kültürlerindeki hücrelere yapılan lityum uygulamaları sonrası hem Comet Assay hem de sitogenetik incelemeler yapıldı.

Lityumun diyabet insipidus oluşturduğunu araştıran çalışmalarda, sıçanlara ilk 10 gün boyunca 40 mmol/kg, sonrasında 60 mmol/kg LiCl uygulanmış ve kontrol grubuna oranla lityum uygulama gruplarında su ihtiyaçlarının ve idrar atılımının daha fazla; kilo artışlarının daha az olduğu görülmüştür (Christensen vd., 1985; Marples vd., 1995). Benzer bir çalışmada da, lityumun sıçan böbreklerindeki aquaporin-2 proteinine ve sodyum, potasyum-ATPase mRNA ekspresyonuna etkileri incelenmiş; kontrol grubuna oranla LiCl uygulanan sıçanların su ihtiyaçlarının daha fazla olduğu görülmüştür (Laurson vd, 2004). Yapılan bu tez çalışmasında da, tüm gruplardaki sıçanların deneyin başlangıcında, 15.

günde ve deneyin sonunda ağırlıkları tartılarak 30 gün sonundaki ağırlık artışları hesaplandı. Buna göre yapılan çalışmalara benzer olarak, kontrol grubundaki sıçanların ağırlık artışının terapötik (25 mg/kg), toksik (50 mg/kg) ve iki kat toksik (100 mg/kg) gruplara oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Aynı zamanda sıçanların günlük su tüketim miktarları ölçülerek, iki kat toksik grubun diğer gruplara oranla daha fazla su tükettiği belirlendi ($p<0.0001$). Su tüketiminin fazla olduğu iki kat toksik grubunda eş zamanlı olarak altlık talaşlarının daha hızlı kirlendiğinin gözlenmesi idrar atılımının da fazla olduğunu gösterdi. Yüksek dozlarda lityumun, su tüketiminin ve idrar atılımının fazla, ağırlık artışının ise az olması ile karakterize olan diyabet insipidusa neden olduğunun tespit edilmesi benzer çalışmaları destekler niteliktedir.

Kısa ve uzun süreli lityum tedavisinin böbrek fonksiyonları üzerine etkileri araştırıldığında, Turan vd. (2002) serum BUN ve CreaC seviyelerinin normal aralıklarda olduğunu ve gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığını bulmuşlardır. Taşçı (2018) yaptığı çalışmasında sağlıklı bireylerden aldığı serum örneklerine subterapötik (0.3 mM), terapötik (0.8 mM) ve toksik (3.5 mM) dozlarda lityum uygulayarak CreaC ve üre seviyelerini ölçmüş ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulamamıştır. Yapılan bu tez çalışmasında da benzer olarak lityumun böbrek fonksiyonlarına etkisini görmek için serum CreaC ve BUN seviyelerine bakıldı. CreaC seviyesinde anlamlı bir fark gözlenmezken ($p>0.05$); BUN seviyesinde kontrol grubundan iki kat toksik grubuna doğru anlamlı bir azalış olduğu görüldü ($p<0.05$). BUN seviyesindeki bu azalma terapötik ve toksik dozlarda lityum kullanımının böbrek fonksiyonlarını bozduğunu gösterdi.

Fogo vd. (2016) yaptıkları çalışmada, lityumun proksimal tübüller üzerinde patolojik etki yaptığını ve proksimal tübüllerde atrofiye ve interstisyel fibrozise neden olduğunu bulmuşlardır. Yapılan bu tez çalışmasında da benzer şekilde, sıçanların böbrek dokuları incelendiğinde toksik doz gruplarında terapötik ve kontrol grubuna kıyasla bowman kapsüllerinde büzülme, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon ve intertübüller alanda vasküler konjesyon; yüzey alanları incelendiğinde bowman kapsüllerinde daralma, distal ve peroksimal tübüllerde genişleme gözlemlendi.

Lityumun literatürdeki toksik etkilerini destekleyen bu tez çalışmasının sonuçları, toksik (50 mg/kg) ve iki kat toksik (100 mg/kg) doz uygulamalarının sıçanlarda biyokimyasal ve histolojik olarak toksisite oluşturduğunu kanıtlamaktadır.

Lityumun, oksidatif streten kaynaklı değişiklikleri önlediğini inceleyen çalışmalarda, Albayrak vd. (2013) Wistar cinsi sıçanlara 25 ve 50 mg/kg Li₂CO₃ (Lithuril-Koçak farma) uygulayarak lityumun tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 1 beta (IL-1 β) gibi enflamatuar sitokinlerini azaltma ve SOD'un, glutatyonun (GSH) ve 8-iso-prostaglandin F2 alfa'nın (8-ISO) dokulardaki negatif değişimini iyileştirme kabiliyetini göstermişlerdir. Andrezza vd. (2008) ise lityumun, mani modeli oluşturdukları sıçanlarda, oksidatif stresin neden olduğu DNA hasarını düzelttiğini gözlemlemişlerdir. D-amfetamin (AMPH) ile indükledikleri oksidatif stresin günlük iki doz olarak 47.5 mg/kg Li₂CO₃ uygulanan deney gruplarında modüle edildiğini ve buna bağlı oluşacak DNA hasarının da bu şekilde önüne geçildiğini tespit etmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında, terapötik, toksik ve iki kat toksik dozlarda Li₂CO₃ uygulanan sıçanlarda Comet Assay ile DNA kırıkları tespit edilmemiş olması lityumun benzer şekilde, oluştuğunu düşündüğümüz oksidatif stresi modüle etme özelliğinden kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Weiner vd. (1990) yaptıkları çalışmada lityum hipokloridin (LiOCl) genotoksisitesini araştırmışlardır. Ames testi ile histidin revertantlarında (histidin mutantlarının geriye mutasyonla normale dnenlerinde) nemli bir artış olmadığını; programlanmamış DNA testinde tanecik/nukleus oranında herhangi bir fark bulunmadığını; *in vivo* sitogenetik testte önemli kromozomal anomalilere rastlanmadığını gözlemlemişlerdir. Ancak CHO/HGPRT testinde HGPRT lokusunda gen mutasyonu oluştuğunu; *in vitro* sitogenetik testte LiOCl'nin dozu yükseldikçe kromozomal kırıklar ve boşluklar oluştuğunu; yüksek dozlarda LiOCl uygulanan farelerin öldüğünü tespit etmişlerdir.

Lityum terapisi alan bipolar bozukluk hastalarında kromozomal anomalilerin incelendiği çalışmalarda, Matsushima vd. (1986) sitogenetik incelemeler sonucunda kromozomal anomalinin yok denecek kadar az bulunmuşken, Bigatti vd. (1998) uzun dönemli tedavi gruplarında kontrole oranla yüksek oranda SCE ve kromozomal anomaliler tespit etmişlerdir.

Sobti vd. (1989) yaptıkları çalışmalarında farelere LiCl, Li₂CO₃ ve C₂H₃LiO₂ uygulayarak yüksek dozlarda lityumun kromozomal anormalilere neden olduğunu; Li₂CO₃'ın farede toksisite oluşturduğunu; doza bağlı olarak C₂H₃LiO₂'ın SCE'ye neden

olduğunu tespit etmişlerdir. Smithberg ve Dixit (1982) ise lityumun farelerde teratojenik etki yaptığını belirlemişlerdir.

Weiner vd. (1990), Matsushima vd. (1986), Bigatti vd. (1998), Sobti vd. (1989) ve Smithberg ve Dixit (1982) tarafından yapılan çalışmalara dikkat edildiğinde sitogenetik ağırlıklı oldukları ancak DNA kırıklarının incelemeye yönelik testler yapılmamış olduğu görülmektedir. Yapılan bu tez çalışmasında ise lityumun DNA hasarı üzerine etkileri sıçanlarda Comet Assay ile incelendi ve Li_2CO_3 'ün DNA'da hasar oluşturmadığı görüldü.

Lityumun toksik ve genotoksik etkilerini araştıran çeşitli *in vitro* çalışmalar bulunmakta olup bunlardan bazıları aşağıda özetlendi.

Pastor vd. (2009), CHO hücre kültürüne 1-30 mM aralığında Li_2CO_3 ve LiCl ekleyerek Sülforamidin B (SRB) testi yaptıklarında Li_2CO_3 'ün 1-5 mM'da toksik olduğunu ve LD₅₀'nin 5 mM olduğunu; LiCl'nin ise 6 mM üstü toksik olduğunu ve LD₅₀'nin 15 mM olduğunu tespit etmişlerdir. Mikronükleus testi ile Li_2CO_3 için 2.2-10 mM'da, LiCl için 5-20 mM'da mikronükleuslarda artma olduğunu ve anti-kinetektor testi ile de kinetektor pozitif olduğunu bularak anöploidi göstermişlerdir. Sitogenetik analiz yaparak kontrole göre fark olmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca Comet Assay ile 10 mM Li_2CO_3 'ün ve 20 mM LiCl'nin kuyruk momentinde kontrole göre artış oluşturmadığını görmüşlerdir.

De La Torre vd. (1976) sağlıklı bireylerden kan alarak yaptıkları kültür çalışmasına LiCl (0.5 mg, 1.0 mg ve 1.5 mg) uygulamışlar ve kontrole oranla diğer gruplarda kromozomal anomalilerde artış belirlemişlerdir. Kültüre ³H işaretli timidin eklediklerinde kontrol grubuna kıyasla tedavi grubunda replikasyonun azaldığını tespit etmişlerdir. Lityum tedavisi alan hastalardan alınan kanlarla yaptıkları sitogenetik çalışmada ise kontrol olan sağlıklı bireylere göre kromozomal anomaliler belirlemişlerdir.

Adar (2015) yaptığı çalışmada, 1 kişiden aldığı kanla kültür ortamında oluşturduğu gruplara 1 mM'den 16 mM'ye kadar Li_2CO_3 , pozitif kontrol grubuna da 100 μM H_2O_2 ekleyerek 3-(4,5-dimetil tiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT), total oksidan seviyesi (TOS), total antioksidan seviyesi (TAS), oksidatif stres indeksi (OSI) ve Comet Assay testleri yapmıştır. Çalışmasının sonucunda Li_2CO_3 'ün oksidatif hasar ve DNA hasarı oluşturmadığını ancak yüksek dozlarda Li_2CO_3 'ün canlılığı etkilediğini bulmuştur.

DNA hasarının araştırılması ile diğer genotoksisite çalışmalarından ayrılan bu tezin *in vitro* çalışmasında, normal ve toksik doz uygulamalarında DNA kırıklarına rastlanmadı

ancak yapılan çalışmalara benzer olarak toksik lityum dozlarında kromozomal anomaliler oluştuğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, *in vivo* ve *in vitro* uygulamaları içeren ve DNA kırıklarının incelenmesi ile de diğer genotoksisite çalışmalarından ayrılan bu tez çalışmasında, lityumun terapötik ve toksik dozlarda Comet Assay ile gözlenebilecek derecede DNA kırığı oluşturmadığı ancak literatürle uyumlu olarak toksik dozlarda lityumun *in vivo* koşullarda diyabet insipidus oluşumuna ve histopatolojik bozukluklara neden olarak toksisite oluşturduğu ve *in vitro* koşullarda ise kromozomal anomalilere neden olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar dikkate alınarak, Li_2CO_3 'ın toksik dozlara ulaşmadığı sürece klinikte kullanımının genotoksisite açısından güvenli olacağı söylenbilir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- 1) Yüksek dozlarda Li_2CO_3 , sıçanlarda toksisite oluşturarak diyabet insipidus oluşmuna, biyokimyasal ve histopatolojik bozukluklara neden olur.
- 2) Yüksek dozlarda Li_2CO_3 , insan lenfosit kültüründe kromozomal anomaliler görülmesine neden olur.
- 3) Li_2CO_3 , sıçanlarda ve insan lenfosit kültüründe Comet Assay ile gözlenebilecek derecede DNA hasarına neden olmaz.
- 4) Li_2CO_3 kullanımında serum lityum konsantrasyonunun toksik düzeye ulaşmamasına (0.6-1.2 mEq/L aralığında kalmasına) dikkat edilmelidir.
- 5) Terapötik doz aralığında Li_2CO_3 'ın kullanım güvenliğinden emin olabilmek için uzun süreli tedavi altındaki hastalardan en az yılda bir kere alınacak kan örneklerinin genotoksisite açısından incelenmesi önerilir.

7. KAYNAKLAR

Adar B (2015). Lityum Karbonatın İn Vitro Ortamda İnsan Lenfositlerindeki Sitotoksosite, Genotoksosite ve Oksidatif Durum Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa

Ahluwalia KB (2009). Genetics. 2nd ed. New Age International Publishers, Hindistan, Page 303.

Albayrak A, Halici Z, Polat B, Karakus E, Cadirci E, Bayir Y, Kunak S, Karcioğlu SS, Yiğit S, Unal D, Atamanalp SS (2013). Protective effects of lithium: a new look at an old drug with potential antioxidative and anti-inflammatory effects in an animal model of sepsis. *International immunopharmacology* 16(1): 35-40.

Allagui MS, Vincent C, Gaubin Y, Croute F (2007). Lithium toxicity and expression of stress-related genes or proteins in A549 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1773(7): 1107-1115.

Andreazza AC, Kauer-Sant'Anna M, Frey BN, Stertz L, Zanotto C, Ribeiro L, Giasson K, Valvassori SS, Reus GZ, Salvador M, Quevedo J, Gonçalves CA, Kapczinski F (2008). Effects of mood stabilizers on DNA damage in an animal model of mania. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN* 33(6): 516.

Andreazza AC, Duong A, Young LT (2018). Bipolar disorder as a mitochondrial disease. *Biological psychiatry* 83(9): 720-721.

Becker RW, Tyobeka EM (1990). Lithium enhances the proliferation of HL-60 promyelocytic leukemia cells. *Leukemia research* 14(10): 879-884.

Best BP (2009). Nuclear DNA damage as a direct cause of aging. *Rejuvenation research* 12(3): 199-208.

Bigatti MP, Corona D, Munizza C (1998). Increased sister chromatid exchange and chromosomal aberration frequencies in psychiatric patients receiving psychopharmacological therapy. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 413(2): 169-175.

Bille PE, Jensen MK, Jensen JPK, Poulsen JC (1975). Studies on the haematologic and cytogenetic effect of lithium. *Acta Medica Scandinavica* 198(1-6): 281-286.

Boutet E, Trouche D, Canitrot Y (2013). Neutral comet assay.

Bütüner BD, Kantarcı GM (2006). DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. *Ankara Ecz. Fak. Derg* 35: 2.

Cell Biolabs Inc. (2019). Comet Assay Kits, 96-well [online]. Available from: <https://www.cellbiolabs.com/comet-assay-kits-96-well> (Accessed 31 October 2019)

Christensen S, Kusano E, Yusufi AN, Murayama N, Dousa TP (1985). Pathogenesis of nephrogenic diabetes insipidus due to chronic administration of lithium in rats. *The Journal of clinical investigation* 75(6): 1869-1879.

Collins A, Duřinská M, Franklin M, Somorovská M, Petrovská H, Duthie S, Fillion L, Panayiotidis M, Rařlová K, Vaughan N (1997). Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation, and applications. *Environmental and molecular mutagenesis* 30(2): 139-146.

Collins AR (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Molecular biotechnology* 26(3): 249.

De Bont R, Van Larebeke N (2004). Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis* 19(3): 169-185.

De La Torre R, Krompotic E, Kowlessard L (1976). The in vivo and in vitro effects of lithium on human chromosomes and cell replication. *Teratology* 13(2): 131-138.

Demirel S, Zamani AG (2002). Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Dergisi* 12(3): 123-127.

Demirhan O, Taştemir D (2008). Cytogenetic effects of ethanol on chronic alcohol users. *Alcohol & Alcoholism* 43(2): 127-136.

Diñer Y, Akçay T (2000). DNA hasarı. *Türk Biyokimya Dergisi* 25(2): 73-79.

Diñer Y, Kankaya S (2010). DNA hasarının belirlenmesinde Comet assay. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 30(4): 1365-1373.

Doak SH, Manshian B, Jenkins GJS, Singh N (2012). In vitro genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 745(1-2): 104-111.

Eker ÖD, Eker MÇ (2010). Lityumun Metabolik Yan Etkileri/Metabolic Side Effects of Lithium. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler* 2(1): 26.

Eroğlu MZ, Özpoyraz N (2010). Bipolar bozuklukta koruyucu tedavi. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar* 2(2): 206-236.

Ertan T (2008). Psikiyatrik bozuklukların epidemiyolojisi. Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyumu, İstanbul, 6-7 Mart 2008, 25-30.

Fidan AF (2005). DNA hasar tespitinde tek hücre jel elektroforezi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 8(1): 41-52.

Fogo AB, Lusco MA, Andeen NK, Najafian B, Alpers CE (2017). AJKD Atlas of renal pathology: lithium nephrotoxicity. *American Journal of Kidney Diseases* 69(1): e1-e2.

Friedberg EC, McDaniel LD, Schultz RA (2004). The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis. *Current opinion in genetics & development*, 14(1), 5-10.

Grande I, Berk M, Birmaher B, Vieta E (2016). Bipolar disorder. *The Lancet* 387: 1561-1572.

Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P, Collins A, Smith A, Speit G, Thybaud V, Tice RR (2003). Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis* 18(1): 45-51.

Imlay JA, Linn S (1988). DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 240(4857): 1302-1309.

Kizilkurt OK, Gulec MY, Giynas FE, Gulec H (2018). Effects of personality functioning on the global functioning of patients with bipolar disorder I. *Psychiatry research* 266: 309-316.

Klug WS, Cummings MR, Spencer CA (2011). *Genetik Kavramlar*. 8th ed. Çeviren: Öner C, Sümer S, Öner R, Ögüş A, Açıık L, Palme Yayıncılık, Ankara, 366-372.

Kow YW (2002). Repair of deaminated bases in DNA. *Free Radical Biology and Medicine* 33(7): 886-893.

Latt SA, Schreck RR (1980). Sister chromatid exchange analysis. *American journal of human genetics* 32(3): 297.

Laursen UH, Pihakaski-Maunsbach K, Kwon TH, Jensen EØ, Nielsen S, Maunsbach AB (2004). Changes of rat kidney AQP2 and Na, K-ATPase mRNA expression in lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus. *Nephron Experimental Nephrology* 97(1): e1-e16.

Malhi GS, Tanious M, Das P, Coulston CM, Berk M (2013). Potential mechanisms of action of lithium in bipolar disorder. *CNS drugs* 27(2): 135-153.

Marples D, Christensen S, Christensen EI, Ottosen PD, Nielsen S (1995). Lithium-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla. *The Journal of clinical investigation* 95(4): 1838-1845.

Matsushima Y, Hazama H, Kishimoto A (1986). Chromosome examination of patients under lithium therapy. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 40(4): 625-630.

Merikangas KR, Jin R, He JP, Kessler RC, Lee S, Sampson NA, Viana MC, Andrade LH, Hu C, Karam EG, Ladea M, Medina-Mora ME, Ono Y, Posada-Villa J, Sagar R, Wells JE, Zarkov Z (2011). Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Archives of general psychiatry* 68(3): 241-251.

Mortelmans K, Zeiger E (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis* 455(1-2): 29-60.

Mwaheb MA, Sayed ON, Mohamed SH (2016). Protective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on Lithium induced renal and testis toxicity in albino rats. *J Drug Metab Toxicol* 7(4).

National Institute of Mental Health (2019). Health topics Bipolar Disorder [online]. Available from: <https://www.nimh.nih.gov/health/topics/bipolar-disorder/index.shtml> (Accessed 24 October 2019)

Oktem F, Ozguner F, Sulak O, Olgar Ş, Akturk O, Yilmaz HR, Altuntas I (2005). Lithium-induced renal toxicity in rats: protection by a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Molecular and cellular biochemistry* 277(1-2): 109-115.

Onur E, Tuğrul B, Bozyiğit F (2009). DNA hasarı ve onarım mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 7(2): 61-70.

Ostling O, Johanson KJ (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and biophysical research communications* 123(1): 291-298.

Özdin S, Sarısoy G (2013). Lityumun nörolojik yan etkileri. *Journal of Mood Disorders* 3(3): 119-27.

Passarge E (2007). *Color Atlas of Genetics*. 3th ed. Thieme Publishers, New York, 82.

Pastor N, Kaplan C, Domínguez I, Mateos S, Cortés F (2009). Cytotoxicity and mitotic alterations induced by non-genotoxic lithium salts in CHO cells in vitro. *Toxicology in vitro* 23(3): 432-438.

Perry PE, Thompson EJ (1984). *Handbook of mutagenicity test procedures. The methodology of sister chromatid exchanges*. 2nd ed. Elsevier Science, Amsterdam.

Pinkel D, Thompson LH, Gray JW, Vanderlaan M (1985). Measurement of sister chromatid exchanges at very low bromodeoxyuridine substitution levels using a monoclonal antibody in Chinese hamster ovary cells. *Cancer research* 45(11 Part 2): 5795-5798.

Rueff J, Bras A, Cristovao L, Mexia J, Costa MS, Pires V (1993). DNA strand breaks and chromosomal aberrations induced by H₂O₂ and ⁶⁰Co γ -radiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 289(2): 197-204.

Rydberg B, Johanson KJ (1975). Radiation-induced DNA strand breaks and their rejoining in crypt and villous cells of the small intestine of the mouse. *Radiation research* 64(2): 281-292.

Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental cell research* 175(1): 184-191.

Smithberg M, Dixit PK (1982). Teratogenic effects of lithium in mice. *Teratology* 26(3): 239-246.

Sobti RC, Sharma M, Gill RK (1989). Frequency of sister chromatid exchanges (SCEs) and chromosome aberrations (CAs) caused by three salts of lithium (in vivo). *Cytologia* 54(2): 245-248.

Sproule B (2002). Lithium in bipolar disorder. *Clinical pharmacokinetics* 41(9): 636-660.

Stopper H, Müller SO (1997). Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: a minireview. *Toxicology in vitro* 11(5): 661-667.

Şekeroğlu ZA, Şekeroğlu V (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi* 4(3): 221-229.

Şengül C, Şengül CB, Okay T, Dilbaz N (2004). Ellibeşinci Yılında Lityumun Öyküsü. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 14(1).

Taşçı İ (2018). Preanalitik Değişken Olarak Lityum, Salisilat ve Parasetamol İçerikli İlaç Kullanımının Biyokimyasal Analiz Parametreleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Giresun

Toğay VA (2015). İyonize Radyasyona Maruz Kalan Radyoloji Çalışanlarında Oluşan DNA Hasarlarının Alkali Comet Metodu İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Isparta

Topaktaş M, Rencüzoğulları E (1995). Sitogenetik. Çukurova Üniv. Fen Edebiyat Fakültesi. Adana.

Topaktaş M, Rencüzoğulları E (2010). Sitogenetik. Nobel Yayın Dağıtım.

Turan T, Eşel E, Tokgöz B, Aslan S, Sofuoğlu S, Utaş C, Keleştimur F (2002). Effects of short-and long-term lithium treatment on kidney functioning in patients with bipolar mood disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 26(3): 561-565.

Vahip S (1999). Araştırmalardan klinik uygulamaya bipolar depresyon tedavisi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 9(4): 213-221.

Weiner ML, Batt KJ, Putman DL, Curren RD, Yang LL (1990). Genotoxicity evaluation of lithium hypochlorite. *Toxicology* 65(1-2): 1-22.

Wilson III DM, Thompson LH (2007). Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 616(1-2): 11-23.

Yeloğlu ÇH (2017). Önemli bir ruh sağlığı sorunu: bipolar bozukluk. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi* 8(30): 41-54.

Yüzbaşıoğlu D, Zengin N, Ünal F (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. Gıda 39(3): 179-186.

Zencir C, Karakuş K, Kocabaş O, Bahtiyar G, Selvi M, Karaman K (2018). Bipolar Bozukluk Hastalarında Lityum Tedavisinin Ventriküler Repolarizasyon Üzerine Etkileri. Koşuyolu Heart Journal 21(3): 193-197.





EKLER

Ek 1. Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Onay Belgesi

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):56		
	ÇALIŞMANIN ADI	Bipolar Bozukluk Tedavisinde Kullanılan Lityumun Comet Assay ile Genotoksosite Açısından <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> Değerlendirilmesi	
	Title	<i>In vivo</i> and <i>in vitro</i> Evaluation of Lithium Used in the Treatment Bipolar Disorder via Comet Assay in Terms of Genotoxicity	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Prof.Dr.Ali İrfan GÜZEL	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Ayşe Nur AKMEHMET, Bülent BAHÇECİ , Atilla TOPÇU	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2018/56	Tarih (Date): 23.11.2018
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, Prof.Dr.Ali İrfan GÜZEL 'in sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.	
	<input checked="" type="checkbox"/> Accepted	<input type="checkbox"/> Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç.Dr. Fikri BALTA (Başkan,Müdür)	Su Ürünleri	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Levent TÜMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Ayşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Medeni ARPA (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Murat ALKURT (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay.Uy.ve Arş.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sağlık Sen	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

*Araştırma ile ilişki(Relationtotheproject, E: Yes, H: No)

**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)

Ek 2. Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onayı



RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bipolar Bozukluk Tedavisinde Kullanılan Lityumun Comet Assay ile Genotoksosite Açısından <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	208

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ali İrfan GÜZEL			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	RTEÜ Tıp Fakültesi			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yüksek Lisans Öğrencisi Ayşe Nur AKMEHMET			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Bülent BAHÇECİ			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Atilla TOPÇU			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	-----			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	-----			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	-----			
	ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	-----			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi Atilla TOPÇU
İmzası

Sayfa 1

Ek 2. (Devam)



RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bipolar Bozukluk Tedavisinde Kullanılan Lityumun Comet Assay ile Genotoksitate Açısından <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	208

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof. Dr. Ali İrfan GÜZEL		
Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI	07.11.2018	208	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	07.11.2018	208	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
Karar Bilgileri	Karar No: 2018/180	Tarih: 05.12.2018		
	Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "Oy birliği" ile karar verilmiştir.			

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI Dr. Öğr. Üyesi Atilla TOPÇU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Dr.Öğr.Üyesi Atilla TOPÇU (Başkan)	Tıbbi Farmakoloji	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	-----
Dr.Öğr.Üyesi Mehmet ALTUNTAŞ (Raportör)	Acil Tıp	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Ömer ŞATIROĞLU (Üye)	Kardiyoloji	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Hüseyin Avni UYDU	Tıbbi Biyokimya	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Özlem CELEBİ ERDİVANLI (Üye)	Kulak-Burun-Boğaz Hastalıkları	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Oğuz KÖSE (Üye)	Periodontoloji	RTEÜ Diş Hek. Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Fatma BEYAZAL CELİKER (Üye)	Radyoloji	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Uğur KOSTAKOĞLU (Üye)	Enfeksiyon Has. Ve Klinik Mikr.	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Tahsin Gökhan TELATAR (Üye)	Halk Sağlığı	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Kader Semra KARATAŞ (Üye)	Ruh Sağlığı ve Hast.	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Şule BATÇIK (Üye)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Turgay AYDIN (Üye)	Çocuk Sağ. Ve Hast.	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Sabri ÇOLAK (Üye)	Kadın Hast. ve Doğum	RTEÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Nuray DEMİRCİ GÜNGÖRDÜ (Üye)	Tıp Tarihi ve Etik	RTEÜ Sağlık Yüksekokulu	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	-----

* :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER		
Soyadı, Adı	AKMEHMET Ayşe Nur	
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	
Doğum Tarihi ve Yeri	16.04.1993/ Rize	
E-Posta	ayse_nur_akmehmet@hotmail.com	
EĞİTİM BİLGİLERİ		
Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Bölümü	Halen
Lisans	Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2016
Lise	Şehit Kemal Mutlu Anadolu Öğretmen Lisesi	2011
YABANCI DİL		
İngilizce	İyi	
Almanca	Başlangıç	