

**BAZI ATİPİK ANTİPSİKOTİK İLAÇLARIN
GENOTOKSİK ETKİ POTANSİYELLERİNİN
TEK HÜCRE JEL ELEKTROFOREZ VE
MİKROÇEKİRDEK
YÖNTEMLERİYLE ARAŞTIRILMASI**

Başak TOĞAR

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

2010

Her Hakkı Saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI ATİPİK ANTİPSİKOTİK İLAÇLARIN
GENOTOKSİK ETKİ POTANSİYELLERİNİN
TEK HÜCRE JEL ELEKTROFOREZ VE MİKROÇEKİRDEK
YÖNTEMLERİYLE ARAŞTIRILMASI**

Başak TOĞAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

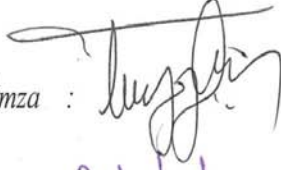
ERZURUM

2010


Her Hakkı Saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ danışmanlığında Başak TOĞAR tarafından hazırlanan bu çalışma 12/07/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Genel Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd.Doç.Dr.Turgay ŞİŞMAN

İmza : 

Üye : Yrd.Doç.Dr. Hakan AŞKIN

İmza : 

Üye : Yrd.Doç.Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım

İmza

.....

Prof. Dr. Ömer AKBULUT
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ATİPİK ANTİPSİKOTİK İLAÇLARIN GENOTOKSİK ETKİ POTANSİYELLERİNİN TEK HÜCRE JEL ELEKTROFOREZ VE MİKROÇEKİRDEK YÖNTEMLERİYLE ARAŞTIRILMASI

Başak TOĞAR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

Olanzapin (OLZ), Risperidon (RPD) ve Ketiapin (QTP) başta şizofreni olmak üzere pek çok ruhsal hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan atipik antipsikotik ilaçlardır. Ancak son araştırmalar atipik antipsikotiklerin sinir ve kardiyovasküler sistemler üzerinde toksik etkilere sebep olduğunu ortaya koymaktadır. Bilgilerimize göre, OLZ, RPD ve QTP'nin insan lenfosit kültürlerinde genotoksik hasar potansiyellerine dair çok az bilgi bulunmaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışmada OLZ, RPD ve QTP'nin (0 - 400 mg/L) insan tam kan kültürlerinde genotoksik etki potansiyelleri değerlendirildi (n=4). DNA hasarını belirlemek için tek hücre jel elektroforezi (SCGE) ve mikroçekirdek (MÇ) testleri uygulandı. Sonuçlarımız test edilen antipsikotik ilaçların genotoksik etkiye sahip olmadığını ortaya koydu. Nitekim toplam DNA hasarı puanı (SCGE testi) ve MÇ/1000 hücre değerleri ile kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Ancak ilaçların yüksek dozları (250 mg/L ve üzeri) kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkiledi. Sonuç olarak atipik antipsikotiklerin kullanımının güvenilir olduğu fakat maruz kalınan dozun artışına bağlı olarak ortaya çıkabilecek sitotoksik etkilerin dikkate alınması gerektiği kanaatine varıldı.

2010, 45 sayfa

Anahtar Kelimeler: İnsan lenfositleri, mikroçekirdek testi, ketiapin, olanzapin, risperidon, tek hücre jel elektroforezi

ABSTRACT

MS Thesis

THE INVESTIGATION OF THE GENOTOXIC POTENTIALS OF SOME ATYPIC ANTIPSYCHOTIC DRUGS BY SINGLE CELL GEL ELECTROPHORESIS AND MICRONUCLEUS ASSAYS IN HUMAN LYMPHOCYTES

Başak TOĞAR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ

Olanzapine (OLZ), Risperidone (RPD) and Quetiapine (QTP) are atypical antipsychotic drugs and are commonly used for the treatment of schizophrenia and other disorders. However, recent reports indicated that these drugs could exhibit toxic effects on nervous and cardiovascular systems. To our best knowledge, there is scarce data considering the genotoxic damage potentials of OLZ, RPD and QTP on human lymphocyte culture system. Therefore, in this study, the genotoxic potentials of OLZ, RPD and QTP (0 to 400 mg/L) have been evaluated in human whole blood cultures (n=4). The single cell gel electrophoresis (SCGE) and micronucleus (MN) assays were applied to estimate the DNA damage. The results of the present study indicated that the tested antipsychotic drugs did not induce genotoxicity. In fact, the mean values of the total scores of cells showing DNA damage (for SCGE assay) and MN/1000 cell were not found significantly different from the control values ($p>0.05$). However, the application of the highest drug concentrations (250 mg/L and above) caused to sterility. It is concluded that the tested three different atypical antipsychotic drugs can be used safely, but it is necessary to consider the cytotoxic effects that are likely to appear depending on the increases of doses exposed.

2010, 45 pages

Keywords: Human lymphocytes, micronucleus assay, quetiapine, olanzapine, risperidone, single cell gel electrophoresis

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu alışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakóltesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır.

Çalışmalarım süresince görüş ve bilgi birikiminden yararlandığım değerli hocam ve danışmanım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ'e sonsuz teőkükürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarımda yardım ve desteğini gördüğüm değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. İsmet KIRPINAR'a, Sayın Prof. Dr. Sait KELEŐ'e Sayın Doç. Dr. Abdulgani TATAR'a, Sayın Doç. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na, Sayın Doç. Dr. Fatime GEYİKOĞLU'na ve biyoloji bölümünün öğretim üyelerine teőkükürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Elanur AYDIN'a, Adem GÜNER'e ve Ebubekir DİRİCAN'a teőkükürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında maddi manevi her konuda yanımda olan ve benden destek ve ilgilerini esirgemeyen çok değerli annem Gülten TOĞAR'a, babam Kemal TOĞAR'a ve abim Barış TOĞAR'a şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Bu alışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu (2009-93 nolu proje ile) tarafından desteklenmiştir.

Başak TOĞAR

Temmuz 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Psikotik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar	2
1.2. Antidepresanlar	2
1.3. Antipsikotikler	4
1.3.1. Tipik antipsikotikler	4
1.3.2. Atipik antipsikotikler	5
1.4. Psikotik ve antipsikotik ilaçların toksik etkileri	6
1.4.1. Endokrin toksisite	6
1.4.2. Gelişim toksisitesi	7
1.4.3. Miyotoksisite	7
1.4.4. Hepatotoksisite	8
1.4.5. Kardiyotoksisite.....	8
1.4.6. Oküler toksisite.....	8
1.4.7. Hematotoksisite	9
1.4.8. Nörotoksisite	9
1.4.9. Genotoksisite	10
1.4.10. Karsinojenite.....	11
1.4.11. Antipsikotiklerin diğer yan etkileri	14
1.5. Genetik toksisite ve testleri.....	15
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM	22
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Kan örneklerinin alınması ve kültürlerin kurulması.....	22

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler	23
3.1.3. Kullanılan aletler ve cihazlar	23
3.1.4. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması	24
3.2. Yöntemler	25
3.2.1. Genotoksisite testleri	25
3.2.2. İstatistiksel yöntem	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	30
4.1. Genetik bulgular	30
4.1.1. Bazı atipik antipsikotik ilaçların <i>in vitro</i> şartlarda mikroçekirdek sıklığı üzerine etkileri.....	30
4.1.2. Bazı atipik antipsikotik ilaçların <i>in vitro</i> şartlarda toplam hasar puan değerleri üzerine etkileri	32
5. TARTIŞMA.....	35
5.1. Sonuç	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	46

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

kg	kilogram
L	litre
µg	mikrogram
mg	miligram
mL	mililitre
mM	milimolar
%	yüzde konsantrasyon

Kısaltmalar

APP	Aripiprazol
5HT1-2	Serotonin 1 ve 2 reseptörleri
CHO	Chinese hamster ovaryum
CLZ	Klozapin
D1-2	Dopamin 1 ve 2 reseptörleri
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
ELISA	Enzim ilintili immün test
FITC	Floresan izotiosiyanat
HLP	Haloperidol
KKD	Kardeş kromatid değişimi
MÇ	Mikroçekirdek
MN	Mikronukleus
OLZ	Olanzapin
PBS	Phosphate Buffer Saline
QTP	Ketiapin
RPD	Risperidon
SCE	Sister chromatit exchange
SCGE	Single cell gel electrophoresis
ZPD	Ziprasidon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. <i>In vitro</i> koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre değerleri	32
Şekil 4.2. <i>In vitro</i> koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu toplam hasar puanları	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Tedavi amacıyla kullanılan başlıca antidepresanlar ve işlevleri	3
Çizelge 1.2. Tedavi amacıyla kullanılan başlıca antipsikotikler	5
Çizelge 1.3. OLZ'nin genotoksik ve karsinojenik etkileri	12
Çizelge 1.4. RPD'nin genotoksik ve karsinojenik etkileri	13
Çizelge 1.5. QTP'nin genotoksik ve karsinojenik etkileri	13
Çizelge 3.1. Test bileşikleri ve uygulanan konsantrasyonları	22
Çizelge 3.2. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar	23
Çizelge 4.1. <i>İn vitro</i> koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre değerleri	31
Çizelge 4.2. <i>İn vitro</i> koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu toplam hasar puan değerleri	33

1. GİRİŞ

Yaşadığımız yüzyılda insanoğlu değişen ve gelişen dünyaya uyum sağlamak, bilim ve teknolojinin hızlı gelişimine ayak uydurmak için birçok sorunla başa çıkmak zorundadır. Teknolojinin gelişimiyle ortaya çıkan hava ve su kirliliği, gürültü kirliliği, radyasyon gibi çevresel etkenler, ekonomik krizin yarattığı işsizlik problemleri, sosyal hayatta yaşanan zorluklar insanların yaşam kalitesini azaltmakta ve strese sokmaktadır. Stres insan sağlığını fiziksel, ruhsal ve zihinsel açıdan tehdit etmektedir. Stres altındaki kişilerde huzursuzluk, uykusuzluk, sinirlilik, aşırı yemek yeme ya da yememe, alkol ve uyuşturucuya yatkınlık gibi bir takım önemli belirtiler görülmektedir (Demir 2007). Yaşanan sıkıntı ve stres başta depresyon olmak üzere çok çeşitli ruhsal hastalıklara zemin hazırlamaktadır (Ünal ve Özcan 2000).

Günümüzde yaygın olarak görülen ruhsal hastalıkların başında depresyon, anksiyete bozuklukları ve şizofreni gelmektedir.

Depresyon: Depresyon bireyi günlük yaşamından koparan, yaşam kalitesinde azalmaya yol açan, zaman zaman tekrarlayan ve tedavi edilebilen bir hastalık olarak görülmektedir. Depresyonun yol açtığı yeti kaybı sosyal ve mesleki alanlarda görüldüğünde kişinin aile düzeninde ve ekonomik durumunda olumsuz etkilere yol açmaktadır (Özyüksel 2007). Depresif olmak, eğitim düzeyi düşüklüğü, olumsuz yaşam olayları, bedensel hastalıklar ve tedavi süreçleri, işsizlik ve sosyo-ekonomik düzeyin düşüklüğü depresyon için başlıca risk etmenlerindedir (Ünal ve Özcan 2000). Depresyon geçiren bir hastanın ikinci bir depresyon geçirme ihtimalinin 2 yıl içinde %40, 5 yıl içinde %60, 10 yıl içinde %75 ve 15 yıl içinde %85 olarak bildirilmiştir (Akkaya 2005). Ayrıca depresyon geçiren hastaların intihar etme oranının %15 ve ölüm oranının ise %1 olduğu rapor edilmiştir (Örsel 2004).

Anksiyete Bozuklukları: Anksiyete dilimizde sıkıntı, bunaltı ya da kaygı anlamına gelen bir sözcüktür. Psikiyatride anksiyete normal dışı tedirginlik ve endişe hali olarak

ifade edilmektedir. Anksiyete bozukluğunda kişi bulunduğu sosyal ortamda eleştirileceği konusunda aşırı korku duymaktadır. Bu korku kişide kızarma, terleme, titreme, çarpıntı gibi belirtilerle kendini göstermektedir (Dilbaz 2000).

Şizofreni: Bu hastalık ilk kez Eugene Bleuler (1857-1939) tarafından şizofreni adı altında tanımlanmış ve tarif edilmiştir. Hastalığa ruhsal hayattaki zihin bölünmesinden yola çıkılarak şizofreni adı verilmiştir (Karan vd 1981). Şizofreni klinik belirtileri ve seyri bakımından çeşitlilik gösteren ağır bir ruhsal hastalıktır. Hastalıkta öğrenme, çalışma, duygu, düşünce, kişiler arası ilişkiler gibi zihinsel ve sosyal alanlarda bozukluklar görülmektedir. Şizofrenide negatif (içe kapanma, fiziksel yavaşlık, karşılıklı konuşmama, kişinin kendini ihmal etmesi) ve pozitif (halisünasyon, sanrı, şüphecilik) semptomlar görülmektedir (Aydemir 2002). Dünyada görülme olasılığının %1 olduğu kaydedilmiştir (Tav 2006).

22q11.2 delesyonunun çocuklarda ve yetişkinlerde şizofreniye sebep olduğuna dair nadir bilgiler bulunmaktadır. 22q11.2 delesyonunun gelişimsel, davranışsal ve psikiyatrik bir takım sorunlara yol açtığı, bu durumun yaklaşık 10-12 yıl sonra ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Briegel 2007).

Psiko-sosyal hayatı etkileyen bu hastalıkların tedavisinde psikoterapi, elektroşok ve ilaç tedavisi uygulanmaktadır. Psikofarmakoloji bilimi 1950’de Pierre Deniker, Henri Laborit ve Jean Delay’ın klorpromazini bulmasıyla ortaya çıkmıştır (Karan vd 1981). 1950’li yıllardan bu yana ruhsal hastalıkların tedavisi için pek çok ilaç geliştirilmiştir.

1.1. Psikotik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar

1.2. Antidepresanlar

Antidepresanlar nörotransmitterlerin işlevlerini değiştirerek etki göstermektedirler. Duygu durum bozuklukları, panik atak, takıntı hastalığı, uyku bozuklukları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar (Ceylan ve Yazan 1998). Tedavi amacıyla

kullanılan başlıca antidepresanlar ve işlevleri aşağıdaki Çizelge 1.1’de özetlenmiştir (Aslan 2007).

Çizelge 1.1. Tedavi amacıyla kullanılan başlıca antidepresanlar ve işlevleri

İşlevi	Antidepresan Türü
Trisiklik antidepresanlar Monoaminooksidaz inhibitörleri	İmipramin, Desipramin, Klomipramin, Amitriptilin, Nortriptilin, Dothiepin
Noradrenalin geri alım inhibitörleri	Maprotilin, Reboksetin, Viloksazin, Levoprotilin
Selektif 5HT geri alım (SSRI) inhibitörleri	Fluoksetin, Fluvoksamin, Paroksetin, Sitalopram, Sertralin, Zimelidin
Dönüşümlü monoaminooksidaz inhibitörleri	Moklobemid, Braforamin, Taloksaton, Befloksaton, Cimoksaton
5HT, NA geri alım inhibitörleri	Venlafaksin, Duloksetin, Milnasipran
Spesifik dopamin geri alım inhibitörleri	Amineptin, Bupropion

Monoamin oksidaz inhibitörleri, ilk olarak üretilen antidepresanlardır. Nörotransmitterleri parçalayan monoamin oksidaz enziminin etkinliğini durdurarak sinaps aralığında nörotransmitter miktarını artırırlar. Kanda tiramin düzeyini arttırdıkları için ülkemizde kullanımı yasaklanmıştır. Trisiklik antidepresanlar, serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörleridir. Yan etkilerinin fazlalığı ve intihar girişimlerinden dolayı kullanımı azaltılmıştır (Akkaya 2005). Serotonin geri alım inhibitörleri ise serotoninin tekrar kullanımı için sinaps aralığından salgılandığı nörona geri alımını yok eden ilaçlardır. Serotonerjik sistemin duygu durum düzenlenmesinde, öğrenme ve bellek, bilişsel kontrol, uyku ve cinsel işlevler ve gelişimsel davranışların düzenlenmesi üzerine etkili olduğu düşünülmektedir (Akkaya 2005).

1.3. Antipsikotikler

Antipsikotikler beyinde dopamin ve serotonin nörotransmitterleri üzerine etkilidirler. Şizofrenide halüsinasyonları gidermede, depresif belirtileri azaltmada, bozulmuş olan bilişsel belirtileri olumlu yönde değiştirmede etkilidirler (Işık 1997). Doğal bir kimyasal olan dopamin nörotransmitter olarak hem D1 hem de D2 reseptörleri ile etkileşmektedir. Ayrıca nörohormon olarak hipofizin ön lobundan salgılanan prolaktin salgılanmasını da bastırmaktadır (Altıntoprak vd 2005). Diğer taraftan, serotonin triptofan aminoasidinden sentezlenen bir nörotransmitterdir. Antipsikotikler 5HT2 serotonin reseptörüne bağlanarak etkilerini göstermektedirler (Eraslan vd 2006).

İlaçların plazma düzeyleri bireyler arasında farklılık göstermektedir. İlaçların sıvı şekillerinin kullanımında tablet şeklindeki kullanımına oranla daha fazla biyo-yararlılık gözlenmiştir. İlaçların çoğu lipofilik özellikte olup yağda çözünerek protein ve yağlara kolayca bağlanmaktadır. İlaçlar büyük oranda karaciğerde mikrozomal oksidasyon ve konjugasyon yoluyla metabolize olmaktadır. Yüksek dozlarda ölüm nedeni olma riskleri oldukça düşüktür (Işık 1997).

Antipsikotik ilaçlar, tipik (klasik) antipsikotikler ve atipik (nöroleptik) antipsikotikler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

1.3.1 Tipik antipsikotikler

1952 yılında klorpromazinin bulunmasıyla ortaya çıkmışlardır. Şizofreninin pozitif etkilerini (halisünasyon ve hezeyanlar) ortadan kaldırmaktadırlar. Tipik antipsikotik ilaçlar çoğunlukla D2 reseptörlerini inhibe etmektedirler (Yağcıoğlu 2005). Dopamin reseptörleri üzerine etkili olan tipik antipsikotiklerin hastaların %30-50'sinde tedaviye yanıt vermemesi daha farklı antipsikotiklerin araştırılmasına neden olmuştur (Kalenderoğlu vd 2008).

1.3.2. Atipik Antipsikotikler

Atipik antipsikotikler serotonin reseptör blokajında güçlü, dopamin reseptör blokajında zayıf etkili ilaçlardır. Atipik antipsikotikler şizofreninin pozitif ve negatif etkileri dışında diğer psikotik hastalıkların tedavisinde de uygulanmaktadırlar (Herken vd 1999). Atipik antipsikotik ilaçların tipik antipsikotiklere oranla daha az ekstrapiramidal yan etki oluşturduğu, depresif belirtileri azalttığı ve bilişsel işlevleri olumlu yönde değiştirdiği öne sürülmektedir (Cumurcu vd 2009). Tedavi amacıyla kullanılan başlıca antipsikotik ilaçlar ve tipleri Çizelge 1.2’de gösterilmiştir (Çetin ve Turgay 2002).

Çizelge 1.2. Tedavi amacıyla kullanılan başlıca antipsikotikler

Tip	Sınıf	Örnek
Tipik antipsikotikler	fenotiazinler butirofenonlar tiyoksantinler difenilbutilpiperidinler	klorpromazin, tiyoridazin, trifloperidol, flufenazin, haloperidol,
Atipik antipsikotikler	dibenzodiazepinler dibenzodiazepinler benziksazoller tanobenzodiazepinler dibenzotiyazapinler imidazolidinonlar benzotiyazolilpiperazinler benzamidler kinolinonlar	klozapin risperidon iloperidon olanzapin ketiapin sertindol ziprasidon amisulprid aripiprazol

Ruhsal hastalıklardan bipolar bozukluğun tedavisinde kullanılan lityum, duygu durum düzenleyicisi olarak en eski ve en etkili ilaç olarak kabul edilmektedir. İnositol monofosfataz enzimini inhibe ederek inositol monofosfataz düzeyini artırarak serbest inositol düzeyini düşürmektedir. Böylece reseptör uyarısına yanıt olarak nörotransmitter düzeylerinin düşmesini sağlamaktadır (Yıldız ve Tunca 2001). Olanzapin 1996’da üretilmiştir. Şizofreniye eşlik eden depresif belirtiler ve anksiyete bozuklukları üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Olanzapinle %7 ve daha fazla oranda kilo alanların oranı

%40.5-94 olarak verilmektedir (Yüksel ve Sayın 2006). Klinik çalışmalarda OLZ'nin negatif semptomları düzelttiği daha az ekstrapiramidal hareket bozukluğuna, hiperprolaktinemiye ve seksüel disfonksiyona yol açtığı bildirilmiştir (Altıntoprak vd 2005). RPD ise serotonin 2 ve dopamin 2 reseptörleri blokörüdür. Şizofreninin negatif ve pozitif belirtileri üzerine etkili olup 2-6 mg/gün dozlarında kullanılmaktadır. Ayrıca, RPD 12 mg/gün ve haloperidol (HLP) 10 mg/gün dozları karşılaştırıldığında her iki ilacın da pozitif ve negatif belirtiler üzerinde eşit etkili olduğu, RPD'nin daha az ekstrapiramidal yan etkiye sebep olduğu belirtilmiştir (Oduz ve Gönül 2000).

1.4. Psikotik ve antipsikotik ilaçların toksik etkileri

1.4.1. Endokrin toksisite

D2 antagonisti olan sülpiridin yumurtalıklar üzerine toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada; dişi sıçanlara iki ve dört haftalık sürelerle artan dozlarda sülpirid verilmiş, iki haftalık süre sonunda 10 mg/kg'lık doz verilen sıçanlarda yumurta kisti, dördüncü hafta sonunda ise foliküllerinde azalma gözlenmiştir. Araştırma sonucunda, iki haftalık sürenin sülpiridin toksik etkilerini ortaya koyması bakımından yeterli olduğu rapor edilmiştir (Ishii *et al.* 2009).

Tipik antipsikotik HLP ve atipik antipsikotik RPD'nin erkek sıçanlarda ağırlık artışı ve hormon konsantrasyonları araştırılmış, HLP'nin ağırlık artışına sebep olmadığı fakat RPD'nin kontrol grubuna kıyasla ağırlık artışı yaptığı görülmüştür. HLP'nin insülin seviyesinde artışa, RPD'nin ise glukagon seviyesinde artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Araştırma bulguları HLP ve RPD'nin metabolik değişimler yoluyla obezite ve tip2 diyabet hastalıklarına zemin hazırladığını göstermektedir (Lin *et al.* 2006).

Klorpromazin hidrokloritin yumurtalıklar üzerine toksik etkisinin araştırıldığı çalışmada, dişi sıçanlara artan dozlarda klorpromazin uygulanmıştır. Gebelik boyunca verilen 30 mg/kg'lık fertilité parametrelerini değiştirdiği ve toksik etkili olduğu rapor edilmiştir (İzumi *et al.* 2009).

Tipik antipsikotiklerden klozapin (CLZ) ve HLP'nin sıçanların pankreatik beta hücrelerinde impuls iletimi ve salgılama özellikleri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, ilaçların hücre zarlarında K permeabilitesini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Best *et al.* 2005).

Tulipano ve arkadaşları yapmış oldukları araştırmada, CLZ'nin dişi sıçanlarda hiperglisemiye neden olduğu, erkek sıçanlarda ise plazma glukoz seviyelerinde artışlara yol açtığı gözlenmiştir. İstatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Plazma insülin konsantrasyonlarındaki artış ve intraperitoneal glukoz tolerans testi sonuçları CLZ'nin dişi sıçanlarda insülin duyarlılığının azalmasına neden olduğu kaydedilmiştir (Tulipano *et al.* 2007).

1.4.2. Gelişim toksisitesi

Zebra balığı (*Danino rerio*) üzerinde yapılan bir çalışmada balıklara flufenazin (FLZ), HLP, OLZ verilmiş ve hareketleri gözlenmiştir. İlaçların ekstrapiramidal yan etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada HLP ve FLZ'nin yan etkileri arttırdığı, bununla birlikte OLZ'nin yan etki oluşturmada daha az etkili olduğu rapor edilmiştir (Giacomini *et al.* 2006).

Tipik ve atipik antipsikotiklerden CLZ, OLZ, QTP, RPD, ziprasidon (ZPD), aripiprazol (APP) ilaçlarının çocuklarda ve yetişkinlerdeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, ortaya çıkan yan etkilerin kardiovasküler hastalıklar, kilo artışı, ekstrapiramidal hareketler ve hiperprolaktinemi olduğu rapor edilmiştir. Çalışmanın sonucu olarak ilaçların kısa süreli kullanımında yan etkilerinin tölare edilebildiği fakat uzun süreli tedavilerde klinik takibin olması gerektiği vurgulanmıştır (Cheng-Shannon *et al.* 2004).

1.4.3. Miyotoksiste

CLZ tedavisi gören hastalarda nörolojik ve elektrofizyolojik karakterlerin değerlendirilmesi için yapılan çalışmada uzun süre CLZ kullanan 94 şizofren hastası

incelenmiş ve serum kreatin kinaz seviyeleri CLZ tedavisi sonrası normal sınırın üstünde bulunmuştur. Hastaların bir kısmı kas zayıflığından şikayet etmiş, bir kısım hastada ise elektrofizyolojik bulgularda nörolojik sistemde anormal durumlar gözlenmiştir. Araştırmanın sonucu olarak CLZ miktarının kreatin kinaz (CK) miktarını arttırdığı açıklanmıştır (Reznik *et al.* 2000).

CLZ'nin kalp kası iltihabına neden olduğunu öne süren çalışmada 6 haftalık erkek farelere CLZ (5, 10 ve 25 mg/kg'lık dozları) uygulanmış ve doz artışına bağlı olarak deney hayvanlarında kalp kası iltihabı görüldüğü rapor edilmiştir (Wang *et al.* 2008).

1.4.4. Hepatotoksisite

Atipik antipsikotik ilaçlardan OLZ'nin sıçan karaciğeri üzerine toksik etkilerini araştırmak üzere yapılan bir çalışmada, toplam hepatosit oranında önemli değişiklikler gözlenmiştir. Araştırma sonucunda OLZ'nin düşük ve yüksek dozlarının karaciğer üzerinde toksik etkili olduğu rapor edilmiştir (Odacı *et al.* 2009).

1.4.5. Kardiyotoksisite

Bipolar hastalığa sahip annelerde lityumun kalp sorunlarına, valproat ve karbamazepinin nöral tüplerde sorunlara yol açtığı, lamotrijin ve okskarbazepinin ise gebeliğin ilk üç aylık döneminde kullanılmasının sakıncalı olduğu rapor edilmiştir (Dodd and Berk 2006).

1.4.6. Oküler toksisite

Pouget ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, uzun süre fenotiazin sınıfı antipsikotik tedavisi gören hastalarda ilaç kullanımına bağlı olarak göz lezyonlarının olduğu rapor edilmiştir (Pouget *et al.* 1976).

1.4.7. Hematotoksisite

Tipik ve atipik antipsikotiklerin hematolojik yan etkilerinin araştırıldığı çalışmada atipik antipsikotik ilaç alan hastalarda lenfopeni ve nötropeniye rastlanmazken, tipik antipsikotik ilaç alan hasta grubunda tedavi sonrası lenfosit oranında belirgin bir düşüş görülmüştür. Bir diğer çalışmada ise, tipik (HLP, tiyoridazin, FLZ, trifluperazin, flupentiksol) ve atipik antipsikotik (OLZ, RPD, sülpirid) kullanmakta olan hastaların periferik kan örneklerinde bulunan nötrofiller, herhangi bir ilaç kullanmayan sağlıklı bireylerin nötrofilleriyle karşılaştırılmıştır. Araştırma sonucunda iki gruptan da antipsikotik ilaçları kullanan hastaların nötrofillerinin daha az düzeyde geliştiği ve ortalama lob sayılarında da azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca, periferik kanda bulunan nötrofillerin ortalama lob sayısının nötropeni gelişme riski ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Özsoy vd 2008).

1.4.8. Nörotoksisite

Sinirsel kök hücreleri merkezi sinir sisteminde gelişim ve olgunlaşmada önemli role sahiptirler. Son zamanlarda ki bulgular antipsikotik ilaçların sinirsel kök hücrelerinin aktivitelerini düzelttiğini ortaya koymuştur. Fakat sinir hücresiyle antipsikotik ilaç arasındaki ilişki henüz tam olarak bilinmemektedir. Antipsikotik ilaçların sinirsel kök hücreleriyle ilişkisinin araştırıldığı çalışmada sıçanlara RPD (3mM) ve HLP (3mM) verilmiş ve ilaçların birçok düzenleyici proteinle (kalsiyum düzenleyici protein, oksidatif stresle ilgili protein) etkileşime girdiği, ayrıca gelecekte bu proteinlerin moleküler mekanizmasının çözülmesiyle sinirsel kök hücreleriyle ilaç etkileşimlerinin tam olarak anlaşılacağı kanaatine varılmıştır (Kashem *et al.* 2009).

APP yeni üretilen atipik antipsikotiklerden birisidir. Yapılan son çalışmalarda diğer antipsikotiklere oranla APP'nin daha fazla hareket hastalıklarına sebep olduğu tespit edilmiş ve tedavilerde kullanımında dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Hall *et al.* 2009).

Nöroleptik malin sendrom (ateş, kas sertliği, zihinsel durum değişikliği) yaşamı tehdit edici nörolojik bir hastalıktır. Tipik antipsikotik ilaç olan HLP kullanan 25 yaşında bir hasta, nöroleptik malin sendromun yol açtığı hiperglisemi yüzünden hayatını kaybetmiştir (Rock *et al.* 2009).

1.4.9. Genotoksisite

İnsanlarda 22q11.2 kromozomunun davranışsal hareketlerde rol aldığı ve delesyonunun şizofreni ve diğer nöropsikiyatrik hastalıklara yol açtığı bilgisinden hareketle fareler üzerinde yapılan çalışmalarda 22q11.2 kromozomunun yaklaşık olarak 200 kb'lık bölgesinde bulunan genlerdeki bozukluğun davranışsal anormalliklerden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Hiroi *et al.* 2005).

Bazı antidepresan ilaçların genotoksik etkilerini belirlemek üzere çeşitli araştırmalar yapılmıştır. *Drosophila melanogaster*'in kanat hücrelerinde somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART) testi kullanılarak dört antidepresan ilacın genotoksisitesi araştırılmış ve imipramin'in 10 mM konsantrasyonunda, lofepramin ve mianserin'in ise 100 mM dozunda genotoksik olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde SMART testi sonuçları desipramin ve imipraminin 1 mM ve üzeri dozlarının toksik olduğu amitriptilin, nortriptilin ve protriptilin'in 100 mM ve üzeri dozlarının toksik olmadığını göstermiştir (Van Schaik and Graf 1991).

Yeni üretilen sigma reseptör ligandı E-5842 antipsikotik ilacın farklı dozlarının (50, 100, 200 ve 400 mg/kg) farelerde hipotermi ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, deney hayvanlarında kontrol grubuna kıyasla MÇ oluşumu sıklığında istatistiksel olarak önemli bir artış rapor edilmiştir (Guzman *et al.* 2004).

Sertralinin genotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada 10 sertralin tedavisi gören hasta, 18 tedavi görmeyen hasta ve 18 sağlıklı gönüllü birey seçilmiştir. Test sonuçlarında sertralin tedavisi gören hastalar ve tedavi görmeyen hastaların sağlıklı

hastalara oranla KKD frekansları arasında önemli farklar bulunmuştur (Bozkurt vd 2004).

HLP'nin prenöronal PC12 hücrelerinde sitotoksositeyle ilişkisinin araştırıldığı çalışmada HLP'nin PC12 hücrelerinde fosfatidilinozitol 3 kinaz sinyalinini bozduğu rapor edilmiştir (Dai *et al.* 2007).

Fenotiazin türevi antipsikotiklerden perazinin *in vivo* ve *in vitro* insan lenfosit kültürlerinde kromozomal aberasyonlar ve KKD frekansları üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmada perazinin *in vitro* ve *in vivo* da farklı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Madle *et al.* 1980).

Triflupenazin fenotiozin sınıfından bir antipsikotik olup DNA'da hasar oluşturan bileomisinin sitotoksitesini arttırdığı gösterilmiştir. Triflupenazinin DNA tamir sistemlerini olumsuz etkilediği rapor edilmiştir (Polischouk *et al.* 2007).

Kuzey Hindistan'da OLZ kullanımına ve genetik hasar oluşturma olasılığına ilişkin çalışmada D1, D2, D3, D4 reseptörleri serotonin 2A reseptörü ve ilaç metabolize enzim genleri üzerine etkileri araştırılmış ve OLZ'nin herhangi bir genetik hasar oluşturmadığı fakat kilo artışına sebep olduğu rapor edilmiştir (Thomas *et al.* 2008).

1.4.10. Karsinojenite

APP'nin uzun süreli karsinojenez çalışmalarında hipofiz ve meme bezlerinde kanser oluşturduğu, Sprague–Dawley dişilerinde ise adrenal bez tümörü oluşturduğu gözlenmiştir. Klorpromazinin *in vitro* insan fibroblast kültürlerinde genotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada, ilacın kromozomal aberasyonlara yol açtığı sonucuna varılmıştır. Dişi Swiss farelerinde HLP'nin etkilerinin araştırıldığı çalışmada ise hipofiz ve meme bezi tümörüne rastlanmıştır. Diğer taraftan, uzun süreli karsinojenez çalışmalarında QTP'nin dişi Wistar sıçanlarında meme bezlerinde tümör oluşumuna yol

açtığı, erkek Wistar sıçanlarında ise troid bezinde büyümeye sebep olduğu rapor edilmiştir (Brambilla *et al.* 2007).

Antipsikotik ilaçların mutajenite ve karsinojenite potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalara ait organizma, test, doz ve sonuç bilgileri Çizelge 1.3, 1.4 ve 1.5’de özetlenmiştir (Brambilla *et al.* 2007).

Çizelge 1.3. OLZ’nin genotoksik ve karsinojenik etkileri

Organizma - test	Sonuçlar	Doz
<i>S. typhimurium</i> Ames testi	Negatif	-
Rat hepatosit	Negatif	-
Fare lenfoma hücrelerinde gen mutasyonu	Negatif	-
<i>İn vitro</i> da CHO hücrelerinde kromozomal aberasyonlar	Negatif	-
<i>İn vivo</i> da CHO hücrelerinde kromozomal aberasyonlar	Negatif	-
<i>İn vivo</i> da farelerde MÇ testi	Negatif	-
Erkek farelerde uzun süreli karsinojenez analizi	Negatif	20 mg/(kg/gün)
Dişi farelerde uzun süreli karsinojenez analizi	Pozitif	3 mg/(kg/gün)
Erkek farelerde uzun süreli karsinojenez analizi	Negatif	8 mg/(kg/gün)
Erkek sıçanlarda uzun süreli karsinojenez analizi	Negatif	4 mg/(kg/gün)
Dişi sıçanlarda uzun süreli karsinojenez analizi	Pozitif	8 mg/(kg/gün)

Çizelge 1.4. RPD'nin genotoksik ve karsinojenik etkileri

Organizma - test	Sonuçlar	Doz
<i>S. typhimurium</i> mutasyon	Negatif	-
<i>Drosophila melanogaster</i> letal mutasyonlar	Negatif	-
Rat hepatosit	Negatif	-
Fare lenfoma hücrelerinde gen mutasyonu	Negatif	-
Chinese hamster <i>in vitro</i> kromozomal aberasyonlar	Negatif	-
<i>In vitro</i> insan lenfosit kültürlerinde kromozomal aberasyonlar	Negatif	-
Farelerde <i>in vivo</i> MÇ testi	Negatif	-
Erkek Swiss farelerinde uzun süreli karsinojenez analizi	Negatif	10 mg/(kg/gün)
Dişi Swiss farelerinde uzun süreli karsinojenez analizi	Pozitif	0.63 mg/(kg/gün)
Erkek Wistar sıçanlarında uzun süreli karsinojenez analizi	Pozitif	2.5 mg/(kg/gün)
Dişi Wistar sıçanlarında uzun süreli karsinojenez analizi	Pozitif	0.63 mg/(kg/gün)

Çizelge 1.5. QTP'nin genotoksik ve karsinojenik etkileri

Organizma - test	Sonuçlar	Doz
<i>S. typhimurium</i> Ames testi	Negatif	-
CHO hücrelerinde gen mutasyonları	Negatif	-
<i>In vitro</i> insan lenfositlerinde kromozomal aberasyonlar	Negatif	-
Şıçanlarda <i>in vivo</i> MÇ testi	Negatif	-
Erkek C57BL farelerinde uzun süreli karsinojenez analizleri	Pozitif	250 mg/gün
Dişi C57BL farelerinde uzun süreli karsinojenez analizleri	Negatif	750 mg/gün
Dişi Wistar sıçanlarında uzun süreli karsinojenez analizleri	Pozitif	25 mg/gün
Erkek Wistar sıçanlarında uzun süreli karsinojenez analizleri	Pozitif	250 mg/gün

Psikotik ilaç olan klorpromazin hidrokloritin kanser oluşturma potansiyelini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada p53 heterozigot fareleri kullanılmıştır. Deney hayvanlarına 20, 40, 60 ve 80 mg/kg'lık dozlarda klorpromazin hidroklorit uygulanmıştır. Deney sonuçları doğrultusunda klopromazin hidrokloritin karsinojen etkili olmadığı rapor edilmiştir (Petruska *et al.* 2002).

Antipsikotiklerin antineoplastik etkilerinden dolayı kanser oluşturma potansiyelini azalttıđı dūřuncesinden yola çıkılarak yapılan arařtırmada rezepin, klorpromazin, RPD, HLP, OLZ ve pimozid ilaçlarının kanser hūcreleri üzerine etkileri incelenmiř ve RPD hariç diđer tūm ilaçların kanser hūcrelerinin oluřumunu engellediđi, OLZ ve RPD'nin sitotoksik etkili olduđu rapor edilmiřtir (Wiklund *et al.* 2010).

1.4.11. Antipsikotiklerin diğer yan etkileri

Serotoninin iřtah ve gıda alımını dūzenlemesindeki rolū dikkate alınarak yapılan çalıřmalarda, serotonerjik nūral iletimde azalmanın ve reseptōr aktivasyonunun gıda tūketiminde artma ve kilo alımına neden olduđu kaydedilmiřtir (Yūksel ve Sayın 2006).

QTP kilo alımı konusunda OLZ ve CLZ'ye gōre daha ılımlıdır. Uzun vadeli QTP tedavisinde ađırlık atıřına sebep olmadıđı gōrūlmūřtur (Mete ve Ūnsal 2004).

D2 blokađı yaparak prolaktin salgısı üzerindeki etkinin ortadan kalkmasına ve prolaktin dūzeyinin artmasına sebep olan tipik antipsikotiklerin bu etkileriyle prolaktin dūzeyini altı kat arttırdıđı saptanmıřtır (Mete ve Ūnsal 2004).

HLP ve atipik antipsikotiklerin kan plazma prolaktin dūzeyleri üzerindeki etkilerinin arařtırıldıđı çalıřmada tedavi öncesi ve sonrası (2 ay) prolaktin seviyeleri tespit edilmiřtir. Tedavilerinde HLP, sūlpirid ve RPD alan hastaların kan prolaktin dūzeylerinde önemli bir artıř gōzlenirken, CLZ, OLZ ve QTP kullanılan hastaların kan plazma dūzeylerinde önemli bir deđiřiklik gōzlenmediđi kaydedilmiřtir (Kurt vd 2008).

Antipsikotiklerin neden olduğu hiperprolaktineminin en belirgin özelliklerinin ovulasyonda gecikme, galaktore, göğüste duyarlılık, menstural döngü anormallikleri olduğu rapor edilmiştir (Karakuş vd 2009).

HLP psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan tipik antipsikotik ilaçtır. Tardif diskinezi ise karmaşık hiperkinetik sendromdur ve antipsikotik kullanımına bağı olarak oluşan bir hastalık olarak bilinmektedir. Metabolik antioksidan olan alfa lipoik asidin HLP'nin neden olduğu tardif diskinezi hastalığının oluşumunu önlediği kaydedilmiştir (Thaakur and Himabindhu 2009).

Şizofreni hastalarında antipsikotik kullanımına bağı olarak S-100B protein seviyeleri ELISA (enzim ilintili immün test) testiyle analiz edilmiş ve sonuç olarak şizofreni hastalarında gönüllü bireylere oranla plasmada S-100B protein seviyesi önemli derecede yüksek bulunmuştur (Ling *et al.* 2007).

1.5. Genetik toksisite ve testleri

Başta tıp, endüstri ve ziraat olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılmakta olan kimyasal maddeler farklı organizmalar üzerinde genetik hasarlara sebep olabilmektedir. Bir organizmada genetik farklılaşma oluşturan maddelere genetik zehirler (genotoksik maddeler) denir. Genotoksik maddeler hücrenin kromozomlarında veya genlerinde değişmeye (mutasyona) yol açmaktadır (Paralı 1994; Tokyay 1999). Son yıllarda mutasyon çalışmalarının yeni bir yönü gözlenmektedir. Genetik alanında çalışan araştırmacılar önceleri insanlarda kalıtsal hastalıkları artıran eşeyssel mutasyonları ortaya çıkaran çevresel mutajenlerle ilgili kaygıya kapılırlarken bugün artık somatik mutasyonlarında en azından diğerine eşdeğer nitelikte sayılabilecek derecede korkunç sonuçlarının ortaya çıkabileceğini ortaya koymaktadırlar. Çünkü artık X ışınları, ultraviyole radyasyon ve çeşitli kimyasal maddeler gibi mutajenik etkenlerin kanserojen nitelikte olduğu bilinmektedir (Erensayın 2000; Kawanishi *et al.* 2001; Dixon and Koprass 2004; Ferguson *et al.* 2004).

Son yıllarda yapılan pek çok araştırma ile mutajenik olan maddelerin genellikle kanserojen, aynı zamanda kanserojen olan pek çok maddenin de mutajenik olduğu gösterilmiştir. Çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz bilinmeyen pek çok sentetik ve doğal maddenin mutajenik veya kanserojenik potansiyel açısından test edilmesi sağlık açısından gereklidir. Ancak laboratuvar hayvanları ile yapılan deneyler hem çok pahalı hem de çok zaman almaktadır. Bu nedenle *in vivo* hayvan deneyleri yerine kimyasal maddelerin kanserojenik ve mutajenik potansiyellerini ölçebilmek için son yıllarda birçok *in vitro* test sistemleri geliştirilmiştir. Kısa zaman içinde sonuçlanan bu testlerle, kimyasal maddelerin belirli genetik özelliklerde oluşturduğu sonuçlar ölçülmekte ve elde edilen sonuçlarla maddelerin mutajenik veya kanserojenik potansiyelleri arasında ilişkiler kurulmaktadır (Boyacıoğlu 2004). Genetik toksikoloji alanında kullanılan başlıca testler MÇ, Comet (SCGE), SCE ve Ames testleridir.

Sitologlar tarafından mikroçekirdeğin yapısı ve orijini yüzyılın başından beri bilinmesine karşın mutajenite potansiyellerinin ölçülmesinde kullanımı yenidir (İlbar 1997). İnsan periferik kan lenfositlerinde MÇ sıklığının kromozom hasarlarının bir göstergesi olarak kullanılması ilk kez 1976 yılında Courtyman ve Heddle tarafından önerilmiştir. Ancak daha sonra bu yöntem Fenech ve Morley (1985 a,b) tarafından geliştirilmiş ve Cytokinesis Block Micronucleus (CBMN) ismi verilmiştir. Mikroçekirdekler hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. İnsan hücrelerinde DNA hasarlarının kromozom seviyesinde güvenilir olarak değerlendirilmesini sağlayan mikroçekirdek yöntemi genetik toksikoloji alanında çok yoğun olarak kullanılmaktadır (Fenech 1993; Lando *et al.* 1998). MÇ sayısındaki artış çeşitli kimyasalların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak, klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MÇ oluşumuna yol açarlar (Demirel ve Zamani 2002). Bu nedenle MÇ testi hücrelerde hem klastojenik hemde anöjenik etkilerin bir arada değerlendirilmesine olanak veren tek biyomarkırdır (Fenech 1993).

MÇ sayımı Courtyman ve Heddle (1976) tarafından ortaya konan kriterlere göre yapılmaktadır. Bu kriterler:

- MÇ çapının esas çekirdeğin 1/3'ünden küçük olması,
- Boya alma yoğunluğunun esas çekirdek ile aynı olması
- MÇ'lerin asıl çekirdeğe bağlı veya bitişik olmaması,
- Sadece sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücrelerdeki MN'lerin sayılması esaslarını kapsamaktadır (Fenech 2000; Demirel ve Zamani 2002).

SCG (single cell gel) elektroforezi veya komet testi hücresel seviyede DNA hasarını ve tamirini değerlendirmede kullanılan oldukça hızlı ve duyarlı bir testtir. Bu testle az sayıda hücre (<10.000) kullanılarak çok düşük seviyelerdeki DNA hasarları bile tespit edilebilmektedir (Tice *et al.* 2000; Lee and Steinert 2003). Bu yöntemle hem tek zincir hem de çift zincir kırıkları belirlenebilir ve aynı zamanda oksidatif stresin sebep olduğu hasarları ve besin bileşiklerinin koruyucu etkilerini araştırmak içinde kullanılmaktadır (McArt *et al.* 2009).

Yukarıda kaydedilen literatürlere dayanarak şunlar söylenebilir:

- 1) Günümüz dünyasında çeşitli nedenlerden dolayı milyonlarca insanın yaşam kalitesi gittikçe düşmekle birlikte yaşanan sıkıntı ve stres farklı ruhsal hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Bu hastalıkların tedavilerinde oldukça farklı farmakolojik bileşikler kullanılmaktadır. Tedavi amaçlı kullanılan bu bileşiklerin bazıları mutajen yada karsinojen etkili olabilmektedirler.
- 2) SCGE ve MÇ testleri kimyasalların oluşturdukları genetik hasar hakkında hızlı ve doğru bilgi verebilen en duyarlı sitogenetik yöntemler arasında yer almaktadır.

- 3) QLZ, RPD ve QTP'nin insanlar üzerinde genotoksik etkilerinin belirlenmesi konusunda literatürde kaydedilmiş bulgular oldukça sınırlıdır.
- 4) Bu araştırmada, *in vitro* ortamda kısa süreli (72 saatlik) hücre kültürlerinde farklı antipsikotik ilaçların SCGE ve MÇ oluşumu üzerine etkilerinin tesbit edilmesi amaçlanmıştır. Bu araştırmanın sonuçlarının bundan sonraki antipsikotik ilaç toksisitesi ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Hadnagy *et al.* (2003) izole edilmiş eritrosit kültürlerinin aksine tam kan kültürlerinin hücre hasarlarının ve hücrelerin savunma ve düzenleme fonksiyonlarının değerlendirilmesinde iyi bir bağımsız fizyolojik birim olduğunu kaydetmişlerdir.

Crossen and Morgan (1982) klorpromazinin 2 mikrog/ml'lik dozunun test edilen sekiz bireyden üçünde KKD frekanslarını arttırdığını rapor etmişlerdir.

de MoI and Busker (1984) çalışmalarında klorpromazinin bakteri hücrelerindeki makromoleküllerle etkileşimini araştırmış ve klorpromazinin dönüşümsüz olarak bakteri DNA, RNA ve proteinlerine bağlandığını, genotoksik ve sitotoksik etki yaptığını rapor etmişlerdir.

Petruska *et al.* (2002) atipik antipsikotik klorpromazin hidrokloridin karsinojenik ve toksik etki potansiyellerinin p53 heterozigot farelerinde araştırmışlardır. Deney sonrasında farelerde tümör oluşumuna rastlamamış, 10 mg/kg klorpromazin uygulanan hayvanlarda ovaryum ve yumurtalıklarda körelmeye neden olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda klorpromazin hidrokloridin karsinojenik olmadığı rapor edilmiştir.

Ahuja *et al.* (1984) tipik antipsikotik HLP'nin *in vitro* ve *in vivo* insan lenfositlerinde sitogenetik etkilerini araştırdıkları çalışmada *in vitro* da plazma seviyesine eş değer ve plazma seviyesinden düşük değerdeki konsantrasyonlarının kromozomal aberasyonlara sebep olmadığını, *in vivo* da ise HLP'yi teropatik dozlarda alan hastalarda kromozomal kırıkların oluştuğunu kaydetmişlerdir.

Lialiaris *et al.* (2009) fenotiazinlerin kanser hücrelerinin büyümesini önleyici etkisini araştırmak üzere fenotiazin türevi atipik antipsikotik klorpromazinin genotoksik, sitotoksik ve sitostatik potansiyelini tek başına ve mitomisin C ile beraber *in vivo* ve *in*

vitro koşullarda araştırmıştır. *In vitro* da insan lenfosit kültürlerinde, *in vivo* da ise EAT (Ehrlich Ascites Tumor) hücrelerinde tümör büyümesini baskıladığını rapor etmişlerdir.

Brambilla *et al.* (2007) klorpromazinin 5 µg/ml'lık dozunun Chinese hamster karaciğer hücrelerinde KKD frekanslarında artışlara sebep olduğunu rapor etmiştir. OLZ genotoksisite analizlerinde negatif sonuç verirken (dişi sıçan ve dişi farelerde uzun süreli karsinogenez çalışmalarında) meme bezi ve akciğer tümörü oluşturma yönünde pozitif yanıt vermiştir. Ayrıca uzun süreli karsinogenez çalışmalarında RPD'nin pozitif sonuç (0.63 mg/kg'lık dozu dişi Swiss farelerinde hipofiz ve meme bezi tümörü oluşturma, 2.5 mg/kg'lık dozunun erkek Wistar sıçanlarında pankreas tümörü oluşturma, 0.63 mg/kg'lık dozunun dişi Wistar sıçanlarında meme bezi tümörü oluşturma) verdiği rapor edilmiştir.

Suryanarayana *et al.* (1987) erkek Swiss albino fareleri üzerinde antipsikotik ilaç triflupenazinin sitogenetik etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, ilacın MÇ oluşumunda önemli artışlara, spermatozoidlerde kromozomal aberasyonlara ve sperm morfolojisinde anormalliklere sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Suryanarayana (1991) fenotiazin grubu bir ilaç olan thoridazin hidrokloridin Swiss albino farelerinde mutajenik etkilerini araştırmıştır. Germinal hücrelerde kromozomal analiz, sperm hücre morfoloji analiz ve insan lenfosit kültürlerinde kromozomal aberasyon frekansları sonuçlarını değerlendirerek thoridazin hidrokloridin mutajenik etkili olmadığını rapor etmiştir.

Rao and Rao (1981) antipsikotik ilaç flufenazin hidrokloritin farelerin kemik iliği hücrelerinde olası mutajenik etkisini araştırdıkları çalışmalarında, solunum yoluyla verilen ilacın doza bağlı olarak polikromatik eritrositlerinde gözlenen MÇ frekanslarında artışlara sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Van Scahik and Graf (1993) bazı antidepresanlar ve antipsikotik ilaçların *Drosophila melanogaster*'de genotoksik etkilerini SMART testi ile araştırmışlardır. Araştırma

sonucunda, klomipramin, imipramin, lofepiramin ve mianserinin genetik hasar oluşturduğunu, matropilin ve klorpromazinin ise genotoksik etkili olmadığını rapor etmişlerdir.

Guzman *et al.* (2006) sigma reseptör ligandı E-5842 antipsikotik ilacın insan lenfositlerinde kromozomal aberasyonlara yol açtığını rapor etmişlerdir.

Weiner *et al.* (1990) bipolar hastalıkların tedavisinde kullanılan lityum hipokloridin genotoksitesini araştırdıkları çalışma sonucunda ilacın CHO hücrelerinde kromozomal aberasyonlara sebep olduğunu, bununla birlikte sıçan kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyonlara sebep olmadığını rapor etmişlerdir.

Cohen *et al.* (1972) antipsikotiklerden perfenazin ve klorpromazinin *in vivo* genotoksik etkilerini araştırmışlar ve bu iki ilacı kullanan hastalarda kromozomal aberasyonların gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

Madle *et al.* (1980) fenotiazin türevi antipsikotiklerden perazinin tadevisi gören hastalar üzerinde yürütmüş oldukları genotoksisite çalışmaları sonucunda ilacın *in vivo* ve *in vitro* koşullarda farklı sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir.

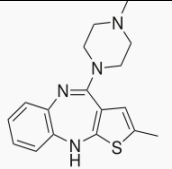
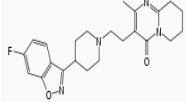
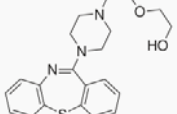
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1 Materyal

3.1.1 Kan örneklerinin alınması ve kültürlerin kurulması

Bu çalışmaya yaşları 20 ile 25 arasında (21.3 ± 1.8) bayan, sigara ve alkol kullanmayan, belirli bir hastalığı saptanmayan ve mesleği dolayısıyla fiziksel veya kimyasal ajanlara maruz kalmamış gönüllü 4 birey dahil edildi. Heparinize enjektörlere alınan periferik kan örnekleri, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Toksikoloji ve Doku Kültürü Araştırma laboratuvarlarında yürütülen genetik araştırmalarda kullanıldı. Yapılan ön denemelerden elde edilen sonuçlar ve mevcut literatür bilgileri (Brambilla *et al.* 2007) doğrultusunda test bileşiklerinin kültürlere uygulanacak olan dozları tespit edildi. Bileşikler belirli konsantrasyon aralıklarında kültürlere uygulandı. Test bileşikleri ve uygulanan konsantrasyonları aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir. Genotoksisite araştırmaları 72 saatlik tam kan kültürleri üzerinde yapıldı. Bu sürenin sonunda kültürler sonlandırılarak uygulanacak olan genotoksisite test tekniklerine uygun prosedürler izlenerek preparatlar elde edildi. Elde edilen preparatlar daha sonra analiz edilmek üzere uygun koşullarda saklandı.

Çizelge 3.1. Test bileşikleri ve uygulanan konsantrasyonları

Bileşik Adı	Kimyasal Formülü	CAS no	Test Edilen Konsantrasyonları
Olanzapin ($C_{17}H_{20}N_4S$)		132539-06-1	0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ve 400 mg/L
Risperidon ($C_{23}H_{27}FN_4O_2$)		106266-06-2	0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ve 400 mg/L
Ketiapin ($C_{21}H_{25}N_3O_2S$)		111974-69-7	0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ve 400 mg/L

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kromozom medium B Biochrom® firmasından, cytochalasin-B, L-glutamine, giemsa Sigma® firmasından, potasyum klorür (KCl), sodyum klorür (NaCl), glasiyal asetik asit ve sodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) Riedel-de Haent® firmasından, metanol ve potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) Fluka® firmasından, sodyum hidroksit (NaOH), potasyum hidroksit (KOH) Merck® firmasından, sodyum heparin Roche firmasından temin edilmiştir. Ayrıca çalışmada test bileşikleri olarak kullanılan olanzapin (Lilly, USA), risperidon (Biofarma) ve ketiapin (Berksam) ticari firmalardan temin edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan aletler ve cihazlar

Araştırmalar esnasında kullanılan aletlere ve cihazlara ait bilgiler Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar

Alet ve cihazlar	Temin edildikleri firmalar
Distile su cihazı	Easypure RF compact ultarpure ws, USA
Etüv	Heraeus FB 420, Germany
Hassas terazi	Sartorius AG, Germany
Mikroskop	Prior T-100 mA, England
Otomotik pipet	Finpipette Labsystems, Finland
pH metre	Handylab - 2BNC
Santrifüj	Heraeus 4600, Germany
Spektrofotometre	Beckman DU 500, USA
Su banyosu	Nüve BM 101, Nüve M.S.L.T.A, Ankara
Elektroforez seti	Wealtec ELİTE 300 Plus, Ankara
Floresan mikroskop	Nicon Eclipss E600, Japan

3.1.4. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Hipotonik çözeltinin hazırlanışı

0,5592 gr KCl tartılarak 100 ml distile suda çözüldü. Konsantrasyonu 0,075 M olan KCl çözeltisi kullanılmadan önce etüvde 37°C'ye kadar ısıtıldı.

Tespit (fiksatif) çözeltisi'nin hazırlanışı

1 kısım Glasial asetik asit'in üzerine 3 kısım metanol eklenerek iyice karıştırıldı. Solusyon her kullanım için taze olarak hazırlandı. Kullanmadan önce buzdolabında (+4°C de) soğutuldu.

Fosfat tamponlu salin'in (pbs) hazırlanışı (pH : 7)

8,0 gr NaCl, 0,2 gr KCl, 0,2 gr KH₂PO₄ ve 2,32 gr Na₂HPO₄ alındı ve 1 litre distile suda çözüldü. Çözelti oda ısısında muhafaza edildi.

Giemsa boya çözeltisi'nin hazırlanışı

A çözeltisi: Na₂HPO₄ 'ten 11,88 gr tartılarak 1 litre distile suda çözüldü.

B çözeltisi : KH₂PO₄'ten 9,08 gr tartılarak 1 litre distile suda çözüldü.

A çözeltisinden 30 ml şaleye konuldu. Üzerine; pH: 6,8'e gelinceye kadar B çözeltisinden eklendi. Sonra üzerine 5 ml Giemsa boyası ilave edildi. Pipetajla karıştırıldı. Üzerinin yağı kurutma kağıdı ile alındı. Çözelti oda ısısında muhafaza edildi.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Genotoksisite Testleri

Genotoksisite araştırmaları, güvenilir ve oldukça yaygın olarak kullanılan MÇ ve SCGE test teknikleri kullanılarak yürütüldü.

Mikroçekirdek (MÇ) Yöntemi

- Protokol numarası verilmiş steril hücre kültür tüplerine (cellstar) önceden hazırlanmış ve 37°C'ye getirilmiş besiyerinden (Chromosome Medium B) 6 ml konuldu.
- Besiyerlerinin üzerine 0,5 ml tam kan eklendi.
- Tüplerdeki kültürlere son konsantrasyonları 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ve 400 mg/L olacak şekilde test bileşikleri eklendi.
- Tüpler alt üst edilerek karıştırıldı ve 37°C'lik etüve bırakıldı.
- 44 saat sonra, sitokalazin-B'den son konsantrasyonu 3 µg/ml olacak şekilde tüm kültürlere eklendi.
- Tüpler tekrar etüve konarak (37°C'de) 28 saat daha beklendi.
- 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler santrifüj işlemine alındı.
- Kültürler 900 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

- Santrifüj süresinin sonunda süpernatant atıldı.
- Tüpte kalan çökeltinin (pellet) üzerine 8 ml hipotonik çözelti yavaş yavaş eklendi.
- Hipotonik çözelti eklenen tüpler 37°C'lik etüvde 15-20 dk bekletildi.
- Daha sonra tüpler 900 rpm'de 10 dk daha santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- Tüpte kalan pellet üzerine taze hazırlanmış soğuk tespit çözeltisinden 7ml eklenerek santrifüj edildi ve süpernatant pastör pipeti ile atıldı.
- Bir önceki basamak iki kez daha tekrarlandı.
- Son süpernatant da atıldı ve pellet pastör pipeti ile yavaş yavaş karıştırıldı.
- Pipetle çekilen pellet önceden üzerine protokol numarası yazılmış, temizlenmiş ve soğutulmuş (+4°C) lamlara 45°'lik açı ile yayılarak lamlar oda ısısında karanlık bir ortamda 3 gün kurumaya bırakıldı.
- Yayma işlemini takip eden 3. günün sonunda preparatlar 15 dk. Giemsa boyasında bekletildi.
- Boyama işleminden sonra preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.
- Kuruyan lamlar entellan kullanılarak kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi.

Preparatlar ışık mikroskopunda immersiyon (x100) objektifi ile incelendi. Mikroçekerdek oluşumunu değerlendirmek için hazırladığımız sitokalazin-B'li

kültürlerde elde edilen binükleuslu hücrelerde MÇ değerlendirme kriterleri dikkate alındı. Mononükleuslu, trinükleuslu veya daha fazla çekirdekli hücreler değerlendirme dışı bırakıldı. Her bir kültürde en az 1000 binükleuslu hücre incelendi ve MÇ frekansına bakıldı.

Tek hücre jel elektroforez (SCGE) yöntemi

SCGE tek bir hücrede DNA hasarının ölçülmesi için kullanılan yaygın bir tekniktir. Elektroforetik alan altında hasarlı hücresel DNA mikroskop altında klasik bir ürün olan kuyruklu yıldız şekli oluşturarak sağlam DNA'dan ayrılır. Araştırmalarımızda, bu yöntem uygulanırken OxiSelect 96-Well Comet Assay® kitleri kullanılmıştır.

Kit Bileşenleri

- OxiSelect 96 Well Comet Slide: 1 adet (96 örnek)
- OxiSelect Comet agaroz: 15 mL
- Vista Green DNA boyası: 5 µL
- EDTA solüsyonu: 50 mL
- 10X Lizis tampon: 20 mL
- Lizis tampon, alkalın solüsyon ve elektroforez yürütme solüsyonu hazırlandı ve kullanmadan önce 4°C'de bekletildi.
- 90-95°C'de 20 dakika boyunca su banyosunda erimeye bırakılan sıcak OxiSelect Comet agaroz 37°C'lik su banyosuna alınarak burada 20 dakika bekletildi.

- Hücree kùltürleri 700 rpm de 2 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Hücree pelleti soğuk PBS (Magnezyum ve kalsiyum içermeyen) ile yıkanarak santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- Önceden ısıtılmış 96 lık plate üzerinde hücreler ile Comet agaroz jel (1/10 oranında) bir araya getirildi.
- Pipet ucu ile suspansiyon iyice yayıldı.
- Yatay olarak muhafaza edilen plate 4°C’de 15 dakika karanlık bir ortamda muhafaza edildi.
- Plate dikkatli bir şekilde lizis tampon (50-100mL-slide) içeren kap içeresine transfer edilerek karanlıkta 4°C’de 30-60 dakika bekletildi.
- Lizis tampon içindeki plate alkalın solüsyon içine alınarak (50-100mL) karanlık bir ortamda 30 dakika bekletildi.
- Yatay olarak muhafaza edilen plate dikkatli bir şekilde alkalın solüsyonundan yatay elektroforez kabinlerine alındı. Kabinlere 30-35 dakika 1 volt/cm akım (300mA) uygulandı.
- Plate daha sonra önceden soğutulmuş distile su içine transfer edilerek (50-100mL-slide) bu işlem basamağı iki kez tekrar edildi.
- Suyla çalkalanan plate soğuk etanolde (%70’lik) 5 dakika bekletilerek sonrasında kurumaya bırakıldı.

- Plate Vista Green DNA boyası ile boyanarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi.
- Plate epifloresan mikroskopta (FITC filtresi kullanılarak) incelendi.

DNA hasarlarının tespit edilmesinde Speit and Hartmann (1999) tarafından önerilen yöntem kullanıldı. Bu amaçla olanaklarımız bünyesinde bir Comet analiz programı bulunmadığından dolayı analizler görsel olarak fluoressan mikroskop altında gerçekleştirildi. Araştırma kapsamında, her kültür için 100 adet nükleoid DNA incelenerek DNA hasarları hesaplandı. Comet oluşumları, gözlenen kuyruk uzunluklarına göre beş farklı gruba ayrılarak sıfırdan dörde kadar değişen oranlarda puanlandırıldı (hasarsız DNA: 0 puan; maksimum hasarlı 4 puan). Böylece, 100 comet için elde edilen toplam hasar puanı 0-400 arasında yer aldı. Ayrıca, tüm bu işlemler, çevre kaynaklı DNA hasarını önlemek amacıyla karanlık ortamda yapıldı.

3.2.2. İstatistiksel yöntem

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistiksel yönden değerlendirilmesinde S.P.S.S 12.0 programı kullanıldı. Ortalama MÇ ve toplam hasar puan değerleri arasındaki değişimlerin değerlendirilmesinde Fisher's Least Significant Difference (LSD) testi kullanıldı. Elde edilen sonuçlar 0,05 anlam seviyesi göz önünde bulundurularak yorumlandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Genetik bulgular

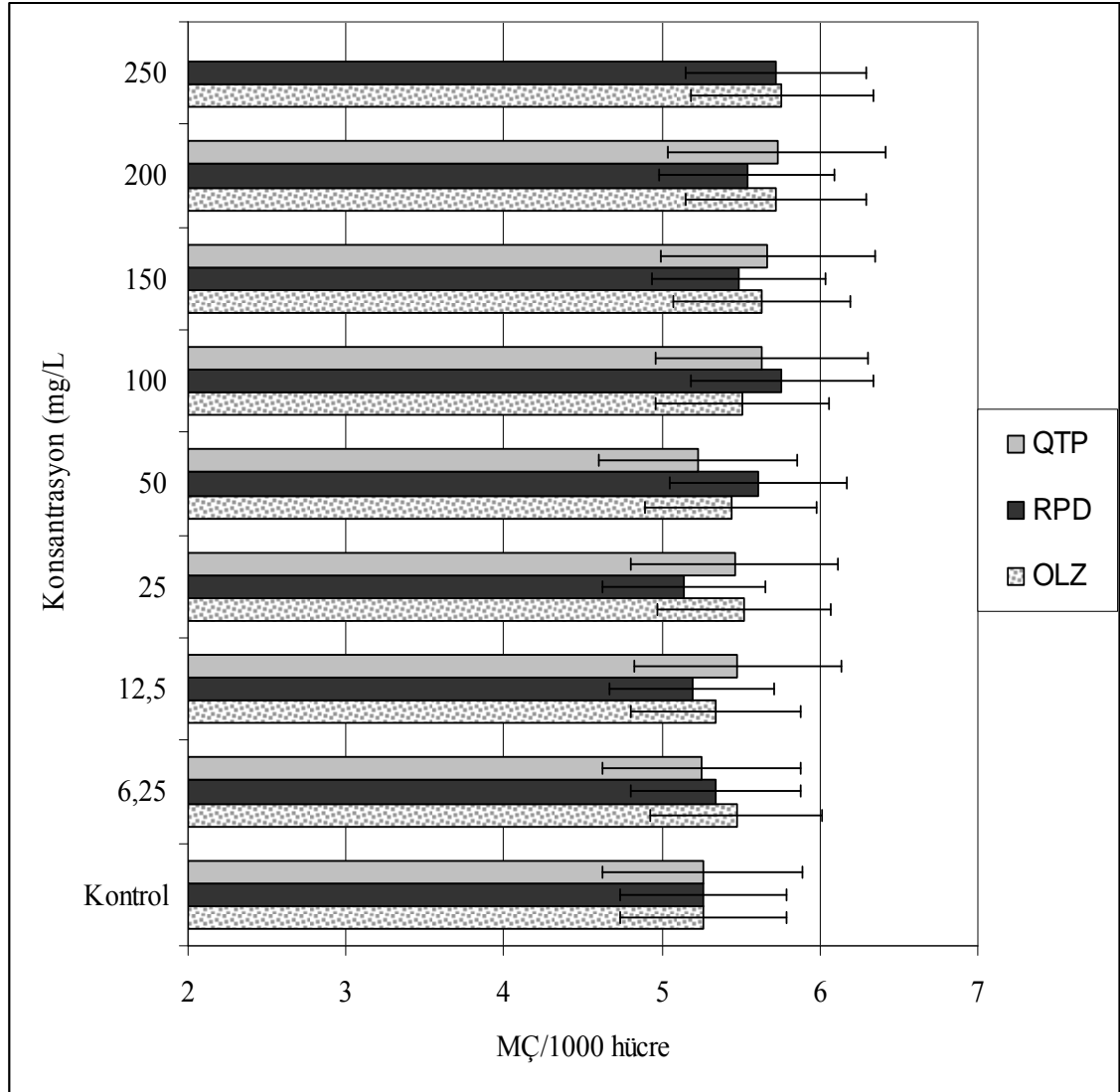
Çalışmada *in vitro* koşullarda insan tam kan kültürleri test bileşikleri olarak belirlenen OLZ, RPD ve QTP için ortamdaki son konsantrasyonları 0, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ve 400 mg/L olacak şekilde hazırlanan solusyonları ile muamele edilmiştir. Genetik araştırmalar MÇ ve SCGE testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kültürlerden elde edilen MÇ/1000 hücre ve toplam hasar puan değerleri üzerinden istatistiksel hesaplamalar yapılarak sonuçlar tartışılmıştır.

4.1.1. Bazı atipik antipsikotik ilaçların *in vitro* şartlarda mikroçekerdek sıklığı üzerine etkileri

In vitro koşullarda MÇ/1000 hücre değerleri, bütün konsantrasyonlar için 5.14 ± 0.83 ve 5.76 ± 0.81 değerleri arasında bulunmuştur. Kontrol grupları için tespit edilen MÇ/1000 hücre değeri (5.26 ± 0.91) ile deney gruplarından elde edilen MÇ/1000 değerleri arasında istatistiki açıdan herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Farklı konsantrasyonlarda kültürlerle uygulanan OLZ, RPD ve QTP hiçbir dozda kontrol grubuna kıyasla MÇ sıklığında belirgin değişikliğe yol açmamıştır. MÇ test tekniğine uygun olarak hazırlanan kültürlerde 250 (QTP) ve 400 mg/L (OLZ ve RPD) konsantrasyonlarında bileşik muameleleri yapılan kültürlerde üreme sağlanamamıştır. Atipik antipsikotiklerin tam kan kültürlerinde konsantrasyonlara bağlı olarak ortaya koyduğu MÇ/1000 hücre değerleri OLZ, RPD ve QTP için sırasıyla Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *İn vitro* koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre değerleri

Gruplar	MÇ/1000 hücre		
	OLZ	RPD	QTP
Kontrol	5.26 ± 0.91	5.26 ± 0.91	5.26 ± 0.91
6.25	5.47 ± 0.78	5.34 ± 0.75	5.25 ± 0.85
12.5	5.34 ± 0.83	5.19 ± 0.97	5.48 ± 0.73
25	5.52 ± 0.76	5.14 ± 0.83	5.46 ± 1.03
50	5.44 ± 0.67	5.61 ± 0.56	5.23 ± 0.74
100	5.51 ± 0.88	5.76 ± 0.81	5.63 ± 0.60
150	5.63 ± 0.94	5.49 ± 1.12	5.67 ± 0.88
200	5.72 ± 1.07	5.54 ± 0.82	5.73 ± 0.75
250	5.76 ± 0.76	5.72 ± 0.53	-
400	-	-	-



Şekil 4.1. *In vitro* koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu MÇ/1000 hücre değerleri

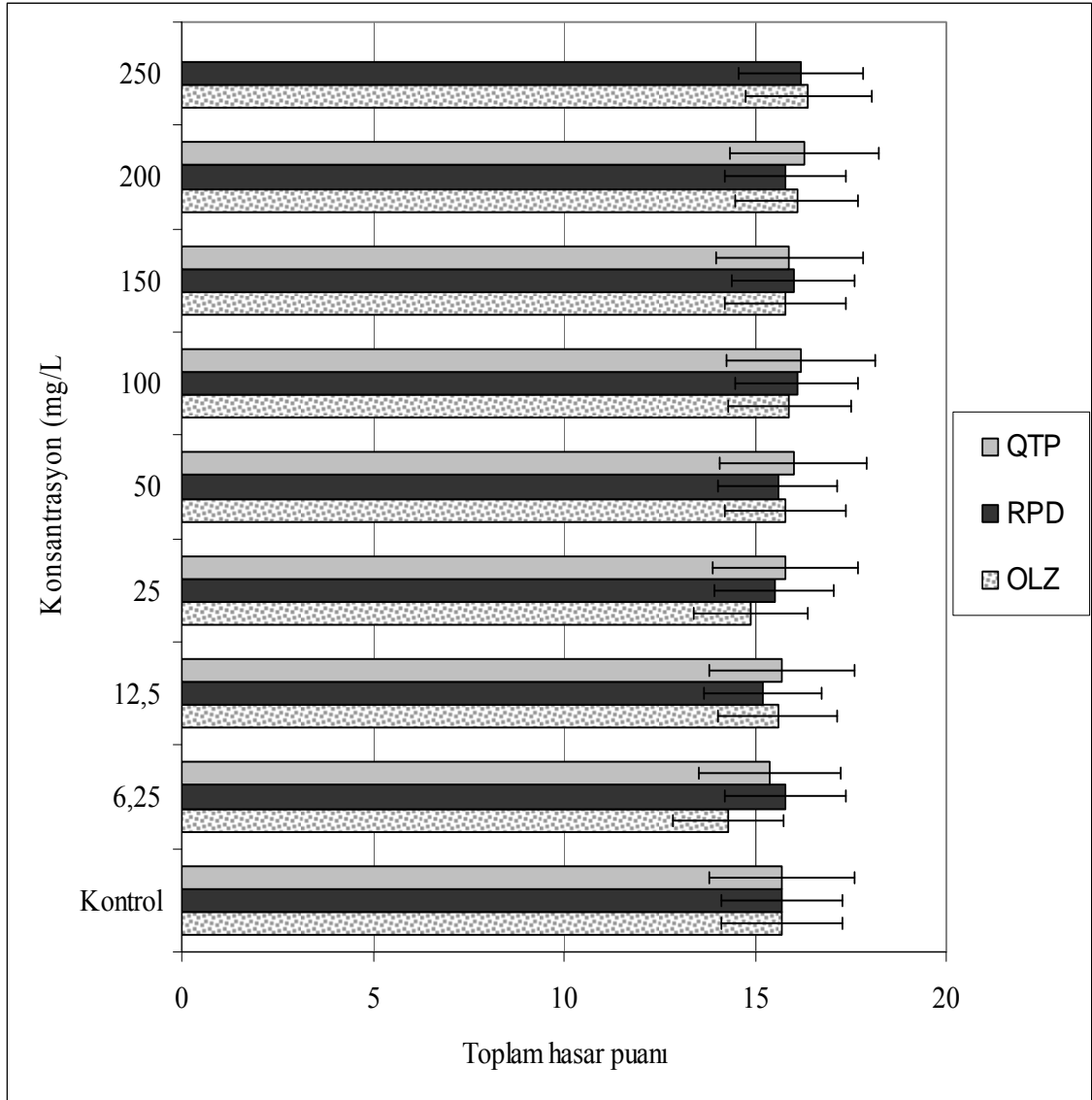
4.1.2. Bazı atipik antipsikotik ilaçların *in vitro* şartlarda toplam hasar puan değerleri

In vitro koşullarda Comet oluşumları esas alınarak hesaplanan toplam hasar puan değerleri bütün konsantrasyonlar için $14,3 \pm 3,1$ ve $16,4 \pm 2,8$ değerleri arasında bulunmuştur. Kontrol grupları için tespit edilen toplam hasar puan değeri ($15,7 \pm 3,1$) ile deney gruplarından elde edilen puan değerleri arasında istatistiki açıdan herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Farklı konsantrasyonlarda kültürlere uygulanan OLZ, RPD ve

QTP hiçbir dozda kontrol grubuna kıyasla hasar puan değerlerinde belirgin değişikliğe yol açmamıştır. Comet test tekniğine uygun olarak hazırlanan kültürlerde 250 (QTP) ve 400 mg/L (OLZ, RPD) konsantrasyonlarında bileşik muameleleri yapılan kültürlerde üreme sağlanamamıştır. Atipik antipsikotiklerin tam kan kültürlerinde konsantrasyonlara bağlı olarak ortaya koyduğu toplam hasar puan değerleri OLZ, RPD ve QTP için sırasıyla Çizelge 4.2. gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *In vitro* koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu toplam hasar puan değerleri

Gruplar	MÇ/1000 hücre		
	OLZ	RPD	QTP
Kontrol	15.7 ± 3.1	15.7 ± 3.1	15.7 ± 3.1
6.25	14.3 ± 3.1	15.8 ± 3.3	15.4 ± 2.9
12.5	15.6 ± 2.7	15.2 ± 1.9	15.7 ± 1.7
25	14.9 ± 3.3	15.5 ± 3.0	15.8 ± 2.5
50	15.8 ± 2.9	15.6 ± 2.4	16.0 ± 3.1
100	15.9 ± 1.9	16.1 ± 2.5	16.2 ± 2.9
150	15.8 ± 2.2	16.0 ± 3.1	15.9 ± 2.8
200	16.1 ± 3.0	15.8 ± 2.6	16.3 ± 3.1
250	16.4 ± 2.8	16.2 ± 2.4	-
400	-	-	-



Şekil 4.2. *İn vitro* koşullarda OLZ, RPD ve QTP'nin konsantrasyonlara göre oluşturduğu toplam hasar puanları

5. TARTIŞMA

Araştırmamız kapsamında yapılan SCGE ve MÇ analizleri neticesinde OLZ, RPD ve QTP'nin insan lenfosit kültürlerinde genotoksik etkili olmadığı görülmektedir. Bulgularımıza paralel olarak, OLZ'nin bazı model organizmalarda (insan harici) genotoksisite potansiyelinin bulunmadığına dair çeşitli raporlar bulunmaktadır. Nitekim OLZ'nin genotoksisite potansiyeli *Salmonella typhimurium* mutasyon (Ames), Fare lenfoma L5178Y mutasyon, kromozom aberasyonları (CHO hücrelerinde) ve programsız DNA sentezi (sıçan hepatosit hücrelerinde) testleri ile değerlendirilmiş ve mutajenik etkileri bulunmadığı rapor edilmiştir. Bu raporlara ilaveten OLZ genotoksisitesi kemik iliği hücrelerinde hem *in vitro* şartlarda Chinese hamsterlar üzerinde SCE testi, hem de *in vivo* şartlarda fareler üzerinde MÇ testi ile araştırılmıştır. Bu araştırmalara ait sonuçlar OLZ'nin genotoksik olmadığını ortaya koymuştur (Physicians Desk Reference 2005; Brambilla *et al.* 2007).

OLZ'e benzer şekilde, RPD'da *S. typhimurium* mutasyon ve Fare lenfoma L5178Y mutasyon testlerinde mutajenik etkili bulunmamıştır. Yine *in vitro* şartlarda insan lenfositleri ve Chinese Hamster hücreleri üzerinde yürütülen kromozomal aberasyon testleri ile fareler üzerinde yürütülen MÇ testi sonuçları doğrultusunda RPD'nin genotoksik aktivite göstermediği kaydedilmiştir. Ayrıca, sıçan hepatosit hücrelerinde programsız DNA sentezi ile, *Drosophila melanogaster*'da ise cinsiyete bağlı resesif letal mutasyon testlerinde RPD mutajeniteye neden olmadığı görülmüştür. Yaygın olarak kullanılan atipik antipsikotik ilaçlardan biri olan QTP'nin mutajenik etkileri çeşitli genotoksisite testleri ile araştırılmıştır. Farklı deneysel modellerin ve genotoksisite testlerinin (*S. typhimurium* mutasyon, CHO gen mutasyon, kromozom aberasyonları (insan lenfositlerinde) ve MÇ (sıçanlarda) kullanıldığı bu araştırmalar sonrasında QTP'nin genetik hasar oluşturmadığı rapor edilmiştir (Physicians Desk Reference 2005; Brambilla *et al.* 2007).

DNA demetilasyonunun hücre mekanizmalarını replikasyon çatalı düzeyinde hatalı baz eşleşmelerini artırmak suretiyle olumsuz etkileyebildiği ve SCE oluşumu ile ilgili olduğu bilinmektedir. Nitekim son dönemlerde yürütülen araştırmalarda demetilasyona neden olan kimyasalların insan lenfositleri gibi memeli hücreleri ile CHO hücrelerinde genotoksisiteye (SCE frekanslarında artışlara) neden olduğu gösterilmiştir (Perticone *et al.* 1987). Çalışmamızda OLZ, RPD ve QTP muameleleri sonrasında gözlenen MÇ/1000 hücre ve toplam hücre hasarı puanları kontrol değerlerinden farklı bulunmadı. Bulgularımız ışığında bu ilaçların lenfosit DNA'sında demetilasyona sebep olmadığı teklif edilebilir. Fareler üzerinde yürütülen bir araştırmada bazı antipsikotik ilaçların (klozapin (CLZ) ve sulpiride) beyinde DNA demetilasyona sebep olurken, haloperidol veya OLZ'in demetilasyona neden olmadığı kaydedilmiştir (Dong *et al.* 2008). Nitekim OLZ muamelesi sonrasında insan lenfosit kültürlerinde gözlenen KKD oranlarında kontrol grubu değerlerine kıyasla herhangi bir artış görülmemiştir (Togar and Türkez, 2010). CLZ'in toksisite mekanizmasının tam olarak aydınlatılamamasına rağmen toksisitesinin (agranulositoz ve hepatotoksisite) bu ilacın reaktif metabolitlerinin birikimine bağlı olduğu rapor edilmiştir (Lu *et al.* 2008). *In vitro* çalışmalar insan karaciğer mikrozomlarında olanzapinin başlıca dört farklı oksidatif metabolit (NdM olanzapin, 7-OH olanzapin, 2-OH olanzapin, and N-O olanzapin) oluşturduğunu ortaya koymuştur (Wrighton and Ring 1999). Ancak, literatürde bu dört kimyasal metabolitin birikimi ile genetik ve oksidatif hasar potansiyellerini ele alan bir araştırmaya rastlanamamıştır. Benzer şekilde, RPD'nin (9-hydroxyrisperidone) (Lostia *et al.* 2009; Saracino *et al.* 2010) ve QTP'in (ketiapin sulfoksid, N- ve O-desalkilketiapine) sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından oluşturulan metabolitlerinin (Sümeği 2008) de genetik ve oksidatif hasar potansiyelleri hakkında bilinenler oldukça sınırlıdır.

Çalışmamızda OLZ, RPD (400 mg/L) QTP'nin (250 mg/L) yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkilerinden dolayı kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkileyerek steriliteye neden olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son yıllarda toksikoloji araştırmalarının odağı haline gelmiştir (Mercan 2004). Dietrich-Muszalska *et al.* (2009), tedavilerinde OLZ, RPD ve CLZ kullanan şizofren hastaları üzerinde yapmış oldukları araştırmalarında plazma

proteinlerinde oksidatif strese bağlı olarak gelişen oksidatif ve nitratif modifikasyonları ele almışlardır. Bu nedenle, protein örneklerinde karbonil grupları ve 3-nitrotirozin ile plazmada düşük moleköl ağırlıklı tiyollerin (glutasyon (GSH), sistein (CSH), sisteinilglisin (CGSH) ve homosistein) düzeylerini tespit etmişlerdir. Araştırmanın sonucunda, şizofreni hastalarında reaktif oksijen ve azot türlerinin oluşumuna bağlı olarak plazma proteinlerinde oksidatif ve nitratif modifikasyonların arttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde, Schmidt *et al.* (2009), QTP'nin insan nöroblastoma SH-SY5Y hücrelerinde antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonlarında azalmalara neden olduğunu ortaya koymuştur.

Tedavilerinde antipsikotik ilaçları kullanan bireyler üzerinde yapılan diğer araştırmalarda ilaç kullanımına bağlı olarak süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) gibi temel antioksidan enzimlerin aktivitelerinde değişiklerin meydana geldiği kaydedilmiştir (Zhang *et al.* 2006, 2009). Bu *in vivo* bulgulara ilaveten, Togar ve Türkez (2010), tarafından insan periferel lenfosit kültürleri üzerinde yürütölen çalışmada, OLZ'nin yüksek konsantrasyonlarda toplam antioksidan kapasite (TAK) ve toplam oksidatif stres (TOS) parametrelerinin her ikisinde değişimlere sebep olduğu belirtilmiştir. Önceki araştırmalar nötrofillerde OLZ'in MPO/H₂O₂/Cl sistemi ve HOCl tarafından reaktif nitrenyum iyonuna oksidize edildiğini ancak bu OLZ reaktif metabolitinin insan nötrofil ve monositleri üzerinde güçlü toksik etkiler oluşturmadığını ortaya koymuştur (Gardner *et al.* 1998). Patel *et al.* (2004) Sprague-Dawley ırkı sıçanlar üzerinde yapmış oldukları deneylerinde OLZ muamelesi sonucu pankreasta malondialdehit (MDA) seviyesinin belirgin bir biçimde arttığını gözlemişlerdir. Aliyazıcıoğlu vd (2007) sadece lityum veya OLZ + lityum tedavisi gören bipolar hastaların lenfositlerinde antioksidan enzim düzeylerini araştırmışlar ve her iki tedavi sonrasında da enzim düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir. Bu bulguların aksine, Martins *et al.* (2008) deneylerinde OLZ'nin sıçan beyninde oksidatif hasara sebep olmadığını rapor etmişlerdir. Al-chalabi *et al.* (2009) şizofreni hastalarında OLZ'in TAS ve lipid peroksidasyonu değerlendirmesi yapmış iki aylık tedavi sonucunda ilk tedaviye oranla hastaların serum TAS seviyesi ve serum MDA seviyesinde önemli artışlar olduğunu rapor etmişlerdir. Tedavilerinde iki ay

süresince OLZ kullanan hastalarda, tedavi öncesine oranla TAK düzeylerinde yükselme, MDA düzeylerinde ise azalmalar görülmüştür (Singh *et al.* 2008). Yine, Parikh *et al.* (2003) RPD, CLZ ve OLZ ile muamele edilen sıçanların beyin dokularında antioksidan enzim düzeylerinin değişmediğini gözlemlemişlerdir.

Araştırmamızda inkubasyonu yapılan kültürler içerisinde eritrositler de bulunmaktadır ve eritrositler GSH-Px ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzimlerine sahiptirler. Diğer taraftan, GSH eritrositlerin temel bileşeni olup hücrelerin antioksidan savunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Ray 1984; Ozturk and Gumuslu 2004). GST'nin ksenobiyotik mutajenler tarafından meydana getirilen kanser oluşumlarına karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir (Fiander and Schneider 2000). Bakare *et al.* (2009) kronik OLZ maruziyetinin sıçan serebral kortikal hücrelerinde GST-M1 protein seviyeleri ve GST enzim aktiviteleri üzerine etkilerini incelemiş ve OLZ muamelesinin her iki parametrede de artışlara neden olduğunu ortaya koymuştur.

5.1. Sonuç

Sonuç olarak bu araştırma kapsamında yaygın olarak kullanılan atipik antipsikotik ilaçlar arasında yer alan OLZ, RPD ve QTP'nin uygulama dozları açısından genotoksik risk taşımadıkları *in vitro* şartlarda tek hücre jel elektroforezi ve mikroçekirdek yöntemleri kullanılarak ortaya konmuştur. Bununla birlikte, yüksek dozlarda muhtemelen oksidatif strese bağlı olarak meydana gelebilecek hücre hasarlarının da dikkate alınması gerektiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Ahuja, YR., Jaju M., Saxena R., 1984. Cytogenetic effects of psychotropic drug haloperidol on human lymphocytes. *Arzneimittelforschung*. 34(6), 699-701.
- Akkaya, C., 2005. Depresyon Etiyolojisinde Serotonin ve Noradrenalin. *Yeni Symposium*. 43 (3), 91-96.
- Al-chalabi, BM., Thanoon IAJ. and Ahmed FAA., 2009. Potential effect of olanzapine on total antioxidant status and lipid peroxidation in schizophrenic patients. *Neuropsychobiology*. 59, 8-11.
- Aliyazicioğlu, R., Kural B., Colak M., Karahan SC., Ayvaz S. and Değer O., 2007. Treatment with lithium, alone or in combination with olanzapine, relieves oxidative stress but increases atherogenic lipids in bipolar disorder. *Tohoku Journal Experimental Medicine*. 213, 79-87.
- Altıntoprak, E.A., Erol A., Koturoğlu G., Gönül A.S., 2005. Atipik Antipsikotiklerin Kadın Fertilitesi ve Gebelik Üzerine Etkileri: Olgu Sunumu. *Psikofarmakoloji Bülteni*. 15,182-186.
- Aslan, S., 2007. Antidepresan İlaçlar (V. Dönem Stajer Dr. Ders notları). <http://www.forumsitem.net/saglik-icin-faydali-bilgiler/3208-antidepresan-ilaclar.html>. (12-04-2007).
- Aydemir, Ö., Danacı A.E., Pırıldar Ş., 2002. Şizofrenide Depresyonu Olan ile Olmayan Hastaların Belirti Yönünden Ayrımı. *Türk Psikiyatri Dergisi*. 13(3), 173-178.
- Bakare, A., Shao L., Cui J., Young LT. and Wang JF., 2009. Mood stabilizing drugs lamotrigine and olanzapine increase expression and activity of glutathione-transferase in primary cultured rat cerebral cortical cells. *Neuroscience Letters*. 455, 70-73.
- Best, L., Yates AP., Reynolds GP., 2005. Actions of antipsychotic drugs on pancreatic beta-cell function: contrasting effects of clozapine and haloperidol. *J Psychopharmacol*. 19(6), 597-601.
- Boyacıoğlu, M., 2004. İzmir körfezi sedimentlerinde direkt mutajenlerin belirlenmesi. *E.Ü. Su Ürünleri Derg*. 21 (1-2), 23-27.
- Bozkurt, G., Abay E., Ates I., Karabogaz G., Ture M., Savran FO., Palanduz S., Temocin K., Algunes C., 2004. Clastogenicity of selective serotonin-reuptake inhibitors. *Mutat Res*. 558(1-2), 137-144.
- Brambilla, G., Mattioli F. and Martelli A., 2007. Genotoxic and carcinogenic effects of antipsychotics and antidepressants. *Toxicology*. 261, 77-88.
- Briegel, W., 2007. 22q11.2 deletion and schizophrenia in childhood and adolescence. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother*. 35(5), 353-357.
- Ceylan, E., Yazan B., 1998. Depresyonun Biyolojik Tedavileri. *Psikiyatri Dünyası* 2, 60-67.
- Cheng-Shannon, J., McGough JJ., Pataki C., McCracken JT., 2004. Second-generation antipsychotic medications in children and adolescents. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 14(3), 372-394.
- Cohen MM, Lieber E, Schwartz HN., 1972. In-vivo cytogenetic effects of perphenazine and chlorpromazine: a negative study. *Br Med J*. 1;3(5817):21-3.

- Cortyman, R. I., Heddle J. A., 1976. The production of micronuclei from chromosome aberration in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.* 41, 321-332.
- Crossen, PE., Morgan WF., 1982. The effect of chlorpromazine on SCE frequency in human chromosomes. *Mutat Res.* 96(2-3), 225-32.
- Cumurcu, E.B, Tümöklü M.N., Çelikel F.Ç., Demir S., Eğri M., 2009. Atipik Antipsikotik Kullanımının Metabolik Etkileri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Tokat. Cilt 47, Sayı 4
- Çetin, M., Turgay A., 2002. Modern Psikofarmakolojinin Ellinci Yılında Klorpromazinden Günümüze Antipsikotik Tedavinin Dünü, Bugünü. *Klinik Psikofarmakoloji Bulteni.* 12, 211-226.
- Dai, Y., Wei Z., Sephton CF., Zhang D., Anderson DH., Mousseau DD., 2007. Haloperidol induces the nuclear translocation of phosphatidylinositol 3'-kinase to disrupt Akt phosphorylation in PC12 cells. *J Psychiatry Neurosci.* 32(5):323-330.
- Demirel, S. Zamani A. G., 2002. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg.* 12 (3), 123-127.
- Demir, F., Ay P., Erbaş P., Özdil M., Yaşar E., 2007. İstanbulda Bir Eğitim Hastanesinde Çalışan Tıpta Uzmanlık Öğrencilerinde Depresyon Yaygınlığı ve İlişkili Etkenler. *Türk Psikiyatri Dergisi.* 18(1), 31-37
- de Mol, NJ., Busker RW., 1984. Irreversible binding of the chlorpromazine radical cation and of photoactivated chlorpromazine to biological macromolecules. *Chem Biol Interact.* 52(1), 79-92.
- Dietrich-Muszalska, A., Olas B., Głowacki R., Bald E., 2009. Oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and thiols from patients with schizophrenia. *Neuropsychobiology.* 59(1), 1-7.
- Dilbaz, N., 2000. Sosyal Anksiyete Bozukluğu: Tanı, Epidemiyoloji, Etiyoloji, Klinik ve Ayırıcı Tanı. *Klinik Psikiyatri.* 2:3, 21.
- Dixon, K. and Koprass E., 2004. Genetic alterations and DNA repair in human carcinogenesis. *Semin Cancer Biol.* 14 (6), 441-448.
- Dodd, S., Berk M., 2006. The safety of medications for the treatment of bipolar disorder during pregnancy and the puerperium. *Curr Drug Saf.* 1(1), 25-33.
- Dong, E., Nelson M., Grayson DR., Costa E. and Guidotti A., 2008. Clozapine and sulphiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America.* 105, 13614–13619.
- Eraslan, D., Öztürk Ö., Kayahan B., Zorlu N., Veznedaroğlu B., 2006. Şizofreni, atipik antipsikotikler ve obezite. *Anadolu Psikiyatri Dergisi.* 7, 167-172.
- Erensayın, C., 2000. Genetik. Nobel Yayın Dağıtım. Ankara. 157.
- Fenech, M. and Morley A. A., 1985a. Measurement of micronuclei in human lymphocytes. *Mutat. Res.* 148, 29-36.
- Fenech, M. and Morley A. A., 1985b. The effect of donor age on spontaneous and induced micronuclei. *Mutat. Res.* 148, 99-105.
- Fenech, M., 1993. The cytokinesis blocks micronucleus technique. A detailed description on the method and its application to genotoxicity studies in human Population. *Mutat. Res.* 285, 35-44.
- Fenech, M., 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res.*, 455 (1-2), 81-95.

- Ferguson, L.R., Philpott M. and Karunasinghe N., 2004. Dietary cancer and prevention using antimutagens. *Toxicology*. 198 (1-3), 147-159.
- Fiander, H., Schneider Fh., 2000. Dietary ortho phenols that induce glutathione S-transferase and increase the resistance of cells to hydrogen peroxide are potential cancer chemopreventives that act by two mechanisms: the alleviation of oxidative stress and the detoxification of mutagenic xenobiotics. *Cancer Letters*. 156, 117–124.
- Gardner, I., Zahid N., MacCrimmon D. and Uetrecht JP., 1998. A comparison of the oxidation of clozapine and olanzapine to reactive metabolites and the toxicity of these metabolites to human leukocytes. *Molecular Pharmacology*. 6, 991–998.
- Giacomini, NJ., Rose B., Kobayash K., Guo S., 2006. Antipsychotics produce locomotor impairment in larval zebrafish. *Neurotoxicol Teratol*. 28(2), 245-50.
- Guzmán, A., García C., Marín AP., Ruiz MT., Tortajada A., Fernández de Henestrosa AR., 2004. Induction of micronuclei in mouse bone-marrow erythrocytes in association with hypothermia after administration of the sigma receptor ligand E-5842. *Mutat Res*. 31,565(1), 11-22.
- Guzmán, A., García, C., Fernández de Henestrosa, AR., Riley, S., Ruiz, MT., Marín, AP. And Tortajada, A., 2006. Assessment of the genotoxic potential of the antipsychotic sigma receptor ligand E-5842. *Mutat Res*. 16, 605(1-2):63-77.
- Hadnagy, W., Marsetz B. and Idel H., 2003. Hemolytic activity of crystalline silicaseparated erythrocytes versus whole blood. *Int J Hyg Environ Health*. 206 (2),103-107.
- Hall, DA., Agarwal P., Griffith A., Segro V., Seeberger LC., 2009. Movement disorders associated with aripiprazole use: a case series. *Int J Neurosci*. 119(12), 2274-2279.
- Herken, H., Kaya N., Beşiroğlu L., Derman H. and Özkan İ., 1999. Kronik Şizofreni Hastalarında Klozapin ve Sulpiridin Etkinliğinin Karşılaştırılması. *Klinik Psikofarmakoloji Bulteni*. 9, 148-151.
- Hiroi, N., Zhu H., Lee M., Funke B., Arai M., Itokawa M., Kucherlapati R., Morrow B., Sawamura T., Agatsuma S. A., 2005. 200-kb region of human chromosome 22q11.2 confers antipsychotic-responsive behavioral abnormalities in mice. *Proc Natl Acad Sci*. 102(52), 19132-7.
- Ishii, S., Ube M., Okada M., Adachi T., Sugimoto J., Inoue Y., Uno Y. and Mutai M., 2009. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity. 17) Two- or four-week repeated-dose studies and fertility study of sulphiride in female rats. *J Toxicol Sci*. 34, 175-88.
- Işık, E., 1997. Şizofeni. 117-122. Kent Matbaacılık, Ankara.
- Izumi, Y., Watanabe T., Awasaki N., Hikawa K., Minagi T., Chatani F., 2009. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity. 16) Effects of 2 or 4 weeks repeated dose studies and fertility study of Chlorpromazine hydrochloride in rats. *J Toxicol Sci*. 1, 67-74.
- İlbars, H., 1997. Kuaförlerde ve kozmetik üretim yerinde çalışan bireylerde olası genotoksik etkilerin mikroçekirdek testi ile araştırılması. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Kalenderoğlu, A., Vırıt O., Savaş H.A., 2008. Atipik Antipsikotiklerin Psikotik Bozukluklar Dışında Kullanımı. *Psikiyatride derlemeler, olgular ve varsayımlar dergisi*. 3, 4.

- Karakuş, G., Tamam L., Zengin M., 2009. Şizofreni hastalarında antipsikotik kullanımına bağlı hiperprolaktinemi ve kemik metabolizma bozuklukları *Anatolian Journal of Psychiatry*. 10,336-342.
- Karan, D., Orhan A., Öztürk O. M., Savaş I., Savaş Y., Birsöz S., Ünal M., Ökten F., Sonuvar B., 1981. Ruh Sağlığı ve Hastalıkları. Türkiye Sinir ve Ruh Sağlığı Derneği Yayını, 7, 137-161.
- Kashem, MA., Ummehany R., Ukai W., Hashimoto E., Saito T., Mcgregor IS., Matsumoto I., 2009. Effects of typical (haloperidol) and atypical (risperidone) antipsychotic agents on protein expression in rat neural stem cells. *Neurochem Int*. 55(7), 558-565.
- Kawanishi, S., Hiraku, Y. and Oikawa, S., 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat Res.*, 488 (1), 65-76.
- Kurt, E., Emül M.H., Oral T.E., 2008. Yeni antipsikotikler ve haloperidolün prolaktin üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması. *Anadolu Psikiyatri Dergisi*. 9, 44-48.
- Lando, C., Hagmar L., Bonnassi S., 1998. Biomarkers of cytogenetic damage in human and risk of cancer. The European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Med. Lav*. 89, 124-131.
- Lee, R.F. and Steinert S., 2003. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutat Res*. 544 (1), 43-64.
- Lialiaris, TS., Papachristou F., Mourelatos C. and Simopoulou M., 2009. Antineoplastic and cytogenetic effects of chlorpromazine on human lymphocytes in vitro and on Ehrlich ascites tumor cells in vivo. *Anticancer Drugs*. 20(8), 746-51.
- Ling, SH., Tang YL., Jiang F., Wiste A., Guo SS., Weng YZ., Yang TS., 2007. Plasma S-100B protein in Chinese patients with schizophrenia: comparison with healthy controls and effect of antipsychotics treatment. *J Psychiatr Res*. 41(1-2), 36-42.
- Lin, EJ., Lee NJ., Slack K., Karl T., Duffy L., O'brien E., Matsumoto I., Dedova I., Herzog H., Sainsbury A., 2006. Distinct endocrine effects of chronic haloperidol or risperidone administration in male rats. *Neuropharmacology*. 51(7-8), 1129-1136.
- Lostia, AM., Mazzarini L., Pacchiarotti I., Lionetto L., De Rossi P., Sanna L., Sani G., Kotzalidis GD., Girardi P., Simmaco M., Tatarelli R., 2009. *Ther Drug Monit*. 31(4), 475-81.
- Lu, Y., Meng Q., Zhang G. and Bei X., 2008. Clozapine-induced hepatotoxicity in rat hepatocytes by gel entrapment and monolayer culture. *Toxicology In Vitro*. 22, 1754-1760.
- Madle, S., Obe G., Schroeter H., Herha J., Pietzcker A., 1980. Possible mutagenicity of the psychoactive phenothiazine derivative perazine in vivo and in vitro. *Hum Genet*. 53(3), 357-61.
- Martins, MR., Petronilho FC., Gomes KM., Dal-Pizzol F., Streck EL. and Quevedo J., 2008. Antipsychotic-induced oxidative stress in rat brain. *Neurotoxicity Research*. 13, 63-69.
- McArt, DG., McKerr G., Howard C.V., Saetzler K., Wasson, G.R., 2009. Modelling the comet assay. *Biochem Soc Trans*. 37(Pt 4), 914-917.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Mercan YYU Vet. Fak. Derg*. 15 (1-2), 91-96.

- Mete, L., Ünsal P.Ç., 2004. Yeni Kuşak Antipsikotiklerin Metabolik Yan Etkileri Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 14, 168-177.
- Odaci, E., Bilen H., Hacimuftuoglu A., Keles ON., Can I. and Bilici M., 2009. Long-term treatments with low- and high dose olanzapine change hepatocyte numbers in rats. A stereological and histopathological study. Arch Med Res. 40(3), 139-145.
- Oduz, A., Gönül A.S., 2000. Atipik Antipsikotikler. Şizofeni Dizisi. 1, 58-63.
- Örsel, S., 2004. Depresyonda Tedavi: Genel İlkeler ve Kullanılan Antidepresan İlaçlar. Klinik Psikiyatri. 4, 17-24.
- Özsoy, S., Eşel E., İzgi H.B., Turan T.M., Sofuoğlu S., 2008. Şizofreni ve bipolar bozukluğu olan hastalarda tipik ve yeni nesil atipik antipsikotik ilaçların hematolojik parametreler üzerine etkileri. Türkiye’de Psikiyatri. 10, 19-22.
- Öztürk, O., Gümüşlü S., 2004. Age-related changes of antioxidant enzyme activities, glutathione status and lipid peroxidation in rat erythrocytes after heat stress. Life Sciences. 75, 1551–1565.
- Özyüksel, B., Uluğ B., 2007. Depresyon Tanısı Alan Hastalarda Kalıntı Belirtilerin Yeti Yitimi ile İlişkisi: 3 Aylık İzlem Çalışması. Türk Psikiyatri Dergisi. 18(4), 323-332.
- Paralı, F., 1994. Etidyum Bromidin (EtBr) in vitro insan lenfositlerine etkisinin SCE yöntemiyle gösterilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Parikh, V., Khan MM., Mahadik SP., 2003. Differential effects of antipsychotics on expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. J Psychiatr Res. 37(1), 43-51.
- Patel, M., Bapu C., Padh H. and Nivsarkar M., 2004. Olanzapine induced thrombocythemia in Sprague Dawley rats. Drug and Chemical Toxicology. 27, 379–387.
- Perticone, P., Cozzi R. and Gustavino B., 1987. Sister chromatid exchanges induced by DNA demethylating agents persist through several cell cycles in mammalian cells. Carcinogenesis. 8, 1059–1063.
- Petruska, JM., Frank DW., Freeman GB., Evans EW., MacDonald JS., 2002. Toxicity and carcinogenicity studies of chlorpromazine hydrochloride and p-cresidine in the p53 heterozygous mouse model. Toxicol Pathol. 30(6), 696-704.
- Physicians’ Desk Reference. 2005 59th ed. Montvale, NJ: Thomson PDR.
- Polischouk, AG., Holgersson A., Zong D., Stenerlöw B., Karlsson HL., Möller L., Viktorsson K., Lewensohn R., 2007. The antipsychotic drug trifluoperazine inhibits DNA repair and sensitizes non small cell lung carcinoma cells to DNA double-strand break induced cell death. Mol Cancer Ther. 6(8), 2303-2309.
- Pouget, R., Blayac JP., Largey B., Alric R., Castelnau D., Boulet J., 1976. Corneal and lens deposits due to treatment by phenothiazine type neuroleptics. Ann Med Psychol. 1(3), 403.
- Rao, KP., Rao MS., 1981. Effects of fluphenazine hydrochloride on the bone-marrow cells of Swiss mice. Mutat Res. 89(3), 237-40.
- Ray, JH., 1984. Sister-chromatid exchange induction by sodium selenite: reduced glutathione converts Na₂SeO₃ to its SCE-inducing form. Mutation Research. 141, 49–53.

- Reznik, I., Volchek L., Mester R., Kotler M., Sarova-Pinhas I., Spivak B., Weizman A., 2000. Myotoxicity and neurotoxicity during clozapine treatment. *Clin Neuropharmacol.* (5), 276-280.
- Rock, W., Elias M., Lev A., Saliba WR., 2009. Haloperidol-induced neuroleptic malignant syndrome complicate complicated by hyperosmolar hyperglycemic state. *Am J Emerg Med.* 27(8), 1018.1-3.
- Saracino, MA., de Palma A., Boncompagni G., Raggi MA., 2010. Analysis of risperidone and its metabolite in plasma and saliva by LC with coulometric detection and a novel MEPS procedure. *Talanta.* 15;81(4-5), 1547-1553.
- Schmidt, AJ., Hemmeter UM., Krieg JC., Vedder H., Heiser P., 2009. Impact of haloperidol and quetiapine on the expression of genes encoding antioxidant enzymes in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Psychiatr Res.* 43(8), 818-823.
- Singh, OP., Chakraborty I., Dasgupta A. and Data S., 2008. A comparative study of oxidative stress and interrelationship of important antioxidants in haloperidol and olanzapine treated patients suffering from schizophrenia. *Indian Journal of Psychiatry.* 50, 171–176.
- Suryanarayana, A., Rita P., Reddy PP., 1987. Cytogenetic effects of trifluoperazine in mice. *Food Chem Toxicol.* 25(8), 615-7.
- Suryanarayana, A., 1991. Cytogenetic effect of thioridazine hydrochloride in mice and in human lymphocyte chromosomes. *Ceylon Med J.* 36(3), 102-5.
- Sümeği, A., 2008. Quetiapine in bipolar disorders. *Neuropsychopharmacol Hung.* 10(5), 281-291.
- Tav, S.A., 2006. Şizofreni Tedavisinde Direkt Maliyeti Belirleyen Değişkenlerin Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi 4. Psikiyatri Birimi. İstanbul.
- Thaakur, S., Himabindhu G., 2009. Effect of alpha lipoic acid on the tardive dyskinesia and oxidative stress induced by haloperidol in rats. *J Neural Transm.* 116(7), 807-814.
- Thomas, P., Srivastava V., Singh A., Mathur P., Nimgaonkar VL., Lerer B., Thelma BK., Deshpande SN., 2008. Correlates of response to Olanzapine in a North Indian Schizophrenia sample. *Psychiatry Res.* 15;161(3), 275-283.
- Tice, R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C., Sasaki Y.F., 2000. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.* 35 (3), 206-221.
- Togar, B., Türkez H., 2010. The genotoxic and oxidative damage potential of olanzapine in vitro. *Toxicology and Industrial Health* (in press).
- Tokyay, N., 1999. “Helicobacter Pylori” Enfeksiyonu ve uygulanan eradikasyon tedavisinin genotoksisite üzerine etkileri. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasotik Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Tulipano, G., Rizzetti C., Bianchi I., Fanzani A., Spano, P. and Cocchi D., 2007. Clozapine-induced alteration of glucose homeostasis in the rat: the contribution of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. *Neuroendocrinology.* 85(2), 61-70.
- Ünal, S., Özcan E., 2000. Depresyonda hazırlayıcı, ortaya çıkarıcı ve koruyucu etkenler. *Anadolu Psikiyatri Dergisi.* 1(1), 41-48.

- Van Schaik, N., Graf U., 1991. Structure-activity relationships of tricyclic antidepressants and related compounds in the wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res.* 260(1), 99-104.
- Van Schaik, N., Graf U., 1993. Structure-activity relationships of tricyclic antidepressants and related compounds in the wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res.* 286(2), 155-63.
- Wang, JF., Min JY., Hampton TG., Amende I., Yan X., Malek S., Abelmann WH., Green AI., Zeind J. and Morgan JP., 2008. Clozapine-induced myocarditis: role of catecholamines in a murine model. *Eur J Pharmacol.* 592(1-3),123-127.
- Weiner, ML., Batt KJ., Putman DL., Curren RD., Yang LL., 1990. Genotoxicity evaluation of lithium hypochlorite. *Toxicology.* 65(1-2), 1-22.
- Wiklund, ED., Catts VS., Catts SV., Ng TF., Whitaker NJ., Brown AJ., Lutze-Mann LH., 2010. Cytotoxic effects of antipsychotic drugs implicate cholesterol homeostasis as a novel chemotherapeutic target. *Int J Cancer.* 126(1), 28-40.
- Wrighton, SA., Ring BJ., 1999. Predicting drug interactions and pharmacokinetic variability with in vitro methods: the olanzapine experience. *Drug Metabolism Reviews.* 31, 15–28.
- Yağcıoğlu, E.A., 2005. Şizofreni Tedavisi ve Antipsikotik İlaçlar. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 1(12), 49-57.
- Yıldız, A., Tunca Z., 2001. Duygudurum Düzenleyici İki İlaç Lityum ve Valproatın Etki Mekanizmalarına İlişkin Bulgular. *Türk Psikiyatri Dergisi.* 12(2), 147-155.
- Yüksel, N., Sayın A., 2006. Antipsikotiklere Bağlı Metabolik Yan Etkiler Klinik Psikiyatri. 9, 5-16.
- Zhang, XY., Tan YL., Cao LY., Wu GY., Xu Q., Shen Y., Zhou DF., 2006. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophr Res.* 31;81(2-3), 291-300.
- Zhang, XY., Zhou DF., Qi LY., Chen S., Cao LY., Chen da C., Xiu MH., Wang F., Wu, GY., Lu L., Kosten TA., Kosten TR., 2009. Superoxide dismutase and cytokines in chronic patients with schizophrenia: association with psychopathology and response to antipsychotics. *Psychopharmacology (Berl).* 204(1), 177-184.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Erzincan'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da, lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 2003 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden 2007 yılında başarıyla mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisans öğrenimine başladı. 2007-2010 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı.