

**Antipsikotiklerin toksisitesi ve bireysel duyarlılığın
toksikite üzerine etkisi**

Program Kodu: 1001

Proje No: 115S229

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Bensu KARAHALİL

Yardımcı Araştırmacı:
Doç. Dr. Mehmet AK

Danışman:
Doç. Dr. Emirhan NEMUTLU

Bursiyerler:
Aylin ELKAMA
Nazlıcan İLİK
Hatice Erim TEKER

Ekim 2017
ANKARA

ÖNSÖZ

Uzun süre ilaç kullanılması gereken ciddi psikotik bozukluklar mevcuttur. Psikotik bozuklukların ilaçlarla uzun süreli tedavisi sırasında advers etkiler meydana gelebilmekte veya ilaç etkinliğinin sağlanamaması gibi sorunlarla karşılaşmaktadır. Özellikle advers etkilerden hepatotoksisite en sıklıkla rastlanan ciddi advers etkilerden biridir ve ilacın piyasadan çekilmesine neden olmaktadır. Ciddi advers etkilerin gözlemlendiği durumda, ilacın değiştirilmesi ve mümkünse advers etkisi olmayan ve tolere edilebilir yan etkileri olan ilaçlar ile tedavi değişikliğine geçilmektedir. Ancak bu süreç hem hekim hem de hastanın zaman kaybına neden olmakta özellikle hastaların yaşam kalitesinin bozulmasına neden olmakta ve ülke ekonomisine fazladan bir mali yük getirmektedir. Bu nedenle erken safhada advers etkilerin tespit edilmesi ve bu etkilerin ortadan kaldırılmasına yönelik çalışmalar yapılması son derece önemlidir.

Karaciğer ilaçların metabolizması ve eliminasyonunda majör rol oynamaktadır ve bu nedenle ilaçların neden olduğu toksisiteye en duyarlı organdır. Amerika’ da ilacın neden olduğu hepatotoksisite her yıl 42 000 kadar hastayı etkilemektedir. Hastane başvurularının %5’i akut karaciğer yetmezliği nedeniyledir ve idiyosenkrazik ilaç reaksiyonlarının %75’inden fazlası ise karaciğer transplantasyonu ve ölümlle sonuçlanmaktadır. Özellikle kronik ilaç tedavilerinde karaciğer fonksiyonlarının karaciğer enzimleri tarafından takip edilmesi gerekmektedir. Amaç, olası advers etkilerin (hepatotoksisite gibi), bireysel farklılıkların ve endojen metabolizmada hastalık ya da ilacın meydana getirdiği değişikliklerin erken, spesifik ve duyarlı olarak tayin edilmesi, gereksiz ilaç kullanımı (doğru ilacın seçilmesi), olası advers etkileri ilave maliyet getirmesi ve bireyin yaşam kalitesini bozulması ve hasta ile hekimin zaman kaybına neden olan sorunların önüne geçilmesi için önemlidir.

Bu projede, uzun süreli kullanım gerektiren psikotrop ilaçların meydana getirebileceği olası advers etkilerden hepatotoksisitenin biyogöstergesi olarak geniş hepatik dağılım göstermesi, yüksek sitozolik konsantrasyona sahip olması ve kısa yarılanma ömrüne sahip olması gibi avantajları ile alfa-Glutatyon-S-Transferazın (α -GST) rutinde klinikte kullanılan karaciğer enzimlerinden (aminotransferazlar) daha duyarlı, daha spesifik ve daha erken bir biyogösterge olacağı araştırılmıştır. Ayrıca, olası hepatotoksisitenin bireyler arasında farklılık göstermesi ve tedavi süresince endojen metabolitlerdeki (metabolomiks) değişimlerin tayin edilmesiyle hem bireye özgü hem de hepatotoksisitenin mekanizmasını aydınlatmaya yardımcı olacak veriler elde edilmiştir. Bu proje, 115S229 proje koduyla, TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu) Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu (SBAG) tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TABLolar	11-30
ŞEMALAR	14
ŞEKİLLER	15-34
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9
3.1 Numune Temini	9
3.2 Örneklerden DNA izolasyonu	10
3.3 Genotip analizlerin yapılışı	11
3.3.1 Genotipleme	11
3.4. Serum olanzapin miktar tayini	12
3.4.1. Serum eldesi	13
3.4.2. Stok standart çözeltinin hazırlanması	13
3.4.3. Kalibrasyon çözeltilerin hazırlanması	13
3.4.4. Numune serumlarının hazırlanması	13
4. İstatistiksel analiz	14
5. Bulgular	15
5.1. Gen polimorfizmlerine göre α -GST düzeyleri	22
5.2. Gen polimorfizmlerine göre ALT düzeyleri	23
5.3. Gen polimorfizmlerine göre AST düzeyleri	24
5.4. α -GST düzeylerinde değişimler	25
5.5. ALT ve AST düzeylerinde değişimler	26
5.6. Kilogram başına düşen ilaç dozuna göre α -GST, ALT ve AST düzeylerinde değişimler	28
5.7. Kilogram başına düşen ilaç dozları ve gen polimorfizmleri	30
6. Metabolik düzeyleri ve korelasyon analizleri	30
6.1. α -GST metabolik düzeyleri	30
6.2. ALT metabolik düzeyleri	31
6.3. AST metabolik düzeyleri	31
7. Metabolit düzeylerinin gen polimorfizmlerine (GST'ler ve OGG1) göre değişimi	31

7.1.	Gen polimorfizmine göre bazal düzeyde (T1) metabolomik profillerin karşılaştırılması	31
7.1.1.	<i>GSTM1</i> gen polimorfizmine göre metabolik profillerin karşılaştırılması	32
7.1.2.	<i>GSTT1</i> gen polimorfizmine göre metabolik profillerin karşılaştırılması	33
7.1.3.	<i>OGG1</i> gen polimorfizmine göre metabolik profillerin karşılaştırılması	34
7.1.4.	<i>GSTP1</i> gen polimorfizmine göre metabolik profillerin karşılaştırılması	35
7.2.	Zamana bağlı değişim	36
7.2.1.	<i>GSTM1</i> gen polimorfizmine göre zamana bağlı olarak metabolit değişimleri	36
7.2.2.	<i>GSTT1</i> gen polimorfizmine göre metabolit değişimleri	37
7.2.3.	<i>GSTP1</i> <i>Ile/Val</i> gen polimorfizmine göre metabolit değişimleri	38
7.2.4.	<i>OGG1</i> <i>Ser/Cys</i> gen polimorfizmine göre metabolit değişimleri	38
7.2.5.	Zamana bağlı relatif değişim	38
8.	Tartışma ve Sonuç	42
9.	Kaynaklar	49

TABLolar

Tablo 1	PCR karışım protokolleri	11
Tablo 2	Primerlerin listesi	12
Tablo 3	Uygulanan olanzapin dozu (oral, mg)	16
Tablo 4	T1, T2 ve T3 zaman dilimlerine ait serumdaki olanzapin konsantrasyonları (ppm)	17
Tablo 5	<i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> <i>Ile/Val</i> ve <i>OGG1</i> <i>Ser/Cys</i> gen polimorfizmlerine ait sonuçların listesi	18
Tablo 6	Üç farklı zaman periyodundaki ALT, AST ve α -GST düzeyleri	19
Tablo 7	GC-MS analizi sonucunda tanımlanan metabolitler	20
Tablo 8	Hasta grubuna ait demografik ve klinik özellikleri	21
Tablo 9	İzlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre tüm olguların karaciğer fonksiyon enzimleri düzeyleri	22
Tablo 10	T1, T2 ve T3 zaman dilimleri arasında karaciğer fonksiyon enzimlerinde meydana gelen yüzdesel değişimler	22
Tablo 11	Gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre olguların α -GST düzeyleri	23
Tablo 12	Gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre olguların ALT düzeyleri	24
Tablo 13	Gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre olguların AST düzeyleri	25
Tablo 14	Gen polimorfizmleri açısından T1'e göre T2'de, T1'e göre T3'de ve T2'ye göre T3'de α -GST düzeylerinde meydana gelen değişimler	26
Tablo 15	Gen polimorfizmleri açısından T1'e göre T2'de, T1'e göre T3'de ve T2'ye göre T3'de ALT düzeylerinde meydana gelen değişimler	27

Tablo 16	Gen polimorfizmleri açısından T1'e göre T2'de, T1'e göre T3'de ve T2'ye göre T3'de AST düzeylerinde meydana gelen değişimler	28
Tablo 17	Kilogram başına düşen doz miktarı ile karaciğer fonksiyon enzim düzeyleri ve enzim düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	29
Tablo 18	Başlangıç ilaç konsantrasyonu ile karaciğer fonksiyon enzim düzeyleri ve enzim düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	30
Tablo 19	<i>GSTM1</i> pozitif ve null genotipe sahip bireylerin metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)	37
Tablo 20	<i>GSTT1</i> pozitif ve null genotipe sahip bireylerin metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)	37
Tablo 21	<i>GSTP1</i> wild genotipe sahip bireyler ile heterozigot veya mutant olanlara göre metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)	38
Tablo 22	<i>OGG1</i> wild olan olgularla heterozigot veya mutant olan olgulara göre metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)	38

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 1.	<i>GSTM1</i> ve <i>GSTT1</i> gen polimorfizmine ait jel görüntüsü	15
Şekil 2.	<i>GSTP1</i> Ile/Val gen polimorfizmine ait jel görüntüsü	15
Şekil 3.	<i>OGG1</i> Ser/Cys gen polimorfizmine ait jel görüntüsü	16
Şekil 4.	<i>GSTM1</i> gen polimorfizmi pozitif ve null ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği	32
Şekil 5.	<i>GSTT1</i> gen polimorfizmi pozitif ve null ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği	33
Şekil 6.	<i>OGG1</i> gen polimorfizmi W ve H+M ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği	34
Şekil 7.	<i>GSTP1</i> gen polimorfizmi W ve H+M ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği	35
Şekil 8.	<i>OGG1</i> gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği	39
Şekil 9.	<i>GSTT1</i> gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği	40

- Şekil 10.** *GSTM1* gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği **41**
- Şekil 11.** *GSTP1* gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırimda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği **42**

ŞEMALAR

	Sayfa
Şema 1 <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTP1</i> ve <i>OGG1</i> gen polimorfizmlerinin şematik gösterimi	13
Şema 2. <i>GSTP1</i> ve <i>OGG1</i> genotip şematik gösterimi (Kesim sonrası)	14

ÖZET

Bireylerin ilaçlara cevabı birbirinden farklılıklar göstermektedir ve genetik farklılıklar ve çevresel faktörler buna neden olduğu bilinmektedir. İlaçlara bağlı görülen advers etkilerde genetik faktörler öne çıkmakta ve bireye özgü ilaçların üretimi ve kullanımı için araştırmalar yapılmaktadır. Genetik bilgiyi kullanarak ilaç etkinliğini arttırmak ve advers etkileri azaltmak hedeflenmiştir. Psikiyatri ilaçları advers etki sıralamasında ilk 4'de yer almaktadır ve en sık gözlenen advers etki hepatotoksisitedir. Hepatik fonksiyon, dolaşıma salınan karaciğer enzimlerinin ölçümüyle izlenmektedir. Karaciğer hücrelerinde hasar enzim seviyelerinde normalden sapmalara neden olmaktadır. Antipsikotik ilaç tedavisi alan hastaların karaciğer fonksiyonları, karaciğer enzimlerinin ölçümü ile takip edilmektedir. Klinikte rutin uygulaması olmayan alfa-Glutatyon-S-Transferaz (α -GST) enzimi, geniş hepatik dağılım göstermesi, yüksek sitozolik konsantrasyona sahip olması ve plazma yarılanma ömrünün kısa olmasıyla hasarın daha erken ve duyarlı biyogöstergesi olduğu düşünülmektedir. Kas hasarı, ekstrahepatik inflamasyon ve hemolizden etkilenmediği için de daha spesifiktir. Alfa-GST enzim düzeylerinde artış olurken, aminotransferazlarda herhangi bir değişim gözlenmeyebilmektedir. GST'ler, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu katalizleyen Faz II konjugasyon enzimleridir. 8-oksoguanin DNA glikozilaz (OGG1) ise oksidatif DNA baz hasarının onarılmasından sorumlu bir enzimdir. Polimorfik olan enzimler, polimorfizm nedeniyle enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olmaktadır. Aktivite yokluğu nedeniyle toksisite nötralize edilememekte ve hasar onarılamamaktadır. Metabolomiks metabolitlerin analiz ve miktar tayini ile advers etkilerin altında yatan mekanizmanın aydınlatılmasını sağlamaktadır. Sunulan projede antipsikotik ilaç tedavisi alan 30 hastadan alınan serum örneklerinde alfa-GST miktarları ELISA immonosorbent yöntemi ve GST ve OGG1 gen polimorfizmleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve metabolik profilleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerimiz, hem ilaçla tedavide hemde şizofrenide *GSTP1* gen polimorfizmi bireysel duyarlılık göstermektedir. α -GST ALT'ye göre daha duyarlı ve erken bir biyogöstergedir ancak istatistiki olarak anlamlı değildir. Şizofreniye spesifik metabolitlerde artışlar gözlenmiştir. Piroglutamik asit ve lizin öne çıkan metabolitlerdir ve *GSTP1* gen polimorfizmine bağlı bireysel duyarlılık göstermektedirler. Öne çıkan metabolitler ve dokulardaki enzim gen ekspresyonları tayin edilerek mekanizmaya yönelik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Antipsikotikler, hepatotoksisite, metabolik profil, gen polimorfizmi, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *OGG1*

ABSTRACT

Responses to drugs of individuals are demonstrated differences among individuals and it is known to be caused by genetic differences, environmental factors. The adverse reactions induced by drugs are preponderated and individualized drug production and usage have been carried out studies. It is aimed to improve drug efficacy and reduce adverse effects using genetic information. Psychiatric drugs are fourth leading adverse reactions causing drugs and hepatotoxicity is commonly observed. Hepatic functions are monitored by measurement of liver enzymes which are released into the circulation. When the liver is damaged, deviations from the normal range of the levels of liver enzymes are observed. Liver functions are monitored by liver enzymes. It is considered that alpha-Glutathione-S-Transferase (α -GST) which do not currently present in clinical routine applications, is an earlier and more specific liver damage biomarker due to large hepatic distribution, high cytosolic concentration and short plasma half-life. It is more specific since it is not influenced by muscle injury, extrahepatic inflammation and hemolysis. Despite the alpha-GST enzyme levels increase, alterations in the levels of aminotransferases may not be observed. GSTs are phase II conjugation enzymes which catalyzes detoxification of xenobiotic. 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) is a repair enzyme which is responsible for repairing of oxidative stress damage. Polymorphic GSTs and OGG1 due to polymorphisms cause changes in the activity of enzyme. Toxicity is not be neutralized and damage is not repaired due to lack of activity. Metabolomics by analysis and quantification of metabolites provide the enlightening of mechanisms of adverse reactions. In the present project, in serum samples of 30 patients who are treated with antipsychotic drugs, alpha-GST levels were measured by ELISA immunosorbent assay and GST and OGG1 gene polymorphisms were analyzed by Polymerase Chain reaction and metabolomics analysis were analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometer. Our project data, *GSTP1* gene polymorphism are showed individual susceptibility in both subjects who receive olanzapine treatment and schizophrenia. α -GST is much sensitive and earlier biomarker than ALT for liver injury but not statistically significant. Significant increases are observed in metabolites for specific to schizophrenia. In olanzapine induced toxicity, pyroglutamic acid and lysin come into prominence and these metabolites demonstrate individual susceptibility in regarding *GSTP1* gene polymorphism. It needs to be made studies with these metabolites and assessing gene expressions in liver tissues.

Keywords: Antipsychotics, hepatotoxicity, metabolic profile, gene polymorphism, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *OGG1*

1. GİRİŞ

Bireylerin çevresel faktörlere, ilaçlara ve hastalık gelişimine karşı verdikleri yanıtlar birbirinden farklıdır. Buna neden olan genetik farklılıklar, çevresel faktörler, birden fazla ilaç kullanımı yani polifarmasi gibi faktörlerdir. İlaç kullanımına bağlı olarak advers etkilerin meydana gelmesi hem sağlık hem de ekonomik açıdan önemlidir ve son 10 yıldır özellikle ilaçlara bağlı görülen advers etkilerde genetik faktörler öne çıkmakta ve bireye özgü ilaçların üretimi ve kullanımı için çalışılmaktadır. Bireye özgü ilaç için genetik bilgiyi kullanarak ilaç etkinliğini arttırmak ve advers etkileri azaltmak hedeflenmektedir.

Psikiyatri ilaçları advers etki sıralamasında ilk 4'de yer almaktadır ve en sık gözlenen advers etki hepatotoksisitedir. Hepatik fonksiyon, dolaşıma salınan karaciğer enzimlerinin ölçümüyle izlenmektedir. Karaciğer hücrelerinde hasar meydana geldiğinde bu enzim seviyelerinde en az 2.5-3 katlık normalden sapmalar gözlenmektedir. Antipsikotik ilaç tedavisi alan hastaların karaciğer fonksiyonları, tedavi süresince, karaciğer enzimlerinin nin (Aminotransferazlar da denilir. ALT; alanin aminotransferaz, AST; aspartat aminotransferaz, GGT; gama-glutamil transpeptidaz, ALP; alkalen fosfataz, bilirubin (direk ve total) ölçümü ile takip edilmektedir. Klinikte rutin uygulaması olmayan alfa-GST enziminin ise klasik karaciğer enzimlerine göre bazı avantajları bulunmaktadır. Bunlar; i. geniş hepatik dağılım göstermesi, ii. yüksek sitozolik konsantrasyona sahip olması ve iii. plazma yarılanma ömrünün kısa olmasıyla rutinde klinikte takip edilen karaciğer enzimlerine göre hasarın daha erken ve duyarlı biyogöstergesidir. Ayrıca, alfa-GST, kas hasarı, ekstrahepatik inflamasyon ve hemolizden etkilenmediği için de daha spesifiktir. Bazı antipsikotik ilaçların henüz tam aydınlatılmayan mekanizmalarla hepatositleri yıkarak, karaciğer hücrelerinde membran geçirgenliğinin artmasına ve alfa-GST enziminin hücrelerden dolaşıma salınmasına neden olmaktadır.

Projede, psikotik bozukluk tanısı konulmuş, antipsikotik ilaç olanzapinle tedavi gören 30 hastadan anket uygulanarak kan örnekleri toplanmıştır. Olanzapin tedavisinin meydana getireceği olası hepatotoksitenin erken ve duyarlı biyogöstergesi olan serum alfa-GST düzeyleri 3 farklı zamanda [tedaviye başlamadan önce (T1), tedavinin 10 (±5).günü (T2) ve tedavinin 3 (±1).ayında 30X3=90] Enzim-Bağlı Immunosorbent Assay (ELISA) kullanılarak tayin edilmiştir ve detoksifikasyondan ve oksidatif strese sorumlu bazı aday gen polimorfizm (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ile *105Val* ve *OGG1* *Ser326Cys*) sıklıkları, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) amplifikasyon (çoğaltma) tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Genlerdeki her bir varyant ve kombine etkileri alfa-GST düzeyleri ile karşılaştırılarak genetik farklılığın hepatotoksite üzerine etkisi irdelenmiştir. Ayrıca, olanzapinin alfa-GST enzimi dışında diğer klinikte rutin ölçülen karaciğer enzimlerine (ALT, AST, AP, Bilirubin gibi) olan etkisi incelenip, alfa-GST ile diğer karaciğer enzimleri zaman,

spesifite ve duyarlılık açısından çoklu karşılaştırılmalar yapılmıştır. Bireylerin metabolomik profilleri ortaya çıkartılarak olanzapin tedavisinin T1, T2 ve T3 zaman dilimlerinde metabolik profil değişimi ile olası hepatotoksisitenin ve gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Amaç, alfa-GST enziminin diğer rutinde uygulanan karaciğer enzimlerine kıyasla daha spesifik ve duyarlı olup olmadığı ve alfa-GST ve olası oksidatif hasarın bireylerin genetik yapısına bağlı olarak nasıl değiştiği (bireysel duyarlılık) yani olası hepatotoksisitenin bireyler arasındaki farklılığı irdelenmiştir. Yapılan PubMed veri tabanına göre benzer bir çalışma mevcut değildir. Gen polimorfizmleri, enzim seviyeleri, enzim seviyeleri ile gen polimorfizmleri arasındaki korelasyonu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak, DNA onarım enzimi *OGG1* ve metabolik profil tayini ile ilaç etkinliği-bireysel duyarlılık arasında ilişkiyi gösteren ve rutin karaciğer enzimlerine göre daha duyarlı ve erken biyogösterge arayışı ile ilgili yapılan çalışmalar bulunmamaktadır.

Karaciğerde ilacın indüklediği toksisitenin,

- i) Erken fazda tespit edilememesi,
- ii) İlaçla tedaviye devam edilip alternatif bir tedaviye geçişte geç kalınması,
- iii) Gereksiz yere hem ilacın indüklediği toksisiteye hem de neden olabileceği ikincil komplikasyonlara maruz kalmaya,
- iv) Gereksiz ilaç yüklemesi,
- v) Hekimin ve hastanın zaman kaybına dolayısıyla gereksiz sağlık harcamalarına neden olarak ülke ekonomisine ilave maliyet getirmesi.

Sunulan ve tamamlanan projede amaçlar,

- i) Tüm yukarıda listelenen problemleri çözmeye yardım edecek olan alfa-GST'nin karaciğer enzimlerine göre daha duyarlı ve erken bir biyogösterge olduğunu ve klinikte rutin uygulanabilirliğinin avantajlarını gösterme,
- ii) Hastalığın meydana getireceği metabolit düzeyde değişimler ve ilaçla tedaviden sonraki iki zaman diliminde (literatür bilgisi ve hekim gözlemiyle seçilmiş zaman dilimleri; 10±5. gün ve 3±1ay sonra) bireyin metabolik profildeki farklılıklar tayin edilip, hepatotoksisite mekanizmasının aydınlatılması,

iii) Metabolik profile göre hastalık ve ilaç tedavisinin neden olduğu toksisite için biyogösterge araştırmasına olanak sağlanacaktır.

iv) Bazı hastalarda hepatotoksisite ya da hepatotoksisitenin öncül komplikasyonları meydana gelirken, bazı hastalarda meydana gelmemesi, alfa-GST enzim aktivitesi ile GST'ler, *OGG1* genotipleri arasında birey bazında korelasyon analizleri yapılarak hepatotoksisite gelişmesinde bireysel duyarlılığın rolünün araştırılması hedeflenmiştir.

2.LİTERATUR ÖZETİ

Karaciğer ilaçların taşınması ve eliminasyonunda majör rol oynamaktadır ve bu nedenle ilacın neden olduğu toksisiteye en duyarlı organdır. Amerika'da ilacın neden olduğu hepatotoksisite her yıl 42000 kadar hastayı etkilemektedir (Gardiner 2014). Hastane başvurularının %5'i akut karaciğer yetmezliği nedeniyledir ve bu oranın %50'sinden ilacın neden olduğu karaciğer hasarı (IIKH-DILI; Drug Induced Liver Damage) sorumludur. İdiyosenkrazik ilaç reaksiyonlarının %75'inden fazlası ise karaciğer transplantasyonu ve ölümle sonuçlanmaktadır (Pandit vd. 2012). IIKH, çok iyi anlaşılammış olup, öngörülememektedir. IIKH'nın risk faktörleri ve patojenezinin anlaşılması hepatotoksisitenin önlenmesine ve yönetilmesine yardım edebilmektedir (Huang vd., 2007). İlacın neden olduğu hepatotoksisite klinik öncesi ve klinik aşamada ilaç geliştirme sürecinin sona erdirilmesinin en önemli nedenlerinden biri olup, piyasadan ilacın geri çekilmesi için en sık belirtilen neden olarak ilaç endüstrisi ve düzenleyici otoriteler için önemli bir sorundur. Ayrıca, ilaçların neden olduğu morbidite ve mortalite hekimlerin, sağlık otoritelerinin, ilaç firmalarının temel endişelerinden olduğu için, hepatotoksisitenin en kritik yönleriyle irdelenmesi ve yönetilmesi son derece önemlidir. İlacın neden olduğu hepatotoksisitenin altında yatan mekanizma/ların anlaşılması için yeni metotların geliştirilmesine acil ihtiyaç vardır (Larrey ve Pageaux, 2004). Önerilen proje konusu literatürdeki bu açıklığa katkıda bulunmak için planlanmıştır. Şu ana kadar gözlenen karaciğer hasarlarının idiyosenkrazik ya da immun aracılıklı olduğu şeklinde varsayımlarda bulunulmuştur. Ancak, toksisitenin genetik ve metabolik profil ile tayin edilen metabolitler aracılığıyla gerçekleşebileceği ve bunun yolağı aydınlatılamamıştır. Yeni bir alan olan farmakometabolomik ile organizmadaki küçük molekül metabolitlerinin hızlı ve yüksek çıktı (high throughput) karakterizasyonuna olanak sağlanacaktır. Farmakometabolomik, gen ekspresyonunun son ürünleri olan, bir biyolojik sistemdeki tüm metabolit topluluğunun ilaç kullanımı sonrası değişimini göstermek için kullanılacaktır. Bazı metabolik yollarda ilaç etkileri izlenebilmesi amacıyla ilaç tedavisini takiben metabolit seviyelerini tayin etmek için uygulanmaktadır (Kayaalp, 2002). Bireyin bazal metabolik profili (metabotip) bireyin ilaca nasıl cevap verdiği ve hastalık durumunda heterojen bir profil gösterdiği bilgisini vermektedir.

Genotip-fenotip kadar genotip-envirotip (çevresel kaynaklar) ilişkisini inceleme olanağı da sağlamaktadır. Ayrıca, farmakometabolomik profil, bireye özgü kapsamlı ve detaylı “Metabolomik profil” yada “metabolomik fingerprint (parmak izi)” sağlamaktadır (Ellis vd., 2007). İlaçlar geliştirilme sürecinde klinik öncesi ve klinik aşamada etkinlik ve güvenlilik olmak üzere birçok testten geçip ruhsat alarak piyasaya sunulmaktadır. İlaç geliştirme sürecindeki tüm bu detaylı çalışmalara rağmen, ilaçlarla gözlenen advers etkileri nedeniyle geri çekilebilmektedir. Bunun gerekçeleri, popülasyonda nadir görülen bir advers etki olması, çevresel (sigara, alkol, beslenme gibi) ve genetik faktörler, ilaç etkileşimleri, advers etkinin oluşma süresinin uzun olması, yaşlı ve çocuk gibi risk gruplarında kullanımının yarattığı sorunlar olmaktadır. Farmakovijilans sistemiyle (ilacın piyasaya sunulduktan sonra takip edilmesi) ciddi advers etkilerin raporlanması sonucunda oluşan sinyaller sonucunda (hepatotoksisite, nefrotoksisite gibi) ilaçlar sağlık otoriteleri ve/veya ruhsat sahipleri tarafından geri çekilmektedir (Kaddurah-Darouk ve Weinshilboum, 2014).

Etkin ve güvenli tedavi için ideal, bireye özgü ilaç üretmektir ve çalışmalar bu yönde hız kazanmıştır. Ancak, günümüzde piyasadaki ilaçlar bazı bireylerde etkisizlik bazı bireylerde ise toksisite/yan etki gibi sorunlara neden olabilmektedir. Bu da hekimin zaman kaybına (gereksiz yere aynı hastayla defalarca görüşme), hastanın zaman ve ekonomik kaybına, doğru ilaca karar verilinceye kadar farklı ilaçların denenmesinin yaratabileceği sorunlara, tüm bu süreç de ülke ekonomisine zarar vermektedir. Tüm bunların önüne geçebilmek için bireye özgü ilaç tasarlamının yanı sıra mevcut kullanımda olan ilaçların optimize edilmesi (etkin ve güvenli tedavi) için ilaca bağlı farmakogenetik testlerin geliştirilmesi ve uygulanması önemlidir (Scott, 2011).

İlaçlara cevapta en önemli faktörün genetik faktörler olduğu insan genom projesinin tamamlanmasını ve takiben hızla ilerleyen “yüksek çıktı” teknolojilerin üretilmesi ve kullanılmasıyla anlaşılmıştır. Farmakogenetik ve toksikogenetik, bireyin moleküler profilinin ilaç seçiminde, yan etki/toksitenin önlenmesinde ve bireye özgü tedavi odaklı, ekonomik, güvenli ve zaman tasarrufu sağlayan dönemin başlangıcı olmuştur. Bireye özgü başarılı bir tedavi uygulanabilmesi, bireyin genetik profilini temel alarak klinikte ucuz ve rutin uygulanabilirliği olabilecek testler geliştirilmeye yönelinmiştir (Pacanowski ve Zineh, 2012). Psikotik bozukluklar bireysel ve ekonomik bedelleri çok ağır olan, hastaların yaşam kalitelerini önemli ölçüde etkileyen ve dünya çapında önde gelen halk sağlığı problemlerinden biridir (Mete ve Ünsal, 2004). Bu hastalar için hastane bakımının zor olmasından dolayı, iyileştirme ve destek sistemlerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle hastalığın tedavisinin finansal bedelinin tüm kanserlerin toplamından daha fazla olduğu düşünülmektedir (Jeffrey ve Lieberman, 2000).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre şizofreninin yıllık insidansı nüfusun her 1000'inde 0.1-0.2 arasındadır. Şizofreni kronik bir hastalık olduğu için hastalığın prevalansı insidansından fazla olup 10000'de 4'tür. Hayat boyu şizofreniye yakalanma riski 1000'de 10'dur. Bu risk sosyoekonomik kültür seviyesi düşük bölgelerde çok daha fazladır (evsizlerde 1000'de 100). Dünya Sağlık Örgütü'ne (World Health Organization; WHO) göre Dünya'da yılda 3 milyon şizofreni vakasının ortaya çıktığı bildirilmiştir. Vakaların %50'sinden fazlası uygun tedavi alamamakta, %90'ı ise hiç tedavi edilememektedir (Gelder vd., 2001). Psikiyatri ilaçlarının advers etki sıralamasında ilk 4'de yer aldığı görülmüştür. Bu grup ilaçların en sık gözlenen yan etkisi hepatotoksisitedir. Klinikte, antipsikotik ilaçlar, karaciğerde yaratabileceği olası toksisite için tedavi süresince belirli aralıklarla izlenmesi gereken ve ilaca cevapta ve toksisitede en fazla değişkenlik gösteren ilaç gruplarından biridir. Psikiyatristler tedavide kullanılacak ilacı ve dozunu seçerken daha çok deneyimlerini dikkate almaktadırlar. Hepatik hasarlar genellikle tedavinin ilk haftasında meydana gelmektedir fakat bu literatürde klozapin için 1-8 hafta, olanzapin için 12 gün-5 ay ve risperidon için 1 gün-17 ay gibi değişkenlik göstermektedir (Ozcanli vd., 2006). Hepatik hasarları öngörmek için klinikte karaciğer enzimleri (ALT; alanin aminotransferaz, AST; aspartat aminotransferaz, GGT; gama-glutamil transpeptidaz, ALP; alkalin fosfataz) izlenmektedir. ALT ve AST değerleri, ALT ve AST/GGT değerleri kombine değerlendirildiğinde normal ortalamanın üst sınırının 2-5 katı yükseldiğinde karaciğer hasarından söz edilmektedir. Ancak, alfa-GST enzimi ALT ve AST değerlerinde herhangi bir yükselme olmadan daha düşük seviyede hasar meydana geldiğinde artış göstererek erken safhada oluşan hasarı göstermektedir (Abdel-Moneim ve Sliem, 2011).

Psikiyatrik bozukluklardan sorumlu genlerin belirlenmesi için bağlantı çalışmaları yapılmış ancak psikiyatrik bozukluklar mendelyan kalıtım şekli göstermediğinden yani bozukluktan tek bir mutasyon sorumlu olmadığı için ilişki çalışmalarına yönelinmiştir. İlaçların klinikteki kullanımını geliştirmek ve kişiye özgü koruyucu önlemler almak için farmakogenetik bilgisinin uygulanması gerekmektedir. Uygun ilaç seçimi; tedavinin maliyetini azaltır, tedavi konusunda zaman kazanılır, gereksiz yere farklı ilaç/tedavi uygulanarak birey ve hekim üzerindeki yük ortadan kalkar, hastanın uzun zaman prognozu daha iyi olur (Costa e Silva, 2013).

Çoğu ilaçların metabolizmasında ve detoksifikasyonunda merkezi role sahip olan karaciğer, hasara karşı savunmasızdır. Çoğunlukla liposolubl (yağda çözünen) özellikteki ilaçlar eliminasyonları için yaygın polimorfizm gösteren sitokrom enzim sistemleri aracılığıyla okside olup ve konjugasyonla polar metabolitlere dönüştürülerek kolayca elimine edilmektedirler. Bu reaksiyonlar sonucunda genellikle toksik olmayan metabolitler oluştuğu gibi bazı ilaçlarda toksik ara metabolitleri meydana gelerek toksisiteye neden olmaktadır (parasetamol-hepatik nekroz). Hepatotoksisitenin mekanizması halen anlaşılamamıştır. Olası mekanizmalar, ilacın

reaktif ara metabolitlerinin oluşması, elektrofilik metabolitlerin proteinlere kovalent bağlanması, glutatyon oksidasyonu ya/ya da depleasyonu, serbest radikallerin meydana gelmesi, immunolojik reaksiyonların tetiklenmesi, apoptozis, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, ilacın eliminasyonunun gecikmesi sonucu uzun süre maruziyet ya da ilaç akümüülasyonunun ilacın detoksifiye edilmesi ya da koruyucu sistemlerin yetersiz kalmasına neden olduğu toksisitelere (Ha vd., 2010; Jaeschke, 2011; Larrey ve Pageaux, 2011).

Koruyucu enzimlerin düzeyleri ve bu enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin tayin edilmesi, ilişkinin gösterilmesi ve bireysel farklılıkların irdelenmesi açısından güçlü veri sağlamaktadır. İlaçları metabolize eden genlerde birçok polimorfizmler tayin edilmiştir ve bunların çoğu bu enzimlerin aktivite ve ekspresyonunu değiştirmektedir. İlaçların yapısı komplekstir ve uygun aday genler ile ilacın neden olduğu karaciğer hasarı arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak için çok fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. İlacın neden olduğu hepatotoksistelerde genetik duyarlılık ilaç metabolizması, taşınması ya da eliminasyonunda yer alan proteinleri kodlayan ya da immun cevapları regüle eden genlerdeki polimorfizm nedeniyledir (Baysal, 2013). Sunulan çalışmada detoksifikasyon ve oksidatif strese aday genler olan Glutatyon S-transferazlar (*GST*) ve 8-oksoguanin glikozilaz (*OGG1*) gen polimorfizmleri analiz edilerek alfa-GST enzim düzeyleri ile ilişkisi değerlendirilerek olası hepatotoksistenin bireysel değişimi irdelenecek ve metabolomik profil analiz edilerek hepatotoksistenin mekanizması aydınlatılmaya çalışılacaktır.

GST'ler, ksenobiyotiklerin ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunu katalizleyen faz II konjugasyon enzimleridir. Alfa (A), mu (M), pi (P), sigma (S), teta (T), kappa (K), zeta (Z) ve omega (O) olmak üzere farklı sınıfları vardır (Dixon vd., 2002). Reaktif metabolitler ya hücre homeostazine müdahale ederek ya da hepatosit plazma proteinlerine bağlanan reaktif metabolitler için immunolojik reaksiyonları tetikleyerek hepatositleri parçalamaktadır. Glutatyon (GSH) molekülündeki sülfidril (-SH) grubu ksenobiyotiklerin elektrofilik merkezlerine bağlanarak ksenobiyotikleri nötralize etmektedir (Roy vd., 2001). *GST*'lerin sitozolik izoformları olan *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* oldukça polimorfiktir. *GST*'ler ve *OGG1* reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasında yani pro-oksidan hasardan hücreleri korumada önemli role sahiptirler. *GSTM1* geni, 1p13.3 kromozomda 25.712 Da ağırlığında, 218 aminoasitten oluşur. *GSTM1* null genotip [*GSTM1*(-), gen delesyonu] homozigottur yani fenotipik aktiviteden yoksundur ve protein ekspresyonu yoktur (GeneCards, 2014). *GSTT1* geni, 22. kromozomda yer alan, 27.335 Da ağırlığında ve 240 aminoasitten oluşmaktadır (GeneCards, 2014). *GSTP1* 11q13 kromozomda lokalizedir, 5.ekzonda ve 313.nükleotitte A-G polimorfizmi ilk tanımlanan ve en çok çalışılan polimorfizmlerden biridir ve 105 aminoasit pozisyonunda izolösinin valine dönüşümüne neden olmaktadır. Detoksifikasyon ve

biyoaktivasyondan sorumludur (Dunna vd., 2012). *GST* gen polimorfizmleri farklı etnik gruplarda farklı oranlarda bulunmaktadır. Beyaz Avrupa ırkında *GSTM1* null genotip sıklığı %40-65, *GSTT1* null genotip sıklığı %10-20 arasındadır, Türk populasyonunda ise *GSTM1* null genotip sıklığı %51.9 ve *GSTT1* null genotip sıklığı ise %17.3'tür (Rebeck, 1967; Ada vd., 2004). *GSTM1* ve *GSTT1* null mutantların kombinasyonu takrin ve troglitazona bağlı karaciğer hasar riskinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. (Simon vd., 2000; Watanabe vd., 2003). Homozigot null *GSTM1*'li bireylerde antitüberküloza bağlı hepatotoksisite riskinde artış göstermektedir (Roy vd., 2001). Avrupa populasyonunda *GSTP1* *İle/Val* gen polimorfizm sıklıkları *İle/İle* %47, *İle/Val* %43 ve *Val/Val* %10'dur (Sharma vd., 2014).

8-hidroksideoksiguanin (8-OHdG) reaktif serbest radikallerin neden olduğu oksidatif DNA hasarının ana bileşenidir (Janssen vd., 2001). Oldukça mutajeniktir. DNA'daki okside bazlar Baz Kesme Onarım (BKO; Base Excision Repair; BER) yoluyla ile onarılır. Bu yolla 3p25 kromozomunda lokalize *OGG1* geni tarafından kodlanan *OGG1* (8-oxoguanine DNA glycosylase) oksidatif bazı tanıyıp ve keser. *OGG1* oldukça polimorfik bir enzimdir. *OGG1* geninde en fazla çalışılan ve yaygın olan polimorfizm *OGG1* *Ser326Cys* polimorfizmdir. Ekzon 7'de 1245. pozisyonda C/G polimorfizmdir ve kodon 326'da serin aminoasidinin sistein aminoasidine dönüşmesine neden olmaktadır (Karahalil vd., 2002).

Olanzapin, şizofreni ve bipolar psikozların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ikinci jenerasyon antipsikotiklerdendir. 1996 yılında Avrupa Birliği tarafında kullanımı onaylamıştır ve Dünya çapında en yaygın kullanılan ilaç olmuştur. Şizofreninin hem pozitif hem de negatif belirtilerini etkilemektedir. İlk ve ikinci jenerasyon antipsikotiklerle karşılaştırıldığında ilaç kesilme oranı düşük ancak daha fazla yan etkilere (kilo alımı, diyabet, kalp hastalığı gibi) neden olan bir ilaçtır (Lecrubier vd., 2006). Olanzapinle tedavi olan hastalarda diğer antipsikotik ilaçlara göre kısa süreli (4 hafta) ve uzun süreli maruziyet sonrasında (2-3 yıl) ciddi hastaneye kaldırılmayla sonuçlanan hepatotoksisitenin meydana geldiği gözlenmiştir (Ozcanli vd., 2006; Manceaux vd., 2011; Lui vd., 2009). Olanzapin ile uzun süreli tedaviden sonra hastaların %10-50'sinde karaciğer fonksiyon testlerinde artışlar gözlenmiştir. Bu artışlar orta derecede ve geçicidir. İlaç kesildiğinde normal seviyelere dönmektedir. Bununla birlikte bazı hastalarda karaciğer fonksiyon testlerinde anormal yükselmeler ve sarılıkla birlikte karaciğer hasarı da gözlenmiştir. Enzimlerdeki yükselmeler hepatosellüler ve kolestatik hepatik hasar şeklinde gözlenmiştir. Olanzapinle karaciğer hasarının meydana gelme zamanı haftalardan yıllara kadar geniş bir değişkenlik göstermektedir. Uzun süreli maruziyetlerde hepatotoksisiteden ziyade kilo artışı ve alkolik karaciğer dikkati çekmektedir (LiverTox, 2014). 18 Haziran 2014 yılında olanzapin alan 42771 hastada yan etkiler gözlenmiş ve 32 birey (%0.07) hepatotoksisite geliştirmiştir. %66.6'sı bir aydan kısa sürede, %25'i 1-6 ay içinde

hepatotoksisite geliştirmiştir. Ancak, hepatotoksisite gelişmeden önce hepatik hücrelerde az oranda da hasarlar tespit edilmiştir (e Health Me, 2014). Bir vaka çalışmasında ise olanzapinle tedaviyi takibeden birkaç gün sonra ALT (192 U/L normali <37 olmalı) ve AST (192U/ml, normali <37) değerleri artmış, bilirubin, AF ve protrombin zamanlarında artış gözlenmemiştir. Hepatotoksisite teşhis edilip ilaç kesilmiştir. Serum transminazlar ilaç kesildikten birkaç hafta içinde normal seviyelerine inmiştir. Benzer bir vaka 10mg dozda olanzapin kullanımı takibeden 8. günde serum enzimleri normalden 4 kat artmıştır. Olanzapin kesildikten sonra serum enzimleri 10 katına kadar yükselmiş ve 5 gün sonra düşmeye başlamış ve bir hafta sonra normal seviyeye gelmiştir (Slim vd., 2014).

Önerilen projede, diğer ilaçlarla karşılaştırıldığında olanzapinin hepatotoksisite ve yan etkiler açısından daha fazla vaka raporlarına ulaşıldığı için, birey bazında değerlendirme yapılacağı için olanzapinin proje amacını karşılayacak bir ilaç olduğu düşünölmüştür. Antipsikotiklerin hepatotoksitesi için olanzapin model ilaç olarak seçilmiştir. Vaka raporlarında olanzapin kullanımından 2 ile 4 hafta sonra klasik klinikte kullanılan karaciğer enzimlerinin (ALT ve AST) sadece bazı vakalarda artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Söz konusu projede bu enzimlerden daha duyarlı ve spesifik olan alfa-GST enziminin bu artışları daha net ve yüksek göstereceği düşünölmektedir. Bu nedenle olanzapin seçimi bu çalışma için doğru ve uygundur.

Alfa-GST yaygın olarak hepatositlerde bulunan sitozolik bir enzimdir. Hepatositlerin inflamasyonuna yol açan farklı etiyolojilerde hücre geçirgenliğinin/membran ve hepatosellöler hasarın duyarlı ve spesifik biyogöstergesidir (Muttigi vd., 2009). Hepatik fonksiyon, dolaşıma salınan hepatik enzimlerin ölçümüyle izlenmektedir. Hepatosellöler hasar meydana geldiğinde enzim düzeylerindeki normalden sapmalar hepatik fonksiyonlarda aksamalara neden olacağı sinyallerini vermektedir. Klinik araştırmalarda hepatosellöler integritinin (bütönlüğün) tayininde serum alfa-GST miktarlarının tespit edilmesi değerli bir izleme yöntemi olarak uygulanabilir (Higuchi vd., 2001; Darling vd., 1997). Serbest radikallerin biyolojik membrana yaptığı hasar hücre membranının geçirgenliğini arttırır ve böylece düşük molekül ağırlıklı indirgenmiş GSH, GST ve sitozolik bileşenler kan dolaşımına salınır. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu dışında, GST sitozoldeki konjuge olmamış bilirubine bağlanır ve glukuronikasitle konjugasyon için endoplazmik retikuluma taşınarak hücreden bunun akışını önlemektedir. İnsan karaciğerinde GST yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır ve hepatosellöler hasara cevap olarak salınmaktadır. Alfa-GST enziminin, büyük ve geniş hepatik dağılımının olması, yüksek sitozolik konsantrasyona sahip olması ve plazma yarılanma ömrünün kısa olması gibi özellikleri nedeniyle hepatosellöler hasarın göstergesi olarak biyoizlenmesi, alfa-GST enzimini alişilagelmiş biyokimyasal karaciğer fonksiyon testlerinden daha avantajlı kılmaktadır. Aminotransferazların sentrilobular ve periportal bölgelerde, alfa GST'nin intrahepatik dağılım

göstermesi alfa-GST ölçümlerinin hepatik hasara erken ve daha duyarlı cevabına neden olmaktadır (Reddick vd., 1982; Sundberg vd., 1993; Trull vd., 1994). Ayrıca, GST kas hasarı, ekstrahepatik inflamasyon, hemolizden etkilenmemektedir ve GST seviyelerinin histolojik değişikliklerle korelasyonu aminotransferazlardan daha fazla olması alfa-GST'nin aminotransferazlardan çok daha spesifik olduğunu gösteren gerekçeler arasındadır (Muttigi vd., 2009). Alfa-GST'lerin tüm bu özellikleri hepatosellüler hasarın tespitinde biyokimyasal karaciğer fonksiyon testlerinden çok daha erken safhada bilgi vermektedir (Helaly ve Mahmoud, 2003). Alfa-GST'nin karaciğerde özellikle hepatositlerde lokalize olduğu ve aminotransferazlardan çok daha iyi olarak karaciğer hasarını yansıttığı immunohistokimyasal çalışmalarla da gösterilmiştir (Mazur vd., 2003). *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTP1* gen polimorfizmleri ile serum alfa-GST miktarları arasındaki ilişkiyi göstermek hepatotoksisitenin bireysel farklılığa bağlı değişim gösterdiğini bildirmek için son derece önemlidir. GST alkolik karaciğer hastalığı ve birçok kansere duyarlılık riskiyle ilişkilidir. *GSTM1* ve *GSTT1* null bireylerde enzimatik aktivitesinin olmadığı tespit edilmiştir (Strange vd., 2000). Abdel-Moneim ve arkadaşları Hepatitis C Virüslü hastalardan karaciğer hasarı olanların ALT değerlerinin normal ortalama içindeyken alfa-GST değerlerinin oldukça yüksek olduğunu ve karaciğer hasarının gösterilmesinde erken bir biyogösterge olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Alfa-GST %66.67 duyarlılık (sensitivite) ve %84.85 seçicilik (spesifite) gösterirken aminotransferazlar %0 duyarlılık ve %63.64 seçicilik ile alfa GST'ye göre yetersiz kalan göstergelerdir (Abdel-Moneim ve Sliem, 2011).

Sunulan çalışma, antipsikotik ilaçların klinikteki kullanımını geliştirmek ve kişiye özgü koruyucu önlemler almak için farmakogenetik bilgisinin farmakometabolomik bilgisiyle kombine uygulandığı bir çalışmadır. Antipsikotik ilaç tedavisi gören hastalarda hepatotoksisitenin erken ve duyarlı biyogöstergesi olan alfa-GST miktarları ölçülmüş (fenotip) ve hasarın göstergesi olan bu miktarların bireyler arasında değişimi hepatotoksisiteyi etkileyen *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* *İle105Val* ve *OGG1 Ser326Cys* gen polimorfizmlerinin (genotip) tespitiyle ortaya konmuştur. Hepatotoksisite, karaciğer fonksiyonlarını takipte kullanılabilecek alfa-GST ve klinikte rutin uygulanan diğer karaciğer enzimleriyle (aminotransferazlar) karşılaştırılmış ve erken cevap ve duyarlılık açısından değerlendirmeler yapılmıştır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Numune Temini

Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Psikiyatri Anabilim Dalı'na başvuran ve DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition; Mental Bozuklukları Sınıflandırma Sisteminin 4. Gözden Geçirilmiş Baskısı) kriterlerine göre psikotik bozukluk

tanısı konulmuş 30 hastadan antipsikotik ilaç olanzapin ile tedaviye başlamadan önce (T1), tedavinin 10 (± 5). günü (T2) ve tedavinin 3 (± 1). ayında 20 ± 7 yaş ortalamasında erkek (kadınlar erkeklerden daha duyarlıdır) hastalardan kan örnekleri toplanmıştır. Antipsikotiklere hepatotoksitesisi için (literatür özetinde de belirtilen sebepler nedeniyle) olanzapin model ilaç olarak seçilmiştir. Hasta sayısı i. sadece olanzapin kullanan psikoza hastayı seçmek, ii. Psikoza hastalardan ilaçları muntazam kullananları yakalamak ve iii. söz konusu zaman dilimlerinde kliniğe gelip örneklerin alınmasının zor olduğu daha önceki ön çalışmamızda ön görüldüğünden 30 olarak belirlenmiştir.

Bunlardan olanzapin alan (kriter 1), kanda ilaç konsantrasyonları tespit edilip ilacı kullandığından emin olunan (kriter 2) ve tedaviye başladıktan sonraki 2 zaman diliminde de [10 ± 5 . gün (T2) ve 3 ± 1 ay sonra (T3)] örnek veren hastalar (kriter 3) çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Örneklerden DNA izolasyonu

Steril koşullarda steril EDTA'lı tüplere alınan 30 kan numunesinden steril şartlarda DNA'lar izole edilmiştir.

1	EDTA'lı steril tüplere alınmış kan örneklerinden DNA'lar izole edilmiştir.
2	Örnekler soğuk zincir ile F. Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarımıza getirilerek DNA izolasyonu yapılınca kadar -20°C 'lik derin dondurucularda muhafaza edilmiştir.
3	DNA izolasyonu için sodyumperklorat/kloroform ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır.
4	EDTA'lı steril tüplere alınmış kan örnekleri (5-10 ml) 35ml soğuk Lizis tamponu (Reajan A çözeltisi) ile karıştırılıp 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstü atıldı.
5	Dipte elde edilen pelletler üzerine 2ml Reajan B çözeltisi eklendi ve hafifçe karıştırıldı.
6	Deproteinize etmek için 5M sodyum perklorat çözeltisinden çözeltisinde 0,5ml eklenerek, 15 dakika alt-üst edilerek karıştırıldı.
7	65°C 'lik etüvde 30 dakikalık inkübasyondan sonra 2ml soğuk kloroform yavaşça eklendi.
8	Tekrar 10 dakika karıştırılıp, 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki faz soğuk etil alkolle karıştırıldığında DNA sarmalının oluşumu gözlemlendi.
9	Steril çubuk yardımıyla oluşan DNA sarmalı alınarak, kuruması için ependorflara aktarıldı ve 5-10 dakika alkolü uçsun diye bekletildi.
10	Üzerine distile su konularak, 60°C ' sıcaklıkta bir gece etüvde inkübe edildi.
11	Çözünen DNA'lar genotipleme analiz yöntemi uygulanıncaya kadar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.3. Genotip analizlerin yapılışı

3,3,1.Genotipleme

İzole edilen DNA'larda hepatotoksisitede etkin olan detoksifikasyon (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* *Ile/Val*) ve onarımdan (*OGG1* *Ser/Cys*) sorumlu aday genlerdeki polimorfizmler Eş zamanlı Çoklu-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve PZR-Restriksiyon Uzunluk Fragment Polimorfizm yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Gen polimorfizlerinin bulunduğu nükleotid dizisi uygun primerler aracılığıyla PZR ile çoğaltıldı. Proje başvurmuzda yöntemde belirtilen PZR karışımı hazırlandı ve üzerine 50-100 ng DNA ilave edilip, PZR cihazına (thermal cycler) proje önerisinde belirtilen koşullarda amplifikasyona (çoğaltılmaya) bırakıldı. Bu amplifikasyondan sonra polimorfizmlerin yer aldığı DNA parçaları çoğaltılmış (PZR ürünü) oldu. *GSTM1* ve *GSTT1* çoğalma sonucu jele yüklenerek değerlendirildi. *GSTP1* *Ile/Val* ve *OGG1* *Ser/Cys* gen polimorfizmleri için amplifikasyonun gerçekleştiğini test etmek için örnekler %2'lik agaroz jele uygulandı. Çoğalma gerçekleşikten sonra polimorfizmlere uygun restriksiyon (kesme) enzimleri ile inkübasyona bırakılıp, %2'lik agaroz jele uygulandı. Jel etidyum bromür çözeltisi ile boyandıktan sonra görüntüleme cihazında değerlendirmeleri yapılmıştır.

Tablo 1. PCR Karışım Protokolleri

PCR Karışımı	GSTM1	GSTP1	OGG1
dNTP (10mM)	0.25mM	0.3mM	0.2mM
MgCl2 (25mM)	1.5mM	2mM	1.5mM
Taq Buffer (X10)	1X	1X	1X
DNA Örneği	1µl	1µl	1µl
Primer F (GSTM1)	1.5µl		
Primer R (GSTM1)	1.5µl		
Primer F (GSTT1)	0.8µl		
Primer R (GSTT1)	0.8µl		
Primer F (CYP1A1)	0.8µl		
Primer R (CYP1A1)	0.8µl		
Primer F (GSTP1)		1µl	
Primer R (GSTP1)		1µl	
Primer F (OGG1)			1µl
Primer R (OGG1)			1µl

Tablo 2. Primerlerin Listesi

Primerler Dizilim (5'-3'9		Boyut (Baz Çifti; bç)
Primer F (GSTM1)	GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G	215
Primer R (GSTM1)	GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C	
Primer F (CYP1A1)	GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT	Diagnostik Band
Primer R (CYP1A1)	CAG CTG CAT TTG GAA GTG CTC	
Primer F (GSTT1)	AGG CAG CAG TGG GGG AGG ACC	480
Primer R (GSTT1)	CTC ACC GGA TCA TGG CCA GCA	
Primer F (GSTP1)	ACC CCA GGG CTC TAG GGA A	176
Primer R (GSTP1)	TGA GGG CAC AAC AAC CCC T	
Primer F (OGG1)	ACT GTC ACT AGT CTC ACC AG	207
Primer R (OGG1)	TGA ATT CGG AAG GTG CTT GGG GAA T	

Toplanan tüm örneklerin DNA'larının izolasyonu ve genotiplmeleri sorunsuzca gerçekleştirilmiştir. Şema 1 ve 2'de gen polimorfizmlerine ait bantlar gösterilmiştir (Şema 1 ve Şema 2).

3.4.Serum olanzapin miktar tayini

Olanzapinin serumda tayini için ara raporda HPLC-UV yöntemi için denemeler gerçekleştirilmiş fakat serumdan analizlerinde yeterli hassasiyete inilemediği için cihaz değiştirilerek hassasiyeti oldukça yüksek olan LC-MS/MS yöntemi ile analizler gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde C₁₈ kolon (150 mm x 4.6 mm, 5 µm) ve %0.1 formik asit:%0.1 formik asit içeren asetonitril (80:20 h/h) karışımı harekeli faz olarak kullanılmıştır. Akış hızı 0.3 mL/dakika ve kolon fırın sıcaklığı 40°C'dir. Olanzapin için çalışılan Multiple-Reaction-Monitoring (MRM) koşulları; pozitif iyonizasyon modunda 24 eV'luk çarpışma enerjisi kullanılarak 313.20 m/z → 256,10 m/z kütle parçalanmaları takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

Geliştirdiğimiz yöntemin FDA'nın Bioanalytical Method Validation kılavuzuna göre doğrusallık, tekrarlanabilirlik, kesinlik ve seçiciliği validasyon çalışmaları yapılarak değerlendirilmiştir.

3.4.1.Serum eldesi

Hastalardan alınan kan örnekleri 3000rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir.

Uygulama için ayrıntılı bilgi aşağıda verilmiştir.

Uygulama şekli: Oral

Numune alım yeri: Sol ön kol ven

Numune türü ve miktarı: Kan 5 ml

Kan alım zamanları: İlaçla tedaviye başlamadan önce (T1)

İlaç vermeye başladıktan 10 (± 5). gün sonra (T2)

İlaç vermeye başladıktan 3 ± 1 . ayında (T3)

Üç ayrı zaman diliminde örnekler alınmıştır.

3.4.2. Stok standart çözeltinin hazırlanması

Olanzapin stok standardı (10mg/10 ml): %99 saflıkta 10mg olanzapin 10ml metanolde çözülerek hazırlanmıştır.

3.4.3. Kalibrasyon çözeltilerin hazırlanması

Olanzapinin serumdan analizinde kullanılacak kalibrasyon eğrisini hazırlamak için ilaçsız serum örneklerine 1 ng/mL – 5000 ng/mL derişim aralığında olacak şekilde altı farklı nokta için standart olanzapine eklenerek hazırlanmıştır. Standard eklenen serum örnekleri numune plasma örneklerine yapılan işlemler gerçekleştirildikten sonra analiz edilmişlerdir.

3.4.4. Numune serumlarının hazırlanması

500 μ L serum örneği ependorf tüpe aktarılmıştır ve üzerine 1.25 ml çöktürme çözeltisi ve 0.5 mL su eklendikten sonra 4°C'de 1370 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 100 μ L alınarak insert içeren HPLC viallerine aktarılmış ve analizleri LC-MS/MS cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Şema 1. *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ve *OGG1* gen polimorfizmlerinin şematik gösterimi

Baz çifti	<i>GSTM1</i> (+)	<i>GSTM1</i> (-)	<i>GSTT1</i> (+)	<i>GSTT1</i> (-)	<i>GSTP1</i> Kesim öncesi	<i>OGG1</i> Kesim öncesi
450			■			
312	■	■	■	■		
225	■					
207						■
176					■	

Şema 2. *GSTP1* ve *OGG1* genotip şematik gösterimi (Kesim sonrası)

Baz çifti	<i>GSTP1</i> <i>İle105ile</i>	<i>GSTP1</i> <i>İle105val</i>	<i>GSTP1</i> <i>Val105val</i>	<i>OGG1</i> <i>Ser326ser</i>	<i>OGG1</i> <i>Ser326cys</i>	<i>OGG1</i> <i>Cys326cys</i>
176	■■■■■	■■■■■				
93		■■■■■	■■■■■			
83		■■■■■	■■■■■			
207				■■■■■	■■■■■	
107					■■■■■	■■■■■
100					■■■■■	■■■■■

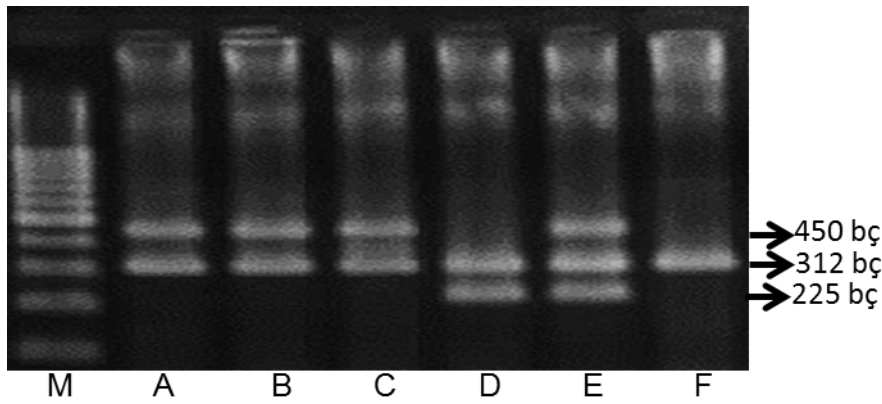
4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 17.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapıldı. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro-Wilk testiyle varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli sayısal değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma ya da medyan (çeyrekler arası genişlik) şeklinde gösterilirken kategorik değişkenler olgu sayısı ve (%) biçiminde ifade edildi. Gruplar arasında ortalama değerler yönünden farkın önemliliği Student's t testiyle değerlendirilirken normalden uzak dağılıma sahip olan sürekli sayısal değişkenler yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testiyle incelendi. İzlem zamanları arasında klinik ölçümlere ilişkin ortalamalar yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı Wilks'in Lambda testi kullanılarak Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi ile araştırıldı. Wilks'in Lambda test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması durumunda farka neden olan izlem zaman(lar)ını tespit etmek amacıyla Bonferroni Düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Normalden uzak dağılıma sahip değişkenler içerisinde izlem zamanlarına göre klinik ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı değişimin olup olmadığı ise Friedman testiyle incelendi. Friedman test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması durumunda ise Wilcoxon İşaret testi kullanılarak farka neden olan izlem zaman(lar)ı tespit edildi. Sürekli sayısal değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkinin olup olmadığı ise Spearman'ın sıra sayıları korelasyon testi kullanılarak araştırıldı. Aksi belirtilmedikçe $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak, olası tüm çoklu karşılaştırmalarda, Tip I hatayı kontrol altına alabilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır.

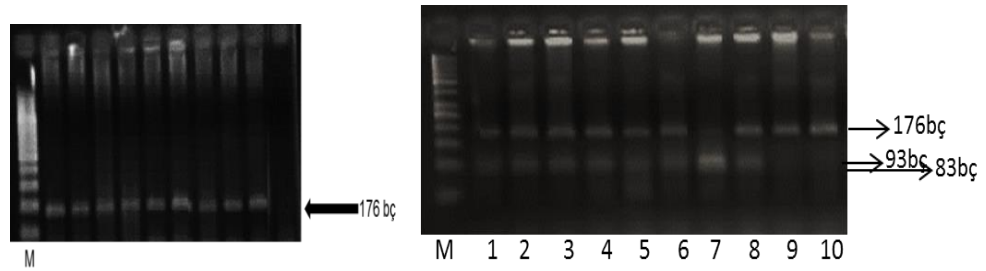
Metabolomik analizler: GC-MS temelli metabolomik analizler sonucunda elde edilen veri matrisleri Excel çalışma dosyasına aktarılmış ve toplam alan normalizasyon tekniği kullanılarak normalize edilmiştir. Metabolit düzeyinde görülen eksik değerler, metabolit grubu içindeki en küçük derişimin yarı değeri ile doldurulmuştur. Daha sonra bu veri matrisi SIMCA-P+ programına aktararak temel bileşenler analizi (PCA) ve en küçük kareler farklılaştırma analizi (PLS-DA) yöntemleri ile grupların ayırılmasında önemli olan metabolitler ve regresyon katsayıları bulunmuştur

5.BULGULAR

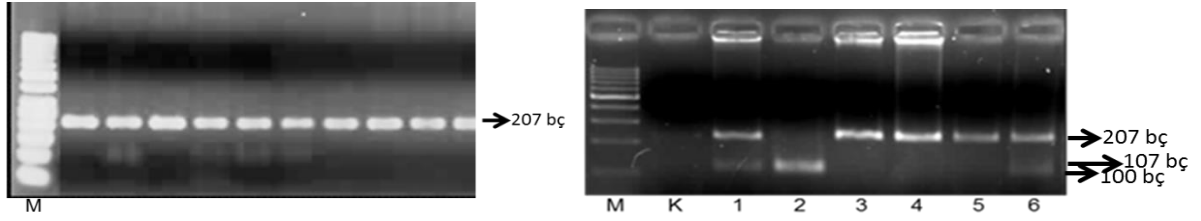
Şekil 1'de *GSTM1* ve *GSTT1* PZR görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 1. *GSTM1* ve *GSTT1* gen polimorfizmine ait jel görüntüsü (M, 100bp belirteç, A, B, C; *GSTT1* pozitif, D; *GSTM1* pozitif, E; *GSTM1* pozitif ve *GSTT1* pozitif, F; *GSTM1* null ve *GSTT1* null).



Şekil 2. *GSTP1* *Ile/Val* gen polimorfizmine ait jel görüntüsü (M; Belirteç, 1-6, 8; *Ile/Val*, 7 *Val/Val*, 9 ve 10; *Ile/Ile* 5,10 ve 14 *Val/Val*)



Şekil 3. OGG1 Ser/Cys gen polimorfizmine ait jel görüntüsü (M, Belirteç, K, Kör, 1 ve 6 Ser/Cys, 2; Cys/Cys, 3-5 Ser/Ser).

Tablo 3. Uygulanan olanzapin dozu (oral, mg)

Hasta No	OLANZAPİN DOZU (mg)
1	10 mg
2	(ilk 1 ay 10 mg) 5 mg
3	5 mg
4	20 mg
5	30 mg
6	15 mg
7	20 mg
8	15 mg
9	15 mg
10	10 mg
11	10 mg
12	5 mg
13	5 mg
14	2,5 mg
15	5 mg
16	10 mg
17	5 mg
18	5 mg
19	5 mg
20	10 mg (iki ay)
21	10 mg
22	10 mg
23	(ilk 1 ay 10 mg) 5 mg
24	(ilk 2 ay 5 mg) 10 mg
25	7,5 mg
26	10 mg
27	(ilk 2 ay 10 mg) 5 mg
28	5 mg
29	10 mg
30	15 mg

Tablo 4. T1, T2 ve T3 zaman dilimlerine ait serumdaki olanzapin konsantrasyonları (ppm)

Hasta no	Olanzapin konsantrasyonları (ppm)		
	T1	T2	T3
1	0.45	1.80	0.22
2	1.87	3.35	1.86
3	0.62	0.87	0.16
4	0.72	0.32	0.29
5	0.22	1.58	0.72
6	1.63	0.18	0.15
7	0.15	0.24	0.86
8	0.15	0.35	0.15
9	0.98	0.20	0.15
10	0.50	0.30	0.16
11	0.55	0.38	0.15
12	0.94	0.92	1.08
13	0.15	0.24	0.15
14	2.13	2.06	1.57
15	0.16	0.30	1.13
16	0.15	0.85	0.15
17	0.42	1.43	0.70
18	0.268	0.103	0.136
19	0.035	0.040	0.015
20	0.050	0.130	0.009
21	0.030	0.072	0.010
22	0.056	0.107	0.309
23	0.214	0.274	0.107
24	0.084	0.170	0.226
25	0.073	0.328	0.341
26	0.008	0.289	0.344
27	0.111	0.189	0.027
28	0.004	0.006	0.032
29	0.009	0.016	0.076
30	0.003	0.019	0.021

Tablo 5. *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ile/Val ve *OGG1* Ser/Cys gen polimorfizmlerine ait sonuçların listesi

Hasta No	<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>GSTP1</i>	<i>OGG1</i>
1	POZİTİF	POZİTİF	W	M
2	POZİTİF	POZİTİF	W	H
3	POZİTİF	POZİTİF	H	H
4	NULL	POZİTİF	H	H
5	NULL	POZİTİF	H	W
6	NULL	POZİTİF	M	W
7	POZİTİF	NULL	H	W
8	POZİTİF	POZİTİF	W	M
9	NULL	NULL	W	W
10	POZİTİF	POZİTİF	H	H
11	POZİTİF	NULL	H	H
12	POZİTİF	POZİTİF	W	W
13	POZİTİF	POZİTİF	W	H
14	NULL	POZİTİF	W	W
15	NULL	POZİTİF	H	H
16	NULL	POZİTİF	W	W
17	NULL	POZİTİF	W	W
18	NULL	NULL	W	H
19	NULL	NULL	M	W
20	NULL	POZİTİF	W	W
21	NULL	POZİTİF	H	H
22	POZİTİF	POZİTİF	M	H
23	NULL	POZİTİF	H	W
24	POZİTİF	POZİTİF	W	H
25	POZİTİF	POZİTİF	H	W
26	NULL	NULL	W	H
27	NULL	POZİTİF	W	W
28	NULL	POZİTİF	H	W
29	NULL	NULL	H	W
30	NULL	NULL	H	W

H: Heterozigot, M: W: Yabanıl tip

Tablo 6. Üç farklı zaman periyodunda ALT, AST ve α -GST düzeyleri

Hasta No	T1 (0. gün)			T2 (10 gün sonra)			T3 (3 ay sonra)		
	ALT	AST	α -GST	ALT	AST	α -GST	ALT	AST	α -GST
1	17	31	0,880	29	25	1,548	40	29	1,691
2	14	20	1,404	31	25	4,297	15	17	1,627
3	19	30	1,928	13	15	2,474	9	16	1,856
4	10	14	2,503	101	39	7,104	23	16	2,208
5	19	24	2,761	19	17	1,576	14	19	1,139
6	46	55	5,826	26	39	2,696	20	21	2,215
7	17	27	8,798	41	39	4,821	25	33	1,892
8	17	16	0,636	66	42	6,853	13	24	3,730
9	53	32	10,679	21	25	7,564	11	21	7,513
10	10	11	3,414	15	15	2,976	24	15	6,408
11	30	37	10,141	70	61	17,097	10	22	1,655
12	16	18	2,869	18	24	2,782	18	20	2,459
13	9	16	1,225	9	14	1,203	10	14	0,816
14	14	19	2,165	17	16	3,127	20	32	2,811
15	19	26	2,962	19	17	2,237	16	19	3,027
16	11	15	2,495	67	40	10,959	15	19	2,861
17	24	6	2,797	30	64	4,046	18	17	9,645
18	11	14	1,483	18	20	1,124	14	18	1,419
19	18	19	4,491	29	50	6,853	15	14	1,296
20	17	22	2,043	16	20	1,871	38	28	3,752
21	26	22	1,684	24	21	4,362	22	19	2,503
22	13	19	0,880	44	40	3,737	43	36	8,762
23	11	27	0,729	83	49	11,526	11	18	2,869
24	29	23	1,742	21	19	1,957	26	49	6,049
25	12	23	1,663	31	19	1,584	20	22	4,541
26	35	83	1,368	46	37	6,027	50	45	13,199
27	18	19	3,579	11	12	2,144	16	16	6,164
28	10	12	1,361	23	26	4,735	16	18	2,912
29	13	18	0,830	9	17	1,232	10	18	1,519
30	11	13	3,522	46	29	10,973	24	20	3,529

Tablo 7. GC-MS analizi sonucunda tanımlanan metabolitler *

1	Myristic D27 (IS)	42	Isoleucine
2	2-amino-2-norbornanecarboxylic acid	43	Ketoglutaric acid
3	acetol	44	Ketoisocaproic acid
4	acetylisatin	45	Lactic acid
5	Beta- alanine	46	Leucine
6	Leucine	47	Linoleic acid
7	N-methylglutamic acid	48	Lysine
8	1-hexadecanol	49	Malic acid
9	2-butyne-1,4-diol	50	Monomethylphosphate
10	2-hydroxybutyric acid	51	Myo-inositol 1
11	3-aminoisobutyric acid	52	Myo-Inositol 2
12	3-Hydroxypropanoic acid	53	N-methylalanine
13	4-guanidinobutyric acid	54	Norleucine
14	4-hydroxy-L-proline	55	O-methyl-inositol
15	4-Hydroxybutanoic acid	56	Octadecanol
16	Alanine	57	Oleic acid
17	AMP	58	Ornithine
18	Arginine	59	Oxalic acid
19	Aspartic acid 1	60	p-cresol
20	Aspartic acid 2	61	Phenylalanine
21	Benzamide	62	Fosfat
22	Benzoic acid	63	Pipecolic Acid
23	Beta alanine	64	Proline 1
24	Caprylic acid	65	Proline 2
25	Cholestrol	66	Pyroglutamic Acid
26	Citric acid 1	67	Pyruvic Acid
27	Citric acid 2	68	Serine
28	Creatinine	69	Sphingosine
29	Epsilon-caprolactam	70	Succinate
30	Ethanolamin	71	Tetradecanoic Acid
31	Galactono-1,4-lactone	72	Theorine
32	Glucopyranose	73	Threitol
33	Glucose	74	Threo-Beta-Hydroxyaspartic Acid
34	Glutamic acid	75	Threonic Acid
35	Glyceric acid	76	Threonine
36	Glycerol	77	Tyrosine 1
37	Glycine	78	Tyrosine 2
38	Hexadecanoic acid	79	Urea
39	Iminodiacetic acid 1	80	Valine 1
40	Iminodiacetic acid 2	81	Valine 2

***123 adet bilinmeyen metabolit tespit edilmiştir. Birden fazla GC-MS piki olan metabolitler 1 ve 2 olarak adlandırılmıştır.**

Tablo 8. Hasta grubuna ait demografik ve klinik özellikleri

	n=30
Yaş (yıl)	36.7±14.1
<i>Yaş aralığı (yıl)</i>	19-63
Cinsiyet	
<i>Erkek</i>	8 (26.7%)
<i>Kadın</i>	22 (73.3%)
Bazal vücut ağırlığı (kg)	64.8±12.3
Boy uzunluğu (cm)	165.1±8.0
Bazal beden kitle indeksi (kg/m²)	23.9±4.6
Sigara öyküsü	10 (33.3%)
Olanzapin dozu (mg/kg)	0.13±0.052
Bazal ilaç konsantrasyonu	0.42±0.565
GSTM1	
<i>Pozitif</i>	12 (40.0%)
<i>Null</i>	18 (60.0%)
GSTT1	
<i>Pozitif</i>	22 (73.3%)
<i>Null</i>	8 (26.7%)
GSTP1	
<i>Wild</i>	14 (46.7%)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	16 (53.3%)
OGG1	
<i>Wild</i>	16 (53.3%)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	14 (46.7%)

Tablo 9’de izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre karaciğer fonksiyon enzimleri düzeyleri sunulmuştur. İzlem zamanları arasında α-GST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim tespit edilmemiştir (p=0.239). Serum ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup (p=0.039), söz konusu farka neden olan durum başlangıca ve T3’e göre T2’de T3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.423). İzlem zamanları arasında AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim tespit edilmemiştir (p=0.692). ***İzlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre karaciğer fonksiyon enzim düzeylerinden sadece ALT***

(U/l) düzeyinde farklılık gözlenmesi ALT'nin α -GST ve ASTye göre daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Ancak, T3 izlem zamanında bu artışın T1 zamanındaki seviyeye inmesi de bu artışın pozitif falls bir yükseliş olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 9. İzlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre karaciğer fonksiyon enzimleri düzeyleri

	T1	T2	T3	p- †
α-GST (μg/l)	2.1 (1.4-3.4)	3.4 (1.9-6.8)	2.8 (1.7-4.9)	0.239
ALT (U/l)	17.0 (11.0-20.2) ^a	25.0 (17.7-44.5) ^{a,b}	17.0 (13.7-24.0) ^b	0.039
AST (U/l)	19.5 (15.7-27.0)	25.0 (17.0-39.2)	19.0 (17.0-25.0)	0.692

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Friedman testi, a: Başlangıç ile 10.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.006$), b: 10.gün ile 90.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.008$).

T1'e göre T3'de, T1'e göre T3'de ve T2'e göre T3'de karaciğer fonksiyon enzimlerinde meydana gelen yüzdesel değişimlere bakıldığında, yüzdesel değişim miktarlarının birbirleri arasında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmemiştir ($p>0.0056$, Tablo 10).

Tablo 10. T1, T2 ve T3 zaman dilimlerinde karaciğer fonksiyon enzimlerinde meydana gelen yüzdesel değişimler

	T2-T1	T3-T1	T3-T2
α-GST (μg/l)	44.5 (-15.7- 207.5)	22.9 (-18.1- 128.7)	-14.7 (-61.1- 104.2)
ALT (U/l)	40.7 (-6.3- 145.5)	9.1 (-23.2- 61.7)	-24.7 (-47.9- 11.1)
AST (U/l)	10.2 (-20.0- 112.1)	-2.2 (-26.5- 39.8)	-10.0 (-43.7- 12.8)

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi.

5.1. Gen polimorfizmlerine göre α -GST düzeyleri

Tablo 11'da gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre α -GST düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. *GSTM1* ve *GSTT1* gen polimorfizmleri için hem pozitif hem de null genotipe sahip bireyler içerisinde izlem zamanları arasında α -GST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim tespit edilmemiştir (*GSTM1*; $p=0.717$ ve 0.311 ; *GSTT1*; $p=0.186$ ve 0.607). Hem *GSTM1* hem de *GSTT1* pozitif olan bireylerle null olanlar izlem zamanlarına göre α -GST düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptamamıştır ($p=0.118$, $p=0.156$ ve $p=0.420$). Aynı istatistiksel karşılaştırmalar *GSTP1* ve *OGG1* için de yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptamamıştır.

Tablo 11. Gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre α -GST düzeyleri

	T1	T2	T3	p-†
GSTM1				
<i>Pozitif</i>	1.7 (1.0-3.3)	2.8 (1.7-4.7)	2.2 (1.7-5.7)	0.717
<i>Null</i>	2.5 (1.4-3.5)	4.2 (2.1-7.2)	2.9 (2.0-4.3)	0.311
p-‡	0.368	0.415	0.692	
GSTT1				
<i>Pozitif</i>	2.0 (1.3-2.8)	2.9 (1.9-4.4)	2.9 (2.1-4.9)	0.186
<i>Null</i>	4.0 (1.4-9.8)	6.4 (2.1-10.1)	1.8 (1.4-6.5)	0.607
p-‡	0.118	0.156	0.420	
GSTP1				
<i>Wild</i>	1.9 (1.3-2.8)	2.9 (1.8-6.2)	3.3 (1.7-6.5)	0.395
<i>Heterozigot+Mutant</i>	2.6 (1.4-4.2)	4.0 (2.3-7.0)	2.4 (1.7-3.4)	0.305
p-‡	0.377	0.313	0.334	
OGG1				
<i>Wild</i>	2.8 (1.7-4.3)	3.6 (1.9-7.4)	2.9 (2.0-4.3)	0.646
<i>Heterozigot+Mutant</i>	1.6 (1.1-2.6)	3.4 (1.8-6.2)	2.3 (1.6-6.1)	0.257
p-‡	0.077	0.580	0.728	

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Her bir gen polimorfizmi içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Her bir izlem zamanı içerisinde gen polimorfizmleri arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.2. Gen polimorfizmlerine göre ALT düzeyleri

Tablo 12’de aynı Tablo 10’da yapıldığı gibi ALT düzeyleri gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre karşılaştırılmıştır. *GSTM1*, *GSTT1* ve *OGG1* gen polimorfizmleri için yapılan karşılaştırmalarda ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim olmamıştır. *GSTP1* gen polimorfizminde wild genotipe sahip olanlar için izlem zamanları arasında ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim tespit edilmemiştir ($p=0.323$). Ancak, *GSTP1 H+M* genotipe sahip bireylerde izlem zamanları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Bu farklılık T2 izlem zamanında T1 ve T3’e göre istatistiki olarak artışın olmasından kaynaklanmaktadır ($p=0.014$, $p=0.003$). T1 ve T3 arasında ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.019$ ve $p=0.609$). *GSTP1 W* genotipe sahip olanlar *GSTP1 H+M* olanlarla ALT düzeyleri izlem zamanlarına göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptamamıştır ($p=0.608$, $p=0.355$ ve $p=0.822$).

Tablo 13’de gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına göre Tablo 11 ve 12’deki gibi karşılaştırmalar yapıldığında AST düzeyleri yönünden istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık

gözlenmemiştir. **ALT düzeyleri yönünden GSTP1 H+M genotipe sahip bireylerde T2'deki artış gözlenirken W olanlarda görülmemesi enzim GSTP1 enzim aktivitesinde gen polimorfizmine bağlı aktive değişiminin bu artışa neden olduğu düşünülmektedir.**

Tablo 12. Gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre olguların ALT düzeyleri

	T1	T2	T3	p-†
GSTM1				
<i>Pozitif</i>	16.5 (12.2-18.5)	30.0 (15.7-43.2)	19.0 (10.7-25.7)	0.090
<i>Null</i>	17.5 (11.0-24.5)	23.5 (17.7-46.0)	16.0 (14.0-22.2)	0.183
p-‡	0.632	0.917	0.819	
GSTT1				
<i>Pozitif</i>	16.5 (11.0-19.0)	23.5 (16.7-34.2)	18.0 (14.7-23.2)	0.153
<i>Null</i>	17.5 (11.5-33.7)	35.0 (18.7-46.0)	14.5 (10.2-24.7)	0.223
p- ‡	0.344	0.504	0.504	
GSTP1				
<i>Wild</i>	17.0 (13.2-25.2)	21.0 (16.7-34.7)	17.0 (13.7-29.0)	0.323
<i>Heterozigot+Mutant</i>	15.0 (11.0-19.0)	27.5 (19.0-45.5) ^a	18.0 (11.7-23.7) ^a	0.014
p-‡	0.608	0.355	0.822	
OGG1				
<i>Wild</i>	16.5 (11.2-18.7)	24.5 (17.2-38.5)	17.0 (14.2-20.0)	0.170
<i>Heterozigot+Mutant</i>	17.0 (10.7-26.7)	26.5 (17.2-51.0)	19.0 (12.2-29.5)	0.211
p- ‡	0.918	0.697	0.697	

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Her bir gen polimorfizmi içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni Düzeltmesine göre p<0.025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Her bir izlem zamanı içerisinde gen polimorfizmleri arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre p<0.0167 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, a: 10.gün ile 90.gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.003).

5.3. Gen polimorfizmlerine göre AST düzeyleri

Tablo 13'de gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre AST düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. *GSTM1* ve *GSTT1* gen polimorfizmleri için hem pozitif hem de null genotipe sahip bireyler içerisinde izlem zamanları arasında α -GST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim tespit edilmemiştir. Hem *GSTM1* hem de *GSTT1* pozitif olan bireyler ile null olanlar izlem zamanlarına göre AST düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. Aynı istatistiksel karşılaştırmalar *GSTP1* ve *OGG1* için de yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır.

Tablo 13. Gen polimorfizmleri açısından izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre AST düzeyleri

	T1	T2	T3	p-†
GSTM1				
Pozitif	21.5 (16.5-29.2)	24.5 (16.0-39.7)	22.0 (16.2-32.0)	0.770
Null	19.0 (14.0-26.2)	25.5 (17.0-39.2)	19.0 (17.7-21.0)	0.765
p-‡	0.545	0.662	0.305	
GSTT1				
Pozitif	19.5 (15.7-24.5)	22.5 (16.7-39.2)	19.0 (16.7-25.0)	0.955
Null	23.0 (15.0-35.7)	33.0 (21.2-47.2)	20.5 (18.0-30.2)	0.368
p- ‡	0.420	0.185	0.565	
GSTP1				
Wild	19.0 (15.7-25.0)	24.5 (18.2-37.7)	20.5 (17.0-29.7)	0.982
Heterozigot+Mutant	22.5 (15.0-27.0)	27.5 (17.0-39.7)	19.0 (16.5-21.7)	0.399
p-değeri ‡	0.608	0.580	0.334	
OGG1				
Wild	19.0 (15.7-26.2)	25.5 (17.5-39.7)	19.5 (18.0-21.7)	0.814
Heterozigot+Mutant	21.0 (15.5-30.2)	23.0 (16.5-39.2)	19.0 (16.0-30.7)	0.801
p- ‡	0.667	0.580	0.984	

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Her bir gen polimorfizmi içerisinde izlem zamanları arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ Her bir izlem zamanı içerisinde gen polimorfizmleri arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.4. α -GST düzeylerinde değişimler

Gen polimorfizmlerinin (GST'ler ve OGG1) pozitif ile null genotipleriyle veya W ile H+M genotipleri arasında sırasıyla T1'e göre T2, T1'e göre T3 ve T2'ye göre T3'de α -GST düzeylerinde meydana gelen değişimler yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır.

Tablo 14. Gen polimorfizmleri açısından T1'e göre T2'de, T1'e göre T3'de ve T2'ye göre T3'de α -GST düzeylerinde meydana gelen değişimler

	T2-T1	T3-T1	T3-T2
GSTM1			
<i>Pozitif</i>	0.4 (-0.1- 2.9)	0.5 (-0.4- 3.1)	-0.3 (-2.9- 3.3)
<i>Null</i>	1.1 (-0.8- 4.6)	0.5 (-0.6- 1.8)	-0.4 (-5.1- 1.1)
p-†	0.851	0.851	0.851
GSTT1			
<i>Pozitif</i>	0.6 (-0.2- 3.0)	0.8 (-0.1- 2.9)	-0.3 (-2.1- 3.1)
<i>Null</i>	1.4 (-2.4- 6.4)	-1.6 (-6.0- 0.5)	-1.5 (-7.0- 0.3)
p-†	0.982	0.050	0.447
GSTP1			
<i>Wild</i>	0.4 (-0.2- 3.3)	0.7 (-0.1- 3.4)	0.1 (-0.9- 4.0)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	1.4 (-0.6- 4.3)	0.04 (-2.8- 2.0)	-1.2 (-5.4- 0.7)
p-†	0.854	0.193	0.077
OGG1			
<i>Wild</i>	0.2 (-1.4- 3.1)	0.5 (-2.8- 2.0)	-0.4 (-4.9- 1.5)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	1.7 (-0.1- 4.6)	0.5 (-0.1- 3.4)	-0.1 (-2.8- 3.6)
p-†	0.313	0.355	0.552

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.5. ALT ve AST düzeylerinde değişimler

Tablo 15 ve 16'de Tablo 14'de ki karşılaştırmalar yapılmıştır. Gen polimorfizmlerinin (GST'ler ve OGG1) pozitif ile null genotipleriyle veya W ile H+M genotipleri arasında sırasıyla T1'e göre T2, T1'e göre T3 ve T2'ye göre T3'de ALT ve AST düzeylerinde meydana gelen değişimler yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 15. Gen polimorfizmleri açısından T1'e göre T2'de, T1'e göre T3'de ve T2'ye göre T3'de ALT düzeylerinde meydana gelen değişimler

	T2-T1	T3-T1	T3-T2
GSTM1			
<i>Pozitif</i>	14.5 (0.5-29.2)	1.5 (-3.7-12.5)	-2.5 (-16.0- 4.0)
<i>Null</i>	4.5 (-2.5-18.5)	-1.0 (-4.2-7.7)	-5.5 (-16.0- 1.5)
p- †	0.415	0.491	0.662
GSTT1			
<i>Pozitif</i>	4.0 (-1.2-22.0)	1.0 (-4.0-9.2)	-3.5 (-13.0- 3.5)
<i>Null</i>	11.0 (-1.2-32.2)	0.0 (-15.7-11.7)	-12.0 (-20.5- -0.2)
p-†	0.730	0.765	0.298
GSTP1			
<i>Wild</i>	4.5 (-2.5-13.2)	1.5 (-3.2-8.2)	0.5 (-13.0- 5.0)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	12.0 (-1.5-34.0)	-1.5 (-4.7-11.7)	-6.5 (-20.5- -2.2)
p-†	0.355	0.697	0.077
OGG1			
<i>Wild</i>	4.5 (-3.2-22.7)	1.0 (-4.5-7.5)	-8.5 (-15.5- 0.7)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	9.0 (-0.5-33.2)	1.0 (-4.0-14.2)	-2.5 (-25.2- 4.2)
p -†	0.608	0.637	0.423

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 16. Gen polimorfizmleri açısından T1'e göre T2'de, T1'e göre T3'de ve T2'ye göre T3'de AST düzeylerinde meydana gelen değişimler

	T2-T1	T3-T1	T3-T2
GSTM1			
<i>Pozitif</i>	4.5 (-4.0- 18.7)	0.5 (-2.7- 7.5)	-2.0 (-7.5- 2.5)
<i>Null</i>	-1.0 (-7.0- 22.7)	-1.5 (-7.5- 6.0)	-3.0 (-21.5- 2.5)
p-†	0.884	0.415	0.662
GSTT1			
<i>Pozitif</i>	-1.5 (-6.2- 21.2)	0.5 (-3.5- 6.5)	-1.0 (-18.0- 3.2)
<i>Null</i>	9.0 (-5.5- 22.0)	-2.5 (-14.0- 5.5)	-5.0 (-29.2- 0.2)
p-†	0.597	0.298	0.368
GSTP1			
<i>Wild</i>	-2.0 (-6.2- 10.7)	3.0 (-3.0- 8.7)	-1.0 (-10.5- 8.0)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	8.0 (-6.2- 21.7)	-2.0 (-8.5- 5.5)	-5.0 (-21.7- 1.0)
p-†	0.637	0.224	0.142
OGG1			
<i>Wild</i>	2.5 (-6.2- 20.5)	1.0 (-5.0- 6.0)	-5.0 (-20.2- 2.7)
<i>Heterozigot+Mutant</i>	1.5 (-6.7- 21.7)	-2.0 (-8.7- 5.0)	-1.0 (-10.5- 2.5)
p-†	0.667	0.667	0.473

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Mann Whitney U testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.6. Kilogram başına düşen ilaç doz miktarına göre α -GST, ALT ve AST'de değişimler

Aşağıda tablolar halinde ve metin içinde de açıklandığı gibi tüm analizler kilogram başına düşen ilaç dozuna göre tekrarlanmıştır. Bireylerin hastalık şiddetlerine göre ilaçları farklı dozda almaları nedeniyle ortaya çıkabilecek farklılıkları ortadan kaldırmak için kilogram başına düşen ilaç dozlarına göre sırasıyla; T1, T2 ve T3 izlem zamanlarında ALT, AST ve α -GST düzeyleri arasında ve yüzdesel değişim miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar saptanmamıştır.

Tablo 17. Kilogram başına düşen doz miktarı ile karaciğer fonksiyon enzim düzeyleri ve enzim düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	α-GST (µg/l)			ALT (U/l)			AST (U/l)	
	<i>Korelasyon katsayısı</i>	<i>p- t</i>		<i>Korelasyon katsayısı</i>	<i>p- t</i>		<i>Korelasyon katsayısı</i>	<i>p- t</i>
İzlem zamanları								
T1	-0.319	0.086		-0.348	0.060		-0.061	0.747
T2	0.230	0.220		0.111	0.558		0.049	0.798
T3	0.090	0.635		-0.285	0.126		-0.190	0.314
Gerçek değişimler								
T2-T1	0.397	0.030		0.226	0.229		0.091	0.632
T3-T1	0.101	0.595		0.167	0.378		-0.112	0.554
T3-T2	-0.124	0.513		-0.208	0.270		-0.093	0.627
Yüzdesel değişimler								
T2-T1	0.422	0.020		0.211	0.263		0.083	0.664
T3-T1	0.175	0.354		0.128	0.500		-0.116	0.543
T3-T2	-0.168	0.375		-0.270	0.150		-0.113	0.552

† Spearman'ın sıra sayıları korelasyon testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 18'de T1 ilaç konsantrasyonu ile karaciğer fonksiyon enzim düzeyleri ve enzim düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri gösterilmiştir. Başlangıç (T1) ilaç konsantrasyonu miktarı ile sırasıyla; T1, T2 ve T3 ALT ve AST düzeyleri arasında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p > 0.0167$). Başlangıç ilaç konsantrasyon miktarı ile başlangıç α-GST düzeyi arasında istatistiksel olarak **anlamlı ve aynı yönlü korelasyon saptandı ($r = 0.494$ ve $p = 0.006$)**. Buna karşın, T1 ilaç konsantrasyonu ile T2 ve T3'e göre α-GST arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p = 0.755$ ve $p = 0.794$).

Başlangıç ilaç konsantrasyonu miktarı ile sırasıyla; T2-T1, T2-T3 ve T3-T2 ALT, AST ve α-GST ölçümlerinde meydana gelen değişim miktarları arasında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır ($p > 0.0167$).

Yapılan korelasyon analizlerinde, **başlangıç (T1) ilaç konsantrasyon miktarı azaldıkça başlangıca T2'de α-GST düzeyi istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı ($r = -0.454$ ve $p = 0.012$)**.

Tablo 18. T1 ilaç konsantrasyonu ile karaciğer fonksiyon enzim düzeyleri ve enzim düzeylerinde meydana gelen değişim miktarları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	α-GST (µg/l)		ALT (U/l)		AST (U/l)	
	<i>Korelasyon katsayısı</i>	<i>p- †</i>	<i>Korelasyon katsayısı</i>	<i>p- †</i>	<i>Korelasyon katsayısı</i>	<i>p- †</i>
İzlem zamanları						
T1	0.494	0.006	0.276	0.140	-0.017	0.928
T2	0.059	0.755	-0.069	0.717	0.075	0.695
T3	0.050	0.794	0.028	0.884	0.062	0.744
Gerçek değişimler						
T2-T1	-0.397	0.030	-0.196	0.300	-0.029	0.879
T3-T1	-0.345	0.062	-0.244	0.194	-0.025	0.894
T3-T2	0.043	0.820	-0.069	0.719	-0.118	0.534
Yüzdesel değişimler						
T2-T1	-0.454	0.012	-0.213	0.257	0.000	1.000
T3-T1	-0.414	0.023	-0.240	0.201	-0.021	0.913
T3-T2	-0.011	0.955	-0.020	0.918	-0.128	0.501

† Spearman'ın sıra sayıları korelasyon testi, Bonferroni Düzeltmesine göre p<0.0167 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.7. Kilogram başına düşen ilaç doz miktarı ve gen polimorfizmleri

Kilogram başına düşen ortalama doz miktarı ile gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik görülmemiştir (p>0.05).

GSTM1, *GSTT1* pozitif olanlarla *GSTM1* ve *GSTT1* null olanlar ve *GSTP1* ve *OGG1* W olanlar ile *H+M* olanlar arasında sırasıyla; başlangıç, 10.gün ve 90.gün medyan ilaç konsantrasyon miktarları yönünden Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptamamıştır.

6. Karaciğer aminotransferazların metabolomik düzeyleri ve korelasyon analizlerinin zaman dilimlerine göre değişimi

6.1. α-GST-metabolomik düzeyleri

T1'e göre T3 'de **AMP** düzeyi arttıkça ve kolesterol düzeyleri azaldıkça α-GST düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r=0.550 ve p=0.002, r=-0.450 ve p=0.013 ve r=-0.447 ve p=0.013). T2'denT3'e değişimlerde istatistiksel olarak farklılık yoktur.

Lizin ve AMP (adenozin monofosfat) vücutta enerji süreçlerinde önemli role sahip metabolitlerdir.

6.2. ALT-metabolomiks düzeyleri

T1'e göre T2'de bilinmeyen-19, bilinmeyen-87 ve bilinmeyen-102 kodlu metabolit düzeyi azaldıkça ALT düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olarak artmıştır ($r=-0.486$ ve $p=0.006$; $r=-0.485$ ve $p=0.007$; $r=-0.473$ ve $p=0.008$). Diğerleri ile anlamlılık gözlenmemiştir.

T1'e göre T3'de **Lizin 1**, bilinmeyen 29 ve bilinmeyen-102 kodlu metabolit düzeyleri azaldıkça ALT düzeyi de istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı ($r=0.457$ ve $p=0.011$; $r=-0.505$ ve $p=0.004$ ve $r=-0.587$ ve $p<0.001$).

T2'ye göre T3'de bilinmeyen-50 kodlu metabolomiks düzeyi azaldıkça ALT düzeyi istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı ($r=-0.443$ ve $p=0.014$).

6.3.AST-metabolomik düzeyleri

T1'e göre T2'de sadece 87 kodlu metabolit düzeyi azaldıkça AST düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olarak artmıştır.

T1'e göre T3'de bilinmeyen 21 kodlu metabolit düzeyi azaldıkça ve 86 kodlu metabolit düzeyi arttıkça AST düzeyi de istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı ($r=-0.467$ ve $p=0.009$; $r=0.482$ ve $p=0.007$).

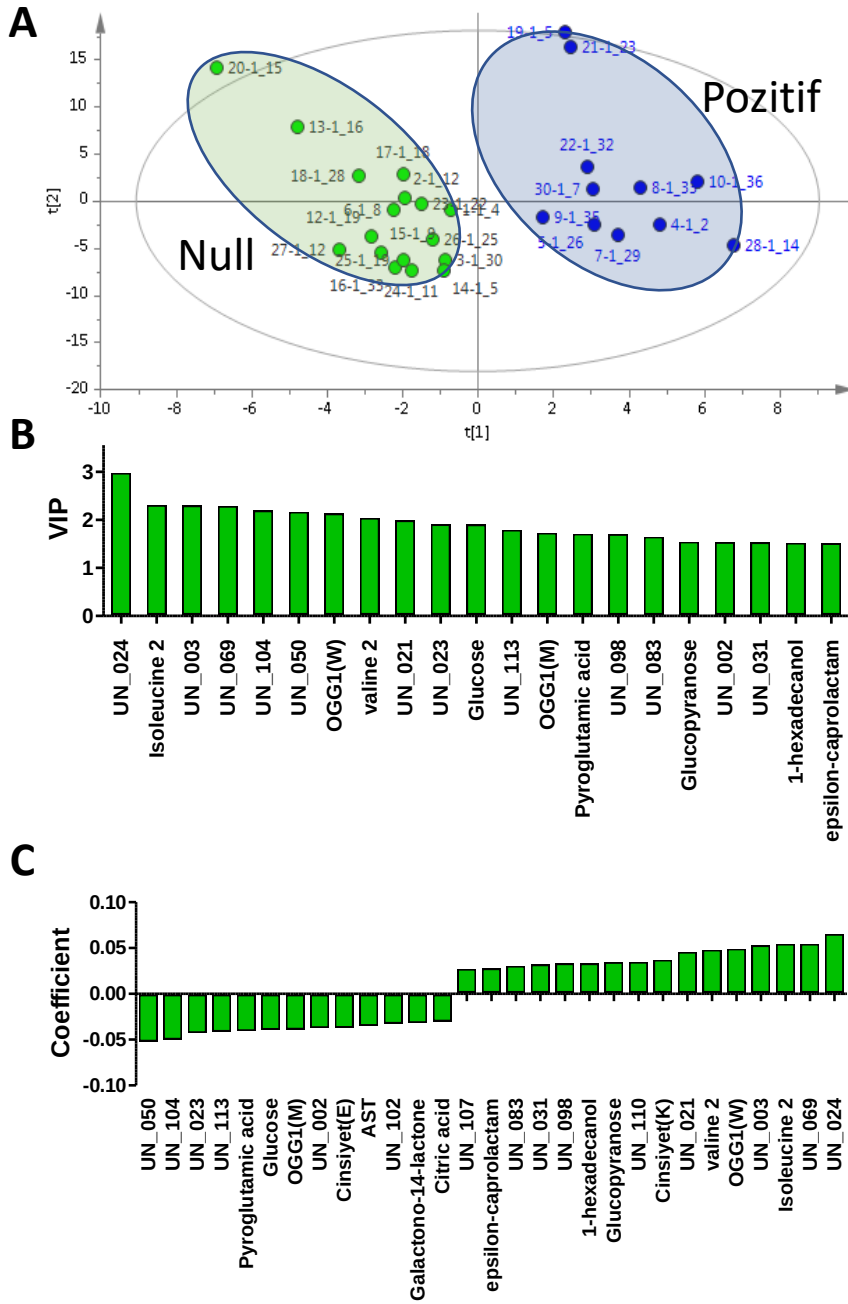
T2'ye göre T3'de **triptofan düzeyi** arttıkça ve bilinmeyen 87 kodlu metabolomiks düzeyi azaldıkça AST düzeyi istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı ($r=0.436$ ve $p=0.016$; $r=-0.539$ ve $p=0.002$). AST düzeyi de istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı.

7. Metabolit düzeylerinin gen polimorfizmlerine (GST'ler ve OGG1) göre değişimi

7.1. Gen polimorfizmine göre bazal düzeyde (T1) metabolomik profillerin karşılaştırılması

GSTM1, *GSTT1* ve *OGG1* gen polimorfizmlerine bağlı olarak gözlenen metabolomik profiller temel düzeyde (T1) karşılaştırılmıştır.

7.1.1. *GSTM1* gen polimorfizmine göre metabolomik profillerin karşılaştırılması

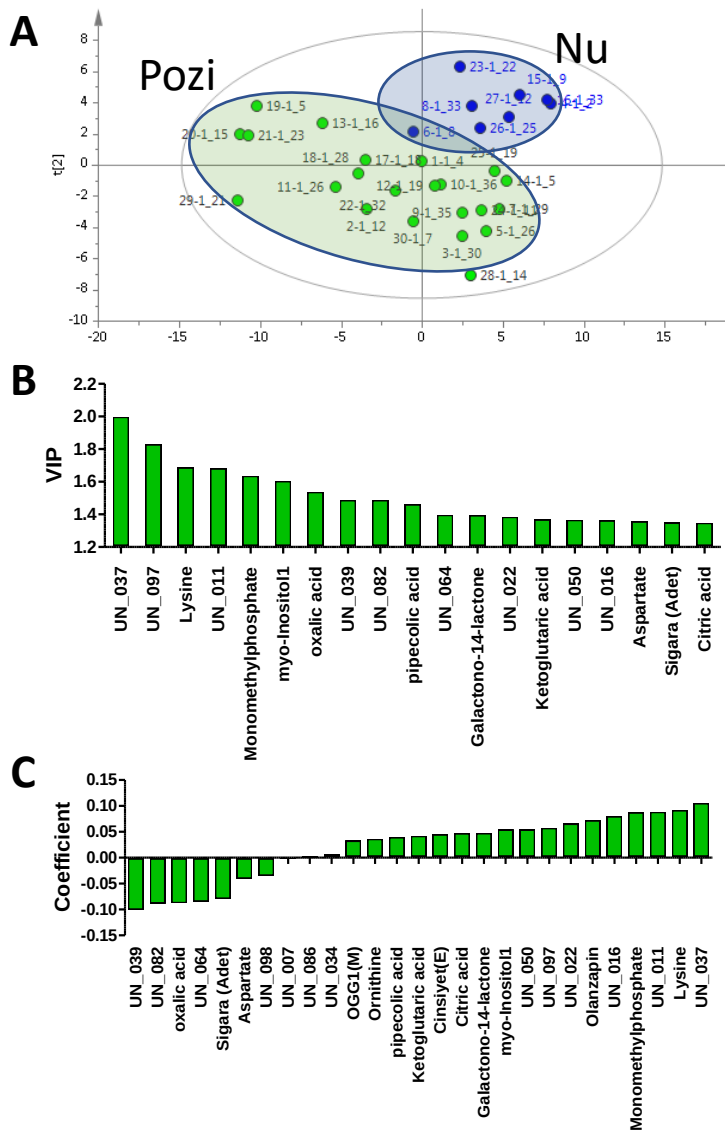


Şekil 4. *GSTM1* gen polimorfizmi pozitif ve null ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırmada etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği

Yapılan GC-MS metabolomik profillemeye sonucunda bulunan metabolitlere göre değerlendirilme yapıldığında iki grup birbirlerinden farklı metabolomik profil göstermişlerdir (Şekil 4A). PLS-DA analizlerindeki farklılaştırmaya neden olan metabolitlerin bulunması için

VIP (variable important in project) grafiğinden yararlanılmıştır (**Şekil 4B**). Gruplar arasında istatistiksel olarak en çok farklılık gösteren metabolitler, bilinmeyen-024, isoleucine, bilinmeyen-003, bilinmeyen-069, bilinmeyen-104, bilinmeyen-50 ve valine. İlginç şekilde OGG1 ile GSTM1 arasında pozitif korelasyon bulunmasıdır. Metabolitlerin polimorfizmle birlikte artıp azaldığını belirlemek için regresyon analizi sonucunda elde edilen katsayılar değerlendirilmiş (**Şekil 4C**) ve sonuçta bilinmeyen-024, bilinmeyen-069, isolösün ve bilinmeyen-003, OGG ve valin metabolitleri GSTM1 pozitif olan grupta artarken diğer metabolitlerin azaldığı saptanmıştır.

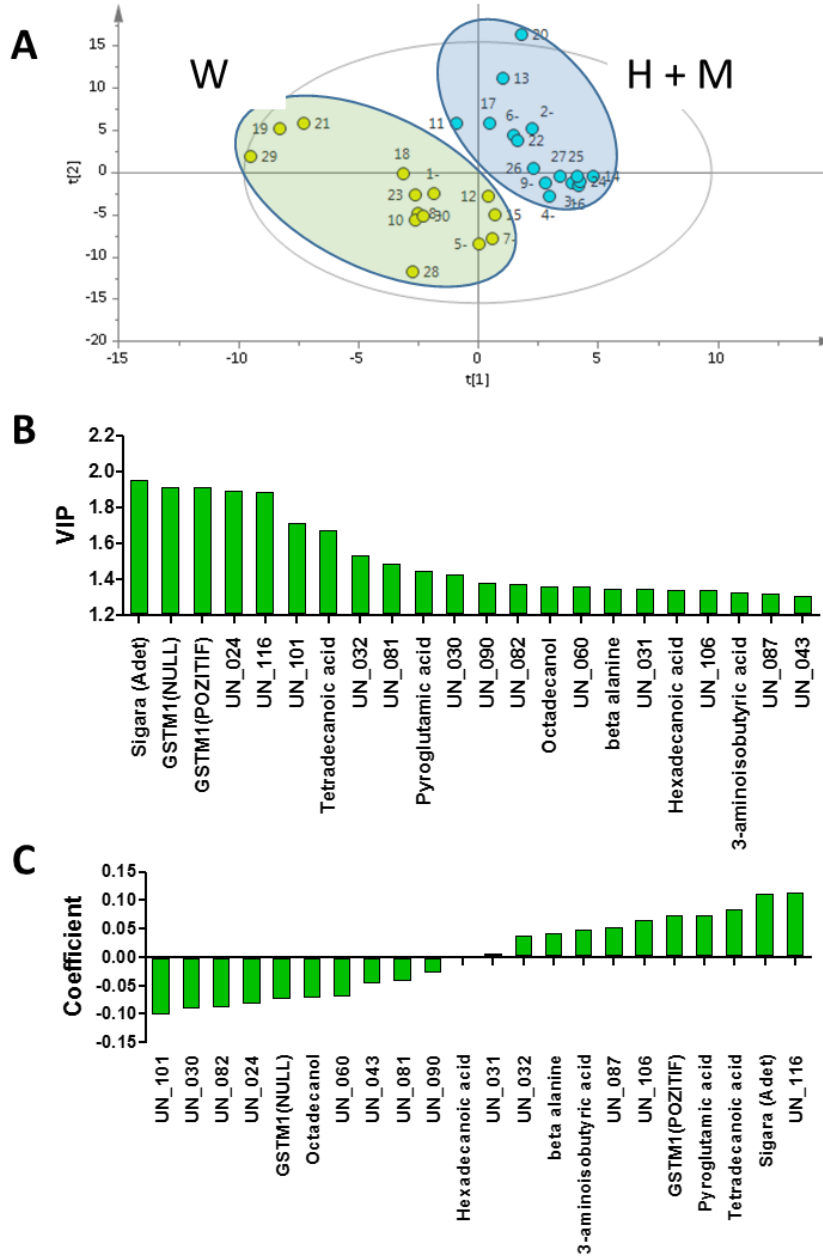
7.1.2. *GSTT1* gen polimorfizmine göre metabolomik profillerin karşılaştırılması



Şekil 5. *GSTT1* gen polimorfizmi pozitif ve null ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırmada etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği

Yapılan GC-MS metabolomik profillemeye sonucunda bulunan metabolitlere göre değerlendirilme yapıldığında iki grup birbirlerinden farklı metabolomik profil göstermişlerdir (**Şekil 5A**). PLS-DA analizlerindeki farklılaştırmaya neden olan metabolitlerin bulunması için VIP grafiğinden yararlanılmıştır (**Şekil 5B**). Gruplar arasında istatistiksel olarak en çok farklılık gösteren metabolitler, bilinmiyen-037, bilinmiyen-097, lizin, bilinmiyen-011, monoetilfosfat ve myo-inositol. Bu metabolitlerden bilinmiyen-037, lizin, bilinmiyen-011, ve monoetilfosfat *GSTT1* pozitif olan grupta artarken diğer metabolitlerin azaldığı saptanmıştır (**Şekil 5C**).

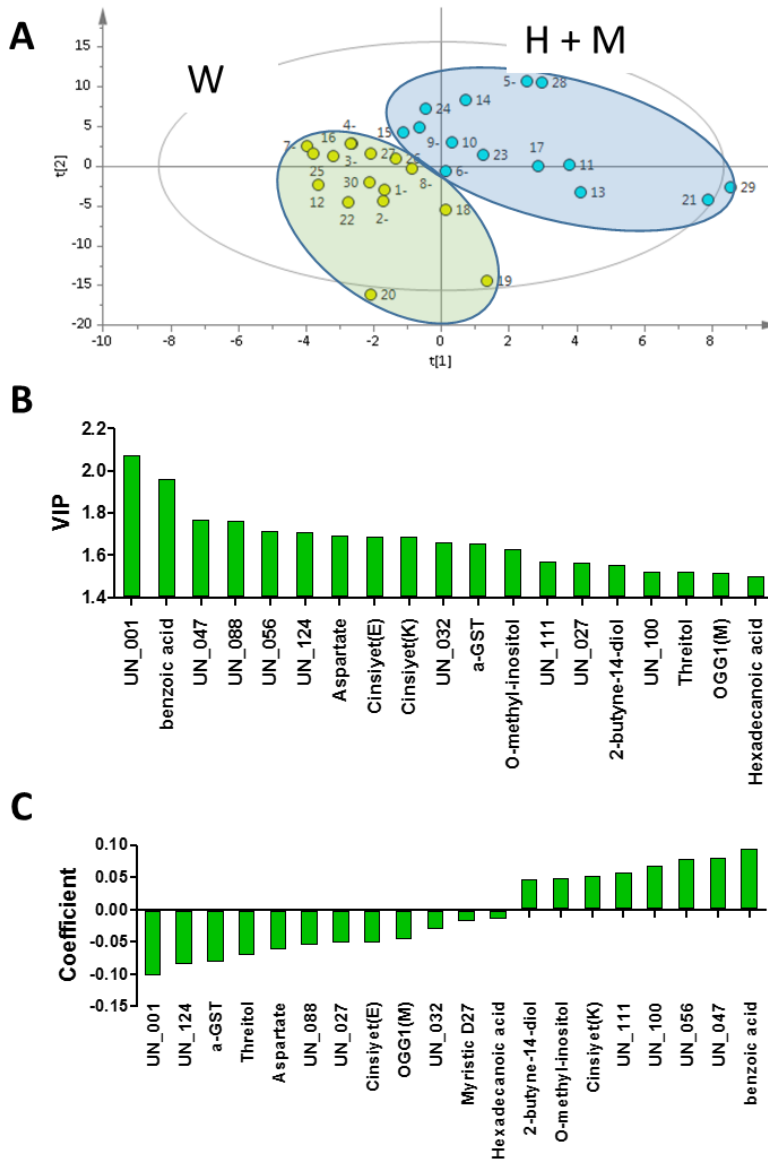
7.1.3. *OGG1* gen polimorfizmine göre metabolomik profillerin karşılaştırılması



Şekil 6. *OGG1* gen polimorfizmi W ve H+M ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırmada etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği

Yapılan GC-MS metabolomik profillemeye sonucunda bulunan metabolitlere göre değerlendirilme yapıldığında iki grup birbirlerinden farklı metabolomik profil göstermişlerdir (**Şekil 6A**). PLS-DA analizlerindeki farklılaştırmaya neden olan metabolitlerin bulunması için VIP grafiğinden yararlanılmıştır (**Şekil 6B**). Gruplar arasında istatistiksel olarak en çok farklılık gösteren metabolitler, sigara içimi, *GSTM1* polimorfizmi, bilinmeyen-024, bilinmeyen-116, ve bilinmeyen 101. Bu metabolitlerden sigara içimi, *GSTM1* polimorfizmi ve bilinmeyen-116 OGG1 W olan grupta artarken diğerlerinin azaldığı saptanmıştır (**Şekil 6C**).

7.1.4. *GSTP1* gen polimorfizmine göre metabolomik profillerin karşılaştırılması



Şekil 7. *GSTP1* gen polimorfizmi W ve H+M ait GC-MS yöntemi ile elde edilen metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayrımda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği

Yapılan GC-MS metabolomik profillemeye sonucunda bulunan metabolitlere göre değerlendirilme yapıldığında iki grup birbirlerinden farklı metabolomik profil göstermişlerdir (**Şekil 7A**). PLS-DA analizlerindeki farklılaştırmaya neden olan metabolitlerin bulunması için VIP grafiğinden yararlanılmıştır (**Şekil 7B**). Gruplar arasında istatistiksel olarak en çok farklılık gösteren metabolitler, bilinmeyen-001, benzoik asit, bilinmeyen-047, bilinmeyen-088, bilinmeyen-056, bilinmeyen-124 ve aspartat. Bu metabolitlerden benzoik asit, bilinmeyen-047 ve bilinmeyen-056 *GSTP1* ile pozitif olan grupta artarken diğerlerinin azaldığı saptanmıştır (**Şekil 7C**).

7.2. Zamana bağlı değişim

Metabolit düzeylerinin zaman bağlı olarak *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ve *OGG1* gen polimorfizmleri ile anlamlı değişimleri karşılaştırılmıştır. Bu amaçla gen polimorfizmine göre metabolit düzeylerindeki değişimler bazal düzeyde, 10. günde ve 3. ayda elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

7.2.1. *GSTM1* gen polimorfizmine göre zamana bağlı olarak metabolit değişimleri

T1'den T2'ye geçişte *GSTM1* pozitif bireylerde iminodiasetik asit ve metilmalonik asit artarken *GSTM1* null genotipe ait bireylerde azalmıştır. İki genotip arasındaki metabolit farkı 0.37 ve 0.69'dur. Palmitik asit her iki genotipe sahip bireylerde azalmıştır. Fosforik asit ve Üre *GSTM1* genotipe sahip bireylerde azalırken null genotipe sahip bireylerde artmıştır.

T2'den T3'e geçişte ise kaprilik asit ve iminodiasetik asit *GSTM1* pozitif bireylerde azalırken null'larda artmıştır. T1 ve T2'ye geçiştekiyle aynı şekilde T2'den T3'e geçişte de fosforik asit ve üre *GSTM1* pozitif genotipe sahip bireylerde azalmış, null genotipe sahip bireylerde artmıştır. İminodiasetik asit ise T1-T2 geçişinden farklı olarak *GSTM1* pozitif genotipe sahip bireylerde azalmıştır.

T1-T2 ve T2-T3 geçişlerinde fosforik asit ve üre tutarlı bir değişim göstermiştir.

Tablo 19. *GSTM1* pozitif ve null genotipe sahip bireylerin metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)

	<i>GSTM1</i> POZİTİF	<i>GSTM1</i> NULL	p-değeri
T2-T1			
<i>İminodiaceticacid</i>	0.27 (-0.15 - 0.73)	-0.10 (-0.41 - 0.09)	0.012†
T3-T1			
<i>Metilmalonoik asit</i>	0.25 (-0.36 - 1.67)	-0.44 (-0.44 - -0.04)	0.012†
<i>Palmitik asit</i>	-0.39±0.45	-0.02±0.29	0.010‡
<i>Fosforik asit</i>	-0.18±0.22	0.02±0.20	0.016‡
<i>Üre</i>	-0.16±0.26	0.10±0.17	0.002‡
<i>Bilinmeyen _013</i>	0.17 (0.02 - 0.38)	-0.01 (-0.14 - 0.11)	0.015†
<i>Bilinmeyen _034</i>	0.43 (0.08 - 0.88)	-0.27 (-0.97 - 0.19)	0.009†
<i>Bilinmeyen _037</i>	-0.46 (-0.63 - -0.18)	0.05 (-0.20 - 0.40)	0.010†
<i>Bilinmeyen _080</i>	-0.52 (-0.60 - -0.52)	-0.24 (-0.52 - 0.24)	0.003†
T3-T2			
<i>Alanin</i>	0.32±0.34	-0.10±0.41	0.007‡
<i>Kaprilikasit</i>	-0.77 (-1.19 - 0.03)	0.03 (0.03 - 0.85)	0.007†
<i>İminodiasetik asit</i>	-0.25 (-0.85 - -0.05)	0.15 (-0.11 - 0.41)	0.005†
<i>Fosforik asit</i>	-0.13±0.19	0.11±0.21	0.004‡
<i>Urea</i>	-0.19±0.33	0.10±0.23	0.008‡
<i>Bilinmeyen _015</i>	0.24 (0.06 - 0.52)	-0.05 (-0.41 - 0.23)	0.009†
<i>Bilinmeyen _034</i>	0.08 (0.01 - 1.26)	-0.01 (-0.77 - 0.11)	0.013†

† Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, Mann Whitney U testi, ‡ Veriler; ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi, Student's t testi.

7.2.2. *GSTT1* gen polimorfizmine göre metabolit değişimleri

Tablo 20'de bilinmeyen metabolitler dışındaki 2 metabolit incelendiğinde T2'den T3'e geçişte p-krezol hem *GSTT1* pozitif hem negatif genotipe sahip bireylerde azalırken heptadekanoikasit ise *GSTM1* pozitif genotipe sahip olanlarda artarken null genotipe sahip olanlarda azalmıştır. Heptadekanoik asit için 0.48'lik istatistiki olarak anlamlı bir değişim olmuştur.

Tablo 20. *GSTT1* pozitif ve null genotipe sahip bireylerin metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)

	<i>GSTT1</i> POZİTİF	<i>GSTT1</i> NULL	p- †
T2-T1			
<i>Bilinmeyen _074</i>	-0.61 (-1.25 - -0.05)	0.74 (-0.11 - 2.45)	0.004
T3-T2			
<i>p-krezol</i>	-0.11 (-0.66 - 0.38)	-1.13 (-2.45 - -0.32)	0.005
<i>Heptadekanoikasit</i>	0.14 (-0.43 - 0.34)	-0.37 (-0.57 - -0.21)	0.016
<i>Bilinmeyen _074</i>	0.28 (0.02 - 0.89)	-0.11 (-2.13 - 0.04)	0.003

Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, † Mann Whitney U testi.

7.2.3. *GSTP1* İle/Val gen polimorfizmine göre metabolit değişimleri

Treitol ve allo-inositol metabolitleri hem *GSTP1 W* hem de *H+M* genotipe sahip bireylerde artış göstermiştir. Bu artış gliserol için *GSTP1 W* için varken *GSTP1 H+M* için azalmıştır.

Tablo 21. *GSTP1* wild genotipe sahip bireylerle heterozigot veya mutant olanlara göre metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)

	<i>GSTP1 W</i>	<i>GSTP1 H+M</i>	p
T3-T1			
<i>Treitol</i>	0.89 (0.08 - 1.52)	0.08 (-0.32 - 0.39)	0.004†
<i>Gliserol</i>	0.12 (-0.02- 0.22)	-0.06 (-0.23 - 0.00)	0.015†
T3-T2			
<i>Allo-inositol</i>	0.54±0.46	0.04±0.48	0.008‡

† Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, Mann Whitney U testi, ‡ Veriler; ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi, Student's t testi.

7.2.4. *OGG1* Ser/Cys gen polimorfizmine göre metabolit değişimleri

T1-T2 geçişte *OGG1 W* olanlarda azalma varken *H+M* genotipine sahip olanlarda artış gözlenmiştir. Piroglutamik asit ise her 2 genotipe sahip bireylerde istatistiki olarak anlamlı olarak artmıştır.

Tablo 22. *OGG1* wild genotipe sahip bireylerle heterozigot veya mutant olanlara göre metabolomiks düzeylerinde meydana gelen değişimler (istatistiksel olarak anlamlı fark görülenler)

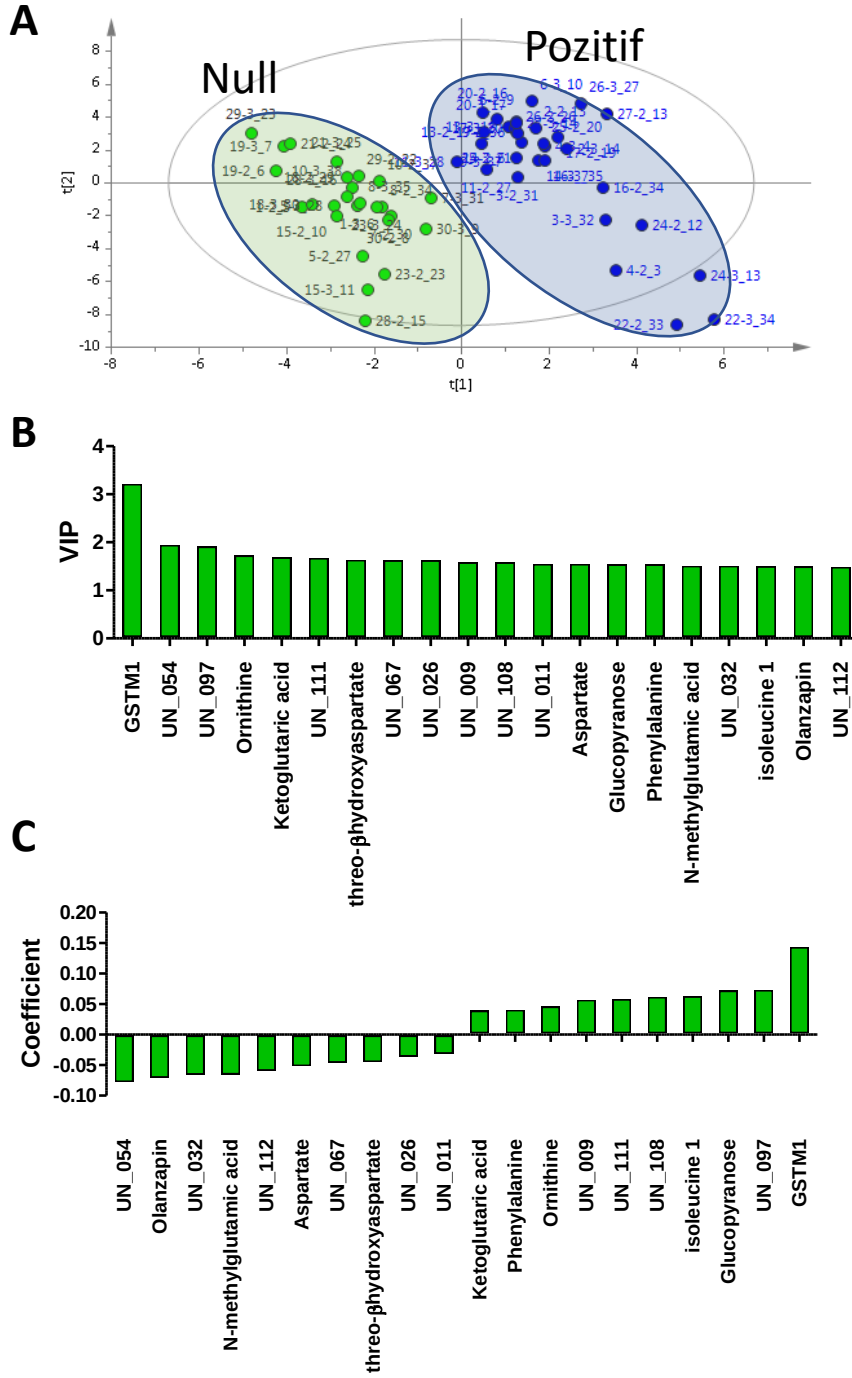
	<i>OGG1 W</i>	<i>OGG1 H+M</i>	p
T2-T1			
<i>Etanolamin</i>	-0.09 (-0.34 - 0.03)	0.16 (-0.02 - 0.49)	0.015†
T3-T1			
<i>Bilinmeyen _043</i>	0.20 (-0.20 - 0.52)	-0.51 (-1.20 - -0.07)	0.002†
T3-T2			
<i>Piroglutamik asit</i>	0.21 (0.10 - 0.40)	0.03 (-0.32 - 0.09)	0.003†
<i>Bilinmeyen _043</i>	0.13 (-0.32 - 0.55)	-0.57 (-1.81 - -0.26)	0.002†
<i>Bilinmeyen _044</i>	0.36±0.53	-0.30±0.72	0.007‡

† Veriler; medyan (çeyrekler arası genişlik) biçiminde gösterildi, Mann Whitney U testi, ‡ Veriler; ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi, Student's t testi.

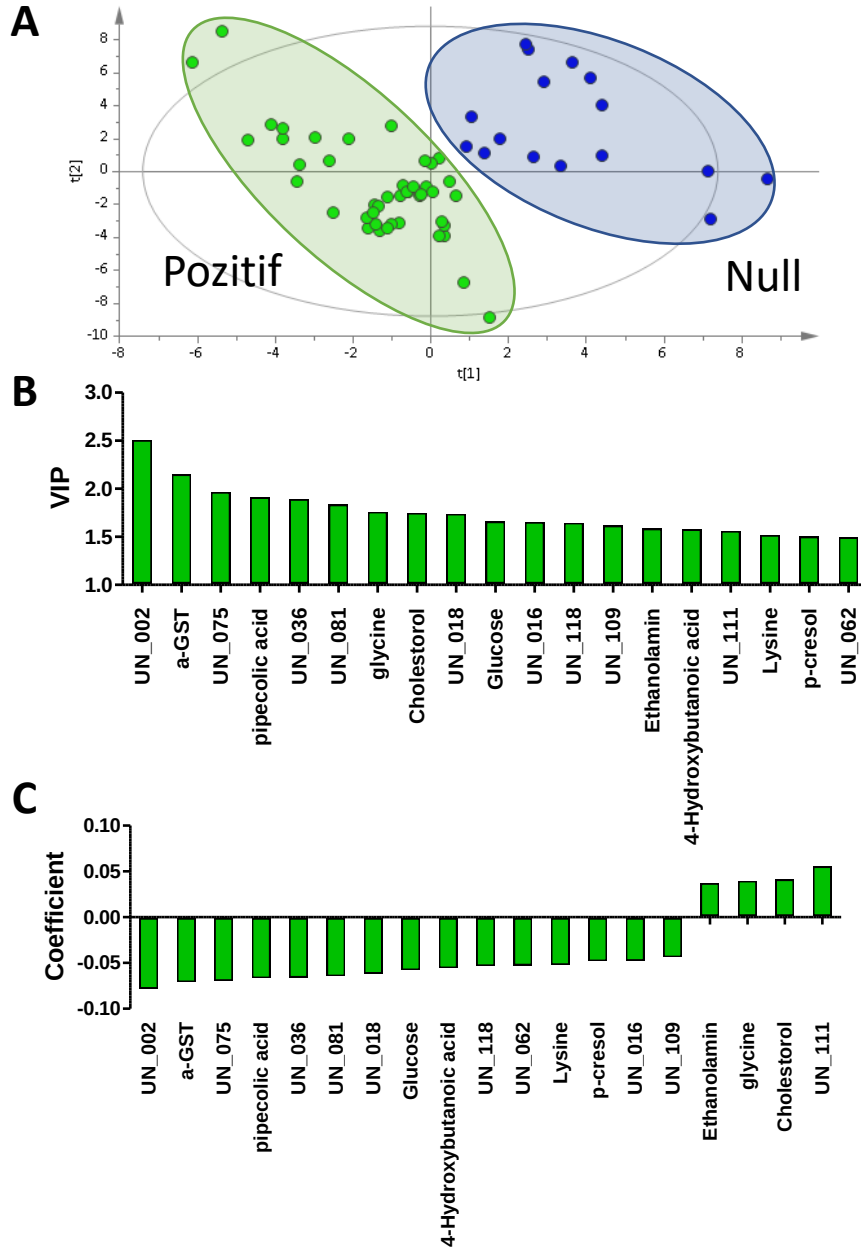
7.3. Zamana bağlı relatif değişim

Metabolit düzeylerinin zaman bağlı olarak *GSTM1*, *GSTT1* ve *OGG1* gen polimorfizmleri ile anlamlı değişimleri basal düzeydeki değişime bağlı olarak karşılaştırılmıştır. Bu amaçla her bir hastanın T2 ve T3'deki metabolit düzeyleri T1'deki metabolit düzeylerine oranlanarak bireysel

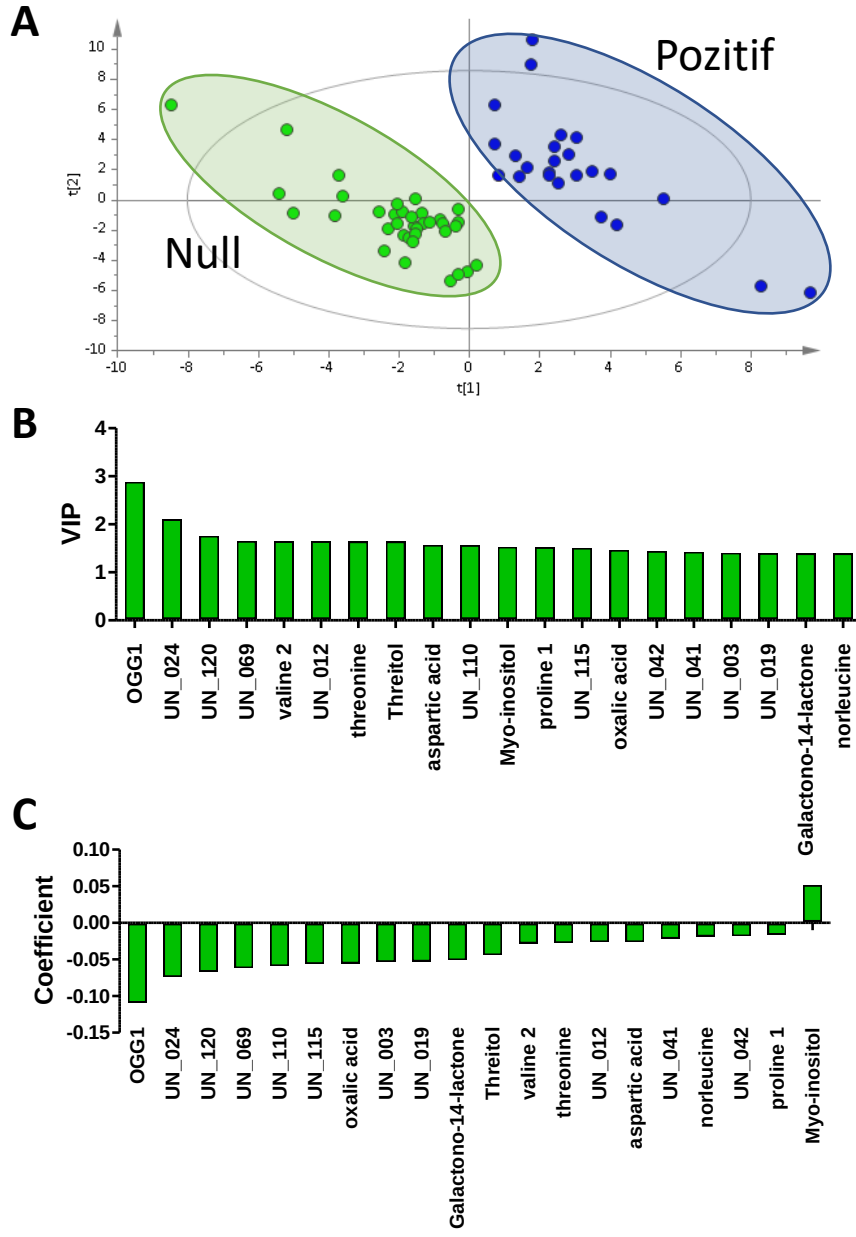
farklılıklar ordadan kaldırılmıştır. Böylece zamana ve polimorfizime bağlı olarak metabolit düzeyinde değişimler incelenmiştir.



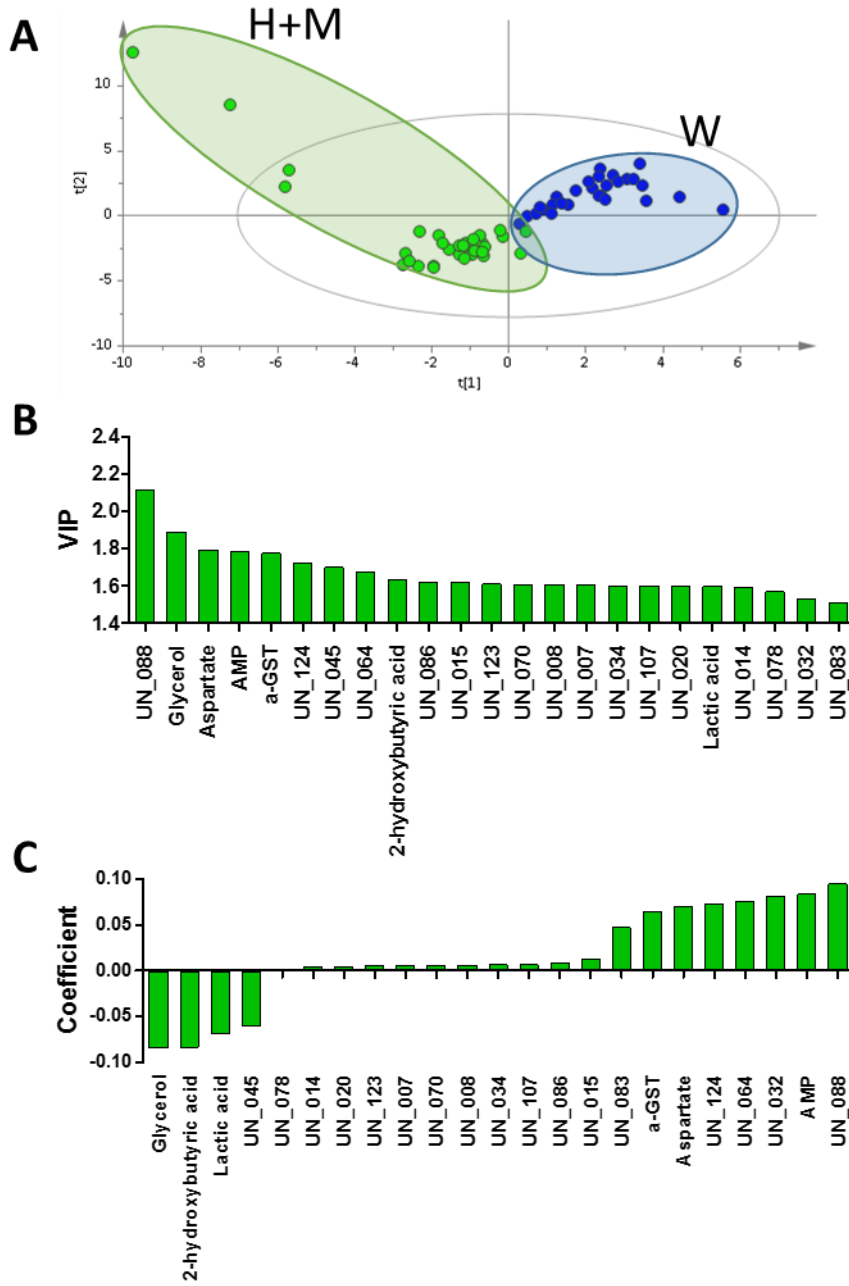
Şekil 8. OGG1 gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırmada etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği



Şekil 9. *GSTT1* gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırımında etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği



Şekil 10. *GSTM1* gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayırmada etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği



Şekil 11. *GSTP1* gen polimorfizmine ait relatif metabolomik profiller: A) PLS-DA skor grafiği; B) Grupların ayrılmasında etkili olan metabolitlere ait VIP grafiği; C) Ayrımda etkili olan metabolitlerin katsayı grafiği

8. TARTIŞMA VE SONUÇ

Psikiyatrik bozukluklar ciddi kişisel problemler olup ülke ekonomisine de ilave yük getiren bir halk sağlığı problemidir. İlaç tedavisi majör bir yaklaşımdır. Ancak, bireylerin ilaçlara cevabı

farklılıklar göstermektedir. Bazı hastalar ilaçtan fayda sağlarken bazıları için uygun ilacı bulmak için birden fazla ilaç değişimi gerekmektedir. Uygun ilaçla tedaviye başladıktan sonra farmakolojik etki elde edildikten sonra istenmeyen etkiler ve ciddi advers etkilerden meydana gelmektedir. Bu etkilerin gözlenmesi yine bireyden bireye değişmektedir. Yani aynı ilaç aynı dozda bireye verildiğinde farklı sonuçlar alınmaktadır. Antipsikotiklerle gözlemlenen yan etkiler başağrısı, blanti, obezite, cinsel isteksizlik gibi hafifi düzeyde ve yaygın etkiler gözlemlenmesinden nefrotoksisite, kardiyotoksisite ve hepatotoksisite gibi ciddi advers etkiler de gözlenmektedir. Özellikle bu projenin de hipotezi olan hepatotoksisite en önemli advers etkilerdendir. Sadece antipsikotik ilaçlar için değil, tüm ilaçlar için hepatotoksisite ilacın piyasadan geri çekilmesi için en önemli bir faktördür. İlaça bağlı hepatotoksisite riski %0.001-0.1 arasında değişmektedir. Bu nedenle, çalışmalar ilaçların hepatotoksiteleri erken safhada tayin etme yönünde hız kazanmıştır. Hepatotoksisitenin mekanizmasını aydınlatmak, hepatotoksisiteye neden olan faktörlerin tayin edilmesi ve erken safhada teşhis edecek biyogöstergelerin bulunması önemlidir. Günümüzde rutinde karaciğer fonksiyonlarının takibinde ALT, AST, bilirubin, AP gibi spesifik ya da non-spesifik aminotransferazlar kullanılmaktadır. Özellikle kronik antipsikotik ilaç kullanımında karaciğer fonksiyon testleri ilaç kullanımı süresince takip edilmektedir. Ancak, bu fonksiyon testleriyle takipte ilaca bağlı hepatotoksisitenin geç farkedildiği vakalar gözlenmiştir. Bu sürenin uzaması da farklı ilaca geçilmesi, bireyin ilaca bağlı hepatotoksisitenin tedavisinde geç kalınmasına neden olmaktadır. Sunulan proje de α -GST'nin rutinde kullanılan aminotransferazlara göre avantajlarından dolayı hepatotoksisitenin erken ve duyarlı bir biyogöstergesi olabileceği düşünülmüş ve bunu tayin edecek analizler yapılmıştır. Ayrıca, toksisitenin bireysel olarak değişimi, hepatotoksisite biyogöstergelerin birbiriyle kıyaslaması ve ilaç kullanımıyla tedavinin farklı zaman dilimlerinde metabolomik analizlerle metabolit düzeylerinde ki değişimle araştırılmıştır.

Psikiyatrik bozukluklar biyolojik ve çevresel çok çeşitli faktörlerin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Psikotik bozukluklarda yapılacak çalışmalar diğer sağlık hizmetlerinde olduğu gibi, koruyucu, tedavi edici ve rehabilite edici hizmetlerden oluşmaktadır. Toplum sağlığının korunmasında, koruyucu ruh sağlığı çalışmalarının, erken teşhis ve tedavinin önemi kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) raporunda yer alan ülkelerin üçte birinde, ulusal sağlık bütçeleri içinde ruh sağlığına ayrılan payın yüzde 1'den daha az olduğu bilinmektedir. PubMed veritabanına göre yapılan taramada proje konusunda yapılmış yayınlanmış bir çalışma yoktur. Ancak, olanzapinin hepatotoksitesi ile ilgili vaka raporları ile olanzapine bağlı metabolik anormallikler ve GST'lerin psikotik bozukluklardaki rolünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Metabolomik çalışmaları ise daha çok şizofrenlerde ilaç kullanımına bağlı

metabolomik sendromla ilişkilendirilmiş çalışmalardır. Bu bölümde tüm bu çalışmalar sunularak elde ettiğimiz verilerle bir değerlendirme yapılmıştır.

Psikotik bozukluk tanısı konmuş ve olanzapin ile tedavi gören hastalarda α -GST'de dahil karaciğer fonksiyon parametrelerindeki değişimlere ait vaka raporları ve çalışmalar vardır. Bu çalışmalar olanzapin kullanımıyla sadece karaciğer özgü değil safra hasarına da spesifik parametrelerde istatistiksel olarak artışlar olduğunu göstermiştir. Bir vaka çalışmasında 17 yaşında şizofren tanısı konulmuş ve haloperidol, risperidon ve olanzapin gibi bir seri ilaçla farklı zamanlarda ve farklı dozlarda tedavi uygulanmıştır. Hastanın ailesinde herhangi bir karaciğer hastalığı ile ilgili bir öykü yoktur. Hastanın alkol gibi karaciğerde sorun yaratacak herhangi bir alışkanlığı bulunmamaktadır. 10 mg dozda olanzapinle yapılan tedavi sonucunda hastanın olanzapine bağlı hepatitis, kolestasis ve dalak büyümesi (splenomegali) geliştirdiği ve olanzapin kesildikten sonra normale döndüğü gösterilmiştir. Karaciğer fonksiyon testlerinde de 2-2.5 katlık artışlar gözlenmiştir (Lui vd., 2009). 150-300mg/gün dozlarıyla olanzapinle tedavi gören psikozlu hastalarda uyku hali, ateş, eozinofili ve karaciğer fonksiyonlarında anormallikler ve fulminan (ani gelişen) hepatik yetmezlik gözlenmiştir (Manceaux vd., 2011; Ozcanli vd., 2006). Beckett ve arkadaşları aşırı dozda parasetamol alan hastalarda hepatosellüler hasarı α -GST, ALT ve AST parametreleri ile araştırmışlardır ve α -GST'nin karaciğer hasarı için ALT ve AST'ye göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. ALT düzeylerinde de artış olmuştur ancak α -GST'deki artışın daha anlamlı olduğu gözlemlenmiştir (Beckett vd.,1985). HCV-kronik hepatitli bireylerin interferon tedavisine cevabı izlemede α -GST'nin güvenilir bir gösterge olduğu gözlenmiştir (Federico vd., 1999). Bizim projeden elde ettiğimiz verilere göre de izlem zamanlarına (T1, T2 ve T3) göre karaciğer fonksiyon enzim düzeylerinden sadece ALT (U/l) düzeyinde farklılık gözlenmesi ALT'nin α -GST ve AST'ye göre daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Ancak, T3 izlem zamanında bu artışın T1 zamanındaki seviyeye inmesi de bu artışın pozitif falls bir yükseliş olduğunu düşündürmektedir. T1'e göre T3'de, T1'e göre T3'de ve T2'e göre T3'de karaciğer fonksiyon enzimlerinde meydana gelen yüzdesel değişimlere bakıldığında, yüzdesel değişim miktarlarının birbirleri arasında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmemiştir ($p>0.0056$, Tablo 9).

Değişimin bireysel farklılık gösterip göstermediği ise gen polimorfizmlerine (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* ve *OGG1*) göre α -GST ve AST düzeylerinde farklılıklar analiz edilerek araştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak, ALT düzeyleri için *GSTM1*, *GSTT1* ve *OGG1* gen polimorfizmleri için istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmemesine karşın, *GSTP1* H+M genotipe sahip bireylerde izlem zamanları arasında istatistiksel olarak

anlamli farklılıklar gözlenmiştir. Bu farklılık T2 izlem zamanında T1 ve T3'e göre istatistiki olarak artışın olmasından kaynaklanmaktadır (T1 için; OR=15.0 %CI=11.0-19.0, T2 için; OR=27.5, %CI=19.0-45.5, T3 için; OR=18.0, %CI=11.7-23.7, p=0.014). *GSTP1* W genotipe sahip olanlar *GSTP1* H+M genotipe sahip hastalarla karşılaştırıldığında ALT düzeylerinde anlamli bir farklılık gözlenmemiştir (p=0.608, p=0.355 ve p=0.822). ALT düzeyleri yönünden *GSTP1* H+M genotipe sahip bireylerde T2'deki artış gözlenirken W olanlarda görülmemesi *GSTP1* enzim aktivitesinde gen polimorfizmine bağlı aktive değişiminin olduğu ve bunun artışa neden olduğu düşünülmektedir. ALT düzeyinde ki bu farklılık *GSTP1* H+M genetik polimorfizmine atfedilebilir. T1 ve T3 arasında ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamli fark gözlenmemiştir (p=0.019 ve p=0.609). Kaymak ve arkadaşları sevofluranın karaciğerdeki olası toksisitesini serum α-GST düzeylerini ölçerek ve bu düzeylerin bireysel farklılık gösterip göstermediğini *GST* gen polimorfizmlerini tayin ederek araştırmıştır. α-GST düzeyleri, anesteziiden 1 saat sonraki postoperatif α-GST düzeylerine kıyasla istatistiksel olarak artış göstermiş olup, 24 saat sonrasında preoperatif α-GST düzeylerine kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur. Ancak, anesteziiden 24 saat sonraki zaman diliminde *GSTP1* H genotipe sahip bireylerde W genotipe sahip bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamli yüksek α-GST düzeyleri saptanmıştır (p<0.05). Sevofluranın uygulandığı başka bir çalışmada da α-GST konsantrasyonlarında postoperatif artış kaydedilmiş olmasına karşın *GSTP1* H genotipine sahip bireylerde α-GST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamli bir değişiklik saptanmamıştır (Mikstacki vd., 2016).

Ciba ve arkadaşları farklı antipsikotik ilaçlarla tedavi gören 137 hastada tedaviden önce, tedaviden 10 gün ve 3 ay sonra serum α-GST, ALT, AST ve diğer aminotransferazları tayin edip α-GST düzeylerinin diğer parametrelere göre duyarlı olup olmadığını ve aminotransferaz düzeylerinin *GST* gen polimorfizmlerine göre dağılımını analiz etmişlerdir. α-GST (%40.81) ve ALT'de (%26.53) tedaviden sonraki 10. günde artışların olduğu ancak bu artışların 3 ay sonunda normale döndüğü gözlenmiştir. *GSTM1* null genotipe sahip hastalarda pozitif genotipe sahip olan bireylere göre tedavi öncesi'den tedaviden sonraki 10. güne geçişte istatistiki olarak anlamli artış olduğu gözlenmiştir. Ancak, 10 günden 3. aya geçişte bu farklılık ortadan kaybolmuştur (Ciba vd., 2016).

Projedeki hedeflerimizde antipsikotik kullanımına bağlı metabolik sendrom yada metabolik anormalliklerin tayini yoktu. Ancak, mevcut çalışmalar incelendiğine olanzapin kullanımına bağlı, metabolik sendrom, kilo artışı ve bunların *GST* gen polimorfizmi ile ilişkileri araştırılmıştır. Saruwatari ve arkadaşları 154 şizofren hastada metabolik anormalliklerle *GSTM1* ve *T1* ile antioksidan süperoksit dismutaz (*SOD*) gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi 203 sağlıklı

kontrol grubuyla karşılaştırarak araştırmışlardır. Metabolik anormallikleri tayin etmek için, yüksek ve düşük dansiteli proteinler (HDL ve LDL), kolesterol, vücut kitle indeksi (VKI), bel çevresinin boyutu vb parametreler ile gen polimorfizmleri karşılaştırılmıştır. *GSTM1* ve *T1* null genotipe sahip olanlarda sigara alışkanlığı ile kombine değerlendirme yapıldığında metabolik anormalliklerin olduğu gözlenmiştir. Ancak, *SOD* gen polimorfizmiyle ilgili herhangi bir ilişki tayin edilmemiştir (Saruwatari vd., 2013). Park ve arkadaşları olanzapine bağlı kilo almayla *GST* gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Şizofren grup ile kontrol grup arasında yaklaşık 400 günlük bir ilaç kullanımını takiben ortalama 5-5.5 kiloluk atış gözlenmiştir. Ancak, *GSTM1* ve *GSTT1* null ve *GSTP1 H* ve *M* genotipe sahip bireylerle pozitif ve *W* genotipe sahip bireyler karşılaştırıldığında bir ilişki bulunmamıştır (Park vd., 2010). Yapılan korelasyon analizlerinde, sadece başlangıç (T1) ilaç konsantrasyon miktarı azaldıkça başlangıca T2'de α -GST düzeyi istatistiksel anlamı olarak artmaktaydı ($r=-0.454$ ve $p=0.012$). Kilogram başına düşen ortalama doz miktarı ile gen polimorfizmleri (*GST1er* ve *OGG1*) arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik görülmemiştir ($p>0.05$).

İkinci jenerasyon ilaçlarla şizofreni tedavisi gören hastalarda metabolik bozuklukların meydana geldiği ve böylece metabolik sendrom gelişmektedir ancak bunun sebepleri bilinmemektedir. Paredes ve arkadaşları ikinci jenerasyon ilaçlarla tedavi gören 60 şizofren hastada metabolik sendromu detaylı bir metabolik profillemesi ile 20 sağlıklı kontrol ile karşılaştırarak incelemiştir. Tedavi gören hastaları yüksek (klozapin, olanzapin), orta (ketiapin, risperidon) ve düşük (ziprasidon, aripiprazol) risk gruplarına ayırarak analiz sonuçlarını yorumlamışlardır. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, yüksek ve orta riskli gruptakiler enerji metabolizmasının bozulmasıyla ilişkili olarak metabolik sendroma neden olmaktadır. Bu bulgular, antipsikotiklerin neden olduğu metabolik sendromun moleküler temelleri ve bu ilaçlarla ilişkili yan etkileri azaltmak için yeni terapötik yaklaşımların tasarımını aydınatabileceğini göstermiştir (Paredes vd., 2014).

Projemizde GC-MS analizler sonucunda 81 bilinen ve 123 adet bilinmeyen metabolit tayin edilmiştir. Lizin amino asit için gereksinim stres ile artmaktadır ve lizin yetersizliği immun yetersizliğe neden olmaktadır (www.hmdb.ca). Lizin seviyesi azaldığında ALT seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Bu da lizin azalmasının immun sistemi etkileyerek, immünoloji aracılı karaciğer hasarına neden olduğunu düşündürmektedir. Lizin seviyelerindeki azalmaların şizofreni ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bjerkenstedt ve arkadaşları, ilaç kullanmayan şizofreni hastalarının plazmalarında lizin düzeylerinin yüksek olduğunu tespit etmiştir (Bjerkenstedt vd., 1985). Çalışmamızda, T1'e göre T3'de Lizin 1 azaldıkça ALT düzeyi de istatistiksel anlamı olarak artmaktadır. Bizim bulgularımız Bjerkenstedt ve arkadaşlarının verileri ile örtüşmektedir.

Olanzapinin indüklediği ALT artışı ile lizin düzeyleri ilaç tedavisine başlanması ile birlikte negatif korelasyon göstermiştir. Beyindeki Nitrik oksit (NO) sinyal iletim sisteminin şizofreni patofizyolojisinde rol oynayacağı düşünülmektedir, bu amaçla NO üretimine müdahale eden aminoasit L-lizin'in şizofreni tedavisinde olası faydası araştırılmış. Tedavi sonrası pozitif semptomlarda azalmalar gözlenmiştir (Waas vd., 2011). Bu çalışma ile lizin aminoasidinin şizofrenide azaldığı ve lizin takviyesi ile hastalıkta remisyon gözleendiği rapor edilmiştir. Proje verilerimize göre anlamlı korelasyon gözlenen metabolit adenoazinmonofosfat (AMP)'tir. T1'e göre T3'de AMP düzeyi arttıkça α -GST düzeyinin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. AMP ATP'ye dönüşerek birçok organın (karaciğer gibi) enerji ihtiyacının karşılanmasına katkıda bulunmaktadır. AMP seviyesinin yükselmesi dolayısıyla ATP'nin ve enerji ihtiyacının karşılanmasına olanak sağlamaktadır. AMP düzeyindeki artışla α -GST düzeyinin artması karaciğer hücrelerindeki ayrılmaları için bu enerjiyi kullandığını ve α -GST salınımını arttırdığı düşünülmektedir. Ancak, yüksek şiddetteki karaciğer hasarlarında AMP'nin kısmi koruyucu etkisi olduğunu gösteren bir çalışma vardır. Bu çalışmada, ciddi hepatotoksik ajan olan karbontetraklorür (CCl₄) kullanılarak koşullu yağlı karaciğer oluşturulmuş ve serum enzimleri, transaminazlar ve AST'de artış kaydedilmiştir. AMP (adenozin 5-monofosfat) uygulamasının ise AST artışını önlediği gösterilmiştir. Yağlı karaciğer gelişimine karşı tamamen bir koruma olmaksızın yağlı karaciğer durumunu azaltmıştır (Mikhail vd., 1977).

GSTP enzimi hepatositlerde çok az eksprese olmaktadır. Ancak, GSTP'nin eksprese olduğu siroz, hepatoselüler karsinoma ve hepatit gibi hastalıklarda hastalar asetaminofen toksisitesine çok daha duyarlı hale gelmektedir bu da GSTP gen ekspresyonu ile açıklanabilmektedir. Proje verilerimize göre GSTP H+M genotipine sahip bireylerdeki ALT artışı ile olanzapinin karaciğerde fonksiyon bozukluğuna neden olduğu ve böylece toksisitenin bireysel değişim gösterdiği tayin edilmiştir.

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) çeşitli fizyolojik ve psikolojik fonksiyonların düzenlemesinde rol alan önemli bir nörotransmitterdir. Şizofreni patofizyolojisinde 5-HT fonksiyonundaki bozukluklar gösterilmiştir. Beyin 5-HT içeriği aminoasit prekürsörü olan triptofana bağlıdır. Şizofreni hastalarındaki serum triptofan düzeylerindeki azalma triptofan mevcudiyetinde azalmaya işaret eder ki bu da santral sinir sisteminde 5-HT fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır. Risperidon gibi potent 5-HT_{2A} reseptör antagonistlerinin 5-HT salınımında dolayısıyla triptofan metabolizmasında düzenleyici etkileri olabilir. Alfredsson ve Wiesel, serum triptofan düzeylerinde artış ile antipsikotik tedavi süresince ilerleme arasında korelasyon tespit etmiştir (Alfredsson ve Wiesel, 1990). Xuan ve arkadaşlarının çalışmasında, risperidon tedavisinden sonra triptofan düzeylerinde artış görülmüş, triptofanın tedavinin etkinliğini belirlemede olası bir biyogösterge olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (Xuan vd.,

2011). Bizim çalışmamızda da T2'ye göre T3'de triptofan düzeyi arttıkça AST düzeyi istatistiksel anlamlı olarak artmaktaydı. Olanzapin tedavisi ile birlikte serum triptofan düzeylerinin artış göstermesi literatürdeki verilerle uyumludur.

Piroglutamik asit L-glutamik asidin kristalize türevidir. Glutamat, glutamin ve gama-glutamilli peptidlerden non-enzimatik olarak oluşur. Artan kan düzeyleri glutamin veya glutatyon metabolizmasındaki problemlerle ilişkili olabilir (www.hmdb.ca). Piroglutamik asit, şizofrenide olası metabolit biyogöstergeleri arasında yeralan bir metabolittir ve şizofreni hastalarında istatistiksel olarak anlamlı artış göstermektedir (Yang vd., 2013). T1-T2 geçişte *OGG1 W* olanlarda azalma varken *H+M* genotipine sahip olanlarda artış gözlenmiştir. Piroglutamikasit ise her 2 genotipe sahip bireylerde istatistiksel anlamlı olarak artmıştır. Bu artış, psikotik bozukluklarda oksidatif stresin hastalık riskini arttırdığını göstermektedir. Heptadekanoik asit metabolitinin şizofreni hastalarında anormal konsantrasyonları saptanmıştır, ancak henüz ayırıcı bir biyogösterge olarak düşünülmemektedir (Al Awam vd., 2015).

Projemizde gen polimorfizmlerine göre metabolitlerdeki değişimlere bakıldığında tüm analiz edilen genlerde grup halinde metabolitlerde artma ve azalmalar meydana gelmiştir. *GSTM1* ve *GSTT1* gen polimorfizmlerinde null genotipe sahip olanlarda metabolitlerde artış varken pozitif genotipe sahip olanlarda artmalar gözlenmiştir. Benzer şekilde *GSTP1* ve *OGG1* gen polimorfizmlerinde *W* genotiplere karşılık *H+M* genotipe sahip olanlarda metabolitlerde farklı artış ve azalmalar gözlenmiştir. Mutant ya da null olanlardaki metabolitler artarken, *W* ve pozitif olanlarda azalmalar gözlenmiştir. Metabolit profillerine göre *W* veya pozitif genotiplerle null veya *H+M* genotipler rahatlıkla ayırtedilecek bir metabolit deseni vermiştir. Bu da gen polimorfizmini metabolizma üzerindeki etkisini göstermiştir.

P-krezol, treitol ve allo-inositol kaprilikasit metabolitleriyle projede analiz edilen parametreler arasında pozitif ilişkilendirmeler bulunmamaktadır. Yukarıda proje verileri ve diğer çalışmalarla tartışılan metabolitler dışındaki metabolitler (fosforikasit, üre vb. Bkz. Tablo 7) ile ilgili elde edilen veriler ile proje hipotezlerimiz arasında anlamlı yorumlarda bulunmak doğru değildir. Bu metabolitler normal organizmanın işleyiş sürecince meydana gelen non-spesifik artma ve azalmalardır.

Proje verilerimize göre olanzapin tedavisi gören psikozlu hastalarda *GSTP1* gen polimorfizmleri hastalık ve ilaçla tedavide bireysel farklılıklara neden olmaktadır. Rutinde kullanılan aminotransferazlar (ALT, AST gibi) ile α -GST arasında karaciğer hasarına α -GST ve ALT spesifiklik ve duyarlı biyogöstergelerdir. α -GST ilaca bağlı toksisitenin erken farkedilmesinde ALT'ye göre daha duyarlıdır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Metabolomik

analizlerinde özellikle şizofreniye özgü metabolitlerde artış gözlenmiştir ve ilaca bağlı karaciğer toksisitesi de ise piroglutamikasit ve lizin metabolitlerinin öne çıktığı ve *GSTP1* gen polimorfizmine bağlı olarak bireysel duyarlılık gösterdiği tayin edilmiştir. Gelecek çalışmalarda, sadece öne çıkan metabolitler ve GST enzimlerinin dokularda gen ekspresyonları tayin edilerek mekanizmaya yönelik çalışmalar yapılması yerinde olacaktır.

9. KAYNAKLAR

Abdel-Moneim, S., Sliem, H. 2011. "Significance of serum alpha-glutathione S-transferase assessment in Hepatitis C patients with different alanine aminotransferase pattern", *Gastroenterology Research*, 4, 13-19.

Ada, A.O., Süzen, S.H., Iscan, M. 2004. "Polymorphisms of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferases M1 and T1 in a Turkish population", *Toxicology Letters*, 151, 311-315.

Adachi, Y., Horii, K., Takahashi, Y., Tanihata, M., Ohba, Y., Yamamoto, T. 1980. "Serum glutathione S-transferase activity in liver diseases", *Clinica Chimica Acta*, 106, 243-255.

Al Awam, K., Haußleiter, I.S., Dudley, E., Donev, R., Brüne, M., Juckel, G., Thome, J. 2015. "Multiplatform metabolome and proteome profiling identifies serum metabolite and protein signatures as prospective biomarkers for schizophrenia", *Journal of Neural Transmission*, 122, 111-22.

Alfredsson, G., Wiesel, F.A. 1990. "Relationships between clinical effects and monoamine metabolites and amino acids in sulpiride-treated schizophrenic patients", *Psychopharmacology*, 101, 324-331.

Baysal, K. 2013. "Farmakogenomik: Genetiğin kişiselleştirilmiş ilaç tedavisinde kullanılması", *TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, İyi Klinik Uygulamaları Dergisi*, 13-16.

Beckett, G.J., Chapman, B.J., Dyson, E.H., Hayes, J.D. 1985. "Plasma glutathione S-transferase measurements after paracetamol overdose: evidence for early hepatocellular damage", *Gut*, 26, 26-31.

Bjerkenstedt, L., Edman, E., Hagenfeldt, L., Sedvall, G., Wiesel, F.A. 1985. "Plasma amino acids in relation to cerebrospinal fluid monoamine metabolites in schizophrenic patients and healthy controls", *British Journal of Psychiatry*, 147, 276-282.

Ciba, M., Ak, M., Karahalil, B. 2016. "Alpha glutathione s transferases can be a biomarker for both drug related toxicity as well as individual susceptibility", *Minerva psichiatrica*, 57, 62-71.

Colin, J., Henderson, C., Wolf, R., Kitteringham, N., Powell, H., Otto, D., Park, B.K. 2000. "Increased resistance to acetaminophen hepatotoxicity in mice lacking glutathione S-transferase Pi", *PNAS*, 97, 12741-12745.

Costa e Silva, J.A. 2013. "Personalized medicine in psychiatry: New technologies and approaches", *Metabolism*, 62, 40-44.

Darling, J.R., Murray, J.M., McBride, D.R., Trinick, T.R., Fee, J.P. 1997. "Serum glutathione-5-transferase concentrations and creatinine clearance after sevoflurane anaesthesia" *Anaesthesia*, 52, 121-126.

Dixon, D., Laphorn, A., Edwards, R. 2002. "Plant glutathione transferases", *Genome Biology*, 3, 3004.

Dunna, N.R., Vuree, S., Kagita, S., Surekha, D., Digumarti, R., Rajappa, S., Satti, V. 2012. "Association of GSTP1 gene (I105V) polymorphism with acute leukaemia", *Journal of Genetics*, 91, e60–e63.

Dusci, L.J., Peter Hackett, L., Fellows, L.M., Ilett, K.F. 2002. "Determination of olanzapine in plasma by high-performance liquid chromatography using ultraviolet absorbance detection", *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 773(2), 191-197.

e Health Me <http://www.ehealthme.com/ds/zyprexa/hepatotoxicity>. Son Erişim Tarihi: 4 Ağustos 2014.

Ellis, D.I., Dunn, W.B., Griffin, J.L., Allwood, J.W., Goodacre, R. 2007. "Metabolic fingerprinting as a diagnostic tool", *Pharmacogenomics*, 8(9), 1243-1266.

Federico, A., Tuccillo, C., Crafa, E., Loguercio, C. 1999. "The significance of alpha-glutathione S-transferase determination in patients with chronic liver diseases", *Minerva Gastroenterologica e Dietologica*, 45, 181-185.

Gardiner, H. Ban Is Advised on 2 Top Pills for Pain Relief http://www.nytimes.com/2009/07/01/health/01fda.html?_r=3&hp.%20Accessed%201%20July%202009.& Son erişim tarihi: 4 Ağustos 2014.

Gelder, M., Mayou, R., Cowen, P. 2001. in "Oxford textbook of psychiatry and schizophrenia like disorders", Gelder M, Mayou R, Cowen P (editors) 4th ed. New York: Oxford University Press, 347-352.

GeneCards GSTM1, <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=Gstm1>, Son Erişim Tarihi: 4 Ağustos 2014.

Ha, H.L., Shin, H.J., Feitelson, M.A., Yu, D.Y. 2010. "Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis", *The World Journal of Gastroenterology*, 16, 6035–6043.

Helaly, G.F., Mahmoud, M.M. 2003. "Diagnostic value of alphasglutathione S-transferase as a sensitive marker of increased risk for hepatocellular damage in hepatitis C virus (HCV) infection: relation to HCV viraemia", *The Journal of the Egyptian Public Health Association*, 78, 209-223.

Higuchi, H., Adachi, Y., Wada, H., Kanno, M., Satoh, T. 2001. "Comparison of serum a glutathione-S-transferase concentrations during after low-flow sevoflurane or isoflurane anesthesia", *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 45, 1226-1229.

Huang, Y.S., Su, W.J., Huang, Y.H., Chen, C.Y., Chang, F.Y., Lin, H.C., Lee, S.D. 2007. "Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H: quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury", *Journal of Hepatology*, 47, 128-134.

Jaeschke, H. 2011. "Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26(1), 173–179.

Janssen, K., Schlink, K., Götte, W., Hippler, B., Kaina, B., Oesch, F. 2001. "DNA repair activity of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) in human lymphocytes is not dependent on genetic polymorphism Ser326/Cys326", *Mutation Research*, 486, 207–221.

Jeffrey, A., Lieberman, M.D. 2000. "Delayed detection of psychosis: Causes, consequences, and effect on public health", *American Journal of Psychiatry*, 157, 1727-1730.

Kaddurah-Daouk, R., Weinshilboum, R.M. 2013. "Pharmacometabolomics Research Network Pharmacometabolomics: implications for clinical pharmacology and systems pharmacology", *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 95(2),154-167.

Karahalil, B., Hogue, B.A., de Souza-Pinto, N.C., Bohr, V.A. 2002. "Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations", *The journal of Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16, 1895–1902.

Karahalil, B., Kocabaş, N.A. 2005. "hOGG1 SER326CYS genetic polymorphism in a Turkish population", *Archives of Toxicology*, 79(7), 377-380.

Karahalil, B., Sardas, S., Kocabas, N.A., Alhayiroglu, E., Karakaya, A.E., Civelek, E. 2002. "Chromosomal aberrations under basal conditions and after treatment with X-ray in human lymphocytes as related to the GSTM1 genotype", *Mutation Research*, 515(1-2), 135-140.

Kayaalp, O. 2002. *Klinik Farmakolojinin esasları ve temel düzenlemeler, genişletilmiş 2. Baskı, Yeniden Basım, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti, ISBN: 975-8506-15-3, Ankara.*

Kaymak, C., Karahalil, B., Ozcan, N.N., Oztuna, D. 2008. "Association between GSTP1 gene polymorphism and serum α -GST concentrations undergoing sevoflurane anesthesia", *European Journal of Anaesthesia*, 25, 193-199.

Larrey, D., Pageaux, G.P. 1997. "Genetic predisposition to drug-induced hepatotoxicity", *Journal of Hepatology*, 26(2),12-21.

Lecrubier, Y., Quintin, P., Bouhassira, M., Perrin E., Lancrenon, S. 2006. "The treatment of negative symptoms and deficit states of chronic schizophrenia: olanzapine compared to

amisulpride and placebo in a 6-month double-blind controlled clinical trial”, *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 114(5), 319-327.

LiverTox, <http://livertox.nih.gov/Olanzapine.htm>, Son Erişim Tarihi: 4 Ağustos 2014.

Lui, S.Y., Tso, S., Lam, M., Cheung, E.F.C. 2009. “Possible olanzapine-induced hepatotoxicity in a young Chinese patient”, *Hong Kong Medical Journal*, 15(5), 394-396.

Manceaux P., Constant E., Zdanowicz N., Jacques D., Reynaert C. 2011. “Management of marked liver enzyme increase during olanzapine treatment: A case report and review of the literature”, *Psychiatria Danubina*, 23, 15–17.

Mazur, W., Gonciarz, M., Kajdy, M., Mazurek, U., Jurzak, M., Wilczok, T., Gonciarz, Z. 2003. “Blood serum glutathione alpha s-transferase (alpha GST) activity during antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C”, *Medical Science Monitor*, 9(3), 44-48.

Metabolomics Fiehn Lab, <http://fiehnlab.ucdavis.edu/db>, Son erişim tarihi: 4 Ağustos 2014.

Mete, L., Ünsal, P.Ç. 2004. “Yeni kuşak antipsikotiklerin yan etkileri”, *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, 14(3), 168-177.

Mikhail, T.H., Awadallah, R., Dessoukey, E.A. 1977. “Effect of AMP on acute carbon-tetrachloride hepatotoxicity”, *Zeitschrift Fur Ernährungswiss*, 16, 256-261.

Mikstacki, A., Skrzypczak-Zielinska, M., Zakerska-Banaszak, O., Tamowicz, B., Skibinska, M., Molinska-Glura, M., Szalata, M., Slomski, R. 2016. “Impact of CYP2E1, GSTA1 and GSTP1 gene variants on serum alpha glutathione S-transferase level in patients undergoing anaesthesia”, *BMC Medical Genetics*, 17, 40-46.

Muttigi, M.S., Kedage, V., Suvarna, R., Rao, S.S., Joshi, C., Shetty, M.S., Prakash, M. 2009. “Serum GST activity and total thiols status in patients with liver disease secondary to various disorders”, *The Open Hepatology Journal* 1, 5-8.

Ozcanli, T., Erdogan, A., Ozdemir, S., Onen, B., Ozmen, M., Doksat, K., Sonsuz, A. 2006. ” Severe liver enzyme elevations after three years of olanzapine treatment: a case report and review of olanzapine associated hepatotoxicity”, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30, 1163-1166.

Pacanowski, M.A., Zineh, I. 2012. “Pharmacogenomic strategies in drug safety”, *Drug Discovery Today: Therapeutics Strategies*, 9(2-3), e67-e74.

Pandit, A., Sachdeva, T., Bafna, P. 2012. “Drug-induced hepatotoxicity: A review”, *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 02, 233-243.

Paredes, R.M., Quinones, M., Marballi, K., Gao, X., Valdez, C., Ahuja, S.S., Velligan, D., Walss-Bass, C. 2014. “Metabolomic profiling of schizophrenia patients at risk for metabolic syndrome”, *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17, 1139-48.

Park, Y.M., Lee, H.J., Kang, S.G., Choi, J.E., Cho, J.H. 2010. "Lack of association between Glutathione S-Transferase-M1, -T1, and -P1 polymorphisms and olanzapine-induced weight gain in Korean schizophrenic patients", *Psychiatry Investigations*, 7, 147-52.

Rebbeck, T.R. 1967. "Molecular epidemiology of the human glutathione S transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility", *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 6, 733-743.

Redick, J.A., Jakoby, W.B., Baron, J. 1982. "Immunohistochemical localization of glutathione-5-transferase in liver of untreated rats", *Biological Chemistry*, 257, 15200-15203.

Roy, B., Chowdhury, A., Kundu, S., Santra, A., Dey, B., Chakraborty, M., Majumder, P.P. 2001. "Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 'null' mutation", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 16, 1033-1037.

Saruwatari, J., Yasui-Furukori, N., Kamihashi, R., Yoshimori, Y., Oniki, K., Tsuchimine, S., Noai, M., Sato, Y., Nakagami, T., Sugawara, N., Saito, M., Fujii, A., Kajiwar, A., Mihara, S., Ogata, Y., Kaneko, S., Nakagawa, K. 2013. "Possible associations between antioxidant enzyme polymorphisms and metabolic abnormalities in patients with schizophrenia", *Neuropsychiatric Diseases and Treatment*, 9, 1683-1698.

Scott, S.A. 2011. "Personalizing medicine with clinical pharmacogenetics", *Genetics in Medicine*, 13, 987-995.

Sharma, A., Pandey, A., Sharma, S., Chatterjee, I., Mehrotra, R., Sehgal, A., Sharma, J.K. 2014. "Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) in Delhi population and comparison with other global populations", *Meta Gene*, 2, 134–142.

Simon, T., Becquemont, L., Mary-Krause, M., de Waziers, I., Beaune, P., Funck-Brentano, C., Jaillon, P. 2000. "Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity", *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 67, 432-437.

Slim, R., Ima, Fathallah, N., Romdhane, A.B., Frikha, A., Bouhlef, S., Salem, C.B., Bouraoul, K. 2012. "Reversible acute hepatotoxicity related to olanzapine", P466, 7th Congress of Physiology, Pharmacology and Therapeutics, 4-6 April 2012, http://www.atout-org.com/p2t2012/abstract_display!fr!!!!9ae36fdc-6e79-102f-b1e6-855e464587d5!session10, Son Erişim Tarihi: 08.07.2014.

Strange, R.C., Jones, P.W., Fryer, A.A. 2000. "Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology", *Toxicology Letters*, 112-113, 357-363.

Sundberg, A.G.M., Nilsson, R., Appelkvist, E.L., Dallner, G. 1993. "Immunohistochemical localization of alpha and pi class glutathione transferases in human tissue", *Pharmacology and Toxicology*, 72, 321-331.

Suzen, H.S., Guvenc, G., Turanlı, M., Comert, E., Duydu, Y., Alhan, A. 2007. "The role of GSTM1 ve GSTT1 polymorphisms in head and neck cancer risk", *Oncology Research*, 16, 423-429.

The Golm Metabolome Database: GMD, <http://gmd.mpimp-golm.mpg.de/>, Son erişim tarihi: 4 Ağustos 2014.

Trull, A.K., Facey, S.P., Rees, G.W., Wight, D.G., Noble-Jamieson, G., Joughin, C., Friend, P.J., Alexander, G.J. 1994. "Serum glutathione-5-transferase- a sensitive marker of hepatocellular damage associated with acute liver allograft rejection", *Transplantation*, 58, 1343-1351.

Wass, C., Klammer, D., Katsarogiannis, E., Pålsson, E., Svensson, L., Fejgin, K., Bogren, I.B., Engel, J.A., Rembeck, B. 2011. "L-lysine as adjunctive treatment in patients with schizophrenia: a single-blinded, randomized, cross-over pilot study", *BMC Medicine*, 9, 40.

Watanabe, I., Tomita, A., Shimizu, M., Sugawara, M., Yasumo, H., Koishi, R., Takahashi, T., Miyoshi, K., Nakamura, K., Izumi, T., Matsushita, Y., Furukawa, H., Haruyama, H., Koga, T. 2003. "A study to survey susceptible genetic factors responsible for troglitazone-associated hepatotoxicity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus", *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 73, 4.

www.hmdb.ca Erişim tarihi: 29 Eylül 2017.

Xuan, J., Pan, G., Qiu, Y., Yang, L., Su, M., Liu, Y., Chen, J., Feng, G., Fang, Y., Wei Jia, W., Xing, Q., He, L. 2011. "Metabolomic profiling to identify potential serum biomarkers for schizophrenia and risperidone action," *Journal of Proteome Research*, 10, 5433–5443.

Yang, J., Chen, T., Sun, L., Zhao, Z., Qi, X., Zhou, K., Cao, Y., Wang, X., Qiu, Y., Su, M., Zhao, A., Wang, P., Yang, P., Wu, J., Feng, G., He, L., Jia, W., Wan, C. 2013. "Potential metabolite markers of schizophrenia", *Molecular Psychiatry*, 18, 67–78.