
FARMASOTİK TOKSİKOLOJİDE İLERİ ARAŞTIRMALAR

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Merve BECİT KIZILKAYA

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİDE İLERİ ARAŞTIRMALAR

Editör

Dr. Öğr. Üyesi Merve BECİT KIZILKAYA

yaz
yayınları

2024

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİDE İLERİ ARAŞTIRMALAR

Editör: Dr. Öğr. Üyesi Merve BECİT KIZILKAYA

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-6104-74-7

Ekim 2024 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Oksidatif Stres ve Toksisite	1
<i>Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ</i>	
Toksikolojide Biyogöstergeler	20
<i>Ege ARZUK</i>	
Toksisite Testlerinde Laboratuvar Hayvanlarının Kullanılması ve Önemi.....	41
<i>Sumru SÖZER KARADAĞLI</i>	
Gelişimsel Toksisite Değerlendirilmesinde Cıvıv Embriyo Modelleri	57
<i>Merve BECİT KIZILKAYA</i>	
Gıda Kaynaklı Bir Toksin: Akrilamid	76
<i>Nisa Nur ÇAKMAK, Merve BECİT KIZILKAYA</i>	
Mikroplastiklere Maruziyetin İnsan Sağlığı Üzerindeki Potansiyel Toksisitesi	96
<i>Fatma Betül YOLADI</i>	
CYP2D6 Gen Polimorfizminin Antidepresan Metabolizmasına Etkisi.....	115
<i>Fatma Zehra DEMİR, Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

OKSİDATİF STRES VE TOKSİSİTE

Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ¹

1. GİRİŞ

Canlı organizmalar için olmazsa olmaz bir gaz olan oksijenin, keşfedildiği günden bu yana toksik olduğu bilinmektedir. Ancak 1950'lerde Rebecca Gerschman ve meslektaşları oksijen zehirlenmesinin X ışınlarının neden olduğu hasara benzediğini fark ettiler ve serbest radikallerin dahil olduğunu öne sürdüler; bu da mekanizmaya ilişkin anlayışımızı büyük ölçüde ilerletti (Yoshikawa & You, 2024). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin antioksidan savunma sisteminden fazla miktarda olduğu ve dengenin bozulduğu durumlarda ortaya çıkan fizyolojik duruma oksidatif stres denir (Saleh ve ark., 2023). Oksidatif stres, Alzheimer ve kanser dahil olmak üzere bir çok hastalığın oluşumunda en önemli bileşenlerdendir. Antioksidan olarak değerlendirilen çok sayıda küçük molekül klinik öncesi çalışmalarda terapötik potansiyel göstermiş olsa da, klinik deney sonuçları hayal kırıklığı yaratmıştır. Antioksidanların etki ettiği mekanizmaların nerede ve ne zaman etkili olduklarının daha iyi anlaşılması, daha büyük farmakolojik başarıya yol açan rasyonel bir yaklaşım sağlayabilir (Forman & Zhang, 2021).

Reaktif oksijen türleri, organizma için çeşitli yararlı rollerde de görev alan oksijen içeren kimyasal olarak reaktif moleküllerdir. Düşük/orta konsantrasyonlarda, hücre içi hücre sinyalizasyonu ve homeostaz, hücre ölümü, patojenlere karşı

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, ozlem.solmaz@afsu.edu.tr, ORCID:0000-0002-3908-3371.

bağışıklık savunması ve mitojenik yanıtın indüklenmesi gibi fizyolojik aktiviteler için gereklidirler. Bu serbest radikaller, oksijenin normal hücrel metabolik aktivitenin bir yan ürünü olarak endojen olarak üretilir. Ek olarak, UV ışığı, iyonlaştırıcı radyasyon, yaşam tarzı, diyet, stres ve sigara içme gibi ekzojen kaynaklar tarafından da indüklenebilirler. İndirgeyici ve oksitleyici durumlar arasındaki dengeyi korumak, uygun fizyolojik işlevler için çok önemlidir; bu nedenle, canlı organizmalar, bu serbest radikallerin seviyelerini düzenlemek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşan antioksidan savunma sistemleri ile donatılmıştır (Katerji, Filippova, & Duerksen-Hughes, 2019).

Antioksidanlar gastrointestinal sistemde özel rollere sahiptirler ve sağlığı desteklediği bilinen birçok yaşam tarzı özelliği de (özellikle diyet, egzersiz ve kan şekeri ve kolesterol seviyelerinin kontrolü) kısmen antioksidan mekanizmalar tarafından etkilenir. Örneğin belirli reaktif kükürt türleri önemli antioksidanlar olabilir ancak katkılarını değerlendirmeye yardımcı olmak için canlı organizmada konsantrasyonlarının daha doğru belirlenmesi gerekir (Halliwell, 2024).

2. REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS)

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) metabolizmada fizyolojik aktivitelerde çok önemli görevleri vardır. Tüm ROS türleri, ya eşleşmemiş değerlik elektronlarına sahiptirler ya da kararsız bağlara sahiptirler. ROS'ların konsantrasyonu yüksek miktarlara ulaştığında bu bileşikler lipitler, karbonhidratlar, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerler. Bu durumda bu yapılarda geri dönüşümsüz fonksiyonel değişikliklere ya da tam reaksiyona neden olurlar (Brieger, Schiavone, Miller, & Krause, 2012).

Reaktif oksijen türleri, moleküler oksijenin biyolojik sistemlerde indirgenmesinin yan ürünleri olarak oluşur. Süperoksit radikal anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (O_2), hidroperoksil radikali ($HOO\cdot$) ve peroksil radikali ($ROO\cdot$) bu türler içerisinde (Hrycay & Bandiera, 2015).

Tablo 1. Reaktif Oksijen Türleri

ROS(Reaktif Oksijen Türleri)			
Serbest Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit	O_2^-	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH\cdot$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Hidroperoksil	$OH\cdot$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$RO_2\cdot$	Ozon	O_3
Alkoksil	$RO\cdot$	Singlet Oksijen	$O_2\cdot$
Karbonat	CO_3^-	Organik Peroksit	$ROOH$
Karbondiyoksit	CO_2	Peroksinitrit	$ONOO-$
		Peroksonitröz asit	$ONOOH$

Tablo 2. Reaktif Klor Türleri

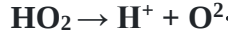
Reaktif Klor Bileşikleri(RCS)			
Serbest Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Atomik Klor iyonu	$Cl\cdot$	Hipokloröz Asit	$HOCl$
		Nitrit Klorid	NO_2Cl
		Kloraminler	R_1R_2NCl
		Klor Gazı	Cl_2

Tablo 3. Reaktif Azot Türleri

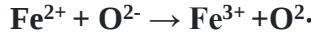
Reaktif Azot Türleri(RNS)			
Serbest Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Nitrik oksit	$NO\cdot$	Nitröz Asit	HNO_2
Nitrojen Dioksit	$NO_2\cdot$	Nitrosil katyonu	NO^+
		Dinitrojen tetraoksidi	N_2O_4
		Dinitrojen Trioksidi	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO\cdot$
		Peroksinitröz asit	$ONOOH$
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl

2.1. Süperoksit Radikalleri

Süperoksit anyon radikali (O_2^-) aerobik organizmaların hayatı için zorunludur. Bu serbest radikal, apoptozis, yaşlanma ve senesans dahil olmak üzere pek çok metabolik süreçte bir sinyal molekülü olarak görev alır. Bununla birlikte, $O_2^{\bullet(-)}$ 'nin aşırı üretimi meydana geldiğinde ve/veya antioksidan savunmalar yetersiz olduğunda, oksidatif stres gelişebilir, önemli biyomoleküllere zarar verebilir ve fizyolojik işlevlerini değiştirebilir (Chiste, Freitas, Mercadante, & Fernandes, 2015).



Süperoksit anyonu oluşmasındaki bir diğer yol ise, geçiş metallerinin otooksidasyonu ile gerçekleşir.



2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, redoks algılama, sinyalleme ve redoks düzenlemesinde etkili olan ana redoks metaboliti olarak ortaya çıkmıştır. H_2O_2 , Ca^{2+} ve ATP ile aynı çizgide, transkripsiyondan bağımsız sinyal moleküllerinin ön saflarında yer aldığı kabul edilmektedir. Haberci bir bileşik özelliği gösteren H_2O_2 , hücre morfolojisi farklılıkları, hücre çoğalmasının başlatılması ve bağışıklık sisteminde görev alan hücrelerinin bir araya gelmesi gibi hücrel özellikleri başlatmak için hücreler ve dokular arasında yayılma özelliği gösterir. H_2O_2 'nin hasar sinyali rolünün ötesinde metabolizmada temel düzenleyici işlevlere hizmet ettiği açıklığa kavuşmuştur. Bu oksijen metabolitinin metabolik ve düzenleyici rolü giderek daha fazla tanınmaktadır (Sies, 2017).

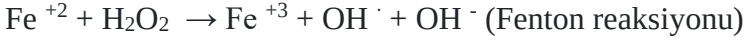
Hidrojen peroksit (H_2O_2), pek çok fizyolojik düzenleyici özelliğe sahip olmasına rağmen H_2O_2 'nin anormal üretimi kanser, Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalık gibi hastalıkların oluşmasına neden olabilir. Bu nedenle, hücre altı düzeyde H_2O_2 'deki değişiklikleri tespit etmek önemlidir. Son yıllarda,

H₂O₂ için birçok floresan prob geliştirilmiş ve canlı hücrelerde kullanılmıştır (Wei, Liu, He, & Wang, 2021).

2.3. Hidroksil Radikali (OH•)

Hidroksil radikali (OH•), hücrel metabolizmalar tarafından aerobik organizmalarda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) arasında DNA'ya karşı en reaktif olanıdır. OH• ayrıca iyonlaştırıcı radyasyonlar gibi ekzojen kaynaklar tarafından da üretilir (Chatgililoglu, Ferreri, Krokidis, Masi, & Terzidis, 2021).

Hidroksil radikali, H₂O₂'nin Fe⁺² veya Cu⁺ gibi metal iyonlarıyla reaksiyona girdiği ve Fenton reaksiyonu olarak adlandırılan bir reaksiyon sonucunda oluşur. Bu radikal bileşik vücutta ferritin, seruloplazmin veya farklı proteinlerle kompleks oluşturur. Vücutta stres durumunda, fazla miktarda oksijen iyonu oluştuğunda ferritin yapısındaki demir serbest hale gelir ve bu demir iyonu hidroksil radikali oluşturur. Bunun dışında bir diğer oluşum yolu da Haber-Weiss reaksiyonu adı verilen bir reaksiyonla süperoksit radikali ve H₂O₂ arasındaki reaksiyonla da oluşur (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy, 2015) .



(Ma ve ark., 2024)



Kısa bir yarı ömre, yüksek oksidasyon kabiliyetine sahip olan ve insan vücudundaki en yaygın serbest radikal olan hidroksil radikali, çok sayıda hastalığın başlangıcı ve ilerlemesiyle yakından ilişkilidir. Örneğin OH, zardaki doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu yoluyla lipid zarlarının lokal bozunumu ve potansiyel çözünmesiyle sonuçlanan bir dizi serbest radikal reaksiyonunu başlatabilir. OH ayrıca zar fosfolipitlerinden araşidonik asidin (AA) boşalmasını indükleyebilir ve fosforik asidin aktivitesini değiştirebilir. Lipid

peroksidazın etkisi altında AA, histamin ve yavaş tepki veren maddeler üretir ve bu da tromboksan A2 (TXA2) seviyelerinde yükselmeye, mikrotromboza ve bozulmuş mikro dolaşıma yol açar. Temelde, H₂O₂'nin toksisitesi, OH'ye dönüşümünden kaynaklanır. Sonuç olarak, aşırı üretilen OH'nin kardiyovasküler hastalık, kanser ve inflamasyon dahil olmak üzere oksidatif stresle ilişkili çeşitli patofizyolojik süreçlerle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Ma ve ark., 2024).

2.4. Singlet Oksijen

Moleküler oksijenin uyarılmış hali olan singlet oksijen (¹O₂), lipitler, nükleik asitler, DNA, RNA gibi biyomoleküller ile proteinler dahil olmak üzere elektron açısından zengin moleküllerle reaksiyona girebilen bir elektrofildir. Bunlar arasında, en çok dikkat genetik bilginin desteği olan DNA'ya odaklanmıştır (Ravanat & Dumont, 2022).

2.5. Hipokloröz Asit

Hipokloröz asit (HOCl), özellikle inflamasyon bölgesinde salgılanan miyeloperoksidazlar tarafından üretilir.

HOCl ve diğer reaktif halojen türleri tarafından bu tür serbest radikal ara ürünlerinin üretilmesi, kardiyovasküler, nörodejeneratif, enfeksiyöz ve genellikle inflamasyon yanıtıyla ilişkili ve miyeloperoksidaz ve halojenatif stres biyobelirteçlerinin ortaya çıkmasıyla karakterize edilen diğer hastalıklar gibi bir dizi sosyal açıdan önemli hastalığa neden olan halojenatif stresin gelişimiyle birliktedir (Panassenko, Gorudko, & Sokolov, 2013).

3. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

ROS, endojen veya ekzojen kaynaklardan üretilebilir. ROS'un endojen kaynakları arasında oksijen tüketiminin yüksek

olduğu mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksisom gibi çeşitli hücresel organlar bulunur.

3.1. Endojen Kaynaklar

Mitokondri: Canlı vücudun enerji tedarik kaynağı ve reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS) ana üretim istasyonları olan mitokondriler, enerji üretimi, sinyal iletimi, özellikle redoks homeostazının düzenlenmesi gibi hücresel fizyolojik süreçlerde çeşitli temel roller oynarlar. Mitokondriyal oksidatif hasar sadece hücre disfonksiyonuna ve apoptoza neden olmakla kalmayıp aynı zamanda epilepsiye ve diğer bazı ilgili hastalıklara da katkıda bulunabilen önemli bir indüksiyon faktörü olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, mitokondriyal oksidatif hasar için periferik bir biyobelirteç, ilgili hastalıkların tanı ve tedavisini bilgilendirmek için önemli bir öneme sahiptir. Sistein (Cys), homosistein (Hcy) ve glutatyon (GSH) gibi hücre içi biyotioller, anormal seviyelerinin yavaş büyüme, karaciğer hasarı ve cilt lezyonları gibi insan hastalıklarıyla ilişkili olduğu doğrulanmış protein, hücre ve organizmaların redoks homeostazını korumada temel roller oynar (Wu ve ark., 2023).

Peroksisomlar: Hücresel lipit ve hidrojen peroksit (H_2O_2) metabolizmasındaki rolleriyle en iyi bilinen organellerdir. Ortaya çıkan kanıtlar, bu organellerin hücresel redoks dengesinin koruyucuları ve düzenleyicileri olarak hizmet ettiğini ve redoks metabolizmalarındaki değişikliklerin yaşlanmaya ve nörodejenerasyon, diyabet ve kanser gibi kronik hastalıkların gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Fransen & Lismont, 2019).

Endoplazmik retikulum (ER): Ökaryotik hücrelerde birçok hücresel işlevden sorumlu dinamik bir organeldir. ER'deki uygun redoks koşulları, birçok lümenal yolun işlevi ve homeostazın sürdürülmesi için gereklidir. ER'deki redoks ortamı,

sitosol ile karşılaştırıldığında oksidatif ve protein disülfür izomeraz (PDI)-Ero1 α hub kompleksine odaklanan bir oksidoredüktaz ağı, verimli elektron transferi için oluşturulmuştur. Bu oksitleyici ortamlar, protein olgunlaşması için oksidatif katlama açısından avantajlı olsa da, elektron transferi Ero1 α tarafından yapısal ve mekansal olarak sıkı bir şekilde kontrol edilir. ER redoks ortamı, belirli stres koşulları altında indirgeyici bir ortama dönüşür (Ushioda & Nagata, 2019).

3.2. Ekzojen Kaynaklar

Serbest radikaller alkol, tütün, ağır metaller, pestisitler ve radyasyon gibi ekzojen kaynaklar tarafından da üretilirler (Phaniendra ve ark., 2015).

4. SERBEST RADİKALLERİN VÜCUT ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

4.1.DNA Üzerindeki Etkisi

Endojen ve ekzojen kaynaklar çeşitli mekanizmalarla canlı organizmalarda serbest radikal kaynaklı DNA hasarına neden olur. Son derece reaktif hidroksil radikali, heterosiklik DNA bazları ve şeker kısmı ile difüzyon kontrollü hızlara yakın veya bu hızlarda reaksiyona girer. Hidrate elektronlar ile H atomu da heterosiklik bazlara eklenir. Bu reaksiyonlar, daha sonraki reaksiyonları çok sayıda ürün veren adükt radikallerine yol açar. Bunlara DNA baz ve şeker ürünleri, tek ve çift zincirli kırılmalar, 8,5'-siklopurin-2'-deoks nükleozidler, tandem lezyonlar, kümelenmiş bölgeler ve DNA-protein çapraz bağları dahildir. Reaksiyon koşulları ve oksijenin varlığı veya yokluğu, ürünlerin türlerini ve verimlerini önemli ölçüde etkiler. Kanserde dahil olduğu çok sayıda hastalığın oluşmasında serbest radikal kaynaklı DNA hasarının önemli bir rol oynadığına belirlenmiştir (Dizdaroglu & Jaruga, 2012).

4.2.Lipit Üzerindeki Etkisi

Hücrelerdeki çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu, oksidatif stres koşulları altında peroksil radikalleri aracılığıyla katalitik otoksidasyonu yoluyla meydana gelebilir. Lipid peroksidasyonu bir dizi patolojiyle ilişkilidir ve düzenlenmiş hücre ölümünün yeni formlarında devreye girebilir, ancak hücre sinyalleme kaskadlarında da yararlı rollere sahip olabilir (Greene, Lincoln, & Cosa, 2018).

Lipid peroksidasyonu iki tiptir:

- a. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu: Herhangi bir radikalın poliansatüre yağ asidindeki metilen karbonundan hidrojen atomunu uzaklaştırılması.
- b. Enzimatik lipid peroksidasyonu: Siklooksijenaz ve lipooksijenaz reaksiyonları sonucunda oluşan hidroperoksidler ve endoperoksidler.

4.3.Proteinler Üzerindeki Etkileri

Oksidatif stres altında hücre ve dokularda üretilen birincil serbest radikaller, biyomoleküllere etki eden çeşitli reaktif ikincil radikal üretir. Hücre ve dokuların büyük bir kısmını proteinler oluşturduğu için ve bu ikincil radikallerin çoğuyla kolayca reaksiyona girdikleri için önemli hedeflerdir. Reaksiyonlar genellikle karbon merkezli radikallerin oluşumuna yol açar ve bunlar genellikle in vivo olarak peroksil radikallerine ve son olarak yarı kararlı hidroperoksitlere dönüşür. Tüm bu ara maddeler biyolojik hasarı başlatabilir (Gebicki, 2016).

Çeşitli makromoleküller arasında, proteinlerin reaktif oksijen türlerinin (ROS) başlıca hedefleri olduğu belirlenmiştir. Proteinlere verilen oksidatif hasar, enzim aktiviteleri, yapısal işlevler, protein sentezinin verimliliği ve proteolize duyarlılık gibi biyokimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir. Protein oksidatif hasarını değerlendirmek için çeşitli yöntemler

geliştirilmiş olsa da, protein karbonilasyonu, karbonilasyonun reaktif nitrojen türleri de dahil olmak üzere çok çeşitli ROS'a maruz kalmanın bir sonucu olarak meydana geldiği gerekçesiyle yaygın olarak kullanılmıştır ve karbonil modifikasyonları proteinlerin yapısal veya enzimatik aktivitelerini değiştirebilir (Prokai, Yan, Vera-Serrano, Stevens, & Forster, 2007).

Proteinler çeşitli yollarla oksidatif modifikasyonlara uğrayabilmesine rağmen, karbonilasyon ROS'un neden olduğu başlıca hasar türlerinden biridir. Karbonilasyonda, proteinlerdeki Arg, Lys, Pro ve Thr (RKPT) kalıntılarının yan grupları, metal katalizli oksidasyon (MCO) dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla değiştirilir. Disülfür oluşumu gibi bazı oksidatif modifikasyonlar büyük ölçüde geri döndürülebilir ve düzenleyici süreçlerde yer alabilirken, karbonilasyon çoğunlukla geri döndürülemezdir ve bu nedenle protein parçalanmasına/agregasyonuna ve kaybına yol açar (Rao & Møller, 2011).

5. ANTİOKSİDANLAR

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda substratların oksidasyon sürecini engelleyebilen bileşiklerdir. Serbest radikal türleriyle etkileşime girerek doğrudan oksidatif hasarı azaltabilir veya hücre içi antioksidan enzimler üreten serbest radikallerin aktivitesini azaltarak dolaylı süreçler yoluyla azaltabilirler (Mitiku, Dekebo, & Jung, 2024). Çok sayıda doğal ve sentetik antioksidan bileşik bulunmaktadır.

Etki biçimlerine göre iki kategori antioksidan kimyasal vardır: enzimatik olmayan ve enzimatik. Enzimatik olmayan antioksidanlar, C ve E vitaminleri, flavonoidler ve glutatyon (GSH) gibi düşük molekül ağırlıklı maddelerdir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT)

enzimatik antioksidanlardır (Zivari-Ghader, Rashidi, & Mehrli, 2024).

5.1.Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Aşırı ROS üretimi, önemli makromoleküllere - nükleik asitler, proteinler ve lipidlere - zarar verebilir. Ancak hücreler, zarara neden olan molekülleri ortadan kaldırabilen birçok madde sunar. Bu maddelerin en önemlileri, süperoksit dismutazlar (SOD), glutatyon peroksidazlar (GPx), katalaz (CAT), ksantin oksidoredüktaz (XOR) ve glutatyon redüktaz (GR) dahil olmak üzere antioksidan enzimlerdir.

Antioksidanlar çeşitli yapısal formlarda ve hücre dışı ve hücre içi boşluklarda mevcut olsa da, işlevleri tutarlı bir antioksidan koruma sistemi üretir. Antioksidan enzimlerin aktivite ve konsantrasyon seviyelerinin anlaşılması, serbest radikallerin ve ROS'un aşırı oluşumuna dayalı olarak seçilmiş hastalıkların gelişmesine ilişkin küresel riskin değerlendirilmesine olanak tanır (Cecerska-Heryć et al., 2021).

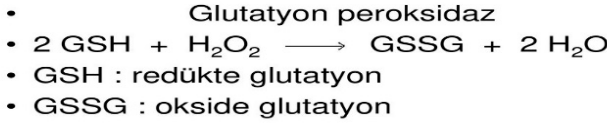
Süperoksit dismutaz: SOD, iki zararlı madde olan süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) ile etkileşerek bunları suya dönüştürür. SOD enzimini aktive ederek, süperoksit radikalinin antioksidan enzim GPx üzerindeki olumsuz etkisi engellenir ve böylece GPx enziminin daha sonraki deaktivasyonu önlenir. Sonuç olarak, SOD GPx enziminin aktif fazını uzatır (Mohideen ve ark., 2024).

Şu anda, memelilerde üç farklı SOD izoformu tanımlanmıştır ve genomik yapıları, cDNA'ları ve proteinleri tanımlanmıştır. SOD'nin iki izoformunun katalitik merkezinde Cu ve Zn bulunur ve hücre içi sitoplazmik bölmelerde (CuZn-SOD veya SOD1) veya hücre dışı elemanlarda (EC-SOD veya SOD3) yer alır. SOD3'ün ifade şekli, aktivitesinin SOD1 ve SOD2'nin aktivitesini aşabileceği belirli hücre tipi ve dokularla oldukça sınırlıdır. SOD'lerin üçüncü bir izoformu, bir kofaktör

olarak manganez (Mn) içerir ve aerobik hücrelerin mitokondrilerinde (Mn-SOD veya SOD2) lokalize olmuştur (Zelko, Mariani, & Folz, 2002).

Glutasyon Peroksidaz: Memeli hücrelerinin kritik redoks sisteminde, glutasyon peroksidaz (GPX), hemen hemen tüm hücresel süreçleri etkileyen çok yönlü bir fonksiyona sahip en belirgin protein ailesidir. GPX ailesinin şu anda toplam sekiz üyesi bulunmaktadır, bunlar GPX1-GPX8'dir. Oksidatif stresle mücadelede ve redoks dengesini korumada önemli bir rol oynayan antioksidan enzimler olarak uzun süredir kullanılmaktadırlar (Pei, Pan, Wei, & Hua, 2023).

GPx, ROS kaynaklı oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturmak için SOD ve katalaz ile birlikte çalışır. GPx, indirgenmiş glutasyonun (GSH) oksitlenmiş formuna (GSSH) oksidasyonu yoluyla hidroperoksitlerin (örneğin H₂O₂) H₂O'ya indirgenmesini katalizler:



Katalaz: Katalaz (CAT), çoğu organizmada hidrojen peroksitin (H₂O₂) ayrışmasını katalize eden ve böylece bu temel hücresel sinyal molekülünün bolluğunu kontrol eden bir temel antioksidan enzimdir. Enzim, peroksisomlara hedeflenir ve burada su ve moleküler oksijen üreten H₂O₂'nin iki aşamalı dismutasyonunu (orantısızlaşmasını) katalize eder. Ek olarak, bazı koşullar altında, CAT peroksisomlarda peroksidatif reaksiyonlar gerçekleştirebilir (Baker ve ark., 2023). Katalazlar yapı ve işlevlerine göre üç türe ayrılır: tipik katalazlar, katalaz-peroksidazlar ve manganez katalazlar. İlk iki enzim türü hem protez grupları içerirken, üçüncü tür hem olmayan manganez

grupları içerir (Galasso, Gambino, Romanelli, Donadelli, & Scupoli, 2021).



Glutasyon Redüktaz: Glutasyon redüktaz, hücrelerin çoğunda en bol bulunan indirgeyici tiyollerden biri olan indirgenmiş glutasyonun tedarikini sürdürmekten sorumludur. İndirgenmiş formunda, glutasyon reaktif oksijen türlerinin hücresel kontrolünde önemli roller oynar. Reaktif oksijen türleri, hücre içi ve hücre dışı sinyal molekülleri olarak görev yapar ve reaktif oksijen türlerinin seviyeleri, oksitlenmiş ve indirgenmiş glutasyon ve diğer tiyollerin seviyeleri ve glutasyon redüktaz gibi antioksidan enzimler arasındaki karmaşık çapraz iletişim, bir hücre içinde redoks kontrolü veya programlanmış hücre ölümünün aktivasyonu için en uygun koşulları belirler (Couto, Wood, & Barber, 2016).

Glutasyon redüktaz (GR) ve tripeptit glutasyon (GSH, γ -Glutamil-Sisteinil-Glisin), hücreleri ROS ve reaksiyon ürünleriyle biriken potansiyel anomalilere karşı korumada önemli rol oynayan askorbat-glutasyon (AsA-GSH) yolunun iki ana bileşenidir. GR ve GSH fizyolojik olarak birbirine bağlıdır, burada GR bir NAD(P)H-bağımlı enzimatik antioksidandır ve GSH'nin indirgenmiş havuzunu - hücresel bir tiyol - etkili bir şekilde korur. Bitkilerde hem GR hem de GSH'nin farklı modülasyonu, bu iki gizemli antioksidanın bitki savunma operasyonlarının ana bileşenleri olarak önemi için yaygın olarak ima edilmiştir (Gill ve ark., 2013).

Glutasyon: Organizmaların çoğunda en bol bulunan düşük molekül ağırlıklı tiyol içeren metabolittir. Demir-kükürt proteinlerinin biyogeneze ve çok sayıda elektrofilik metabolit ve ilacın detoksifikasyonuna katılmasının yanı sıra, glutasyon ayrıca çeşitli enzimler tarafından reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize etmek ve proteinlerdeki sistein kalıntılarının redoks

durumunu kontrol etmek için kullanılan önemli bir antioksidan moleküldür. Bu reaksiyonların çoğunda, glutatyonun (GSH) indirgenmiş formu glutatyon disülfüre (GSSG) oksitlenir ve daha sonra NADPH'ye bağımlı bir glutatyon redüktaz tarafından GSH'ye dönüştürülür (Ferreira ve ark., 2023).

KAYNAKÇA

- Baker, A., Lin, C.-C., Lett, C., Karpinska, B., Wright, M. H., & Foyer, C. H. (2023). Catalase: A critical node in the regulation of cell fate. *Free Radical Biology and Medicine*, 199, 56-66. doi:https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.02.009
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., Jr., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly*, 142, w13659. doi:10.4414/smww.2012.13659
- Cecerska-Heryć, E., Surowska, O., Heryć, R., Serwin, N., Napiontek-Balińska, S., & Dołęgowska, B. (2021). Are antioxidant enzymes essential markers in the diagnosis and monitoring of cancer patients - A review. *Clin Biochem*, 93, 1-8. doi:10.1016/j.clinbiochem.2021.03.008
- Chatgililoglu, C., Ferreri, C., Krokidis, M. G., Masi, A., & Terzidis, M. A. (2021). On the relevance of hydroxyl radical to purine DNA damage. *Free Radic Res*, 55(4), 384-404. doi:10.1080/10715762.2021.1876855
- Chiste, R. C., Freitas, M., Mercadante, A. Z., & Fernandes, E. (2015). Superoxide Anion Radical: Generation and Detection in Cellular and Non-Cellular Systems. *Curr Med Chem*, 22(37), 4234-4256. doi:10.2174/0929867322666151029104311
- Couto, N., Wood, J., & Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 27-42. doi:https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028
- Dizdaroglu, M., & Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res*, 46(4), 382-419. doi:10.3109/10715762.2011.653969

- Ferreira, M. J., Rodrigues, T. A., Pedrosa, A. G., Silva, A. R., Vilarinho, B. G., Francisco, T., & Azevedo, J. E. (2023). Glutathione and peroxisome redox homeostasis. *Redox Biol*, 67, 102917. doi:10.1016/j.redox.2023.102917
- Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov*, 20(9), 689-709. doi:10.1038/s41573-021-00233-1
- Fransen, M., & Lismont, C. (2019). Redox Signaling from and to Peroxisomes: Progress, Challenges, and Prospects. *Antioxid Redox Signal*, 30(1), 95-112. doi:10.1089/ars.2018.7515
- Galasso, M., Gambino, S., Romanelli, M. G., Donadelli, M., & Scupoli, M. T. (2021). Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 172, 264-272. doi:https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.010
- Gebicki, J. M. (2016). Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. *Arch Biochem Biophys*, 595, 33-39. doi:10.1016/j.abb.2015.10.021
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Hasanuzzaman, M., Gill, R., Trivedi, D. K., Ahmad, I., . . . Tuteja, N. (2013). Glutathione and glutathione reductase: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiol Biochem*, 70, 204-212. doi:10.1016/j.plaphy.2013.05.032
- Greene, L. E., Lincoln, R., & Cosa, G. (2018). Spatio-temporal monitoring of lipid peroxyl radicals in live cell studies combining fluorogenic antioxidants and fluorescence microscopy methods. *Free Radic Biol Med*, 128, 124-136. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.006

- Halliwell, B. (2024). Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 25(1), 13-33. doi:10.1038/s41580-023-00645-4
- Hrycay, E. G., & Bandiera, S. M. (2015). Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. *Adv Pharmacol*, 74, 35-84. doi:10.1016/bs.apha.2015.03.003
- Katerji, M., Filippova, M., & Duerksen-Hughes, P. (2019). Approaches and Methods to Measure Oxidative Stress in Clinical Samples: Research Applications in the Cancer Field. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 1279250. doi:10.1155/2019/1279250
- Ma, J., Zhao, M., Kong, X., Xie, H., Li, H., Jiao, Z., & Zhang, Z. (2024). An innovative dual-organelle targeting NIR fluorescence probe for detecting hydroxyl radicals in biosystem and inflammation models. *Bioorganic Chemistry*, 151, 107678. doi:https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107678
- Mitiku, D., Dekebo, A., & Jung, C. (2024). Chapter 22 - Role and mechanisms of natural antioxidants in health promotion. In M. Kaneria & K. Rakholiya (Eds.), *Herbal Formulations, Phytochemistry and Pharmacognosy* (pp. 301-309): Elsevier.
- Mohideen, K., Chandrasekaran, K., M, K., T, J., Dhungel, S., & Ghosh, S. (2024). Assessment of Antioxidant Enzyme Superoxide Dismutase (SOD) in Oral Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis Markers*, 2024, 2264251. doi:10.1155/2024/2264251
- Panasenko, O. M., Gorudko, I. V., & Sokolov, A. V. (2013). Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living

- systems. *Biochemistry (Mosc)*, 78(13), 1466-1489. doi:10.1134/s0006297913130075
- Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. *Front Pharmacol*, 14, 1147414. doi:10.3389/fphar.2023.1147414
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30(1), 11-26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0
- Prokai, L., Yan, L. J., Vera-Serrano, J. L., Stevens, S. M., Jr., & Forster, M. J. (2007). Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. *J Mass Spectrom*, 42(12), 1583-1589. doi:10.1002/jms.1345
- Rao, R. S., & Møller, I. M. (2011). Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics*, 11(21), 4166-4173. doi:10.1002/pmic.201100223
- Ravanat, J. L., & Dumont, E. (2022). Reactivity of Singlet Oxygen with DNA, an Update. *Photochem Photobiol*, 98(3), 564-571. doi:10.1111/php.13581
- Saleh, E. A. M., Al-Dolaimy, F., Qasim Almajidi, Y., Baymakov, S., Kader, M. M., Ullah, M. I., . . . Alsaalamy, A. H. (2023). Oxidative stress affects the beginning of the growth of cancer cells through a variety of routes. *Pathol Res Pract*, 249, 154664. doi:10.1016/j.prp.2023.154664
- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biol*, 11, 613-619. doi:10.1016/j.redox.2016.12.035

- Ushioda, R., & Nagata, K. (2019). Redox-Mediated Regulatory Mechanisms of Endoplasmic Reticulum Homeostasis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 11(5). doi:10.1101/cshperspect.a033910
- Wei, Y., Liu, Y., He, Y., & Wang, Y. (2021). Mitochondria and lysosome-targetable fluorescent probes for hydrogen peroxide. *J Mater Chem B*, 9(4), 908-920. doi:10.1039/d0tb02440f
- Wu, Z., Zhang, D., Ma, H., Wang, E., Wang, F., & Ren, J. (2023). Near-infrared colorimetric and ratiometric fluorescent probe for dual-channel imaging of mitochondria and cysteine in the oxidative stress model. *Chemical Engineering Journal*, 475, 146397. doi:https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.146397
- Yoshikawa, T., & You, F. (2024). Oxidative Stress and Bio-Regulation. *Int J Mol Sci*, 25(6). doi:10.3390/ijms25063360
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*, 33(3), 337-349. doi:10.1016/s0891-5849(02)00905-x
- Zivari-Ghader, T., Rashidi, M.-R., & Mehrali, M. (2024). Biological macromolecule-based hydrogels with antibacterial and antioxidant activities for wound dressing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 279, 134578. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134578

TOKSİKOLOJİDE BİYOGÖSTERGELER

Ege ARZUK¹

1. GİRİŞ

Biyogösterge, biyolojik ortamlardaki (doku, hücre, vücut sıvıları) hücresel, biyokimyasal ya da moleküller düzeydeki ölçülebilen değişikliklerdir. Fizyolojik, patolojik süreçlerin veya terapötik uygulama sonucu vücuttaki farmakolojik ya da toksikolojik yanıtların göstergesi olan ölçülüp değerlendirilebilen parametrelerdir (Gupta ve ark., 2014). ‘‘Biyogösterge’’ terimi ilk kez 1998 yılında Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından tanımlanmıştır.

Biyogöstergeler, sağlık alanında farklı amaçlarda kullanılabilmektedir. Bunlar; hastalığın tanısı, prognozunun saptanması, tedavi etkinliğinin belirlenmesi, biyolojik, kimyasal ve fiziksel ajanlara maruz kalınan düzeylerin belirlenmesi ve izlenmesi, maruziyetle hastalık arasındaki ilişkinin kurulmasıdır. Biyogöstergelerin ölçümü, bir hasarın zaman seyrini yansıtır, maruziyet ve toksisite hakkında bilgi verir, toksisite mekanizmasının moleküler düzeyde araştırılmasına yardımcı olur. Doz-cevap ilişkisinin belirlenmesi, maruziyet ile hastalık arasındaki mekanizmaların aydınlatılmasını, risk faktörleri ya da maruziyetle hastalık arasındaki sınıflandırılma hatalarının önlenmesi, bireysel ve çevresel risk değerlendirilmelerin geliştirilmesi gibi birçok alanda fayda sağlamaktadır. (Califf ve ark., 2018). Biyogöstergeler maruziyet, etki ve duyarlılık

¹ Arş. Gör. Dr., Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, ege.arzuk@ege.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3239-4855>.

göstergeleri olarak sınıflandırılmıştır. Kimyasal bileşiğin kendisi ve/veya metaboliti, biyolojik sistemde ilacın bağlandığı proteinler ve enzimler ya da vücutta maruziyet sonucu oluşan son ürünler biyogösterge olarak kullanılmaktadır (Gupta ve ark., 2014). Bu analizler pek çok doku, organ ve vücut sıvısında gerçekleştirilebilir. Biyogöstergeler doğru tanı, prognoz ve tedavi planının oluşturulmasında yol göstericidir. Erken kimyasal maruziyetin biyogöstergelerinin erken etki biyogöstergeleriyle birlikte araştırılması, daha fazla kimyasal maruziyetten kaçınmaya ve bireysel tıp dahil olmak üzere yeni bir tedavinin stratejik olarak geliştirilmesine yardımcı olur. Biyogösterge kullanımı sonucunda yapılan değerlendirmeler objektif ve güvenilirdir. Değerlendirmede kesinlik yüksektir. Araştırmacının taraf olma riski düşüktür. Doğru ve güvenilir biyogöstergelerin kullanılmasıyla hem bireylerin sağlığının korunması ve hem de sağlık ekonomisindeki kayıpların önlenmesi hedeflenir (Strimbu ve Tavel, 2010).

Bu kitap bölümünde oksidatif stres, hepatotoksisite, kardiyotoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite biyogöstergeleri tartışılmıştır.

2. OKSİDATİF STRES BİYOGÖSTERGELERİ

Oksidatif stres, hücre ve dokularda reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu/birikimi ile biyolojik bir sistemin antioksidan savunma sisteminin kapasitesi arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Ana olarak mitokondriyel ROT'ların aşırı birikimi sonucunda proteinler, lipidler ve DNA'da yapısal ve işlevsel hasar oluşabilir, hücrede inflamatuvar yolaklar ve diğer sinyal yolları aktive olabilir (Dalton ve ark., 1999). ROT'lar; delesyonlar, DNA metilasyonu, pürin-pirimidin modifikasyonları, DNA kırıklarının oluşumu, mutasyon gibi mekanizmalarla DNA'da hasara yol açabilirler. DNA'da

meydana gelebilecek 100'den fazla olası oksidatif lezyon arasında, 8-okso-deoksiguanozin şüphesiz en çok çalışılmış olanıdır (Frijhoff ve ark., 2015). Bununla birlikte, DNA nükleobazlarını içeren diğer oksidasyon ürünleri arasında 2,6-diamino-4-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin, 7,8-dihidro-8-okso-adenin, timin glikol, 5-hidroksisitozin ve dihidrourasil bulunmaktadır (Cadet ve Wagner, 2013).

ROT'lar spesifik aminoasitlerin oksidasyonu, peptid zincirinde fragmentasyon, çapraz bağlanma, proteinlerin yüklerinin değişmesi aracılığıyla proteinlerde oksidatif hasara yol açarlar. Sistein ve metiyonin oksidasyona en duyarlı aminoaitlerdir ve aktif bölgesinde metal barındıran proteinlerin de oksidatif hasara duyarlılıkları fazladır. Oksidatif hasar sonucu proteinlerde konformasyonel değişiklikler, katlanma problemleri, parçalanmalar ve aktivite kayıpları oluşabilir. Trizoninden L-Dopa, fenilalaninden o-tirozin, metiyoninden sulfoksit, sisteinden disülfid, sülfünik veya sülfonik asit oluşumu en sık olan protein oksidasyon reaksiyonlarıdır ve aynı zamanda biyogösterge olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca, triptofan aminoasidinin oksidasyonu sonucu oluşan kinürenin ve N-formilkinürenin, lizinin -6 nolu karbonundan oluşan semi-aldehit türevleri, 3- ve 5-hidroksi valin, 2-ve 8-oksohistidin de biyogösterge olarak kullanılabilir (Kehm ve ark., 2021).

Lipid peroksidasyonundaki artış hücrede lipid yapılı membranlarda yapısal ve işlevsel hasara, membran permeabilitesinin bozulmasına yol açar. Lipoproteinlerin ve hücre membranındaki lipitlerin peroksidasyonundaki artış ateroskleroz, kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla ayrıca yaşlanma gibi süreçlerle ilişkilidir (Ayala ve ark., 2014). Peroksidasyon sırasında birçok ürün oluşmaktadır; Malondialdehit (MDA) ve trans-4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE), pentan, etan, 2,3 trans-konjuge dienler, izoprostan gibi. MDA ve 4-HNE gibi diğer aldehitler DNA'ya, proteinlere çapraz bağlanıp

bu moleküllerin fonksiyon ve aktivitelerinde değişikliklere yol açarlar. Akrolein ve HNE gibi α,β -doymamış aldehytler biyogösterge olarak dikkat çekmektedir. Glutasyon transferazlar tarafından metabolize edilen HNE'nin merkapturik asit konjugatları idrarda son metabolitler olarak bulunmuştur. Aldehytler serbest radikallere göre daha kolay difüze olabilirler. Bu nedenle uzak noktalarda da hasar oluşturabilirler. Konjuge dienler yağ asitlerinin yıkılması sırasında oluşan ana ürünlerdir ve birçok patogenezele ilişkilendirilmişlerdir (Ayala ve ark., 2014). Lipit peroksidasyonu sırasında pentan, etan gibi hidrokarbon gazları oluşur. Peroksidasyonun ateroskleroz ve iskemi ya da travmatik beyin hasarı nedeniyle oluşan doku hasarında önemli olduğu bilinmektedir. Hidroperoksit düzeyleri kardiyovasküler hastalıklarda ölçülen bir parametredir (Vassalle ve ark., 2006). Kolesterol oksidasyon ürünleri olan oksisteroller esterlenmiş, sülfatlanmış, konjuge ya da serbest formlarda bulunabilen, safra asidi biyosentezinde oluşan ara ürünlerdir ve oksidatif strese önemli biyogöstergeler olarak kabul edilir (Yoshida ve ark., 2013). Ayrıca, antioksidan enzimlerinin düzeylerinin ve aktivitelerinin ölçülmesi yine sıklıkla kullanılan biyogöstergelerdendir. Lipid peroksidasyonunun önemli biyogöstergeyi olabilecek diğer bazı bileşikler; α -tokoferol, kinon, 5-nitro-y-tokoferol, GSH/GSSG ve ubiquinol/ubiquinon oranıdır (Yoshida ve ark., 2013).

3. HEPATOTOKSİSİTE BİYOGÖSTERGELERİ

Karaciğer, ilaçların ve diğer ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu için ana organdır. Ayrıca, yüksek kardiyak çıkışa sahip olması, ilaç/diğer kimyasalların yüksek konsantrasyonlarına maruz kalması, ilk geçiş etkisi, enterohepatik döngü, safra yapımı nedeniyle ksenobiyotikler için önemli bir toksisite hedef organıdır. Birçok ilaç, doğal toksinler,

endüstriyel bileşikler ve pestisitler için hepatoksisite tanımlanmıştır. Karaciğer toksisitesi ilaç araştırma-geliştirme çalışmalarındaki başarısızlık, ilaçların geri çekilmesinin önemli bir nedeni olduğundan, ilaç endüstrisi ve halk sağlığı için büyük bir zorluktur (Yang ve ark., 2014). Şu anda, 1000'den fazla ilacın ve gıda takviyelerinin hepatotoksisite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Shi ve ark., 2010).

Karaciğer toksisitesi için biyogöstergeler iki kategori altında incelenebilir. İlki; normal karaciğer fonksiyonunda veya homeostazında bozulmayı işaret edenler, ikincisi ise; doku ve hücre hasarını gösterenler (Yang ve ark., 2014). İlaçlar veya karaciğer hastalıkları nedeniyle plazma safra asitlerinde, plazma total bilirubinde ve plazma total plazma proteininde meydana gelen değişiklikler karaciğer fonksiyonundaki hasarın geleneksel göstergeleridir. Glutamat dehidrogenaz ve gama-glutamil transferaz (GGT) gibi enzimler ile alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) bu kategoriye girmektedir (Klaassen, 2018).

ALT en yaygın kullanılan klinik biyogöstergedir (Ozer ve ark., 2008). Hepatosit hasarı meydana geldiğinde, karaciğerde bol miktarda bulunan ALT enzimi hücre dışı boşluğa sızar ve kana karışır (Ozer ve ark., 2008). Serum ALT aktivitesinin yükselmesi genellikle hepatosit hasarını yansıtır. Ancak, kas hasarı gibi durumlar da ALT' de yükselmeye yol açabilir ve bu yüzden ALT tamamen hepato-spesifik değildir. Kas veya kardiyak hasar gibi karaciğer dışı patofizyolojilerin de ALT'de artışlara yol açabilmesine rağmen, serum ALT ilaçla indüklenen karaciğer hasarı için en yaygın kullanılan ve evrensel olarak kabul edilen biyogöstergedir. AST de hepatotoksisite için standart bir biyogösterge olarak tanıtılmıştır ve klinisyenler tarafından kabul görmüştür (Ozer ve ark., 2008; Shi ve ark., 2010). Kalp ve kas gibi ekstrahepatik organlarda daha yaygın ekspresyonu nedeniyle AST, hepatotoksisiteyi tespit etmede ALT'den önemli ölçüde

daha az spesifiktir (Ozer ve ark., 2008). Serum ALT ile AST aktivitesi arasındaki oranın, hepatotoksisiteyi ekstrahepatik organ hasarından ayırt etmede (Ozer ve ark., 2008) ve AST/ALT oranı 2:1 olan akut alkolik hepatit ve sirozun teşhisine yardımcı olmakta yararlı olduğu görülmektedir.

Alkalen fosfataz (ALP), karaciğerde bulunan bir enzimdir ve safra kanalları tıkanığında serumdaki konsantrasyonu artar (Burtis ve Ashwood, 1999). ALP, FDA kılavuzunda önerilen ve klinisyenler tarafından yaygın olarak benimsenen başka bir tanısal biyobelirteçtir (Shi ve ark., 2010). Serum ALP'nin iki kattan fazla izole yükselmesini veya ALT/ALP oranının (R değeri) 2'den fazla olmamasını kolestatik karaciğer hasarını, değerin 5 ve 5'in üzerinde olması hasarın karaciğerde olduğunu, 2-5 olması ise hasarın hem karaciğer hem de safrada olabileceğini göstermektedir (Ramachandran & Kakar, 2009). Kemik dokusu hastalıkları ve gebelik gibi durumlar da ALP yükselmesinin görülmesi nedeniyle (Reust & Hall, 2001) ALP kolestatik karaciğer hasarının spesifik bir biyogöstergesi olarak kabul edilmemektedir. ALP'nin avantajı, diğer karaciğer hasarı biyogöstergeleriyle birlikte kullanıldığında safra obstrüktif tipteki karaciğer hasarını en azından kısmen tahmin edebilmesidir (Yang ve ark., 2014).

Toplam bilirubin, konjuge olmayan (hepatik dışı) ve konjuge (hepatik) bilirubinin bir bileşimidir. Serum bilirubin konsantrasyonu gerçek bir karaciğer fonksiyonu biyogöstergesidir ve karaciğerin bilirubini karaciğerde dolaşırken kandan temizleme yeteneğini ölçer (Senior, 2006).

Bazı karaciğer fonksiyon testleri hepatotoksitenin tanısal biyogöstergeleri olarak kullanılabilecek kadar hassas veya spesifik değildir, ancak ciddi karaciğer hastalıklarında yükselir. Bu biyogöstergeler öncelikle karaciğer toksisitesini doğrulamak ve karaciğer fonksiyonundaki hasarın derecesini göstermek için

kullanılır. Bu kategoriye giren geleneksel biyogöstergeler şunlardır: GGT, serum toplam proteini (albümin), amonyak, kolesterol/trigliseritler, fibrinojen, protrombin zamanı (PT) ve ürobilinojen (Burtis ve Ashwood, 1999). Karaciğer hastalığında yüksek serum GGT aktivitesi bulunabilir ve safra sistemi hastalıklarını tespit etmede ALP ile benzer bir profile sahiptir (Yang ve ark., 2014). AST, ALT, LDH hepatik hasarı, konjuge ve unkonjuge bilirubin, GGT hepatik obstrüksiyonu, albümin seruloplazmin, PT, INR, psödokolinesteraz karaciğerin biyosentez kapasitesini, AST/ALT oranı, hyaluronik asit, kollojen 7S, TGF-1 hepatik fibrozu göstermektedir. Ayrıca, çeşitli karaciğer fonksiyon testleri de etkinin biyogöstergeleri olarak kullanılabilir. Bunlar arasında, karaciğerde sentezlenen serum proteinlerinin (albumin ve pıhtılaşma faktörleri) ve safra asitlerinin düzeyleri sayılabilir (Klaassen, 2018).

Ayrıca, nükleer DNA ve mitokondriyal DNA (mtDNA) fragmentleri hepatotoksisitenin potansiyel mekanizmalarının göstergeleri olarak araştırılmaktadır. Genomik, proteomik, metabolomik biyogöstergeler günümüzde son derece umut vadetmektedir. MicroRNA (miRNA)'lar en umut verici hepatotoksisite göstergelerinden biridir (özellikle miR-122 ve miR-192) (Lin ve ark., 2017).

4. KARDİYOTOKSİSİTE BİYOGÖSTERGELERİ

Kardiyak biyogöstergeler konsantrasyonu değişen bir protein, enzim veya hormon olabilir. Elektriksel aktivitedeki bir değişiklik, organın yapısal bir değişikliği, kan basıncı gibi bir işlevsel sürecin fizyolojik bir ölçüsündeki değişiklik patolojiyi gösterir. Kardiyak hasar genellikle birden fazla biyogöstergeyle belirtilir. İnvaziv olmayan görüntüleme teknikleri ve biyokimyasal göstergeler kardiyak toksisitede kullanılmaktadır.

Kardiyak biyogöstergeler arasında, elektrokardiyogram birçok durumda kullanım kolaylığı ve özgüllüğü nedeniyle kardiyak hasarı tespit etmek için en yaygın kullanılan testlerden biridir.

Troponinler düzenleyici proteinlerdir ve kalp kasının kasılma mekanizmasının bir parçasıdır. Miyositler hasar gördüğünde, troponin dolaşıma salınır. İlk önce sitozolik havuz salınır ve daha sonra yapısal olarak bağlı troponin dolaşıma girer. Yüksek seviyeler miyokardiyal hasarı gösterir. 1,0 µg/L veya daha yüksek kardiyak troponin I seviyeleri veya 0.1 µg/L veya daha yüksek kardiyak troponin T seviyeleri yükselmiş olarak kabul edilir (Peacock ve ark., 2008). Troponin, kalp kasındaki düz olmayan kas kasılmasının ayrılmaz bir parçası olan troponin C (TnC), troponin T (TnT) ve troponin I (TnI) olmak üzere üç düzenleyici proteinin bir kompleksidir. Troponin etkilenmemiş kaslarda tespit edilmesi zordur, ancak troponin seviyeleri miyokardiyal hasarın başlamasından birkaç saat sonra yükselir. Hasarın başlamasından 10 gün sonrasına kadar tespit edilebilir. Troponin yükselme derecesi ayrıca sonraki sonuç hakkında prognostik bilgi verir (Zoltani ve ark., 2014). Hs-TnT kardiyak hasarda daha da spesifiktir.

Miyogloblin kardiyak toksisitenin biyogöstergelerinden biridir. Miyogloblin, yalnızca kasların yaralanması üzerine kan dolaşımında bulunur. En erken biyogöstergelerden biri olarak, kalp kasi hücrelerinin sitoplazmasında bol miktarda bulunan bir hem proteindir. Miyokardiyal nekrozdan bir saat sonra dolaşımda belirir. Konsantrasyonu troponinden daha önce artar. Miyogloblin iskelet kasında yaygındır ve bu nedenle miyokardiyal hasara özgüllüğü yoktur. Konsantrasyonu böbrek yetmezliğinde de yükselir, ancak mükemmel erken duyarlılık gösterir, troponin ve kreatinin kinazdan daha hızlı artar, ancak kısa bir plazma yarı ömrüne de sahiptir. Bu nedenle, yükselmiş miyogloblin akut miyokardiyal enfarktüs için düşük özgüllüğe sahiptir (Zoltani ve ark., 2014).

Kreatin kinaz (CK) bir diğer kardiyak toksisite biyogöstergesidir. CK, iki alt birimden oluşur, bir kas tipi M ve bir beyin tipi B. CK, üç izoenzimden oluşur: iskelet kasındaki CK-MM, beyindeki CK-BB ve kalpteki CK-MB. Miyokard yaklaşık CK-MB'nin %30 'una sahiptir ve kardiyak olmayan hasar da bir artışa neden olabilir. CK-MB'nin kardiyak doku için özgüllüğü vardır, ancak göğüs travması ve kokain kötüye kullanımı için de yükselir. 2.5-3'den büyük değerler kalp hasarını gösterir (Tan & Lyon, 2018).

Atriyal natriüretik peptit (ANP) ve B tipi natriüretik peptit (BNP) gibi biyogöstergeler, kromozom 1'deki bir gen tarafından kodlanan ve hem atriumlarda hem de ventriküllerde üretilen kardiyak kaynaklı polipeptitlerdir. Basınç yükselmesi BNP'nin sentezlenmesinden ve sekresyonundan birincil olarak sorumludur ve kardiyak miyositlerden salınması kalp yetmezliğinde aktive olur. ANP ve BNP'nin dolaşımdaki düzeyleri konjestif kalp yetmezliğinde yükselir (Tang ve ark., 2008). 100 pg/mL'nin üzerindeki BNP düzeyleri kalp yetmezliğinin varlığını gösterir. Konsantrasyon, LV (sol ventrikül) disfonksiyonunun derecesi gibi semptomların şiddetini yansıtır.

C-reaktif protein (CRP), TNF, myeloperoksidaz (MPO) inflamasyonun göstergeleridir. MPO vasküler inflamasyonun bir belirteçidir ve akut koroner sendromunun karakteristiğidir. Yüksek MPO seviyeleri, nitrik oksit seviyelerini düşürdüğü ve kardiyovasküler hastalık riskini artırdığı için endotel disfonksiyonuyla ilişkilidir (Pasceri ve ark., 2000). Kalp yetmezliğinin teşhisinde kullanılır. Son derece hassas (hs)-CRP de aterotrombozun bir göstergesi olarak yaygın olarak kullanılır. CRP vücuttaki herhangi bir yerde inflamasyonu gösterdiğinden spesifik değildir, ancak kardiyovasküler hastalığın başlamasında rol oynadığı düşünülür. TNF inflamatuvar bir süreci işaret eder ve kalp yetmezliğinin bir belirteçidir. Aşırı ekspresyon kardiyak hipertrofi, fibrozis ve kontraktıl disfonksiyonla ilişkilidir ve

anormal sol atriyal fonksiyon ve sol sistolik ve diyastolik disfonksiyona işaret eder (Peters ve ark., 2013).

5. NEFROTOKSİSİTE BİYOGÖSTERGELERİ

Böbrekler hem kompleks yapıları hem de hayati fizyolojik görevleri nedeniyle ilaç ve diğer kimyasalların toksisite hedefidir (Perazella & Rosner, 2022). Nefrotoksisite biyogöstergeleri "geleneksel" ve "yeni" olarak kategorize edilmiştir. Genellikle geleneksel belirgöstergeler fonksiyon endeksleridir. Daha yeni olanlar ise hasarı tespit eder ve tübüler nekroz veya glomeruler hasarı gibi belirli hasarlar için sinyal görevi görür. Biyogöstergeler mevcut durumu değerlendirmek, zaman içinde fonksiyonu izlemek veya böbrek fonksiyonunda hasar riskini tahmin etmek için kullanılabilir (Ford ve ark., 2014). Böbrek fonksiyonunun geleneksel değerlendirmeleri, glomerüler filtrasyon hızı ve/veya böbrek kan akışı (kan üre azotu, kreatinin), albüminüri, tübüler fonksiyon (β -mikroglobulinüri) veya konsantre etme yeteneği (poliüri) gibi fonksiyonel kan ve idrar parametrelerine dayanmaktadır. Ancak, en yaygın kullanılanlardan bazı göstergeler böbrek dışı olaylardan etkilenir. Kan üre azotu (BUN) seviyeleri diyetle ilişkilidir, kreatinin üretimi artan kas metabolizması sırasında değişir ve olası endokrin hastalıklardan etkilenir (Griffin ve ark., 2019). Geleneksel biyogöstergelerin klinik değerlendirme için birkaç dezavantajı vardır, en önemlisi, yalnızca önemli hasar meydana geldikten sonra fonksiyondaki veya yapıdaki değişiklikleri tespit edebilmeleridir (Ford ve ark., 2014). Glomerüler filtrasyon hızı, kreatinin klerensi, BUN, serum kreatinin konsantrasyonu, idrardaki proteinler, idrardaki enzimler, nefrotoksisitede kullanılan biyogöstergelerdendir. Ayrıca, sistatin C, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), böbrek hasarı molekül 1 (Kim1) de yeni olarak adlandırılan ve klinikte önemsenen

biyogöstergeler kategorisindedir (Griffin ve ark., 2019; Ford ve ark., 2014).

Böbreğin farklı bölümlerindeki hasarları tespit etmek için kullanılan farklı biyogöstergeler mevcuttur. Glomerüler hasarın tespit edilmesinde idrarda total protein ve albümin düzeyinin yanı sıra idrarda kollajen IV ve sistatin C düzeyleri de faydalı olabilir. Sistatin C, β 2-mikroglobulin düzeyleri glomerüler hasarın yanı sıra proksimal tübül hasarı için de anlamlı biyogöstergelerdir. Proksimal tübül hasarı için ayrıca NGAL, Kim-1, doku inhibitör metalloproteinaz 2 (TIMP2), klusterin, sitoplazmik yağ asidi bağlayıcı proteinler (H-FABP), mikroalbumin, netrin, insulin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 2 (IGFBP2) hassas biyogöstergelerdir. Kim-1 proksimal tübülde hasar yok ise idrarla atılmaz idrardaki düzeyi direkt olarak proksimal tübül hasarı ile ilişkilidir. Henle kulbu hasarı için; HNE3 ve osteopontine bakılabilir. Distal tübül hasarı için ise idrarda NGAL, H-FABP, osteopontin ve klusterin düzeyleri biyogösterge olarak kullanılabilir (Klaassen, 2018). Özetle, böbrek hasarında kreatinin ve β 2-mikroglobulin gibi fonksiyonel göstergeler, N-glukozaminidaz, β -galaktozidaz, idrarda albumin, transferrin, immunglobulin G gibi proteinler, biyokimyasal ve sitotoksikite göstergeleri (BB50, BBA, HF5 gibi tübüler antijenler) biyogösterge olarak kullanılabilir. Ayrıca, β -Liyaz enzimi, p-amino hippurik asit (PAH), tetra etilamonyum (TEA), PAH/TEA oranı, β 2-mikroglobulin ve prostaglandin sentetaz düzeyleri de böbrek biyogöstergeleri olarak kullanılmaktadır (Klaassen, 2018).

6. NÖROTOKSİSİTE BİYOGÖSTERGELERİ

İnsan sinir sistemi, yapı ve işlev açısından en karmaşık organdır. Her biri çok sayıda bağlantıya yol açan binlerce sinaps oluşturan milyonlarca nöron içerir. Ayrıca sinir sisteminin genel

gelişimi ve fonksiyonlarında önemli roller oynar çok fazla sayıda glial hücre (astrositler, oligodendrositler, mikrogliya) içerir (Barres, 2008). Santral sinir sistemi (SSS), periferik sinir sisteminin (PSS) yardımıyla, vücudun içindeki ve dışındaki duysal bilgileri algılar ve iletir, motor işlevlerini yönetir ve düşünce süreçlerini, öğrenmeyi ve hafızayı bütünleştirir. Bu işlevler ve bunların karmaşıklığı, bazı kendine has yapısal özellikleri sinir sistemini özellikle toksik saldırılara karşı savunmasız hale getirir (Costa ve ark., 2014).

Maruziyetin ideal bir biyogöstergesi kimyasala özgü, minimal invaziv tekniklerle elde edilebilir, çok düşük seviyelerde bile tespit edilebilir, ölçümü kolay ve spesifik bir maruziyetle niceliksel olarak ilişkilendirilebilir olmalıdır (Henderson ve ark., 1989). Bu kavramlar ayrıca nörotoksik maddelere maruziyetin biyogöstergeleri için de geçerlidir. Biyolojik sıvılarda (idrara, kan) ve diğer erişilebilir dokularda (saç) kimyasalların (ve/veya metabolitlerinin) geleneksel biyoizlenmesi nörotoksikolojide yaygın olarak kullanılmıştır. Kanda, kemikte kurşun (Pb) seviyelerinin ölçülmesi, arsenik veya cıva için saçtaki konsantrasyonlarının ölçülmesi de maruziyet göstergeleri arasında sayılır (Costa, 1996). Çözücüler için, kandaki veya nefesteki konsantrasyonlarının veya idrardaki metabolitlerinin ölçümleri, maruziyeti belirlemek için çok yaygın yöntemlerdir. Bu tür yaklaşımların bir sınırlaması, bu ölçümlerin yalnızca yakın tarihli maruziyetleri yansıtmasıdır. Makromoleküllere kovalent bağlanma ürünü oluşturan kimyasallar için, bu bağlanma ürününün ölçülmesi de maruziyeti yansıtır (Costa ve ark., 2014).

Etkinin biyogöstergeleri, fonksiyonel veya yapısal hasardan önce gelen erken değişiklikleri göstermelidir. Ancak, çoğu nörotoksik madde için kesin etki mekanizması hala bilinmemektedir ve bu durum bu alandaki ilerlemeyi yavaşlatmıştır. Trombositlerde dopamin metabolizmasında rol oynayan bir enzim olan MAO-B'nin ölçümü önemlidir. Hayvan

çalışmaları, stirene maruz kalmanın, SSS'de MAO-B'de bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir (Husain ve diğerleri, 1980). Stirene maruz kalan işçilerde, trombosit MAO-B aktivitesi önemli ölçüde azalır (Checkoway ve ark., 1992; Bergamaschi ve ark., 1996), ancak enzim perkloroetilene maruz kalan işçilerin trombositlerinde değiştirilmez (Checkoway ve ark., 1994), bu da belirli bir özgüllük derecesine işaret eder. Trombosit MAO-B aktivitesindeki değişiklikler, bu nedenle MSS'de meydana gelen benzer değişiklikleri yansıtabilir ve belirli nörotoksik kimyasallara maruz kalma durumunda bir etki biyobelirteci olarak işlev görebilir. Farklı bir strateji, erişilebilir dokularda (genellikle kan) beyin hasarı belirteçlerini ölçmektir. Nöronal veya glial hücreye özgü proteinlerdeki veya beyindeki belirli stres proteinlerindeki değişiklikler, nörotoksitenin yerinde biyobelirteçleri olarak önerilmiştir (Rajdev ve Sharp, 2000). Örneğin, glial fibriler asidik protein (GFAP) seviyeleri nöronal toksisite üzerine artar (O'Callaghan ve Sriram, 2005). Nöron özgü enolaz (NSE) veya başlıca astrositlerde sentezlenen kalsiyum bağlayıcı bir protein olan S-100 β , nispeten beyne özgü proteinlerin iki başka örneğidir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) ve kan gibi farklı biyosıvılardaki bu ve diğer proteinlerin seviyelerindeki değişiklikleri araştırılabilir. (Seco ve ark., 2012). GFAP ve ubiquitin C-terminal hidrolaz-1 (UCH-L1) seviyelerinin, nörotoksik kainik aside maruz kalan sıçanların BOS'unda yükseldiği bulunmuştur (Costa ve ark., 2014; Glushakova ve ark., 2012).

Son zamanlarda, miRNA'ların nörotoksik maddelerin potansiyel hedefleri veya etkilileri olduğu bulunmuştur (Tal ve Tanguay, 2012). Bazı miRNA'lar hücreler içinde dokuya özgü bir şekilde yüksek konsantrasyonlarda üretildiği ve plazmada dikkate değer derecede stabil olduğu bildirildiği için, doku hasarını izlemek için biyogöstergelerdir. Bu araştırma alanı MSS

toksisitesi için yeni biyobelirteçlerin ortaya çıkmasına yol açabilir (Costa ve ark., 2014).

7. SONUÇ

Toksikolojide biyogöstergelere dayalı yaklaşımlar hastalıkla ilişkili değişikliklerin erken tespitinde, nedensel çıkarım yapılmasıyla ilgili toksisiteyle ilişkili süreçlerin farklı aşamalarının korelasyonlarının incelenmesinde, tehlike tanımlamasının ve doz-yanıt değerlendirmesinin geliştirilmesinde, etki şeklinin veya toksisite mekanizmalarının incelenmesinde ve karsinogenezle ilgili genlerdeki genetik varyasyonların karakterizasyonu yoluyla ksenobiyotiklere karşı duyarlılığının değerlendirilmesinde etkili olmaktadır.

Biyogöstergeler olası risk faktörleri ile hastalık arasında ilişki kurulmasında, risk değerlendirmesinde potansiyel taşıır. Kantitatif risk değerlendirmesinde ve kimyasal düzenlemelerin geliştirilmesinde doğrudan kullanımları daha sınırlıdır. Ancak, bu alanlarda genişletilmiş uygulamalar için umut vaat etmektedirler. Çeşitli faktörlerin biyogösterge yanıtlarını etkileyebileceği unutulmamalıdır; bunlara vücuttaki biyolojik yanıtlar, diğer kimyasallara maruz kalma, bireysel değişkenlik (genetik yapı), cinsiyet, yaş duyarlılığı, beslenme, ve ilaç kullanımı dahildir. Çeşitli olası modifiye edici faktörleri anlamak risk değerlendirmeleri için önemlidir. Bu faktörlerin varlığı ve farklı biyogöstergelerin farklı işlevleri çevresel risk yönetimi ve karar alma için bilimsel bir temel sağlamak amacıyla birden fazla biyogöstergeden gelen verileri birleştirme ihtiyacını desteklemektedir. Biyogöstergelerin, Ulusal Bilimler Akademisi'nin "21. Yüzyılda Toksisite Testi: Bir Vizyon ve Strateji" raporunda tartışılan 21. yüzyıl Toksikolojisi modelinde önemli bir rol oynaması beklenmektedir (Gupta ve ark., 2014). Yeni, etkili biyogöstergelerin validasyonundaki çalışmalara ve

yüksek verimli teknolojinin kullanımı konusundaki araştırmalara devam edilmesi biyogöstergelerin geliştirilmesine, risk değerlendirme ve düzenleyici yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Barres B. A. (2008). The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*, 60(3), 430–440. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.10.013>
- Bergamaschi, E., Mutti, A., Cavazzini, S., Vettori, M. V., Renzulli, F. S., & Franchini, I. (1996). Peripheral markers of neurochemical effects among styrene-exposed workers. *Neurotoxicology*, 17(3-4), 753–759.
- Burtis, C.A., and Ashwood, E.R., eds. (1999) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd edition. Saunders, Philadelphia
- Cadet, J., & Wagner, J. R. (2013). DNA base damage by reactive oxygen species, oxidizing agents, and UV radiation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(2), a012559. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012559>
- Califf R. M. (2018). Biomarker definitions and their applications. *Experimental biology and medicine*, 243(3), 213-221. <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
- Checkoway, H., Costa, L. G., Camp, J., Coccini, T., Daniell, W. E., & Dills, R. L. (1992). Peripheral markers of neurochemical function among workers exposed to styrene. *British journal of industrial medicine*, 49(8), 560–565. <https://doi.org/10.1136/oem.49.8.560>
- Costa L. G., Pellacani C. (2014), Central nervous system toxicity biomarkers, Gupta C. Ramesh, in *Biomarkers in Toxicology* (s. 157-168), Elsevier

- Costa, L.G. (1996) Biomarkers research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. *Environmental Health Perspectives*, 104 (Suppl 1): 55-67.
- Dalton, T. P., Shertzer, H. G., & Puga, A. (1999). Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 39, 67–101. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.67>
- Ford S. M., Schnackenberg L.K., Shi, Q., Salminen. W.F. (2014), Conventional and emerging renal biomarkers, Gupta C. Ramesh, in *Biomarkers in Toxicology* (s. 261-267), Elsevier
- Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., Knight, A. R., Taylor, E. L., Oettrich, J., Ruskovska, T., Gasparovic, A. C., Cuadrado, A., Weber, D., Poulsen, H. E., Grune, T., Schmidt, H. H., & Ghezzi, P. (2015). Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxidants & redox signaling*, 23(14), 1144–1170. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6317>
- Glushakova, O. Y., Jeromin, A., Martinez, J., Johnson, D., Denslow, N., Streeter, J., Hayes, R. L., & Mondello, S. (2012). Cerebrospinal fluid protein biomarker panel for assessment of neurotoxicity induced by kainic acid in rats. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 130(1), 158–167. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs224>
- Griffin, B. R., Faubel, S., & Edelstein, C. L. (2019). Biomarkers of Drug-Induced Kidney Toxicity. *Therapeutic drug monitoring*, 41(2), 213–226
- Gupta, R. C. (2014). *Biomarkers in Toxicology*. USA: Elsevier

- Henderson, R. F., Bechtold, W. E., Bond, J. A., & Sun, J. D. (1989). The use of biological markers in toxicology. *Critical reviews in toxicology*, 20(2), 65–82. <https://doi.org/10.3109/10408448909017904>
- Husain, R., Srivastava, S. P., Mushtaq, M., & Seth, P. K. (1980). Effect of styrene on levels of serotonin, noradrenaline, dopamine and activity of acetyl cholinesterase and monoamine oxidase in rat brain. *Toxicology letters*, 7(1), 47–50. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(80\)90084-3](https://doi.org/10.1016/0378-4274(80)90084-3)
- Kaplowitz N. (2005). Idiosyncratic drug hepatotoxicity. *Nature reviews. Drug discovery*, 4(6), 489–499. <https://doi.org/10.1038/nrd1750>
- Kehm, R., Baldensperger, T., Raupbach, J., & Höhn, A. (2021). Protein oxidation - Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox biology*, 42, 101901. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101901>
- Klaassen, C.D. (2018). Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons, 9th edition. New York:McGraw-Hill Education.
- Lin, H., Ewing, L. E., Koturbash, I., Gurley, B. J., & Miousse, I. R. (2017). MicroRNAs as biomarkers for liver injury: Current knowledge, challenges and future prospects. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 110, 229–239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.026>
- O'Callaghan, J. P., & Sriram, K. (2005). Glial fibrillary acidic protein and related glial proteins as biomarkers of neurotoxicity. *Expert opinion on drug safety*, 4(3), 433–442. <https://doi.org/10.1517/14740338.4.3.433>

- Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., & Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 245(3), 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.11.021>
- Pasceri, V., Willerson, J. T., & Yeh, E. T. (2000). Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, 102(18), 2165–2168. <https://doi.org/10.1161/01.cir.102.18.2165>
- Peacock, W. F., 4th, De Marco, T., Fonarow, G. C., Diercks, D., Wynne, J., Apple, F. S., Wu, A. H., & ADHERE Investigators (2008). Cardiac troponin and outcome in acute heart failure. *The New England journal of medicine*, 358(20), 2117–2126. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0706824>
- Perazella, M. A., & Rosner, M. H. (2022). Drug-Induced Acute Kidney Injury. *Clinical journal of the American Society of Nephrology:CJASN*, 17(8), 1220–1233.
- Peters, S. A., Visseren, F. L., & Grobbee, D. E. (2013). Biomarkers. Screening for C-reactive protein in CVD prediction. *Nature reviews. Cardiology*, 10(1), 12–14.
- Rajdev, S., & Sharp, F. R. (2000). Stress proteins as molecular markers of neurotoxicity. *Toxicologic pathology*, 28(1), 105–112. <https://doi.org/10.1177/019262330002800113>
- Ramachandran, R., & Kakar, S. (2009). Histological patterns in drug-induced liver disease. *Journal of clinical pathology*, 62(6), 481–492.
- Reust, C. E., & Hall, L. (2001). Clinical inquiries. What is the differential diagnosis of an elevated alkaline phosphatase (AP) level in an otherwise asymptomatic patient?. *The Journal of family practice*, 50(6), 496–497.

- Seco, M., Edelman, J. J., Wilson, M. K., Bannon, P. G., & Vallely, M. P. (2012). Serum biomarkers of neurologic injury in cardiac operations. *The Annals of thoracic surgery*, 94(3), 1026–1033. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.04.142>
- Senior J. R. (2006). How can 'Hy's law' help the clinician?. *Pharmacoepidemiology and drug safety*, 15(4), 235–239. <https://doi.org/10.1002/pds.1210>
- Shi, Q., Hong, H., Senior, J., and Tong, W. (2010) Biomarkers for drug-induced liver injury. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 4, 225-234
- Sriram, K., Lin, G. X., Jefferson, A. M., Roberts, J. R., Andrews, R. N., Kashon, M. L., & Antonini, J. M. (2012). Manganese accumulation in nail clippings as a biomarker of welding fume exposure and neurotoxicity. *Toxicology*, 291(1-3), 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.10.021>
- Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are biomarkers?. *Current opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed17>
- Tal, T. L., & Tanguay, R. L. (2012). Non-coding RNAs--novel targets in neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 33(3), 530–544. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.02.013>
- Tan, L. L., & Lyon, A. R. (2018). Role of Biomarkers in Prediction of Cardiotoxicity During Cancer Treatment. *Current treatment options in cardiovascular medicine*, 20(7), 55. <https://doi.org/10.1007/s11936-018-0641-z>
- Tang, W. H., Francis, G. S., Morrow, D. A. et al. (2008) National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine practice guidelines: clinical utilization of cardiac

biomarker testing in heart failure. Clinical biochemistry, 41, 210-221.

- Vassalle, C., Boni, C., Di Cecco, P., & Landi, P. (2006). Elevated hydroperoxide levels as a prognostic predictor of mortality in a cohort of patients with cardiovascular disease. International journal of cardiology, 110(3), 415–416. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.08.046>
- Yang X., Schnackenberg L.K., Shi, Q., Salminen. W.F. (2014), Hepatic toxicity biomarkers, Gupta C. Ramesh, in Biomarkers in Toxicology (s. 241-259), Elsevier
- Yoshida, Y., Umeno, A., & Shichiri, M. (2013). Lipid peroxidation biomarkers for evaluating oxidative stress and assessing antioxidant capacity in vivo. Journal of clinical biochemistry and nutrition, 52(1), 9–16.
- Zhang, W. R., & Parikh, C. R. (2019). Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease. Annual review of physiology, 81, 309–333. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114605>
- Zoltani C. (2014), Cardiovascular toxicity biomarkers, Gupta C. Ramesh, in Biomarkers in Toxicology (s. 199-215), Elsevier

TOKSİSİTE TESTLERİNDE LABORATUVAR HAYVANLARININ KULLANILMASI VE ÖNEMİ

Sumru SÖZER KARADAĞLI¹

1. GİRİŞ

İlaçları test etmek amacıyla hayvanların kullanılması, etilen glikolde çözülmüş bir sülfamiaz antibiyotığının sıvı formülasyonunun 107 yetişkin ve çocuğun ölümüne yol açtığı 1937 yılına dayanır. Bu olay sonrası, 1938’de hayvan toksisitesi testlerini zorunlu kılan ABD’de Federal Gıda, İlaç ve Kozmetik Yasası kabul edilmiştir (Wax, 1995). İnsan deneylerinin, hayvan deneylerinin sonuçlarına ve hastalığın doğal tarihine ilişkin bilgiye dayalı olarak tasarlanması gerektiği vurgulanmıştır. Ancak bu deneyler insan denemelerinin güvenliğini sağlamakta yine de yeterli görünmemektedir.

Toksisite testlerinin temel amacı insanlarda güvenliği sağlamaktır. Güvenliği sağlamak için yapılan testlerde in vitro çalışmalar son aşamada in vivo çalışmalarla desteklenmek durumundadır. İn vivo çalışmaların ilk basamağını ise hayvan çalışmaları oluşturmaktadır. Farmasötik araştırmalarda, hayvan testlerini azaltabilecek ve hatta yerini alabilecek alternatifler geliştirme ve benimseme konusunda artan bir eğilim olmasına karşın, in vivo modeller klinik öncesi çalışmaların gerekli bir unsuru olmaya devam etmektedir. Birçok klinik öncesi güvenlik kılavuzunda açıklanan toksisite çalışmalarının temeli hayvan çalışmalarına dayanmaktadır. Hayvan türlerinde uzun yıllar süren çalışmalar iyi tasarlanmış ve kontrollü toksikoloji testleri

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, l.sumru.sozer@ege.edu.tr, ORCID: 0000-0001-8752-7355.

sayesinde, hem hayvan kullanımının azaltılması sağlanmış, hem de toksisite değerlendirmesine tutarlı, güvenilir ve bilimsel olarak sağlam bir yaklaşımın geliştirilmesini kolaylaştırmıştır (Mangipudy ve ark. 2014, Fontana ve ark. 2021).

Toksikologlar, çeşitli kimyasalların ve dozların canlı sistemlerle nasıl etkileşime girdiğini öğrenmek için önce in vitro yöntemleri kullanarak araştırmalar yürütürler, ardından deneysel hayvan çalışmaları ile bu temel bilgiler derinleştirilir. Canlı organizmaları koruyan mekanizmaları anlamak ve fizyolojik süreçler için temel değerleri belirlemek gereklidir. Hayvan çalışmaları, ilaçların etkin dozu ile toksik dozu arasındaki sınırı belirlemeye yardımcı olur. Araştırmacılar, ksenobiyotiklerin canlı bir hücreyle karşılaştığında meydana gelebilecek farmakolojik ve toksikolojik etkilerini belirleyebilir ve ardından güvenlik önerilerinde bulunabilir (Ward, 2006).

2. DENEY HAYVANLARINA NEDEN İHTİYAÇ VARDIR?

Bir etken madde bir canlıya uygulandığında, birçok biyolojik sürece dahil olabilir ve süreç üzerindeki etkiler beklenmedik sonuçlara neden olabilir. Deneylerde hayvan kullanmak kritik öneme sahiptir çünkü bu karmaşıklık in vitro hücre kültürü çalışmalarında veya sanal sistemlerde taklit edilemez. Örneğin, toksik maddenin biyolojik sisteme dağılması, hızı, karaciğerde metabolizma ve çeşitli vücut dokularına geçiş, etkileşmeler in vitro olarak izlenemez. Biyolojik süreç farklı doku özelliklerinden etkilenir (örneğin, karaciğer, böbrek dokusundan farklıdır). Etki, tek bir organ düzeyinde oluşmayabilir. Bir kimyasalın nasıl etki ettiği, hayvana verilen doz ile vücuttaki farklı organlara ve dokulara ulaşan doz arasındaki ilişkiyi de analiz etmek için gereklidir. İlaçların uygun şekilde kullanılmasını sağlamak için farklı hayvan türleri üzerinde

çalışmalar yapılmalıdır. Beklenen etkinin olduğu doku veya organ, ihtiyaç duyulandan fazla doza maruz kaldığında ise zarar görebilir. Çoğu durumda, in vitro laboratuvar ortamı bu karmaşık fenomenleri basitçe taklit edemez. Sonuç olarak, hayvan testleri etken madde araştırmaları, ilaç denemeleri, teratojenik etkiler, kanser, kalp, karaciğer hastalıkları gibi hastalık süreçlerine ilişkin etkileri tespit etmek için en uygun yöntemdir (Ward, 2006).

Deney hayvanları;

- İnsan hastalıkları ve süreçleri için öngörücü modeller
- İlaçların ve diğer kimyasalların insan toksisitesi ve etkinliği açısından test edilmesine yönelik öngörücü modeller
- "Yapay protez denemeleri"—örneğin, domuzdan elde edilen aort kapak protezleri
- Biyoürünler —örneğin, monoklonal antikor üretimi
- Fizyolojik işleyişi incelemek için doku çalışmaları
- Biyoloji ve tıp vb öğrencilerinin eğitimleri
- Diğer hayvanlara fayda sağlamak için araştırmalarda

kullanılmaktadır (Van Norman, 2019).

Çoğu toksikolojik hayvan çalışması yeni ilaçlar veya aşılarda için bir kalite kontrol ölçüsü olarak uygulanır. Ayrıca, endüstri ve tarımda kullanılan kimyasalların toksikolojik temel araştırmalarında ve güvenlik testlerinde önemli sayıda hayvan kullanılır. Bazı ülkeler ev ürünleri ve kozmetikler üzerinde hiç veya çok az hayvan deneyi uygularken, bazı ülkelerde kozmetik testlerinde hala hayvanlar kullanılmaktadır.

Hayvanlar genellikle laboratuvar basamağı ile insan vücudu arasındaki ara adım olarak kabul edilir ve karşılaştırılabilir fizyoloji, genetik benzerlikler sunar. Ancak, ilaçlar, nanomedikaller veya biyomedikal malzemeler klinik öncesi modellerde umut verici veya hatta olağanüstü etkinlik gösterirken, insanlara uygulandığında başarısız da

olabilmektedir. Örneğin, kanser araştırmalarında, yaygın olarak kullanılan fare modelleri hücre hatlarından türetilir ve birincil, kolay erişilebilir tümörlere odaklanır, ancak metastazlı ileri tümör evrelerine odaklanmaz (Fontana 2021). Ancak hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışmalar metabolizmayla ilgili çok yol katedilmesine olanak sağlamıştır.

Gebe ve yetişkin hayvanlarda çok sayıda toksikolojisi çalışması yapılmasına rağmen, yenidoğan, bebek ve genç hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar yetersizdir. Bu eksiklik, çocuklarda çok az toksikoloji verisi gerçeğiyle daha da kötüleşir. Bu nedenle hamile kadınlar ve çocuklar "terapötik yetimler" olarak adlandırılır. Hayvan çalışmaları yenidoğan ve gelişmekte olan hayvanlar üzerinde yapıldığında, sonuçların gebe hayvanlardaki toksikoloji çalışmalarından daha karmaşık ve daha az öngörülebilir olduğu görülmektedir. Birçok çalışma, bebek ve gelişmekte olan hayvanların ilaçları metabolize etmekte zorluk çektiğini ve kimyasalların toksik etkilerine karşı daha savunmasız olduğunu ortaya koymaktadır. Aynı şekilde, bebek ve gelişmekte olan hayvanların bazı ilaçlara ve kimyasallara karşı daha dirençli olabileceğini gösteren istisnalar da vardır. Örneğin yenidoğan fareler, CO, HCN, CO₂, H₂ ve CH₃e maruz bırakıldığında, yetişkinlere göre daha uzun bir hayatta kalma süresine sahipti (Stafford ve Weatherall 1962, Barrow 1933). Hayvan toksikolojisi çalışmalarından farmakokinetik ve toksikokinetik veriler elde edilmelidir ve ayrıca hayvan verilerinin insan riskini tanımlamak için kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek gerekir. Örneğin, kemirgenlerde tümör üreten bazı ilaçlar ve kimyasalların insanlarda kanserojen olmaması önemlidir. Onkogeneze, insanlarda peroksizom proliferasyonunun sonucudur, hayvan çalışmaları bu süreci tam olarak yansıtmayabilmektedir. Bilim insanları, toksik maddelerin toksikokinetik ve toksikodinamik yönlerini incelemek için hayvan çalışmaları kullanabilirler, ancak bunlar en modern

tekniklerle yapılmalı ve en yüksek düzeyde bilimsellik ve nesnellikle yorumlanmalıdır. Eşik maruziyetler, izin verilen maksimum maruziyetler ve toksik etkiler tahmin edilebilir, ancak bunlar insana uygulanırken dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır. (Brent 2004). İlaçların hayvanlar deneylerinde (sıçan ve fare) toksik etki göstermediği, diğer yandan insanlarda teratojenik olabildiği (talidomid) veya bir ilacın bir hayvan modelinde teratojenik olduğu, insanlarda olmadığı (diflunisal) örnekler de vardır (Bracken, 2009).

Talidomidin tarihi, yeterli klinik öncesi test yapılmadan ilaçların kullanıma girmesiyle neler olabileceğinin güzel bir örneğidir. 1957'de bu ilaç, yalnızca kemirgenlerde test edilmiş, ancak hamilelik sırasında hiç test edilmeden uykusuzluk, baş ağrısı ve mide bulantısını tedavi etmek için ticarileştirilmiştir. Ne yazık ki, kadınlar tarafından hamilelik sırasında mide bulantısı ve kusmayı tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmıştır. Bu dönemde, ilacın pazarlandığı 46 ülkenin hepsinde çok sayıda fokomeli ve bazı doğum defektleri meydana gelmiştir. Yıllar sonra, talidomid bu felaketin nedeni olarak belirlenmiş ve piyasadan çekilmiştir. Bu, hayvan deneylerinin öngörü yeteneği hakkında bazı tartışmalara yol açmıştır (Shanks ve ark. 2009)

Talidomid ile yaşanan bu dramatik deneyim, laboratuvar hayvanlarının kullanımının önemini vurgulamaktadır. Bu deneyim, talidomid üzerinde yapılan hayvan testlerinin öngörücü olmadığı ve bu nedenle herhangi bir hayvan testinin öngörücü olmadığı iddiasının mantıksal yanılgısı ve aceleci genellemesi olarak da değerlendirilmiştir. Aslında, laboratuvar hayvanlarının kullanımının ilaç toksisitesinin erken tespiti için çok önemli olduğu da vurgulanmaktadır. Talidomid hikayesine farklı bir perspektiften bakıldığında, klinik öncesi araştırmalarda laboratuvar hayvanlarının kullanılmasının önemini ortaya koymaktadır. Bu ilaçla ilgili sorun, laboratuvar hayvanlarında toksisitesinin yetersiz değerlendirilmesinden, tüm deneylerin

kemirgenler üzerinde yürütülmesinden (insanlar da dahil olmak üzere farklı türlerle test edilmemesi) ve gebelik sırasında test yapılmamasından kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla sorunun kaynağı hayvan deneylerinin yetersiz öngörücü geçerliliği değil, kullanılan uygunsuz hayvan modeli ve ilacın klinik öncesi yeterli araştırmalarının yapılmamış olmasıdır (Petetta ve Ciccocioppo, 2021).

3. TOKSİSİTE ÇALIŞMALARININ AVANTAJLARI

Günümüzde, herhangi bir yeni ilacın veya biyolojik tedavinin insan klinik denemelerine girmeden önce Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından “hayvanlarda farmakolojik aktivite ve akut toksisite için” klinik öncesi test edilmesi beklenmektedir (ABD Gıda ve İlaç Dairesi Araştırma Amaçlı Yeni İlaç (IND) Başvurusu. ABD Gıda ve İlaç Dairesi. 5 Ekim 2017, <https://www.fda.gov/drugs/types-applications/investigational-new-drug-ind-application>)

Özellikle yeni kimyasalların maksimum doz denemeleri için yapılan çalışmalar insanlarda yapılamadığı için doz belirlemeyle ilgili değerli bilgiler sunar. Kimyasalın klinik çalışmalar için güvenli bir başlangıç dozunun seçilmesine olanak tanır ve klinikte doz artışı sırasında hangi toksisitelerin izleneceği hakkında bilgi verir (Mangipudy ve ark. 2014). Hayvanlara uygulanan dozlarda toksisite her zaman insanlarda ortaya çıkmasa da, genellikle eşdeğer derecede yüksek maruz kalma seviyelerinin insanlarda değerlendirilmesini sağlar. Genel toksisite, mutajenite, karsinojenite ve teratojenite gibi çeşitli yönleriyle çok sayıda hayvan üzerinde toksikolojik testler yapılır ve ilaçların göz ve cilt için iritan olup olmadığını değerlendirebilecek bilgiler sağlanır (Fontana, 2021).

Hayvan çalışmalarının avantajları:

- Daha kısa yaşam döngüleri
- İnsanlara genetik benzerlik
- İnsanlarda öngörülemeyen komplikasyon riskini azaltmak
- Hayvanların, belirli fizyoloji ve patofizyolojileri inceleyebilmek için genetik olarak değiştirilebilmesi
- Kısa gebelik süresi
- Embriyolarda veya omurgasızlarda mekanizmaların incelenmesi için daha ucuz modeller oluşturmaları

Hayvan çalışmalarının dezavantajları

- Etik konulardaki zorunluluklar
- Hayvanların deneyler için özel olarak yetiştirilmesi
- Araştırmacılar ve hayvan bakıcıları üzerindeki sağlık riskleri
- Yüksek maliyetler
- İlaçların klinik aşamada başarısız olması
- Daha yüksek organizmalara ve insanlara uyarlamadaki eksiklikler (Fontana 2021)

4. TEST STRATEJİLERİ

Hayvanlar üzerinde yapılan toksisitesi çalışmaları sayesinde düzenleyici kanunlar için bazı sınır değerler elde edilir. Sıçanlar, fareler ve tavşanlar üzerinde yürütülen, özellikle medyan letal doz (LD₅₀) belirleme çalışmaları klinik öncesi doz sınırlarının çizilmesinde büyük önem taşımaktadır. Bu alanda sıçanlar daha fazla tercih edilmektedir. Etken madde denemeleri en az üç doz grubu ve bir kontrol grubundan oluşur. Hayatta

kalmayı tehlikeye atmadan, toksisitenin ortaya çıktığı en yüksek dozun ve herhangi bir toksisite belirtisi oluşmayan en düşük dozun ortaya çıkması sağlanır (Saganuwan, 2017). Gerekli hayvan sayıları her çalışma protokolünde tanımlanmıştır ve tek dozluk ya da süre bazlı toksisite çalışmalarında doz/cinsiyet başına 5 sıçandan, subkronik çalışmalarda doz/cinsiyet başına 10 sıçana ve karsinojenite testlerinde doz/cinsiyet başına 50 sıçana kadar değişmektedir. Gelişimsel ve üreme çalışmalarında yavru, deneysel birim olarak kabul edilir ve doz başına en az 20 yavru gerekir. Test, değişkenliği azaltmak ve kullanılan hayvan sayısını en aza indirmek için tek bir cinsiyet kullanılarak gerçekleştirilir (OECD, 2000a, b). Cinsiyetler arasında hassasiyetin fark edildiği bir durumda, dişiler daha hassas olabilir ve kullanılabilir (ASTM, 1987). Ancak çalışma amacına göre erkek farelerin dişi farelere göre daha duyarlı olduğu çalışmalar da vardır. (NIEHS, 2000). Bir çalışmanın istatistiksel gücü, kullanılan hayvan sayısı ve değerlendirilen konuların duyarlılığı ile belirlenir (Ward, 2006). Bu çalışmalar, FDA, EPA ve Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) dahil olmak üzere çeşitli kuruluşlar tarafından geliştirilen veya kanunlaştırılan fikir birliği çalışma protokollerine temel bilgi sağlar ve genel bir bakış açısı oluşturulur. OECD ayrıca yeni ve mevcut kimyasallarla ilişkili potansiyel tehlikeleri karakterize etmeye yardımcı olmak için test yönergeleri ve rehberlik belgeleri geliştirir.

Bu çalışmalar süre, sıklık, yoğunluk ve maruziyet yollarının anlaşılması ve kimyasal kararlılık ve olası kimyasal parçalanma ürünlerinin anlaşılması, doz rejiminin, test ortamının ve test materyalinin seçimine rehberlik etmede yardımcı olur (Ward, 2006)

Toksisite değerlendirmesi için yapılan çalışmalar in vivo hayvan modellerinde güvenlik için iki türde (kemirgenler ve kemirgen olmayanlar) yapılmaktadır. Bu durum, insanlara aşırı risk oluşturmadan yeni kimyasalların geliştirme stratejisine

rehberlik eder ve hedef organ toksisitesi çalışmalarına önemli katkılar sağlar. Bu çalışmalardan elde edilen bilgiler, güvenli başlangıç dozlarını, kabul edilebilir doz ve maruz kalma aralıklarını, hayvanlarda gözlenen olumsuz etkileri izleme stratejilerinin geliştirilmesini sağlar (Mangipudy ve ark. 2014).

Ayrıca yeni biyobelirteçler keşfetmek ve denemek, potansiyel insan etkilerini tahmin etmek için hayvan modelleri, insan çalışmaları (klinik veya epidemiyolojik) veya biyobankalanmış insan örnekleri veya bu yaklaşımların tümünün birleşimi yoluyla bilgiler derlenmektedir (Larson 2013, Krishna ve ark. 2014). Bu alanlardaki verileri doğru değerlendirmek büyük önem taşımaktadır. Hayvanların deneysel gruplarının oluşturulurken rastgele dağıtılması, her hayvanın veya yavrunun herhangi bir deney grubuna atanması veya hayvanları tedavi grupları arasında eşit özelliklerde dağıtmak doğru sonuçlara ulaşmak için önemlidir. Dikkate alınması gereken faktörler şunlardır:

- Oluşturulan prosedürünün yeterince açıklanması
- Hayvanların sonuçların yorumlanmasında önyargıya yol açmayacak şekilde gruplara ayrıldığına dair göstergelerin olması

Genel olarak çalışmalar sırasında, yazarlar hayvanları gruplara atamak için kullanılan randomizasyon yönteminin bir açıklamasını sağlarsa çalışma yeterli olarak kabul edilir. Hayvanların, sonuçların yorumlanmasını önyargılı hale getirebilecek bir şekilde gruplandırılması, bir çalışmanın test hayvanı hakkında herhangi bir bilgi sağlamadığı durumlar, yetersiz derecesi ile kabul edilir. Randomizasyon veya normalizasyon yöntemlerinin kullanılmadığı varsayılır. (Dishaw ve ark. 2020).

5. GÜNÜMÜZDE LABORATUVAR HAYVANLARININ KULLANIMI

Günümüzde laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneyler, farklı kapsamlar ve farklı çalışma alanları için küresel düzeyde yürütülmektedir. Laboratuvar hayvanları, insanların ve diğer hayvanların patolojilerini modellemek, yeni farmasötik ürünler geliştirmek, aşı üretmek ve toksikolojik çalışmalar yapmak için kullanılmaktadır. Son raporlara göre, istatistikleri mevcut olan 37 ülke, 2015 yılında dünya çapında laboratuvar hayvanları üzerinde gerçekleştirilen 41,8 milyon deneysel prosedür bildirmiştir (Avrupa Birliği Direktifi 2010/63/EU'ya göre tanımlanmıştır; madde 3,1). Deney hayvanlarının en yaygın kullanımı, yaklaşık 20.496.670 prosedürlük çalışma ile Çin'de gerçekleşmiş olup, bunu her biri yaklaşık 15.000.000 prosedürlük bir sayıyla Japonya ve Amerika Birleşik Devletleri takip etmektedir. En yaygın kullanılan hayvanlar fareler ve sıçanlardır; bunları kuşlar, balıklar, sürüngenler, amfibiler ve kafadanbacaklılar takip etmektedir. Önemli ölçüde daha az köpek ve maymun kullanılmakta olup, bunların çoğu Çin ve Amerika Birleşik Devletleri'ndedir. Toplamda, verileri ileten 36 ülkede kullanılan köpek ve maymun sayısı sırasıyla 112.265 ve 92.431'dir. Başka bir istatistik raporuna göre, 2014 ve 2016 yılları arasında Avrupa'da laboratuvar hayvanları üzerinde gerçekleştirilen toplam prosedür sayısı yaklaşık 10.500.000 civarındadır (Petetta ve ark. 2021)

Avrupa'da, laboratuvar hayvanlarının araştırma amaçlı kullanımı ilk olarak 86/609EEC sayılı AB Direktifi ve daha yakın zamanda, bağımsız olarak beslenen larva formları, normal gelişim sırasında gebeliğin son üçte birlik kısmından itibaren memelilerin fetal formları ve canlı kafadanbacaklılar dahil olmak üzere tüm canlı insan olmayan omurgalı hayvanlara uygulanan 2010/63/EU Direktif ile düzenlenmiştir (Madde 1,3).(Petetta ve ark. 2021)

Toksikoloji Derneği (The Society of Toxicology, SOT), araştırmada kullanılan hayvan sayısını en aza indirirken doğrulanmış bilimsel bilgi elde etmeyi amaçlayan araştırmacı ve kuruluşlara destek vermektedir. Canlı organizmalar yerine hücre veya organ kültürleri kullanan laboratuvar testlerini içeren in vitro testler öncelikle desteklenmektedir. Bazı çalışmalarda, memeliler yerine solucanlar veya bakteriler gibi omurgasızlar kullanılmaktadır. Test sonuçlarını tahmin etmek için bilgisayar modelleri de geliştirilebilir. Ancak, bu yöntemlerin her biri çok özel testler olarak uygulanan sınırlı bilgiler sağlar ve birçok etkileşimli organ sistemine sahip karmaşık bir organizmadaki (insanlar gibi) sonuçları tam olarak öngöremeyebilir. Ayrıca, yöntemleri geliştirmek ve bunların diğer kabul görmüş yöntemlerin yerine geçebilecek uygun yöntemler olduğunu kanıtlamak zaman alıcıdır. On beş ABD kurumu, yeni testlerin bilimsel geçerliliği ve düzenleyici kabulü için kriterler belirlemek üzere Alternatif Yöntemlerin Doğrulanması için Kurumlararası Koordinasyon Komitesi (ICCVAM) olarak birlikte çalışmaktadır. Şimdiye kadar, fare yerel lenf nodu testi ve dermal korozivite testi gibi iki test, bazı tür hayvan testlerinin yerini alacak alternatifler olarak kabul edildi. Uluslararası alanda, önerilen yöntemlerin benzer incelemeleri devam etmektedir (Stokes ve ark. 2002).

6. SONUÇ

İlaç gelişim sürecinde, sağlıklı gönüllüler ve hastalar için tehlike tanımlama ve karakterizasyonda veri sağlamak üzere hayvan çalışmalarının devam edeceği öngörülmektedir. Büyük bir veri kaynağı sunmasına rağmen, daha yüksek organizmaların karmaşıklığını tamamen özetleyebilen alternatif in vitro sistemler henüz yeterli değildir. Tasarlanmış 3 boyutlu organ sistemlerinin geliştirilmesi, belirli organ sistemi toksisiteleri hakkında hipotez odaklı araştırmalar yürütmektedir. Tüm alternatif sistemler bilim

geliştikçe zamanla evrimleşeceklerdir, ancak yine de in vitro test sistemi, karmaşık biyokimyasal süreçlerden kaynaklanan toksisiteler için yanlış negatif değerlendirmelere neden olabilecektir. Karmaşık insan biyolojisinin güvenli ve etkili tedavilere dönüştürülmesi süreci, hayvan testlerinin kullanımını gerektirmeye devam edecektir (Mangipudy ve ark. 2014).

3R ilkeleri, laboratuvar hayvanlarının kullanımını düzenleyen mevcut yasalara ilham veren temel ilkelerdir. 3R kurallarında, yalnızca geçerli alternatifler mevcut olmadığında hayvan testlerini şart koşmaktadır. İn vivo testlere olası başlıca alternatifler, in vitro hücre ve doku kültürleri veya in silico bilgisayar destekli deneylerdir (Ranganatha ve Kuppast, 2012). Bu alternatif yöntemler gerçekten de biyomedikal araştırmalarda büyük ölçüde uygulanmaktadır ve bunların kullanımı laboratuvar hayvanlarının kullanımının azaltılmasına büyük katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, ilaç düzenleyici kurumlar genel olarak herhangi bir yeni ilacın, aşının veya tedavinin klinik aşamaya girmeden önce laboratuvar hayvanlarında test edilmesi zorunlu tutmaktadır (Krishna ve ark. 2014).

Talidomit'in dramatik deneyimi, ilaçların klinik öncesi testlerini düzenleyen yeni kılavuzların ve yasaların oluşturulmasını sağlamıştır. Örneğin, yeni kılavuzlar herhangi bir yeni molekülün veya aşının klinik aşamaya geçmeden önce en az iki farklı hayvan türü üzerinde test edilmesi gerektiğini şart koşmaktadır. Laboratuvar hayvanlarının optimum kullanımındaki ilerlemeler sayesinde, yeni ilaçların toksisitesi, geliştirme aşamasında tespit edilerek insanlar için riskler en aza indirilebilir. Son veriler, geliştirilmekte olan bileşiklerin yaklaşık %80'inin klinik aşamaya geçemediğini ve bunların yaklaşık %40'ının laboratuvar hayvanlarında tolerans eksikliği veya toksisite belirtileri bulunduktan sonra durdurulduğunu göstermektedir (Waring ve ark. 2015, Petetta ve ark. 2021)

Son yıllarda, laboratuvar hayvanlarının haklarını korumak adına birçok yenilikler yapılmıştır, ancak eldeki bilgi ve teknolojilere dayanarak, alternatif yöntemlerle değiştirerek canlı hayvan deneylerinden tamamen vazgeçmenin mümkün olmadığı da açıktır. Mevcut çalışmalar, hayvan deneylerinin biyomedikal araştırmaları ilerletmek için zorunlu olduğunu gerçeğini tarihsel ve etik yönleriyle açıklamaktadır, hem insan hem de veterinerlik ihtiyaçlarını karşılayan ilaç ve aşıların geliştirilmesi için bu çalışmaların devam edeceği öngörülmektedir (Petetta ve ark. 2021).

KAYNAKÇA

- ASTM, (1987). Standard Test Method for Estimating Acute Oral Toxicity in Rats. American Society for Testing and Materials, Philadelphia P.A, USA.
- Barrow, E.F. (1933). Age and resistance to ether in mice. *Proc Soc Exp Biol Med*, 30,1290–1292.
- Bracken, M.B. (2009) Why animal studies are often poor predictors of human reactions to exposure. *J R Soc Med*, 102(3),120-122.
- Brent, RL. (2004) Utilization of animal studies to determine the effects and human risks of environmental toxicants (drugs, chemicals, and physical agents). *Pediatrics*, 113(4 Suppl), 984-995.
- Dishaw, L., Yost, E., Arzuaga, X., Luke, A., Kraft, A., Walker, T., Thayer, K.(2020). A novel study evaluation strategy in the systematic review of animal toxicology studies for human health assessments of environmental chemicals. *Environ Int*, 141,105736.
- Fontana, F., Figueiredo, P., Martins, J.P., Santos, H.A. (2021). Requirements for Animal Experiments: Problems and Challenges. *Small*, 17(15), e2004182.
- Krishna, G., Goel, S., Krishna K.A. (2014). Chapter 7 - Alternative animal toxicity testing and biomarkers. *Biomark in Toxicol*, Edt. Gupta. R.C. Academic Press p, 129-147.
- Larson, H., Chan, E., Sudarsanam, S., Johnson, D.E. (2013). Biomarkers. *Methods Mol Biol*, 930, 253-273.
- Mangipudy, R., Burkhardt, J., Kadambi, V.J. (2014). Use of animals for toxicology testing is necessary to ensure

- patient safety in pharmaceutical development. *Regul Toxicol Pharmacol*, 70(2), 439-441.
- NIEHS, (2000). National Toxicology Research Program: Notice of Peer Review Meeting on the Revised Up-and-Down Procedure (UDP) as an Alternative Test Method for Assessing Acute Oral Toxicity. Request for Comments 65 FR 35109 June 1, 2000.
- OECD, (2000a). Guideline Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No. 24.
- OECD, (2000b). Guideline Document on the Recognition Assessment and Use of Clinical Signs as Human Endpoints for Experimental Animals used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No. 19.
- Petetta, F., Ciccocioppo, R. (2021). Public perception of laboratory animal testing: Historical, philosophical, and ethical view. *Addict Biol*, 26(6), e12991.
- Ranganatha, N., Kuppast, I.(2012). A review on alternatives to animal testing methods in drug development. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(SUPPL 5),28–32.
- Saganuwan, S.A., (2017). Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: An overview. *Bulg. J. Vet. Med*, 20,4, 291–318.
- Shanks, N., Greek, R., Greek, J. (2009). Are animal models predictive for humans? *Philos Ethics Humanit Med*, 4(2),1–20.
- Stafford, A., Weatherall, J.A. (1962). The survival of young rats in nitrogen. *J Physiol*, 153, 457–472.
- Stokes, W.S., Schechtman, L.M., Hill, R.N. (2002). The Interagency Coordinating Committee on the Validation of

- Alternative Methods (ICCVAM): a review of the ICCVAM test method evaluation process and current international collaborations with the European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM). *Altern Lab Anim*, 30 Suppl 2, 23-32.
- Van Norman, G.A. (2019). Limitations of Animal Studies for Predicting Toxicity in Clinical Trials: Is it Time to Rethink Our Current Approach? *JACC Basic Transl Sci*, 25,4(7), 845-854.
- Ward, P.A., Chapter 2 Animal and In Vitro Toxicity Testing." Krewzki D. National Research Council. 2006. Toxicity Testing for Assessment of Environmental Agents: Interim Report. Washington, DC: The National Academies Press. p 26-70.
- Waring, M., Arrowsmith, J., Leach, A.R., Leeson, P.D., Mandrell, S., Owen, R.M., Pairaudeau, G.,... &Weir, A. (2015). An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nat Rev Drug Discov*, 14, 475–486.
- Wax, P.M. (1995). Elixirs, diluents and the passage of the 1938 Federal Food, Drug and Cosmetics Act. *Ann Intern Med*, 122, 456-461.

GELİŞİMSEL TOKSİSİTE DEĞERLENDİRİLMESİNDE CİVCİV EMBRİYO MODELLERİ

Merve BECİT KIZILKAYA¹

1. GİRİŞ

Gelişimsel toksikoloji, gelişim döneminde maruz kalınan ksenobiyotiklerin embriyo/fetüs üzerindeki toksisitesini, farmakokinetiğini, toksisite mekanizmalarını ve patogenezi inceleyen bir bilimdir. Bu toksisite, intrauterin gelişim sırasında maruziyetin neden olduğu yapısal malformasyonlar, büyüme geriliği, işlevsel veya metabolik bozukluk, davranışsal anomaliler ve/veya organizmanın ölümünü kapsamaktadır (Rogers ve Kavlock, 2008). Günümüzde giderek artan sayıdaki kaçınılmaz kimyasal maruziyeti, gelişimsel toksisite taramasının önemini artırmaktadır.

Gelişimsel toksisite değerlendirmesinde hayvan modelleri, insan sağlığı üzerindeki potansiyel riskleri değerlendirmek için altın standart olarak kabul edilmektedir (Burbank ve ark., 2023). *In vitro* testler, toksisite mekanizmalarının aydınlatılmasında önemli bilgiler sağlasa da, kompleks bir organizmadaki etkileşimleri tam olarak yansıtamamaktadır. Hayvan modelleri farklı doku ve organlar arasındaki etkileşimleri, farmakokinetik süreçleri ve kronik etkileri değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Bununla birlikte hayvan refahı, etik kaygılar ve yüksek maliyetler nedeni ile

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, merve.becit@afsu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-8084-4419

alternatif yöntemlerin geliştirilmesi ve hayvan kullanımının azaltılması önemli bir hedeftir (Piersma, 2006). Bu bağlamda, civciv embriyo modelleri faydalı bir alternatif olarak ortaya çıkmaktadır (Ghimire ve ark., 2022).

Civciv embriyo modelleri, gelişimsel toksisite taramasında birçok avantaj sunmaktadır. Memeli olmayan bir model olarak civciv embriyoları, etik kaygıları en aza indirirken düşük üretim ve barındırma maliyeti, hızlı gelişim süreçleri, manipülasyon kolaylığı gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Ayrıca, moleküler, hücresel ve anatomik düzeylerde insan embriyosu ile benzerlikler paylaşmaktadır. Böylelikle, gelişimsel toksisite mekanizmalarını anlamada ve risk değerlendirmesinde bu model değerli bir araç olarak görülmektedir (Acharya ve ark., 2024; Fraga ve ark., 2024).

Bu bölüm, gelişimsel toksisite taramalarında civciv embriyosunun deneysel bir model olarak önemini ve yeni yaklaşım metodolojilerinin dahil edilmesini vurgulamaktadır. Ek olarak, bu modelinin kullanılmasıyla ilişkili çeşitli avantajları ve sınırlılıkları tartışmaktadır.

2. CİVCİV EMBRİYO: GELİŞİM VE ANATOMİ

Civciv embriyosunun biyolojik özellikleri, onu iki bini aşkın bir süreye yayılan çok yönlü bir deneysel model haline getirmiştir. Tarih boyunca bu model, özellikle embriyonik oluşumun karmaşık sürecine yanıt aramıştır (Xie ve ark., 2020).

2.1.Civciv Embriyosunun Gelişim Evreleri

Civciv embriyosu, yumurtadan çıkana kadar (1 gün tavuk vücudunda yumurtalama dönemi ve 21 günlük kuluçka süresi) belirli gelişim evrelerinden geçmektedir. Hamburger ve Hamilton (1951/1992) tarafından ayrıntılı olarak açılanan 46 evre, embriyonik gelişimin morfolojik özelliklerine dayanmaktadır.

Evre 1’de zigot oluşurken, Evre 46’da civciv yumurtadan çıkmaya hazır olmaktadır. Her evre, embriyonun belirli anatomik yapılarının oluşumu ve farklılaşması ile karakterizedir (Hamburger ve Hamilton, 1951/1992). Örneğin, Evre 8’de somitler ve Evre 13’de nöral tüp kapanması görülürken Evre 18’de farklılaşmış organlar belirginleşmektedir (Davey ve Tickle, 2007).

Hızlı embriyonik gelişim, civciv embriyosunu oldukça verimli bir model organizma yapmaktadır. Hamburger ve Hamilton (1951/1992) tarafından ortaya konulan gelişim aşamaları sistemi, civciv embriyosu gelişimini incelemek için sağlam bir çerçeve oluşturmuştur. Bununla birlikte, diğer hayvan türleri ve insan gelişimi ile anlamlı karşılaştırmalar yapılmasını sağlayarak gelişimsel toksisite araştırmalarını kolaylaştırmaktadır (Acharya ve ark., 2024; Li ve ark., 2022).

2.2.Organogenez ve Morfolojik Farklılaşma

Civciv embriyosunda, erken dönemde üç embriyonik tabaka (ektoderm, mezoderm ve endoderm) oluşmaktadır. Bu tabakalar embriyonik indüksiyon, hücre farklılaşması ve apoptoz süreçleri ile organogenez sürecine katkıda bulunmaktadır. Örneğin, nöral tüp ektodermden, kalp mezodermden ve bağırsak ise endodermden gelişmektedir. Civciv embriyosu, memeli embriyolarına benzer şekilde, embriyonik tabakaların oluşumu ve organogenez süreçlerini geçirmektedir. Bu benzerlik, modelin değerini desteklemekte ve gelişimsel toksisite araştırmalarında kullanılabilirliğini artırmaktadır (Acharya ve ark., 2024; Stern, 2005).

2.3.Civciv Embriyosunun Anatomik Özellikleri

Civciv embriyosu yumurta içinde amniyotik, allontoik ve vitelin keseler ile çevrilidir. Bu keseler, embriyonun gelişimi için gerekli besin, gaz değişimi ve atık uzaklaştırma işlevlerini yerine getirmektedir. Embriyonun kendisi, baş, gövde ve ekstremiteler

tomurcuklarından oluşmaktadır. Erken dönemde embriyonun dorsal yüzeyinde primitif çizgi ve nöral tüp görülmektedir. Gelişim ilerledikçe, embriyoda somitler, farinkeal arklar ve organlar belirginleşir. Cıvciv embriyosu, yumurtadan çıkmadan önce, tüylü ve gözleri açık bir görünüme sahiptir (Hamburger ve Hamilton, 1951/1992).

Cıvciv anatomik yapıları ve gelişimsel toksisite çalışmasındaki önemleri Tablo 1’de özetlenmiştir (Acharya ve ark., 2024).

Tablo 1. Cıvciv Anatomik Yapıları ve Gelişimsel Toksisitedeki Önemleri

Anatomik Yapı	Gelişimsel Toksisitedeki Önemi
Yumurta kabuğu	Maruziyet kontrolü için bir bariyer oluşturduğundan kirleticilerin embriyoyu etkilemesini önler.
Yolk (yumurta sarısı) kesesi	Maternal metabolizmadan bağımsız olarak embriyoya doğrudan hayati besin maddeleri sağladığından, test maddelerinin maternal müdahale olmadan doğrudan etkilerinin incelenmesini kolaylaştırır.
Koriyoallantoik membran (CAM)	Vasküler gelişim ve anjiyogenez oluşumunun gözlemlenmesine olanak tanır.
Embriyo	Teratojenite testinin birincil odak noktası olup, test maddelerine maruziyetin gelişim ve morfoloji üzerindeki olası toksisitenin değerlendirilmesine olanak tanır.
Ekstraembriyonik membranlar (Amnion, allantois, koryon)	Membranlar üzerindeki teratojenik etkiler embriyonik gelişimi etkileyebilir.
Kalp ve damarlar	Kalp morfolojisi ve kan damarı oluşumunun değerlendirilmesine olanak tanır.
Beyin ve sinir sistemi	Nörotoksisite, nörodavranışsal ve histolojik analiz ile ksenobiyotiklerin nörogelişimsel etkilerini değerlendirilmesine olanak tanır.
Bağışıklık sistemi (Timus ve Bursa fabricius)	Bağışıklık sistemi gelişimi ve immünotoksisitenin değerlendirilmesine olanak tanır.
İskelet sistemi	İskelet sistemi üzerindeki toksisitenin değerlendirilmesine olanak tanır.

Kaynak: (Acharya ve ark., 2024)

3. KULLANIM ALANLARI

3.1. İlaç Geliştirme ve Toksisite Testleri

Civciv embriyo modelleri, ilaç geliştirme sürecinde toksisite testleri için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modeller, ilaç adaylarının embriyotoksik, teratojenik ve gelişimsel toksisite potansiyelini değerlendirmede yüksek bir tahmin değerine sahiptir (Acharya ve ark., 2024; Ghimire ve ark., 2022).

Civciv embriyo modelleri, ilaçların kritik bir dönem olan organogenez üzerindeki etkilerini incelemek için kapsamlı bir anlayış geliştirmede etkilidir (Fraga ve ark., 2024). Seo ve arkadaşları (2009) teratojen olduğu bilinen dietilstilbestrolün civciv embriyoları üzerindeki gelişimsel etkilerini araştırarak modelin etkinliğini vurguladıkları araştırmalarında, iskelet deformiteleri ve organların yapısal ve fonksiyonel bozukluğu gibi çeşitli gelişimsel anormallikleri göstermişlerdir.

Civciv embriyo modeli, doz-yanıt analizi (Letal doz “LD₅₀”, Olumsuz etki gözlemlenmeyen en yüksek doz değeri “NOAEL” ve Olumsuz etki gözlenen en düşük doz değeri LOAEL dahil olmak üzere) için kritik role sahip bir model olarak görülmektedir (Acharya ve ark., 2024). Ma ve arkadaşları (2016) kafein, nikotin ve alkol gibi farklı ilaç konsantrasyonlarına maruz bırakılan civciv embriyolarında, yüksek dozların küçülmüş vücut boyutu, bozulan organ gelişimi ve nörotoksisite gibi gelişimsel anomalilere neden olduğunu bildirmiştir.

Civciv embriyosu koriyoallantorik membran (CAM) modeli, vasküler gelişimi izleyerek kardiyovasküler araştırmalarda ve antikanser ilaçların etkinliğini ve güvenliğini test etmek için ve bunun yanı sıra immünotoksisite testlerinde kullanılabilir (Vargas ve ark., 2007; Chu ve ark., 2022; Garcia ve ark., 2021). Kue ve arkadaşları (2015) yeni bir kanser önleyici ilacın tümör büyümesi ve metastazı üzerindeki etkilerini etkili bir şekilde değerlendirerek civciv embriyosu modelinin potansiyelini

göstermiştir. Maugeri ve arkadaşları (2022), civciv embriyolarının CAM'ına enjekte ettiği retinoik asidin anjiyogenezde önemli anomalilere yol açtığını bildirmiştir.

Parkinson ve bazı nörogelişimsel bozukluklarına yönelik ilaç geliştirme araştırmalarında da civciv embriyo modelinin avantajları vurgulanarak kemirgen modellerine bir alternatif olarak önerilmiştir (Potashkin ve ark., 2011; Prasad ve ark., 2023). Bu çalışmalar, civciv embriyo modelinin ilaç geliştirme araştırmalarındaki çok yönlülüğünü ve uygulanabilirliğini örneklemektedir.

3.2. Çevresel Kirleticilerin Değerlendirilmesi

Civciv embriyo modelleri, çevresel kirleticilerin gelişimsel toksisite potansiyelini değerlendirmek için de kullanılmaktadır. Pestisitler, ağır metaller, endokrin bozucular gibi çevresel kirleticilere maruz kalan civciv embriyoları, teratojenik etkileri, büyüme geriliğini ve diğer gelişimsel anomalileri sergileyebilmektedir (Ghimire ve ark., 2022). Chandra Sekaran ve arkadaşları (2023) bir organofosfat insektisiti olan klorpirifos ve metaboliti maruziyetinin civciv embriyosunda uzun kemik büyüme plakası kıkırdağında kondrogenezi değiştirdiğini ve kemikleşmeyi engellediğini bildirmiştir. Atay ve arkadaşları (2020), günlük hayatta sıklıkla kullanılan pek çok maddenin üretiminde yer alan endokrin bozucu bir madde olan bisfenol A'nın erken dönem (48 saatlik) civciv embriyolarında sinir sistemi ve nöral tüp gelişimini olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Bu model, çevresel kirleticilerin mekanizmalarını anlamak ve risk değerlendirmesi için değerli bilgiler sağlamaktadır.

3.3. Teratojenite Çalışmaları

Talidomid, toksisite test metodolojilerinde önemli değişikliklere yol açmıştır. 1960'ların başında doğan 10.000'den fazla bebek, talidomid maruziyeti nedeni ile nadir ve ciddi

konjenital anomaliler ile dünyaya gelmiştir. Teratoloji testleri için *in vivo* araştırmalardaki ilerlemenin zaman çizelgesi, gelişen bilimsel durumu ve düzenleyici ihtiyaçları vurgulamaktadır (Burbank ve ark., 2023; Fraga ve ark., 2024).

Civciv teratolojisi çalışmaları, bazı ilaçların teratojenite risk değerlendirmesinde yaygın kullanılmaktadır (Ertekin ve ark., 2019; Bilir ve ark., 2023). Öte yandan, bu modelin bir diğer dikkat çekici yönü ise teratojenlerin uzun dönem (prenatal maruziyet) etkilerini incelemede uygulanabilirliğidir (Acharya ve ark., 2024; Miller ve ark., 1989). Bu modeller, teratojenik mekanizmaları aydınlatmak ve önleyici stratejilerin geliştirilmesi için önemlidir. (Beedie ve ark., 2016; Wachholz ve ark., 2021).

3.4. Mekanistik Toksikoloji Araştırmaları

Civciv embriyo modelleri, hücresel ve moleküler düzeyde toksisite mekanizmalarını incelemeye olanak tanımaktadır. Hücre farklılaşması, apoptoz, sinyal yolları ve gen ekspresyonu gibi süreçler, civciv embriyolarında incelenebilmektedir. Örneğin, bir gıda kirleticisi olan akrilamidin erken dönem civciv embriyolarında nöral tüp gelişimini proliferasyon ve apoptoz indüksiyonunu baskılayarak ve ilgili gen ekspresyonunu azaltarak geciktirdiği bildirilmiştir (Becit-Kızılkaya ve ark., 2024). Bu model, toksisite mekanizmalarına dair yeni perspektif sağlayarak daha güvenli kimyasalların ve ilaçların geliştirilmesine katkı sağlayabilmektedir (Bilir ve ark., 2023; Fraga ve ark., 2024).

4. DENEY TASARIMI VE METODOLOJİ

4.1. Embriyo Kültürü Teknikleri

Civciv embriyo modellerinde deney tasarımı, uygun embriyo kültürü tekniklerinin seçimi ile başlamaktadır. *In ovo* kültürde, embriyolar yumurta kabuğunda bir açıklık oluşturularak

inkübe edilir ve gelişimleri gözlemlenir. *Ex ovo* kültürde ise embriyolar yumurtadan çıkarılır ve yapay bir kültür ortamında büyütülür. *Ex ovo* kültür, embriyoların manipülasyonu ve gözlemlenmesini kolaylaştırır ancak *in ovo* kültüre kıyasla daha yüksek bir teknik uzmanlık gerektirmektedir (Pastorino ve ark., 2023; Stern, 2005). Test edilen maddenin güvenliğini ve etkinliğini doğru bir şekilde değerlendirmek için farklı gelişimsel aşamaları göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Gelişimsel süreçlerdeki farklılıklar ve toksisiteye karşı duyarlılık, sonuçları etkileyebilmektedir (Acharya ve ark., 2024).

4.2. Maruziyet Yolları ve Dozaj Rejimleri

Civciv embriyo modellerinde, test edilen maddelere maruziyet yolları ve dozaj rejimleri çalışmanın amacına bağlı olarak değişmektedir. Yaygın maruziyet yolları arasında yumurta içine subblastodermik enjeksiyon, koriyoallantorik membran (CAM) üzerine uygulama ve embriyo kültür ortamına ekleme yer almaktadır (Vargas ve ark., 2007). Dozaj rejimleri, akut veya kronik maruziyet, tek doz veya tekrarlayan dozlar şeklinde olabilmektedir. Doz seçimi, test edilen maddenin fizikokimyasal, toksikodinamik ve toksikokinetik özelliklerine dayanmalıdır (Acharya ve ark., 2024).

4.3. Kullanılan Belirteçler ve Analizler

Civciv embriyo modellerinde, gelişimsel toksisite çalışmaları için uygun belirteçlerin seçimi önemlidir. Embriyoletalite, malformasyonlar, büyüme geriliği, histopatolojik değişiklikler ve fonksiyonel bozukluklar yaygın olarak değerlendirilen bulgular arasındadır. Verilerin değerlendirilmesi, morfolojik inceleme, histopatolojik analizler, görüntüleme teknikleri, moleküler ve biyokimyasal analizler, davranışsal ve fonksiyonel testler gibi çeşitli yöntemler ile yapılabilmektedir (Acharya ve ark., 2024; Becit-Kizilkaya ve ark., 2024; Bilir ve ark., 2023).

Civciv embriyolarındaki gelişimsel toksisitenin değerlendirilmesi için çeşitli yaklaşımlar ve özellikleri Tablo 2’de detaylandırılmıştır (Acharya ve ark., 2024).

Tablo 2. Civciv Embriyosunda Kullanılan Gelişimsel Toksikite Yöntemleri

Gelişimsel Toksikite Yöntemleri			
Alt tip	Metot	Avantaj	Dezavantaj
Embriyo/Fetal Gelişim			
Embriyonik maruziyet (In ovo)	Yumurta kabuğu ile embriyoya maddelerin mikroenjeksiyonu	Embriyonik gelişimin kapsamlı değerlendirmesini	Kontrollü ortam gerekliliği
Maternal maruziyet	Anneye (tavuk) maddelerin uygulanması	Anne-fetüs transferinin doğrudan değerlendirilmesi	Zaman alıcı
Nörogelişimsel Testler			
Civciv beyin testi	Beyin yapısı ve sinirsel gelişimin incelenmesi	Nörogelişimin spesifik değerlendirmesi	Yoğun emek gerektirmesi
Civciv kalp testi	Kalp gelişimi ve dolaşım sisteminin değerlendirilmesi	Kalp ve dolaşım gelişiminin doğrudan gözlemlenmesi	Değerlendirmelerin teknik uzmanlık gerektirmesi
Vasküler Gelişim Testi			
Civciv CAM testi	Korioallantoik membrana maddelerin uygulanması	Vasküler bozucuların test edilmesi için uygun	Özel deneysel koşul gerektirmesi
Civciv Kan Damarı testi	Damar oluşumu ve fonksiyonunun incelenmesi	Damar gelişiminin doğrudan değerlendirilmesi	Yoğun emek ve zaman gerektirmesi
Bağıklık Sistemi Testi			
Civciv Timus ve Bursa fabricus testi	Timüs ve Bursa fabricus gelişiminin değerlendirilmesi	İmmünotoksisitenin değerlendirilmesi	İmmünotoksik maddeler ile sınırlı

Kaynak: (Acharya ve ark., 2024)

4.4. Veri Analizi ve İstatistiksel Yaklaşımlar

Civciv embriyo modellerinden elde edilen verilerin analizi ve yorumlanması, istatistiksel yaklaşımların doğru kullanımını gerektirmektedir. Yaygın olarak kullanılan istatistiksel yöntemler arasında tanımlayıcı istatistikler, hipotez testleri (t testi, ANOVA gibi), doz-yanıt modelleri ve regresyon analizleri yer almaktadır. İstatistiksel analizler, gruplar arasındaki farkları, doz-yanıt ilişkilerini ve etkinin büyüklüğünü değerlendirmek için kullanılmaktadır (Festing, 2006).

5. AVANTAJ VE SINIRLILIKLARI

Civciv embriyo modeli, etik kaygıları en aza indirirken hızlı gelişim göstermesi, maliyet etkinliği ve toksisite mekanizmalarının değerlendirilebilmesi gibi avantajlar sağlamaktadır. Ancak tür farklılıkları, metabolik ve gelişimsel farklılıklar, insanlara ekstrapolasyonu sınırlandırmaktadır (Fraga ve ark., 2024; Nie ve ark., 2022). Bu toksisitenin değerlendirilmesinde kullanılan *in vivo* modellerin özellikleri civciv embriyo modeli ile karşılaştırmalı olarak Tablo 3’de gösterilmiştir (Acharya ve ark., 2024; Burbank ve ark., 2023).

5.1. Etik ve Hayvan Refahı

Civciv embriyoları, erken gelişim evrelerinde ağrı ve stres algısından yoksun olduğundan etik kaygısını en aza indirir. Bu durum memeli modellerine kıyasla daha geniş bir deneysel manipülasyon ve örneklem imkanı sağlamaktadır. Öte yandan anatomik yapısı, civciv embriyosu elde etmek için annenin ötenazisini gerektirmediğinden, araştırmalarda hayvanların değiştirilmesini, iyileştirilmesini ve azaltılmasını savunan “3Rs” ilkelerini desteklemektedir (Barnett ve ark., 2022; Ribeiro ve ark., 2022). Ancak, civciv embriyolarının kullanımı, yine de hayvan

refahı düzenlemelerine tabidir ve deney protokolleri etik kurullar tarafından onaylanmalıdır.

Tablo 3. Gelişimsel Toksisite Değerlendirmesi İçin Cıvciv Embriyo Modeli ile Çeşitli *in-vivo* Embriyo Modellerin Karşılaştırılması

Model	Avantaj	Dezavantaj	Diğer Özellikler
Fare	- İnsanlarla yüksek genetik/fizyolojik benzerlik - Yerleşik protokol	- Etik endişeler - Yüksek maliyet	- Yaygın kullanılan memeli modeli
Sıçan	- İnsanlarla yüksek fizyolojik benzerlik - Daha fazla örnek materyal	- Etik endişeler - Yüksek maliyet	- Araştırmaların sonlamın noktası için değerli
Zebra balığı	- Hızlı çoğalma ve gelişim - Gözlem kolaylığı	- Sınırlı doku - Memeli değil	- Erken gelişimsel çalışmalar için uygun
Kurbağa	- Manipülasyon kolaylığı	- Düşük verim - Düşük memeli benzerliği	- Gen ekspresyon çalışmaları için değerli
Drosophila	- Hızlı gelişim ve genetik araçlar mevcut - Maliyet etkin	- Karmaşık genetik arkaplan - Düşük memeli benzerliği	- Genetik ve gelişimsel çalışmalar için uygun
<i>C. elegans</i>	- Basit sinir sistemi ve şeffaf embriyo - Mevcut genetik araçlar	- Düşük memeli benzerliği	- Temel biyolojik ve genetik çalışmalar için uygun
Tavşan	- İnsanlarla yüksek fizyolojik benzerlik - Kapsamlı gebelik gelişimi	- Etik endişeler - Yüksek maliyet	- Belirli üreme çalışmaları için uygun
Hamster	- İnsanlarla yüksek fizyolojik benzerlik - Maliyet etkin	- Etik endişeler - Sınırlı kaynak	- Belirli üreme çalışmaları için uygun
Kobay	- İnsanlarla yüksek fizyolojik benzerlik - Kapsamlı gebelik gelişimi	- Etik endişeler - Sınırlı kaynak	- Belirli üreme çalışmaları için uygun
İnsan embriyonik kök hücre	- İnsan gelişimi ile doğrudan ilgili - Kontrollü <i>in vitro</i> ortam	- Etik endişeler - Sınırlı <i>in vivo</i> bağlam	- Hücre tabanlı gelişimsel çalışmaları için uygun

Kaynak: (Acharya ve ark., 2024)

5.2.Deneysel Koşullar

Civciv embriyoları manipülasyona ve bakıma oldukça uygundur ve araştırmacılara gerçek zamanlı olarak büyük ve kolayca gözlemlenebilir bir model sunmaktadır. Maliyet açısından uygundur ve döllenmiş spesifik patojen içermeyen yumurtalar kolay bulunabilmektedir. Bu özellikleri, civciv embriyosunu bilimsel araştırmalarda bir köşe taşı olarak sağlamlaştırmıştır ve gelişimsel toksisiteye dair önemli veriler sunmasına olanak sağlamıştır (Barnett ve ark., 2022; Ribeiro ve ark., 2022).

5.3.Tür Farklılıkları ve İnsanlara Ekstrapolasyon

Civciv embriyo modelleri, *in vitro* toksisite testleri ile *in vivo* koşullar arasında bir köprü görevi görmektedir. Bu modeller, hücre kültürü sistemlerine kıyasla, fizyolojik olarak daha uygun bir ortam sağlar ve organizmadaki kompleks etkileşimleri daha fazla yansıtmaktadır. Ancak civciv embriyolarının gelişimsel farklılıkları ve metabolik özellikleri, elde edilen bulguların insanlara doğrudan ekstrapolasyonunu sınırlandırabilmektedir (Acharya ve ark., 2024; Fraga ve ark., 2024; Ghimire ve ark., 2022)

Civcivler memeli olmayan bir tür olduğundan bazı gelişimsel süreçler ve toksisite mekanizmaları insanlardan farklılık gösterebilir. Örneğin, döllenme ve erken gelişim olayları tavuğun vücudu içinde gerçekleşmekte ve yumurta kabuğu yumurtlamadan önce üretilmektedir. Bu, özellikle kemirgenler ile kıyasla genetik işlenebilirlik açısından belirli sınırlamalara neden olmaktadır (Acharya ve ark., 2024). Bir diğer farklılık örneği ise civciv embriyoları plasentaya sahip değildir ve bazı metabolik enzimler insanlardan farklı olabilir (Nie ve ark., 2022). Bu farklılıklar, elde edilen bulguların insanlara ekstrapolasyonunu etkileyebilmektedir. Ancak civcivler ve insanlar arasındaki genetik benzerlikler ve temel gelişimsel süreçlerdeki ortaklıklar,

civciv embriyo modellerinin insan gelişimsel toksisitesini anlamada değerli bir araç olduğu göstermektedir (Acharya ve ark., 2024).

5.4. Alternatif ve Valide Yöntemler ile Entegrasyon

Civciv embriyo modelleri, toksisite testlerinde hayvan kullanımını azaltmak için alternatif yöntemler ile entegre edilebilir. Örneğin, *in silico* modeller ve *in vitro* testler, civciv embriyo modellerinden elde edilen veriler ile birleştirilerek, toksisite değerlendirilmesinin etkinliği artırılabilir. Ayrıca civciv embriyo modelleri, çip üstü organ platformları “*organ-on-a-chip*” sistemleri gibi ileri *in vitro* modellerin geliştirilmesine ve doğrulanmasına katkı sağlayabilir. Yüksek verimli tarama platformları ve omik teknolojiler (transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi) gibi alternatif yöntemler ile entegrasyon, hayvan kullanımını azaltırken toksisite değerlendirilmesinin güvenilirliğini ve verimliliğini artırabilir. Ek olarak, düzenleyici toksisite testlerinde kullanımının artması için, yöntemin validasyonu ve standardizasyonu önemli bir adımdır. Uluslararası kabul görmüş test protokollerinin geliştirilmesi ve farklı laboratuvarlar arasında tekrarlanabilirlik çalışmalarının yapılması önemlidir (Acharya ve ark., 2024; Burbank ve ark., 2023; Fraga ve ark., 2024).

6. SONUÇ

Civciv embriyo modelleri, gelişimsel toksisite çalışmalarında geleneksel hayvan test yöntemlerine değerli bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Bu modeller, etik kaygıları azaltması, maliyet etkinliği, hızlı sonuç vermesi ve insan gelişim süreçlerine benzerliği gibi avantajlara sahiptir. Civciv embriyoları, teratojen taramasında, nörotoksitenin değerlendirilmesinde, çeşitli kimyasalların gelişimsel toksisitesinin araştırılması gibi çeşitli uygulamalarda başarı ile

kullanılmıştır (Chu ve ark., 2022; Ertekin ve ark., 2019; Ghimire ve ark., 2022; Pastorino ve ark., 2023). Yeni yaklaşım metodolojilerinin uygulanması, bu modelin hassasiyetini ve verimliliğini önemli ölçüde iyileştirmiştir (Barnett ve ark., 2022; Burbank ve ark., 2023). Bu yenilikçi yaklaşımların sürekli iyileştirilmesi ve yapay zeka öğrenimindeki ilerlemelerin gelişimsel toksisite değerlendirmelerinin doğruluğunu ve verimliliğini artırması beklenmektedir. Bununla birlikte, bu modelin gelişimsel toksisite taramasında daha yaygın olarak kullanılması için bazı sınırlılıkların aşılması gerekmektedir. Önemli bir sınırlama, sonuçların insanlara ekstrapolasyonunu etkileyebilecek plasenta ve maternal metabolizmanın olmamasıdır. Bu sınırlamaların üstesinden gelebilmek için, plasenta perfüzyonu veya maternal hücreler ile birlikte kültür sistemleri gibi maternal-fetal etkileşimlerin yönlerini içeren tamamlayıcı modeller geliştirilebilir. Yine de, insan gelişiminin karmaşıklıkları da göz önünde bulundurularak, bu modelden elde edilen verileri insan verileri ile doğrulanmaya devam etmeli ve kapsamlı risk değerlendirmesi için diğer ilgili modellerden elde edilen bulgular ile korelasyon sağlanmalıdır.

Sonuç olarak, civciv embriyo modelleri, gelişimsel toksisite taramasında hayvan kullanımını azaltmak ve insan sağlığını korumak için umut verici bir alternatif yöntemdir. Bu modellerin geliştirilmesi, diğer alternatif yöntemler ile entegrasyonu ve optimizasyonu için yapılacak araştırmalar, risk değerlendirme sürecini daha etkin, hızlı ve güvenilir hale getirecektir.

KAYNAKÇA

- Acharya, B., Dey, S., Sahu, P.K., Behera, A., Chowdhury, B., & Behera, S. (2024). Perspectives on chick embryo models in developmental and reproductive toxicity screening. *Reprod Toxicol*, 126, 108583.
- Atay, E., Ertekin, A., Bozkurt, E., & Aslan, E. (2020). Impact of Bisphenol A on neural tube development in 48-hr chicken embryos. *Birth Defects Res*, 112(17), 1386-1396.
- Barnett, S.E., Herrmann, A., Shaw, L., Gash, E.N., Poptani, H., Sacco, J.J., & Coulson, J.M. (2022). The Chick Embryo Xenograft Model for Malignant Pleural Mesothelioma: A Cost and Time Efficient 3Rs Model for Drug Target Evaluation. *Cancers (Basel)*, 14(23), 5836.
- Becit-Kizilkaya, M., Oncu, S., Bilir, A., Atay, E., Soylemez, E.S.A., Firat, F., & Aladag, T. (2024). Effect of post-gastrulation exposure to acrylamide on chick embryonic development. *Toxicol Appl Pharmacol*. 489, 117011.
- Beedie, S.L., Mahony, C., Walker, H.M., Chau, C.H., Figg, W.D., & Vargesson, N. (2016). Shared mechanism of teratogenicity of anti-angiogenic drugs identified in the chicken embryo model. *Sci Rep*, 6, 30038.
- Bilir, A., Aslan, E., Horata, E., Guzel, H., Atay, E., Turamanlar, O., & Ertekin, T. (2023). Use of AgNOR staining to determine the effect of metoclopramide on neural tube development in early chick embryos. *Biotech Histochem*, 98(5), 306-313.
- Burbank, M., Gautier, F., Hewitt, N., Detroyer, A., Guillet-Revol, L., Carron, L., ... & Ouédraogo, G. (2023). Advancing the use of new approach methodologies for assessing teratogenicity: Building a tiered approach. *Reprod Toxicol*, 120, 108454.

- Chandra Sekaran, S.P., Thotakura, B., Jyothi, A.K., Manickam, S., Chanemougavally, J., Prabhu, K., & Gopalan, D.H. (2023). Effect of chlorpyrifos and its metabolites on skeletal system development of chick embryo. *Birth Defects Res*, 115(11), 1063-1078.
- Chu, P.Y., Koh, A.P., Antony, J., & Huang, R.Y. (2022). Applications of the Chick Chorioallantoic Membrane as an Alternative Model for Cancer Studies. *Cells Tissues Organs*, 211(2), 222-237.
- Davey, M.G., & Tickle, C. (2007). The chicken as a model for embryonic development. *Cytogenet Genome Res*. 117(1-4), 231-9.
- Ertekin, T., Bilir, A., Aslan, E., Koca, B., Turamanlar, O., Ertekin, A., & Albay, S. (2019). The effect of diclofenac sodium on neural tube development in the early stage of chick embryos. *Folia Morphol (Warsz)*, 78(2), 307-313.
- Festing, M.F. (2006). Design and statistical methods in studies using animal models of development. *ILAR J*. 47(1), 5-14.
- Fraga, L.R., de Oliveira, M.R., Wermann, K.M., & Vargesson, N. (2024). Assessment of the Teratogenic Effect of Drugs on the Chicken Embryo. *Methods Mol Biol*, 2753, 251-260.
- Garcia, P., Wang, Y., Viallet, J., & Macek Jilkova, Z. (2021). The Chicken Embryo Model: A Novel and Relevant Model for Immune-Based Studies. *Front Immunol*, 12, 791081.
- Ghimire, S., Zhang, X., Zhang, J., & Wu, C. (2022). Use of Chicken Embryo Model in Toxicity Studies of Endocrine-Disrupting Chemicals and Nanoparticles. *Chem. Res. Toxicol*, 35(4), 550-568.
- Hamburger, V., & Hamilton, H.L. (1992). A series of normal stages in the development of the chick embryo. 1951. *Dev. Dyn.*, 195(4), 231-272.

- Kue, C.S., Tan, K.Y., Lam, M.L., & Lee, H.B. (2015). Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM): an alternative predictive model in acute toxicological studies for anti-cancer drugs. *Exp Anim.*, 64(2), 129-38.
- Li, D., Ning, C., Zhang, J., Wang, Y., Tang, Q., Kui, H., ... & Li, M. (2022). Dynamic transcriptome and chromatin architecture in granulosa cells during chicken folliculogenesis. *Nat Commun*, 13(1), 131.
- Ma, Z.L., Wang, G., Lu, W.H., Cheng, X., Chuai, M., Lee, K.K., & Yang, X. (2016). Investigating the effect of excess caffeine exposure on placental angiogenesis using chicken 'functional' placental blood vessel network. *J Appl Toxicol*, 36(2), 285-95.
- Maugeri, A., Lombardo, G.E., Navarra, M., Cirmi, S., & Rapisarda, A. (2022). The chorioallantoic membrane: A novel approach to extrapolate data from a well-established method. *J Appl Toxicol.*, 42(6), 995-1003.
- Miller, L.G., Roy, R.B., Weill, C.L., & Lopez, F. (1989). Persistent alterations in GABAA receptor binding and function after prenatal lorazepam administration in the chick. *Brain Res Bull*, 23(3), 171-4.
- Nie, R., Zheng, X., Zhang, W., Zhang, B., Ling, Y., Zhang, H., & Wu, C. (2022). Morphological Characteristics and Transcriptome Landscapes of Chicken Follicles during Selective Development. *Animals (Basel)*, 12(6), 713.
- Pastorino, N.G., Tomatsu, S., Lin, A., Doerr, J., Waterman, Z., Sershen, K., ..., & Galileo, D.S. (2023). Using the Chick Embryo Brain as a Model for In Vivo and Ex Vivo Analyses of Human Glioblastoma Cell Behavior. *J Vis Exp*, 26(195).

- Piersma, A.H. (2006). Alternative methods for developmental toxicity testing. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 98(5), 427-31.
- Potashkin, J.A., Blume, S.R., & Runkle, N.K. (2010). Limitations of animal models of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis*, 2011, 658083.
- Prasad, T., Iyer, S., Chatterjee, S., & Kumar, M. (2023). In vivo models to study neurogenesis and associated neurodevelopmental disorders-Microcephaly and autism spectrum disorder. *WIREs Mech Dis*, 15(4):e1603.
- Ribeiro, L.N.M., Schlemper, A.E., da Silva, M.V., & Fonseca, B.B. (2022). Chicken embryo: a useful animal model for drug testing? *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 26(13), 4828-4839.
- Rogers, J.M., & Kavlock, R.J. (2008). Developmental toxicology. In Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons (8th ed., 481-526) McGraw-Hill.
- Seo, H.W., Park, K.J., Lee, H.C., Kim D.Y., Song, Y.S., Lim, J.M., ..., & Han, J.Y. (2009). Physiological effects of diethylstilbestrol exposure on the development of the chicken oviduct. *J. Anim. Sci. Technol*, 51(6), 485–492.
- Stern, C.D. (2005). The chick; a great model system becomes even greater. *Dev Cell*, 8(1):9-17.
- Vargas, A., Zeisser-Labouèbe, M., Lange, N., Gurny, R., & Delie, F. (2007). The chick embryo and its chorioallantoic membrane (CAM) for the in vivo evaluation of drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev*, 59(11), 1162-76.
- Wachholz, G.E., Rengel, B.D., Vargesson, N., & Fraga, L.R. (2021). From the Farm to the Lab: How Chicken Embryos Contribute to the Field of Teratology. *Front Genet*, 12, 666726.

Xie, W.Y., Pan, N.X., Zeng, H.R., Yan, H.C., Wang, X.Q., & Gao, C.Q. (2020). Comparison of nonlinear models to describe the feather growth and development curve in yellow-feathered chickens. *Animal*, 14(5), 1005-1013.

GIDA KAYNAKLI BİR TOKSİN: AKRİLAMİD

Nisa Nur ÇAKMAK¹

Merve BECİT KIZILKAYA²

1. GİRİŞ

Akrilamid; kızartma, fırınlama, kavurma ve ızgara gibi yüksek sıcaklık (120°C’den fazla) ve düşük nem koşullarındaki pişirme işlemi sırasında karbonhidrat bakımından zengin gıda ürünlerinde oluşan bir toksindir. Diyet, sigara dumanı ve endüstri dahil olmak üzere pek çok maruziyet yolunun olması ve toksisite profili göz önünde bulundurulduğunda günümüzde önemli bir endişe kaynağıdır (Govindaraju ve ark., 2024). Akrilamidin sağlık üzerindeki etkisi, 2002 yılında İsveç Ulusal Gıda İdaresi ve Stockholm Üniversitesi araştırmacıları tarafından Maillard reaksiyonu ile gıdalarda oluşabildiğinin keşfedilmesine kadar yeterince vurgulanmamıştır (Ferrer-Aguirre ve ark., 2016; Mottram ve ark., 2002). Gıdalardaki keşfi, akrilamid ile ilgili yapılan toksisite araştırmalarını yoğunlaştırmıştır (EFSA, 2015a; Rifai ve Saleh, 2020).

Doymamış bir amid bileşiği olan akrilamid düşük molekül ağırlığına ve yüksek suda çözünürlüğe sahiptir. Ayrıca, reaktif bir monomer olup polimerizasyon reaksiyonlarına kolaylıkla katılabilmektedir (Semla ve ark., 2017).

¹ Eczacı, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, ecznisacakmak@gmail.com, ORCID: 0009-0003-2780-7787.

² Dr. Öğr. Üyesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, merve.becit@afsu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-8084-4419.

Akrilamid, Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından 1994 yılında insanlar için olası karsinojenik (Grup 2A) olarak sınıflandırılmıştır (Dybing ve ark., 2005). Hayvan çalışmaları akrilamidin nörotoksik, genotoksik, karsinojenik ve üreme sistemine toksik etkilerini ortaya koymuştur (EFSA, 2015a). Epidemiyolojik çalışmalar ise diyet ile akrilamid maruziyetinin bazı kanser türleri arasında potansiyel bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Başaran ve ark., 2023). Ayrıca, yüksek seviyelerde akrilamid içeren yiyecekleri tüketmek karaciğer, kalp ve damar sistemi, immün sistem gibi farklı hedef organlarda toksisiteye neden olabilmektedir (Govindaraju ve ark., 2024).

Bu bölümde, akrilamidin toksikolojik değerlendirmesi kapsamlı bir şekilde ele alınmıştır. Toksikokinetik, toksisite mekanizmaları, risk değerlendirmesi ve maruziyeti azaltma stratejileri incelenmiştir. Akrilamid toksisitesinin anlaşılması, gıda güvenliğinin sağlanması ve halk sağlığının korunması açısından kritik öneme sahiptir.

2. KEŞFİ VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Akrilamid ilk olarak 1950'lerde poliakrilamid üretimi sırasında bir monomer olarak tanımlanmıştır. 1994 yılında IARC tarafından potansiyel bir insan kanserojeni, nörotoksik ve genotoksik olarak kategorize edilmiştir. 2002 yılında yüksek sıcaklıklara maruz bırakıldığında gıdalarda akrilamid oluşabildiğini bildiren ilk kurum İsveç Ulusal Gıda İdaresi olmuştur (Ferrer-Aguirre ve ark., 2016; Mottram ve ark., 2002). Birleşik Krallık, Amerika Birleşik Devletleri, Norveç, Almanya ve İsviçre dahil olmak üzere çeşitli ülkelerde yapılan sonraki çalışmalar, yüksek sıcaklıklarda pişirilen gıdalarda akrilamid varlığını doğrulamıştır (Govindaraju ve ark., 2024; Timmermann ve ark., 2021). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Gıda

ve İlaç Dairesi (FDA) gibi düzenleyici otoriteler, gıdalardaki akrilamid seviyelerini izlemekte ve güncel risk değerlendirmesi yapmaktadır (Benford ve ark., 2022; EFSA, 2015a; Fan ve ark., 2023; Govindaraju ve ark., 2024).

Akrilamid, bir vinil grubu ($\text{CH}_2=\text{CH}-$) ve bir amid grubu ($-\text{CONH}_2$) içeren organik bir bileşiktir. Molekül formülü $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$ ve molekül ağırlığı 71.08 g/mol'dür. Oda sıcaklığında katı ve beyaz kristaller halinde bulunan, kokusuz bir maddedir. Erime noktası 84.5°C ve kaynama noktası 192.6°C (25 mmHg basınçta) olarak bildirilmiştir. Yüksek suda çözünürlüğe sahiptir ve metanol, etanol, aseton, kloroform ve eter gibi birçok organik çözücüde de çözünmektedir (Semla ve ark., 2017).

3. GIDALARDA OLUŞUMU

Gıdalarda doğal olarak bulunmayan ancak yüksek sıcaklıkta (120°C 'nin üzerinde) pişirme işlemleri sırasında oluşabilen akrilamid; özellikle patates cipsi, patates kızartması, kahve ve tahıl bazlı ürünler ve bebe bisküvisi gibi gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Perera ve ark., 2021).

Temel oluşum mekanizması, indirgen şekerler ve asparajin amino asidi arasındaki *Maillard* reaksiyonudur. *Maillard* reaksiyonu, gıdalarda renk, lezzet ve aroma oluşumunda önemli bir rol oynayan karmaşık bir dizi kimyasal reaksiyondur. Bu reaksiyon, indirgen şekerler (glukoz, fruktoz gibi) ile amino asitler, peptitler veya proteinler arasında gerçekleşir. *Maillard* reaksiyonunun başlangıç aşamasında, indirgen şeker ve amino asit arasında bir kondenzasyon gerçekleşir ve *Schiff* bazı oluşur. Ardından bir dizi karmaşık reaksiyon meydana gelir ve çeşitli aroma bileşikler, melanoidinler ve akrilamid gibi potansiyel toksik bileşikler oluşur (Mollakhalili-Meybodi ve ark., 2021; Perera ve ark., 2021; Stadler ve ark., 2002).

Akrilamid oluşumunda *Maillard* reaksiyonunun yanı sıra etkili başka mekanizmalar da bulunmaktadır. Proteinler ve aminoasitlerin bozunması (*Strecker* reaksiyonu) sonucu oluşan akrolein ya da akrilik asit üzerinden akrilamid oluşabileceği gibi transforme olan lipidlerin oluşturdukları akrolein ya da akrilik asit üzerinden de oluşabilmektedir (Bachir ve ark., 2022; Friedman, 2003; Perera ve ark., 2021).

Akrilamid oluşumunu etkileyen birçok faktör vardır. pH, gıdanın bileşimi (indirgen şeker ve asparajin varlığı), pişirme sıcaklığı ve süresi, su aktivitesi (nem içeriği), gıdanın yüzey alanı gibi faktörler gıdada akrilamid oluşumunu etkiler (Jayanty ve ark., 2019; Mollakhalili-Meybodi ve ark., 2021). Ancak bu sorunun üstesinden gelmek ve gıdadaki akrilamid konsantrasyonunu azaltmak için bazı stratejiler geliştirilmiştir. pH seviyesinin düşürülmesi, vitamin, aminoasit, enzim ve antioksidan gibi katkı maddelerinin eklenmesi, haşlama gibi pişirme yöntemlerinin tercih edilmesi gibi stratejiler 8. başlıkta daha detaylı olarak ele alınmıştır.

4. TOKSİKOKİNETİK ÖZELLİKLER

Akrilamid oral (içme suyu, termal olarak işlenmiş bazı gıdalar vb.), dermal (endüstri, kozmetik ürün, araştırma laboratuvarları vb.) ve inhalasyon (endüstri, sigara vb.) yolu ile organizmaya alınabilir. Düşük molekül ağırlığı ve sudaki yüksek çözünürlüğü akrilamidin biyolojik membranlardan kolayca geçmesini sağlar. Emilim oranı maruziyet alanına bağlı farklılık göstermektedir. Oral yoldan alınan akrilamid, gastrointestinal sistemden hızla emilir (Carere, 2006). Cilt, akrilamid emilimini azaltan bir bariyer görevi gördüğü için dermal yoldan emilim daha düşüktür (24 saatte %25 oranında) ve maruziyet daha az kritiktir (Dearfield ve ark., 1988). Ayrıca, inhalasyon yolu

(sıklıkla sigara tüketimi) ile emilim maruz kalınan akrilamid konsantrasyonuna bağlıdır (Carere, 2006).

Hayvan çalışmaları, herhangi bir maruziyet yolu ile emilen akrilamidin, organizmada yaygın dağıldığını göstermektedir (National Toxicology Program, 2005). Miller ve arkadaşları (1982) akrilamidin sıçanlarda kas (%48), deri (%15), kan (%12) ve karaciğer (%7) dokularında dağılımın yüksek olduğunu omurilik, beyin gibi dokularda ise %1'den az olduğunu bildirmiştir. Ayrıca akrilamid ve metabolitlerinin plasentayı geçerek fetüse ulaşabildiği ve anne sütüne geçebildiği gösterilmiştir (National Toxicology Program, 2005).

Akrilamidin üç olası reaktivite yolu vardır: (i) radikal aracılı polimerasyon ile akrilamidin poliakrilamide dönüştürülmesi, (ii) Michael reaktivitesi (-SH gruplarının alkilasyonu), (iii) Sitokrom P450 2E1(CYP2E1) enzimi aracılı oksidasyon ile glisidamide (genotoksik metabolit) dönüştürülmesi (Ras, 2024).

Akrilamid ve glisidamid, glutatyon ile konjuge olarak detoksifiye edilir. Bu reaksiyon, glutatyon-S-transferaz (GST) enzimleri tarafından katalize edilir. Akrilamid atılımında birinci yol idrar (verilen dozun yaklaşık %60'ı) yoludur. İdrar biyobelirteçleri, maruziyetin bir göstergesi olarak kullanılabilir. Akrilamidin merkaptürik asit metabolitleri (N -asetil-S- (3-amino-3-oksopropil)-sistein (AAMA) ve N-asetil- S-(3-amino-2-hidroksi-3-oksopropil)-sistein (GAMA)), glisidamid ve hemoglobin katım ürünleri düzeylerinin ölçümü maruziyetin izlenmesinde kullanılabilir (Govindaraju ve ark., 2024).

5. AKRİLAMİD MARUZİYETİ

Akrilamide maruz kalma yolları, endüstri, sigara, diyet ve hatta kozmetik kullanımını kapsamakta ve nüfus üzerinde önemli

bir yük oluşturmaktadır (Buřová ve ark., 2020). Diyet, akrilamid maruziyetinin ana kaynağıdır. Farklı ölkeler, beslenme alışkanlıkları ve gıda işleme yöntemine göre değışiklik göstermekle birlikte; Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi (JECFA) patates cipsi, kahve, pasta ve bisküvileri dünya çapında günlük beslenmede önemli akrilamid kaynakları olarak tanımlamıştır (Rifai ve Saleh, 2020).

Gıda tüketim verileri ve gıdalardaki akrilamid seviyeleri kullanılarak popölasyonun diyet kaynaklı akrilamid maruziyeti tahmin edilebilmektedir. FDA'ya göre diyetle akrilamid alımı yaklaşık 0.4 µg/kg vücut ağırlığı (v.a.)/gün'dür. Çocuklarda ve ergenlerde, düşük vücut ağırlığı ve farklı tüketim alışkanlıkları nedeni ile bu oranın daha yüksek olduğu ve en yüksek akrilamid alım limiti 6.9 µg/kg v.a./gün'e kadar çıktığı tahmin edilmektedir (Kopp ve Dekant, 2009; Timmermann ve ark., 2021).

6. AKRİLAMİD TOKSİSİTESİ

Akrilamid, DNA, temel protein ve enzimlere bağlanan, hem somatik hem de germ hücrelerinde kromozomal ve genetik mutasyonlara neden olan alkilleyici bir ajandır. EFSA, akrilamid toksisitesinin dört temel sonucunu nörotoksiste, karsinojenite, gelişimsel toksiste ve erkek üremesi üzerindeki etkiler olduğunu belirlemiştir (Mollakhalili-Meybodi ve ark., 2021).

Hem mesleki olarak hem de günlük yaşamda maruziyetinin toksikolojik sonuçları ile ilgili yoğun araştırmalar yapılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), EFSA ve JECFA gibi otoritelerin öncelikli araştırma listesinde yer almaktadır (Buřová ve ark., 2020; Perera ve ark., 2021).

6.1. Nörotoksiste

Sinir sistemi, akrilamid için önemli bir hedeftir. Akrilamid, hem merkezi hem de periferik sinir sistemini

etkileyerek sinir iletim hızında azalmaya, motor fonksiyon bozukluklarına ve patolojik değişikliklere neden olan bir nörotoksindir (EFSA, 2015a; Erkekoglu ve Baydar, 2014; Rifai ve Saleh, 2020).

Akrilamide kronik maruziyet sonrası hafıza, öğrenme ve bilişsel işlevler ile ilgili bazı beyin bölgelerinde periferik sinir ve sinir uçlarında dejenerasyon gözlenmiştir (Matoso ve ark., 2019). Akrilamidin nörotoksik etkisinin altında yatan potansiyel mekanizmalar, aksonal dejenerasyon, oksidatif stres, enflamasyon, mikrobiyota-bağırsak-beyin ekseninin hemostazının bozulması, apoptoz ve otofaji süreçlerini kapsamaktadır (Govindaraju ve ark., 2024).

6.2. Genotoksisite ve Karsinojenite

Akrilamid, doğrudan hasar (genotoksik) veya genlerin ekspresyonunu değiştirerek (epigenetik) DNA hasarına neden olabilmektedir. Akrilamidin anöplodi, poliplodi ve diğer birkaç mutojenik bozukluk gibi kromozomal sapmalara neden olan kardeş kromatit değişimlerini indükleyebildiği gösterilmiştir (Benford ve ark., 2022, Carare, 2006). Akrilamid ve glisidamidin tümör baskılayıcı gen TP53'te mutasyonlara neden olduğunu *in vivo* olarak göstermiştir (Hözl-Armstrong ve ark., 2020). Bir başka *in vivo* çalışmada ise akrilamidin (30 gün, 0-32 mg/kg vücut ağırlığı (v.a.), oral) kemik iliğinde genotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (Algarni, 2018).

Akrilamid, 1994 yılında IARC tarafından olası insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır. Mevcut veriler, akrilamidin insanlarda karsinogenitesini, DNA ve hemoglobin gibi moleküller ile katım ürünü oluşumuna, dolayısı ile gen mutasyonuna ve kromozomal anormallere atfederek desteklemektedir (Sarion ve ark., 2021).

Epidemiyolojik çalışmalar, diyetle akrilamid maruziyeti ile bazı kanser türleri arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Diyetle

akrilamid alımı ile endometriyal, akciğer, beyin, tiroid ve bağırsak kanser riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmiştir (Govindaraju ve ark., 2024). Ancak, Kotemori ve arkadaşları (2018) Japon popülasyonunda diyetle akrilamid alımı ile (sigara tüketimi gibi faktörler dışlandığında) meme, prostat ve kolorektal kanser riski arasında anlamlı bir ilişki bulmamıştır.

6.3. Üreme ve Gelişimsel Toksisite

Akrilamidin insanlarda üreme toksisitesine ilişkin herhangi bir vaka bildirilmemiştir. Ancak deney hayvanlarında yüksek dozda üreme toksisitesine neden olduğu ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Farklı doz ve sürelerde akrilamide maruziyetin fertilitede azalma, sperm morfolojisinde anormallikler, testis ağırlığında azalma, yavru boyutlarında küçülme olduğu bildirilmiştir (Govindaraju ve ark., 2024). Hayvan çalışmalarında akrilamid maruziyetinin progesteron üretimini engellediği, erkek sıçanlarda oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı ile Leyding hücrelerinin apoptozuna neden olabildiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2017; Sun ve ark., 2018).

Akrilamid, kadınlarda yumurtalığı hedef almaktadır ve korpus luteum oluşumunu, atrezisi ve foliküler gelişimi etkileyebilmektedir (Govindaraju ve ark., 2024). Önceki bir çalışmada, diyet akrilamidinin, sentrozom proteinlerindeki hasar ve iğ ipliği organizasyonunun bozulması nedeni ile oositlerin mayoz sürecine girmesini, olgunlaşmasını ve gelişimini engellediği bildirilmiştir (Duan ve ark., 2015).

Prenatal veya post natal akrilamid maruziyetinin gelişimsel toksisiteye neden olabileceği de bildirilmiştir. Akrilamid ve glisidamid, plasentadan geçerek gebelik sırasında fetal dokuları veya organları hedef olabilir ve embriyo/fetüsü doğrudan etkileyebilir. Hayvan çalışmalarında prenatal akrilamid maruziyetinin sinir sistemi, böbrek, kemik ve endokrin sistemi

etkileyerek gelişimsel toksisiteye neden olabileceği bildirilmiştir (Govindaraju ve ark., 2024). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, akrilamid maruziyetinin erken dönem civciv embriyolarında nöral tüp gelişim gecikmesine neden olabileceği rapor edilmiştir (Becit-Kızılkaya ve ark., 2024). Doğum sonrasında ise, meme bezlerindeki prolaktin azalması nedeni ile yenidoğanda yetersiz beslenme ve kilo kaybına neden olabilir. Akrilamid bakımından zengin gıdaların tüketilmesi, deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda da gözlemlendiği gibi, boy ve kilo açısından erken doğum ve gelişimsel gerilik riski ile ilişkilendirilmiştir (Yu ve ark., 2020). Bunun yanı sıra akrilamid maruziyeti, kordon kanındaki tiroid uyarıcı hormon (TSH) seviyesinde düşme ve kordon kanındaki insülin seviyelerinin düşmesine neden olabileceği raporlanmıştır (Hogervorst ve ark., 2021).

6.4. Kardiyovasküler Toksisite

Akrilamidin kardiyovasküler sistem üzerindeki toksik etkileri, son yıllarda artan bir ilgi görmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar ve hayvan deneyleri, akrilamid maruziyeti ile kardiyovasküler hastalık riski arasında potansiyel bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Govindaraju ve ark., 2024). Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, diyetle akrilamid alımı ve kardiyovasküler hastalık riski ile pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2018).

Akrilamid Maruziyetinin kalp ağırlığında azalma, ateroskleroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi kardiyovasküler toksisiteye neden olabildiği *in vivo* olarak gösterilmiştir (Ghorbel ve ark., 2015). Ayrıca, gelişmekte olan zebra balığında akrilamidin kalp malformasyonu ve fonksiyonel bozukluğuna neden olduğu ve kardiyomiyosit çoğalmasını azalttığı bildirilmiştir (Huang ve ark., 2018).

Akrilamidin kardiyovasküler toksisitesinin altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılmamakla birlikte, oksidatif stres, inflamasyon ve TGF- β 1 tarafından aracılık edilen mekanizmalar ile maruziyetin kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde yer alan süreçleri tetikleyebileceği ileri sürülmüştür (Govindaraju ve ark., 2024; Wang ve ark., 2022).

6.5. Hepatoksisite

Karaciğer, akrilamid ana metabolizma organı olduğundan önemli bir hedeftir. Akrilamid maruziyetinin karaciğerde lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin artması ile oluşan oksidatif dengesizliğin DNA hasarı gibi hücresel hasara ve hepatotoksiste neden olduğu bildirilmiştir (Al-Qahtani ve ark., 2017). Ayrıca, uzun süreli akrilamid maruziyetinin karaciğerde mitokondriyal fonksiyonu bozarak enerji metanolizmasını etkilediği, inflamatuvar yanıtın artmasına ve hücre ölümüne neden olduğu belirtilmiştir (Salman ve ark., 2020).

6.6. İmmünotoksiste

Hayvan çalışmaları, akrilamidin vücut ağırlığını, dalak ve timus ağırlıklarını ve lenfosit sayılarını azaltmasının yanı sıra lenf bezleri, timus ve dalakta patolojik değişikliklere neden olduğunu, T lenfosit hücrelerini ve doğal öldürücü hücreleri de önemli ölçüde azaltabileceğini göstermektedir (Ras, 2024).

7. RİSK DEĞERLENDİRMESİ

Akrilamide (oral, içme suyu ile) maruz kalan sıçanlarda yapılan risk değerlendirmesi çalışmalarının sonuçlarına göre periferik nöropati için advers etkinin görüldüğü en düşük seviye (LOAEL) 2 mg/kg v.a./gün ve advers etkinin görülmediği en yüksek seviye (NOAEL) 0,5 mg/kg v.a./gün olarak bildirilmiştir (World Health Organization, 2002). Akrilamidin tolere edilebilir günlük alım (TDI) düzeyi ise nörotoksiste için 40 μ g/kg v.a./gün

ve karsinojenite için 2,6 µg/kg v.a./gün olarak belirlenmiştir (Guth ve ark., 2023; Mollakhalili-Meybodi ve ark., 2021).

EFSA CONTAM Paneli (2015b) değerlendirmesinde, *in vitro* ve *in vivo* genotoksisite çalışmalarındaki (DNA ve/veya kromozomal hasar ve gen mutasyonları) pozitif bulgulara dayanarak akrilamidin genotoksik bir kanserojen olduğu sonucuna varılmıştır ve doz-yanıt ilişkisi açısından bir eşik değeri olmayan kimyasaldır. Bu nedenle, akrilamide diyetle maruz kalmayla ilişkili olduğu varsayılan karsinojenitenin risk karakterizasyonu için maruziyet marjı (MOE) yaklaşımını önermiştir (Benford ve ark., 2022; EFSA, 2015a; EFSA, 2015b). Bu değerlendirme 2022'de yeniden doğrulanmıştır (Benford ve ark., 2022). Risk karakterizasyonu için çıkış noktası, 2 yıl boyunca oral akrilamide (içme suyu ile) maruz kalan erkek sıçanlarda nörotoksisite (periferik aksonal sinir dejenerasyonu vakaları) açısından en düşük BMDL₁₀ (Benchmark karşılaştırmalı doz, %10'luk alt güven sınırı) 0.43 mg/kgv.a./gün olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda erkek farelerde karsinojenite (Harderian bezi tümörlerinin görülme sıklığına ilişkin veriler) açısından en düşük BMDL₁₀ 0.17 mg/kgv.a./gün olduğu tespit edilmiştir. Diyetle akrilamid alımı tahminlerine (EFSA tahminlerine göre 0.4-3.4 µg/kg vücut ağırlığı/gün) oranlandığında 500'ün altındaki MOE değerleri elde edilmiştir. Eşik değeri olmayan genotoksik karsinojenler için 10.000 veya daha yüksek bir MOE, halk sağlığı riski oluşturma ihtimali bakımından düşük endişe verici olarak kabul edilmektedir (EFSA, 2015a; EFSA, 2015b).

Risk karakterizasyonunun bir diğer uygulanabilir çıktısı, akrilamidin kronik diyet maruziyetine bağlı kanser riskini temsil eden ve kanser eğim faktörü kullanılarak hesaplanan artımlı yaşam boyu kanser riski (*Incremental lifetime cancer risk*, ILCR) hesaplamasıyla yapılan değerlendirmedir. Akrilamid maruziyetiyle karsinojen olmama riskini değerlendirmek için

kullanılan bir diğer parametre ise hedef tehlike katsayısı (*Target hazard quotient*, THQ)'dır. Birlikte değerlendirildiğinde, akrilamid diyet maruziyeti yoluyla karsinojenite riskinin yüksek olduğunu, ancak insanlarda nörotoksik semptomları indüklemek için gıdalarda az miktarda akrilamid bulunması nedeniyle nörotoksisite (kanserojen olmayan risk) riskinin düşük olduğu bildirilmiştir (Mollakhalili-Meybodi ve ark., 2021).

8. MARUZİYET AZALTMA STRATEJİLERİ

Gıda işleme koşullarının optimize edilmesi, akrilamid oluşumunu azaltmada etkili bir stratejidir. Pişirme sıcaklığın ve süresinin azaltılması akrilamid oluşumunu önemli ölçüde azaltmaktadır. Düşük indirgen şeker ve asparajin içeren hammaddelerin seçimi, NaHCO_3 kullanımı, C vitamini gibi antioksidanların eklenmesi akrilamid oluşumunu da azaltmada etkili olabilir. Asparajinaz enzimi, gıdalardaki asparajini aspartik aside dönüştürerek, akrilamid oluşumunu azaltabilir. Bununla birlikte, enzimatik yaklaşımların gıdaların duyuşal özelliklerini etkilemeden uygulanması önemlidir (Ek olarak, maya fermentasyon süresinin artırılması, asitlerin ve laktofermentasyonun kullanımı da etkili stratejiler arasında görülmektedir (Bachir ve ark., 2022; Sarion ve ark., 2021).

Akrilamid maruziyetini azaltmak için yasal düzenlemeler de önemli rol oynamaktadır. DSÖ, FDA ve EFSA gıdalardaki akrilamid seviyelerini izlemek ve azaltmak için bir dizi önlem almış ve gıda işletmecilerini bu tedbirleri almaya teşviklendirmiştir (Bachir ve ark., 2022; Sarion ve ark., 2021).

9. SONUÇ

Maillard reaksiyonu yoluyla termal olarak işlenmiş gıdalarda oluşan bir toksin olan akrilamide yüksek dozda

maruziyet, potansiyel sağlık risklerine yol açmaktadır. Akrilamid eşik değeri olmayan (genotoksik karsinojen) bir toksik bileşik olduğundan, vücuttaki DNA gibi hayati moleküller arasındaki etkileşim yoluyla ve özellikle uzun süreli yüksek doz maruziyeti ciddi toksisite riski oluşturmaktadır. Risk değerlendirme çalışmaları, diyet ile alımının düşük olması nedeni ile nörotoksisite riskinin ihmal edilebilir düzeyde olduğunu belirtmektedir. Bununla birlikte, özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve çocuklarda akrilamid bakımından zengin gıdaların aşırı tüketimi göz önünde bulundurulduğunda, akrilamid içeriğinin belirlenmesi hem risk değerlendirmesi hem de kalite kontrol yönleri açısından kritik öneme sahiptir. Dahası, günlük hayatta sıklıkla maruz kalınan akrilamidin, toksik etkilerinin anlaşılması ve risk değerlendirmesi için daha fazla toksikolojik araştırmaya ihtiyaç vardır. Gıda güvenliğini sağlamak ve halk sağlığını korumak için, akrilamid maruziyetini azaltmaya yönelik kapsamlı stratejilerin uygulanması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Al-Qahtani, F. A., Arafah, M., Sharma, B., & Siddiqi, N. J. (2017). Effects of alpha lipoic acid on acrylamide-induced hepatotoxicity in rats. *Cellular and Molecular Biology*, 63(6), 1-6.
- Algarni, A. A. (2018). Genotoxic effects of acrylamide in mouse bone marrow cells. *Caryologia*, 71(2), 160-165.
- Bachir, N., Haddarah, A., Sepulcre, F., & Pujola, M. (2022). Formation, mitigation, and detection of acrylamide in foods. *Food Analytical Methods*, 15(6), 1736-1747.
- Başaran, B., Çuvalcı, B., & Kaban, G. (2023). Dietary acrylamide exposure and cancer risk: a systematic approach to human epidemiological studies. *Foods*, 12(2), 1-27.
- Becit-Kizilkaya, M., Oncu, S., Bilir, A., Atay, E., Soylemez, E. S. A., Firat, F., et al. (2024). Effect of post-gastrulation exposure to acrylamide on chick embryonic development. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 489, 117011.
- Benford, D., Bignami, M., Chipman, J. K., & Ramos Bordajandi, L. (2022). Assessment of the genotoxicity of acrylamide. *EFSA Journal*, 20(5), 1-45.
- Bušová, M., Bencko, V., Laktičová, K. V., Holcátová, I., & Vargová, M. (2020). Risk of exposure to acrylamide. *Central European Journal of Public Health*, 28, 43-46.
- Carere, A. (2006). Genotoxicity and carcinogenicity of acrylamide: a critical review. *Annali-Istituto Superiore Di Sanita*, 42(2), 144-155.
- Dearfield, K. L., Abernathy, C. O., Ottley, M. S., Brantner, J. H., & Hayes, P. F. (1988). Acrylamide: Its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and

- carcinogenicity. Mutation Research/ Reviews in Genetic Toxicology, 195(1), 45-77.
- Duan, X., Wang, Q. C., Chen, K. L., Zhu, C. C., Liu, J., & Sun, S. C. (2015). Acrylamide toxic effects on mouse oocyte quality and fertility in vivo. Scientific Reports, 5(1), 1-11.
- Dybing, E., Farmer, P. B., Andersen, M., Fennell, T. R., Lalljie, S. P. D., Müller, D. J. G., et al. (2005). Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. Food and Chemical Toxicology, 43(3), 365-410.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2015b). Scientific opinion on acrylamide in food. EFSA Journal, 13(6), 1-321.
- EFSA. (2015a). Scientific Opinion on acrylamide in food. European Food Safety Authority Journal, 13(6):4104.
Erişim
adresi:<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2015.4104>
- Erkekoglu, P., & Baydar, T. (2014). Acrylamide neurotoxicity. Nutritional Neuroscience, 17(2), 49-57.
- Fan, M., Xu, X., Lang, W., Wang, W., Wang, X., Xin, A., et al. (2023). Toxicity, formation, contamination, determination and mitigation of acrylamide in thermally processed plant-based foods and herbal medicines: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 260, 1-17.
- Ferrer-Aguirre, A., Romero-González, R., Vidal, J. L. M., & Frenich, A. G. (2016). Simple and fast determination of acrylamide and metabolites in potato chips and grilled asparagus by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Food Analytical Methods, 9, 1237-1245.

- Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4504-4526.
- Ghorbel, I., Khemakhem, M., Boudawara, O., Marrekchi, R., Jamoussi, K., & Amar, R. B. (2015). Effects of dietary extra virgin olive oil and its fractions on antioxidant status and DNA damage in the heart of rats co-exposed to aluminum and acrylamide. *Food & Function*, 6, 3098-3108.
- Govindaraju, I., Sana, M., Chakraborty, I., Rahman, M. H., Biswas, R., & Mazumder, N. (2024). Dietary acrylamide: a detailed review on formation, detection, mitigation, and its health impacts. *Foods*, 13(4), 1-25.
- Guth, S., Baum, M., Cartus, A. T., Diel, P., Engel, K. H., Engeli, B., et al. (2023). Evaluation of the genotoxic potential of acrylamide: Arguments for the derivation of a tolerable daily intake (TDI value). *Food and Chemical Toxicology*, 173, 1-13.
- Hogervorst, J. G., Saenen, N. D., & Nawrot, T. S. (2021). Gestational acrylamide exposure and biomarkers of fetal growth: Probing the mechanism underlying the association between acrylamide and reduced fetal growth. *Environment International*, 155, 1-8.
- Hölzl-Armstrong, L., Kucab, J. E., Moody, S., Zwart, E. P., Loutkotová, L., Duffy, V., et al. (2020). Mutagenicity of acrylamide and glycidamide in human TP53 knock-in (Hupki) mouse embryo fibroblasts. *Archives of Toxicology*, 94, 4173-4196.
- Huang, M., Jiao, J., Wang, J., Xia, Z., & Zhang, Y. (2018). Characterization of acrylamide-induced oxidative stress

- and cardiovascular toxicity in zebrafish embryos. *Journal of Hazardous Materials*, 347, 451-460.
- Jayanty, S. S., Diganta, K., & Raven, B. (2019). Effects of cooking methods on nutritional content in potato tubers. *American Journal of Potato Research*, 96, 183-194.
- Kopp, E. K., & Dekant, W. (2009). Toxicokinetics of acrylamide in rats and humans following single oral administration of low doses. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 235(2), 135-142.
- Kotemori, A., Ishihara, J., Zha, L., Liu, R., Sawada, N., Iwasaki, M., et al. (2018). Dietary acrylamide intake and the risk of endometrial or ovarian cancers in Japanese women. *Cancer Science*, 109(10), 3316-3325.
- Li, M., Sun, J., Zou, F., Bai, S., Jiang, X., Jiao, R., et al. (2017). Glycidamide inhibits progesterone production through reactive oxygen species-induced apoptosis in R2C rat leydig cells. *Food and Chemical Toxicology*, 108, 563-570.
- Matoso, V., Bargi-Souza, P., Ivanski, F., Romano, M. A., & Romano, R. M. (2019). Acrylamide: a review about its toxic effects in the light of Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) concept. *Food Chemistry*, 283, 422-430.
- Miller, M. J., Carter, D. E., & Sipes, I. G. (1982). Pharmacokinetics of acrylamide in Fisher-334 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 63(1), 36-44.
- Mollakhalili-Meybodi, N., Khorshidian, N., Nematollahi, A., & Arab, M. (2021). Acrylamide in bread: a review on formation, health risk assessment, and determination by analytical techniques. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 15627-15645.

- Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., & Dodson, A. T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419(6906), 448-449.
- National Toxicology Program. (2005). NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of acrylamide. *Ntp Cerhr Mon*, 14, 1-74.
- Perera, D. N., Hewavitharana, G. G., & Navaratne, S. B. (2021). Comprehensive study on the acrylamide content of high thermally processed foods. *Biomed Research International*, 1, 1-13.
- Ras, F.A. (2024). Cinsiyet Hormonlarının Akrilamid Toksisitesine Etkilerinin İn Vitro Koşullarda Araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Rifai, L., & Saleh, F. A. (2020). A review on acrylamide in food: Occurrence, toxicity, and mitigation strategies. *International Journal of Toxicology*, 39(2), 93-102.
- Salman, A., El-Ghazouly, D. E. S., & El Beltagy, M. (2020). Role of ascorbic acid versus silymarin in amelioration of hepatotoxicity induced by acrylamide in adult male albino rats: Histological and immunohistochemical study. *International Journal of Morphology*, 38(6), 1767-1778.
- Sarion, C., Codină, G. G., & Dabija, A. (2021). Acrylamide in bakery products: a review on health risks, legal regulations and strategies to reduce its formation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(8), 1-23.
- Semla, M., Goc, Z., Martiniaková, M., Omelka, R., & Formicki, G. (2017). Acrylamide: a common food toxin related to physiological functions and health. *Physiological Research*, 66(2), 205-217.

- Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., et al. (2002). Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419(6906), 449-450.
- Sun, N., Rosen, C. J., & Thompson, A. L. (2018). Acrylamide formation in processed potatoes as affected by cultivar, nitrogen fertilization and storage time. *American Journal of Potato Research*, 95, 473-486.
- Timmermann, C. A. G., Mølck, S. S., Kadawathagedara, M., Bjerregaard, A. A., Törnqvist, M., Brantsæter, A. L., et al. (2021). A review of dietary intake of acrylamide in humans. *Toxics*, 9(7), 1-24.
- Wang, B., Wang, X., Yu, L., Liu, W., Song, J., Fan, L., et al. (2022). Acrylamide exposure increases cardiovascular risk of general adult population probably by inducing oxidative stress, inflammation, and TGF- β 1: a prospective cohort study. *Environment International*, 164, 1-9.
- World Health Organisation (WHO). (2002). Health implications of acrylamide in food: report of a joint FAO/WHO consultation, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 25-27 June 2002. Publisher: World Health Organization in collaboration with the Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Yu, D., Liu, Q., Qiao, B., Jiang, W., Zhang, L., Shen, X., et al. (2020). Exposure to acrylamide inhibits uterine decidualization via suppression of cyclin D3/p21 and apoptosis in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 388, 1-9.
- Zhang, Y., Huang, M., Zhuang, P., Jiao, J., Chen, X., Wang, J., et al. (2018). Exposure to acrylamide and the risk of cardiovascular diseases in the National Health and

Nutrition Examination Survey 2003–2006. Environment International, 117, 154-163.

MİKROPLASTİKLERE MARUZİYETİN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNDEKİ POTANSİYEL TOKSİSİTESİ¹

Fatma Betül YOLADI¹

1. GİRİŞ

Plastikler 19. yüzyıl Sanayi Devriminden sonra geliştirilen sentetik veya yarı sentetik polimerlerdir. Kolayca şekillendirilebilme, düşük üretim maliyeti, taşıma kolaylığı gibi birçok kullanışlı özelliğe sahip olmaları ve uzun ömürleri nedeniyle çevrede her yerde bulunmaktadır (Andrady & Neal, 2009; Napper & Thompson, 2020). Büyük miktarlarda plastik, ayırım gözetmeksizin atılmakta ve bunun sonucunda plastik atıklar çevrede hızla birikmektedir (Moore, 2008). Küresel analizler, çöplüklerde veya doğal çevrede biriken plastik atığın 1950 ile 2015 yılları arasında yaklaşık 4,9 milyar metrik tona ve 2050 yılına kadar yaklaşık 12 milyar tona ulaştığını ve kaçınılmaz olarak yaygın plastik kirliliğine yol açtığını ortaya koymaktadır (Geyer, Jambeck, & Law, 2017).

Çevresel plastik atıkların boyutu makroplastiklerden nanoplastiklere kadar değişmektedir. Mikroplastikler (MP'ler) tipik olarak 5 mm'den küçük ve çok çeşitli şekillere (lifler, küreler ve parçalar dahil), boyutlara, renklere ve bileşimlere sahip plastik parçacıklar olarak tanımlanmaktadır (Bashir, Kimiko, Mak, Fang, & Gonçalves, 2021). MP'ler boyutlarına bakılmaksızın genellikle kökenlerine göre birincil ve ikincil tipler olarak kategorize edilmektedir. Birincil MP'ler, tıbbi ekipmanlar, kozmetikler ve

¹ Arş. Gör. Dr., Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, betul.ispir@atauni.edu.tr, ORCID: 0000-0002-5020-3020.

sabunlar gibi evsel ve endüstriyel ürünlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Buna karşılık, daha büyük plastik ürünler çevreyle temas ettiğinde, fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler plastiğin küçük parçalara ayrılmasına neden olarak ikincil MP'ler oluşmaktadır. Yapılan çalışmalar MP'lerin toprakta, tatlı sularda, tortularda, atmosferde, içme sularında ve insan vücudunda bulunabildiğini ortaya koymaktadır (Chen, Feng, & Wang, 2020; Möller, Löder, & Laforsch, 2020; Zhang ve ark., 2020). Özellikle insan dışkısında ve insan plasentasında MP'lerin varlığının tespit edilmesi, MP'lere uzun süreli maruziyetin insan sağlığı açısından potansiyel riskler taşıdığını göstermektedir (Ragusa ve ark., 2021; Schwabl ve ark., 2019). Dolayısıyla çevremizde yaygın olarak bulunan MP'ler, sağlık için giderek artan bir endişe kaynağı haline gelmektedir (Zurub, Cariaco, Wade, & Bainbridge, 2023).

Bu bölüm, MP maruziyetini, MP'lerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel toksisitesini ve altta yatan toksisite mekanizmalarını açıklamaktadır.

2. MP'LERE MARUZ KALMA YOLLARI

MP'ler insan vücuduna üç temel yoldan girebilir; sindirim sistemi yoluyla, solunum yoluyla ve deri teması yoluyla.

2.1.Gastrointestinal Sistem

Gastrointestinal sistem MP'lerin insan vücuduna girmesi için ana giriş noktasıdır. Bu maruziyet, öncelikle kirlenmiş deniz ürünleri, süt, bira, bal, şeker, tuz ve şişelenmiş su tüketiminden kaynaklanmaktadır (Kutralam-Muniasamy, Pérez-Guevara, Elizalde-Martínez, & Shruti, 2020; Kwon ve ark., 2020; Liebezeit & Liebezeit, 2013; Mason, Welch, & Neratko, 2018; D. Yang ve ark., 2015). Kontrollü koşullar altında yapılan çalışmalar, hayvanların MP'leri absorbe edebildiğini ve biriktirebildiğini, bu plastiklerin bir sonraki trofik seviyeye aktarıldığını, besin

zincirinde parçacık birikimini ve insan maruziyetini artırdığını ortaya koymaktadır (Cedervall, Hansson, Lard, Frohm, & Linse, 2012). Güncel araştırmalar, özellikle çay poşetleri, plastik bazlı su ısıtıcıları ve bebek biberonları gibi yüksek sıcaklıklarda plastik gıda ambalajlarından MP'lerin sızdığını göstermektedir (Hernandez ve ark., 2019; Li ve ark., 2020). İnsanların çeşitli kaynaklar aracılığıyla haftada 0,1–5 g MP tükettiğini öne sürülmektedir (Senathirajah ve ark., 2021).

2.2.Solunum Yoluyla Maruz Kalma

Solunum, bir insanın MP'lerle temas etmesinin ikinci en olası yoludur (Stapleton, 2019). MP'ler atmosferde her yerde bulunmaktadır ve bu nedenle insanlar için risk teşkil etmektedir (Amato-Lourenço ve ark., 2021). Akciğerlerin alveolar yüzeyi yaklaşık 150 m²'dir ve 1 µm'den daha ince bir doku bariyerine sahiptir. Bu bariyer, MP'lerin kılcal damarlara nüfuz etmesini sağlayarak sistemik dağılımı kolaylaştırmaktadır (Lehner, Weder, Petri-Fink, & Rothen-Rutishauser, 2019). İnsan akciğer doku örneklerinde yapılan çalışmalar MP kalıntılarının varlığını kanıtlamaktadır (Amato-Lourenço ve ark., 2021). Aynı zamanda, solunan MP'ler plasenta ve fetal dokulara da taşınmaktadır (Fournier ve ark., 2020).

2.3.Dermal Temas

MP'ler güzellik ve sağlık ürünlerinde, özellikle doğrudan cilde uygulanan vücut ve yüz temizleyicilerinde de sıklıkla bulunmaktadır (Hernandez, Yousefi, & Tufenkji, 2017). Cildin en dış tabakası olan stratum korneum, cildi yaralanmalardan, mikrobiyal ajanlardan ve kimyasallardan korumak için bir bariyer görevi görmektedir. Dermal bariyer çoğu durumda işe yarasada, koruyuculuğu sınırlıdır. Cilt, kirli suya temas yoluyla veya güzellik ve sağlık ürünleri kullanımı yoluyla plastik parçacıklara maruz kalabilir (Yee ve ark., 2021). Plastik parçacıkların deriden geçmesini etkileyen ana faktörler boyut ve kimyasal özelliklerdir.

Daha küçük boyut (<100 nm) ve daha güçlü yüzey aktivitesi, parçacıkların cilde girmesini kolaylaştırmaktadır. Geriye kalan daha büyük parçacıklar ise kıl kökleri, ter bezleri veya cilt yaralarından geçebilir, çünkü MP'ler hidrofobiktir ve bu nedenle stratum korneumdan geçip emilme olasılıkları düşüktür. (Schneider, Stracke, Hansen, & Schaefer, 2009).

3. POTANSİYEL TOKSİSİTE

3.1.Gastrointestinal Sistem

Gastrointestinal sistem, oral yoldan maruz kalınan MP'ler için temel birikme yeri ve toksik hedef görevi görmektedir.

Yan ve ark.'nın yaptığı çalışmada dışkı MP konsantrasyonunun, inflamatuvar bağırsak hastalığının (İBD) şiddetiyle pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca İBD hastalarının dışkılarında sağlıklı insanlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek MP konsantrasyonu tespit edilmiştir (Yan ve ark., 2021). İBD hastaları üzerinde yapılan çalışmalar, rektal mukozanın ülseratif lezyonlarında önemli miktarda MP birikimi olduğunu ortaya koymuştur (Schmidt ve ark., 2013).

Plastik ve kauçuk endüstrileri de dahil olmak üzere çeşitli sektörlerde çalışan bireylerde kolorektal kanser riskinin artışı, plastik üretiminde çalışan işçiler arasında pankreas kanseri ölüm oranında ki belirgin artış, MP'lerin karsinogenez üzerindeki potansiyel etkisini de göstermektedir (Kolstad, Juel, Olsen, & Lynge, 1995; Oddone, Modonesi, & Gatta, 2014).

Mevcut çalışmalar, bağırsaklarda MP'lerin birikmesinin, bağırsak mukus salgılanmasında azalmaya, bağırsak bariyer disfonksiyonuna, hepatik veya safra asidi metabolik bozukluklarına, bağırsak florasının bozulmasına ve bağırsak mukozal bağışıklığının ve iltihabının aktivasyonuna yol açtığını göstermektedir (Chen ve ark., 2022; Salim, Kaplan, & Madsen,

2014; Xie ve ark., 2023). Li ve ark. larının fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada MP'lerin bağırsak florasının türlerini ve zenginliğini etkilediği ve bağırsak iltihabına neden olduğu gözlenmiştir (Li ve ark., 2020). Sun ve ark., bağırsak florasındaki değişikliğin mukus salınımının azalmasına ve amino asit metabolizmasının artmasına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (Sun, Chen, Yang, Xia, & Wu, 2021). Auguet ve ark. MP'lere maruz bıraktıkları farelerde iltihaplanma, endokrin bozukluklar ve lipid ve enerji metabolizması değişikliklerinin geliştiğini ve bu durumda alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının patogeneğinde rol oynadığı sonucuna varmışlardır (Auguet ve ark., 2022). Ayrıca farelerde oral MP maruziyetine yanıt olarak bağırsak florası disbiyozunun ve hepatik metabolizma bozukluğunun indüklendiği tespit edilmiştir (Lu, Wan, Luo, Fu, & Jin, 2018). MP'lere maruz kaldıktan sonra memeli bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin bağırsak bariyerinin bozulmasına neden olabileceği ve böbrek hastalığı, karaciğer ve nörolojik bozukluklarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Yong, Valiyaveetil, & Tang, 2020).

3.2.Solunum sistemi

Parçacıklar vücudun bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılmasına rağmen, bazı MP'ler solunum yollarında tutulmakta ve solunum sistemi üzerinde toksik etkilere neden olmaktadır (Wright & Kelly, 2017). Solunan MP'lerin, solunum fonksiyonunu bozabileceği, pulmoner inflamatuvar yanıtı aktive edebileceği, oksidatif stresi artırabileceği ve akciğer fibrozuna neden olabileceği gösterilmiştir (Lim ve ark., 2021; Lu ve ark., 2021). Fan ve ark. larının sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada PS-MP'ler akciğer dokusunda birikerek solunum epitel bariyer bütünlüğünün bozulmasına ve akciğer hasarı ile inflamasyona yol açmıştır (Fan ve ark., 2022). Li ve arkadaşları, lastik aşınma MP'lerinin solunmasının C57BL/6 farelerinde kısıtlayıcı ventilasyon disfonksiyonuna, akciğer iltihabına ve pulmoner

fibrotik hasara neden olduğunu gözlemlemiştir (Li ve ark., 2022). Ayrıca, *in vitro* çalışmalar MP'lerin akciğer hücrelerine içselleştirildiğini ve bunun hücre canlılığının inhibisyonu, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi, inflamatuvar yanıt, genotoksisite, hücre ölümü ve akciğer bariyer fonksiyonunun bozulması ile sonuçlandığını ortaya koymuştur (Bengalli ve ark., 2022; Dong ve ark., 2020; Goodman, Hare, Khamis, Hua, & Sang, 2021; Yang ve ark., 2021).

3.3.Kardiyovasküler Sistem

Wei ve ark. ları yaptıkları çalışmada, sıçanlara içme suyu ile 90 gün boyunca uyguladıkları PS-MP'lerin kardiyak yapıda bozulmalar ve fonksiyon bozukluklarına yol açtığını bildirmişlerdir. Ayrıca PS-MP'ler mitokondri bütünlüğünü bozmuş ve miyokardiyal dokuda apoptoz ve piroptozu indüklemiştir (Wei ve ark., 2021). Li ve arkadaşları ise 90 gün boyunca 0,5 µm PS-MP'lere sindirim yoluyla maruz kalan sıçanların miyokard dokusunda miyokard hasarı, apoptoz, interstisyel hiperplazi ve kollajen birikiminin olduğunu gözlemlemiştir (Li ve ark., 2020). Çalışmalar MP'lerin vasküler yapı ve işlev üzerindeki etkilerini de göstermiştir. MP'ler aort inflamasyonunu teşvik edebilir ve aort dokusundaki adhesiv moleküllerin seviyelerini yükseltebilir ve obeziteye neden olarak damar fonksiyonunu dolaylı olarak etkileyebilir (Vlacil ve ark., 2021; Wang ve ark., 2023; Zhao ve ark., 2022). Lee ve arkadaşlarının yaptığı *in vitro* çalışmada PS-MP'lere maruz kalmanın hücre aktivitesini, göçünü ve tüp oluşumunu engellediği ve hatta vasküler endotel hücrelerinin otofajisini ve nekrozunu indüklediği gözlemlenmiştir (Lee ve ark., 2021).

3.4.Sinir Sistemi

Kwon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada PS-MP'lere oral olarak maruz bırakılan farelerin serebral korteks, hipokampus ve serebellumlarında MP birikimi tespit edilmiştir

(Kwon ve ark., 2022). Ayrıca PS-MP'lere maruz kalan farelerde öğrenme ve hafıza eksiklikleri, sinaptik protein seviyelerinde düşüş ve nöroinflamasyon fark edilmiştir (Lee ve ark., 2022; Wang ve ark., 2022). Ayrıca, MP'ler zebra balığı beynindeki nörotransmitter salgılanmasını bozarak, zebra balığında hiperaktivite gibi kaygı benzeri davranış değişikliklerine neden olmuştur (Wang ve ark., 2022; Yu ve ark., 2022). Ayrıca in vitro çalışmalar PS-MP'lerin insan mikroglia (HMC-3) ve heterojen nöronlarda birikimini ve bunun hücre aktivitesi, morfolojisi, fagositoz süreçleri, sitokin salgılanması ve apoptoz üzerindeki etkilerini de göstermiştir (Jung ve ark., 2020; Kwon ve ark., 2022).

Amerika Birleşik Devletleri Körfez Kıyısı'nda yaşayan 21.962 kişi arasında stiren maruziyetinin potansiyel nörolojik etkilerini değerlendirmek için 2011 yılında yürütülen bir çalışmada, çevresel stiren konsantrasyonları analiz edilerek ve 874 katılımcının kanındaki stiren birikimi ölçülerek stiren maruziyet seviyeleri belirlenmiştir. Katılımcıların üçte biri baş ağrısı, yorgunluk, baş dönmesi, uyuşukluk, görme bozuklukları ve mide bulantısı gibi nörolojik semptomlardan en az birini yaşadıklarını bildirmiştir. Yüksek kan stiren seviyeleri mide bulantısıyla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışma, çevresel stirene maruziyetin nörotoksik etkilere yol açabileceğini düşündürmektedir (Werder ve ark., 2018).

Yapılan çalışmalar MP'lere maruziyet ile nörolojik semptomların başlangıcı arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmüş olsa da, mekanizmalar hala belirsizliğini korumaktadır. MP'lerin sinir sistemini etkileyebileceği potansiyel mekanizmaları ortaya çıkarmak için daha fazla araştırma gerekmektedir (Winiarska, Jutel, & Zemelka-Wiacek, 2024).

3.5.Üreme Sistemi

Yürütülen bazı hayvan çalışmaları MP'lerin üreme üzerindeki etkisini açıklamaya çalışmıştır. An ve arkadaşları dişi sıçanlarda MP'lerin yumurtalık granüloza hücrelerinde apoptoz ve fibrozu indüklediğini gözlemlemiştir (An ve ark., 2021). Hou ve arkadaşları ise dişi sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada MP'lere maruziyetin foliküler hücre üretimini azalttığını dolayısıyla MP'lerin yumurtalık üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğunu ve kadın kısırlığı için potansiyel bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir (Hou ve ark., 2021). Liu ve arkadaşları da PS-MP'lere maruz kalan dişi farelerde yumurtalıkların iltihaplandığını ve oositlerin kalitesinin düştüğünü göstermiştir (Liu ve ark., 2022). Yapılan çalışmalar MP'lerin üreme sistemi üzerindeki bu olumsuzluklarına, oksidatif stres, inflamasyon, kalsiyum homeostaz dengesizliğinin indüklenmesi ve yumurtalık granüloza hücrelerinin apoptozunun sebep olduğu düşünülmektedir (Hou ve ark., 2021; Huang ve ark., 2023).

Uygulanan MP'lerin erkek üreme sistemleri üzerindeki zararlı etkileri arasında ise sperm sayısının azalması, sperm kalitesinin ve hareketliliğinin engellenmesi, sperm malformasyonunun artması, yapısal hasarlı testis dokusu ve anormal testosteron seviyesi yer almaktadır (Hou, Wang, Liu, & Wang, 2021; Jin ve ark., 2021; Wen ve ark., 2023; Xie ve ark., 2020). Örneğin, González-Acedo ve arkadaşlarının erkek sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada MP'lere maruziyetin sperm canlılığının azalmasıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (González-Acedo ve ark., 2021).

4. SONUÇ

Plastik kirliliği ciddi bir küresel sorundur. Güncel literatür plastiğin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkilerini kesin olarak vurgulamamakta veya güvenliğini doğrulamamaktadır. İnsan

hücreleri üzerinde yapılan araştırmalar, MP'lerin sitotoksosite, genotoksosite, inflamasyon, apoptoz ve oksidatif strese yol açabileceğini göstermiştir. Ancak, in vitro çalışmalar, MP maruziyetinin süresi ve plastik parçacık boyutlarının ve konsantrasyonlarının doğru bir şekilde belirlenmesi gibi belirli sınırlamalara sahiptir. Öncelikle plastiklerle yakın temas halinde çalışan bireylere odaklanan in vivo çalışmalar ise MP'lerin cilt, sindirim, solunum, sinir ve üreme sistemleri gibi çeşitli insan sistemleri üzerindeki potansiyel etkilerini de vurgulamaktadır.

Sonuç olarak, güncellenen in vivo ve in vitro deneysel kanıtlar genel olarak MP'lere maruz kalmanın histopatolojik lezyonlara ve birden fazla sistemde işlev bozukluğuna yol açabileceğini ve bunun sonucunda oksidatif stres, inflamatuvar yanıt, metabolik bozukluk, apoptoz ve genotoksitenin sebep olduğu hastalıklara yol açabileceğini göstermektedir.

KAYNAKÇA

- Amato-Lourenço, L. F., Carvalho-Oliveira, R., Júnior, G. R., dos Santos Galvão, L., Ando, R. A., & Mauad, T. (2021). Presence of airborne microplastics in human lung tissue. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 126124.
- An, R., Wang, X., Yang, L., Zhang, J., Wang, N., Xu, F., . . . Zhang, L. (2021). Polystyrene microplastics cause granulosa cells apoptosis and fibrosis in ovary through oxidative stress in rats. *Toxicology*, 449, 152665.
- Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1526), 1977-1984. doi:10.1098/rstb.2008.0304
- Auguet, T., Bertran, L., Barrientos-Riosalido, A., Fabregat, B., Villar, B., Aguilar, C., & Sabench, F. (2022). Are ingested or inhaled microplastics involved in nonalcoholic fatty liver disease? *International journal of environmental research and public health*, 19(20), 13495.
- Bashir, S. M., Kimiko, S., Mak, C.-W., Fang, J. K.-H., & Gonçalves, D. (2021). Personal care and cosmetic products as a potential source of environmental contamination by microplastics in a densely populated Asian city. *Frontiers in Marine Science*, 8, 683482.
- Bengalli, R., Zerboni, A., Bonfanti, P., Saibene, M., Mehn, D., Cella, C., . . . Mantecchia, P. (2022). Characterization of microparticles derived from waste plastics and their bio-interaction with human lung A549 cells. *Journal of Applied Toxicology*, 42(12), 2030-2044.
- Cedervall, T., Hansson, L.-A., Lard, M., Frohm, B., & Linse, S. (2012). Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. *PloS one*, 7(2), e32254.

- Chen, G., Feng, Q., & Wang, J. (2020). Mini-review of microplastics in the atmosphere and their risks to humans. *Science of the Total Environment*, 703, 135504.
- Chen, X., Zhuang, J., Chen, Q., Xu, L., Yue, X., & Qiao, D. (2022). Polyvinyl chloride microplastics induced gut barrier dysfunction, microbiota dysbiosis and metabolism disorder in adult mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 241, 113809.
- Dong, C.-D., Chen, C.-W., Chen, Y.-C., Chen, H.-H., Lee, J.-S., & Lin, C.-H. (2020). Polystyrene microplastic particles: In vitro pulmonary toxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 385, 121575.
- Fan, Z., Xiao, T., Luo, H., Chen, D., Lu, K., Shi, W., . . . Bian, Q. (2022). A study on the roles of long non-coding RNA and circular RNA in the pulmonary injuries induced by polystyrene microplastics. *Environment international*, 163, 107223.
- Fournier, S. B., D'Errico, J. N., Adler, D. S., Kollontzi, S., Goedken, M. J., Fabris, L., . . . Stapleton, P. A. (2020). Nanopolystyrene translocation and fetal deposition after acute lung exposure during late-stage pregnancy. *Particle and Fibre Toxicology*, 17, 1-11.
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.
- González-Acedo, A., García-Recio, E., Illescas-Montes, R., Ramos-Torrecillas, J., Melguizo-Rodríguez, L., & Costela-Ruiz, V. J. (2021). Evidence from in vitro and in vivo studies on the potential health repercussions of micro-and nanoplastics. *Chemosphere*, 280, 130826.

- Goodman, K. E., Hare, J. T., Khamis, Z. I., Hua, T., & Sang, Q.-X. A. (2021). Exposure of human lung cells to polystyrene microplastics significantly retards cell proliferation and triggers morphological changes. *Chemical research in toxicology*, 34(4), 1069-1081.
- Hernandez, L. M., Xu, E. G., Larsson, H. C., Tahara, R., Maisuria, V. B., & Tufenkji, N. (2019). Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea. *Environmental science & technology*, 53(21), 12300-12310.
- Hernandez, L. M., Yousefi, N., & Tufenkji, N. (2017). Are there nanoplastics in your personal care products? *Environmental Science & Technology Letters*, 4(7), 280-285.
- Hou, B., Wang, F., Liu, T., & Wang, Z. (2021). Reproductive toxicity of polystyrene microplastics: In vivo experimental study on testicular toxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 405, 124028.
- Hou, J., Lei, Z., Cui, L., Hou, Y., Yang, L., An, R., . . . Zhang, L. (2021). Polystyrene microplastics lead to pyroptosis and apoptosis of ovarian granulosa cells via NLRP3/Caspase-1 signaling pathway in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 112012.
- Huang, J., Zou, L., Bao, M., Feng, Q., Xia, W., & Zhu, C. (2023). Toxicity of polystyrene nanoparticles for mouse ovary and cultured human granulosa cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 249, 114371.
- Jin, H., Ma, T., Sha, X., Liu, Z., Zhou, Y., Meng, X., . . . Ding, J. (2021). Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123430.

- Jung, B. K., Han, S. W., Park, S. H., Bae, J. S., Choi, J., & Ryu, K. Y. (2020). Neurotoxic potential of polystyrene nanoplastics in primary cells originating from mouse brain. *Neurotoxicology*, 81, 189-196. doi:10.1016/j.neuro.2020.10.008
- Kolstad, H. A., Juel, K., Olsen, J., & Lynge, E. (1995). Exposure to styrene and chronic health effects: mortality and incidence of solid cancers in the Danish reinforced plastics industry. *Occupational and environmental medicine*, 52(5), 320-327.
- Kutralam-Muniasamy, G., Pérez-Guevara, F., Elizalde-Martínez, I., & Shruti, V. (2020). Branded milks—are they immune from microplastics contamination? *Science of the Total Environment*, 714, 136823.
- Kwon, J.-H., Kim, J.-W., Pham, T. D., Tarafdar, A., Hong, S., Chun, S.-H., . . . Kim, S.-B. (2020). Microplastics in food: a review on analytical methods and challenges. *International journal of environmental research and public health*, 17(18), 6710.
- Kwon, W., Kim, D., Kim, H.-Y., Jeong, S. W., Lee, S.-G., Kim, H.-C., . . . Han, J. E. (2022). Microglial phagocytosis of polystyrene microplastics results in immune alteration and apoptosis in vitro and in vivo. *Science of the Total Environment*, 807, 150817.
- Lee, C.-W., Hsu, L.-F., Wu, I.-L., Wang, Y.-L., Chen, W.-C., Liu, Y.-J., . . . Wang, C.-C. (2022). Exposure to polystyrene microplastics impairs hippocampus-dependent learning and memory in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 430, 128431.
- Lee, H.-S., Amarakoon, D., Wei, C.-i., Choi, K. Y., Smolensky, D., & Lee, S.-H. (2021). Adverse effect of polystyrene

- microplastics (PS-MPs) on tube formation and viability of human umbilical vein endothelial cells. *Food and Chemical Toxicology*, 154, 112356.
- Lehner, R., Weder, C., Petri-Fink, A., & Rothen-Rutishauser, B. (2019). Emergence of nanoplastic in the environment and possible impact on human health. *Environmental science & technology*, 53(4), 1748-1765.
- Li, B., Ding, Y., Cheng, X., Sheng, D., Xu, Z., Rong, Q., . . . Zhang, Y. (2020). Polyethylene microplastics affect the distribution of gut microbiota and inflammation development in mice. *Chemosphere*, 244, 125492.
- Li, D., Shi, Y., Yang, L., Xiao, L., Kehoe, D. K., Gun'ko, Y. K., . . . Wang, J. J. (2020). Microplastic release from the degradation of polypropylene feeding bottles during infant formula preparation. *Nature Food*, 1(11), 746-754.
- Li, Y., Shi, T., Li, X., Sun, H., Xia, X., Ji, X., . . . Zhang, R. (2022). Inhaled tire-wear microplastic particles induced pulmonary fibrotic injury via epithelial cytoskeleton rearrangement. *Environment international*, 164, 107257.
- Li, Z., Zhu, S., Liu, Q., Wei, J., Jin, Y., Wang, X., & Zhang, L. (2020). Polystyrene microplastics cause cardiac fibrosis by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway and promoting cardiomyocyte apoptosis in rats. *Environmental Pollution*, 265, 115025.
- Liebezeit, G., & Liebezeit, E. (2013). Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(12), 2136-2140.
- Lim, D., Jeong, J., Song, K. S., Sung, J. H., Oh, S. M., & Choi, J. (2021). Inhalation toxicity of polystyrene micro (nano) plastics using modified OECD TG 412. *Chemosphere*, 262, 128330.

- Liu, Z., Zhuan, Q., Zhang, L., Meng, L., Fu, X., & Hou, Y. (2022). Polystyrene microplastics induced female reproductive toxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127629.
- Lu, K., Lai, K. P., Stoeger, T., Ji, S., Lin, Z., Lin, X., . . . Gao, L. (2021). Detrimental effects of microplastic exposure on normal and asthmatic pulmonary physiology. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 126069.
- Lu, L., Wan, Z., Luo, T., Fu, Z., & Jin, Y. (2018). Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. *Science of the Total Environment*, 631, 449-458.
- Mason, S. A., Welch, V. G., & Neratko, J. (2018). Synthetic polymer contamination in bottled water. *Frontiers in chemistry*, 6, 389699.
- Moore, C. J. (2008). Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. *Environmental research*, 108(2), 131-139.
- Möller, J. N., Löder, M. G., & Laforsch, C. (2020). Finding microplastics in soils: a review of analytical methods. *Environmental science & technology*, 54(4), 2078-2090.
- Napper, I. E., & Thompson, R. C. (2020). Plastic debris in the marine environment: history and future challenges. *Global Challenges*, 4(6), 1900081.
- Oddone, E., Modonesi, C., & Gatta, G. (2014). Occupational exposures and colorectal cancers: a quantitative overview of epidemiological evidence. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(35), 12431.
- Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., . . . Draghi, S. (2021).

- Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environment international*, 146, 106274.
- Salim, S. Y., Kaplan, G. G., & Madsen, K. L. (2014). Air pollution effects on the gut microbiota: a link between exposure and inflammatory disease. *Gut microbes*, 5(2), 215-219.
- Schmidt, C., Lautenschlaeger, C., Collnot, E.-M., Schumann, M., Bojarski, C., Schulzke, J.-D., . . . Stallmach, A. (2013). Nano-and microscaled particles for drug targeting to inflamed intestinal mucosa—A first in vivo study in human patients. *Journal of controlled release*, 165(2), 139-145.
- Schneider, M., Stracke, F., Hansen, S., & Schaefer, U. F. (2009). Nanoparticles and their interactions with the dermal barrier. *Dermato-endocrinology*, 1(4), 197-206.
- Schwabl, P., Köppel, S., Königshofer, P., Bucsics, T., Trauner, M., Reiberger, T., & Liebmann, B. (2019). Detection of various microplastics in human stool: a prospective case series. *Annals of internal medicine*, 171(7), 453-457.
- Senathirajah, K., Attwood, S., Bhagwat, G., Carbery, M., Wilson, S., & Palanisami, T. (2021). Estimation of the mass of microplastics ingested—A pivotal first step towards human health risk assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 404, 124004.
- Stapleton, P. (2019). Toxicological considerations of nano-sized plastics. *AIMS environmental science*, 6(5), 367.
- Sun, H., Chen, N., Yang, X., Xia, Y., & Wu, D. (2021). Effects induced by polyethylene microplastics oral exposure on colon mucin release, inflammation, gut microflora composition and metabolism in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 220, 112340.

- Vlacil, A.-K., Bänfer, S., Jacob, R., Trippel, N., Kuzu, I., Schieffer, B., & Grote, K. (2021). Polystyrene microplastic particles induce endothelial activation. *PloS one*, 16(11), e0260181.
- Wang, S., Han, Q., Wei, Z., Wang, Y., Xie, J., & Chen, M. (2022). Polystyrene microplastics affect learning and memory in mice by inducing oxidative stress and decreasing the level of acetylcholine. *Food and Chemical Toxicology*, 162, 112904.
- Wang, X., Jia, Z., Zhou, X., Su, L., Wang, M., Wang, T., & Zhang, H. (2023). Nanoplastic-induced vascular endothelial injury and coagulation dysfunction in mice. *Science of the Total Environment*, 865, 161271.
- Wei, J., Wang, X., Liu, Q., Zhou, N., Zhu, S., Li, Z., . . . Zhang, L. (2021). The impact of polystyrene microplastics on cardiomyocytes pyroptosis through NLRP3/Caspase-1 signaling pathway and oxidative stress in Wistar rats. *Environmental Toxicology*, 36(5), 935-944.
- Wen, S., Chen, Y., Tang, Y., Zhao, Y., Liu, S., You, T., & Xu, H. (2023). Male reproductive toxicity of polystyrene microplastics: Study on the endoplasmic reticulum stress signaling pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 172, 113577.
- Werder, E. J., Engel, L. S., Richardson, D. B., Emch, M. E., Gerr, F. E., Kwok, R. K., & Sandler, D. P. (2018). Environmental styrene exposure and neurologic symptoms in U.S. Gulf coast residents. *Environ Int*, 121(Pt 1), 480-490. doi:10.1016/j.envint.2018.09.025
- Winiarska, E., Jutel, M., & Zemelka-Wiacek, M. (2024). The potential impact of nano- and microplastics on human

- health: Understanding human health risks. *Environ Res*, 251(Pt 2), 118535. doi:10.1016/j.envres.2024.118535
- Wright, S. L., & Kelly, F. J. (2017). Plastic and human health: a micro issue? *Environmental science & technology*, 51(12), 6634-6647.
- Xie, S., Zhang, R., Li, Z., Liu, C., Chen, Y., & Yu, Q. (2023). Microplastics perturb colonic epithelial homeostasis associated with intestinal overproliferation, exacerbating the severity of colitis. *Environmental research*, 217, 114861.
- Xie, X., Deng, T., Duan, J., Xie, J., Yuan, J., & Chen, M. (2020). Exposure to polystyrene microplastics causes reproductive toxicity through oxidative stress and activation of the p38 MAPK signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110133.
- Yan, Z., Liu, Y., Zhang, T., Zhang, F., Ren, H., & Zhang, Y. (2021). Analysis of microplastics in human feces reveals a correlation between fecal microplastics and inflammatory bowel disease status. *Environmental science & technology*, 56(1), 414-421.
- Yang, D., Shi, H., Li, L., Li, J., Jabeen, K., & Kolandhasamy, P. (2015). Microplastic pollution in table salts from China. *Environmental science & technology*, 49(22), 13622-13627.
- Yang, S., Cheng, Y., Chen, Z., Liu, T., Yin, L., Pu, Y., & Liang, G. (2021). In vitro evaluation of nanoplastics using human lung epithelial cells, microarray analysis and co-culture model. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 226, 112837.
- Yee, M. S.-L., Hii, L.-W., Looi, C. K., Lim, W.-M., Wong, S.-F., Kok, Y.-Y., . . . Leong, C.-O. (2021). Impact of

- microplastics and nanoplastics on human health. *Nanomaterials*, 11(2), 496.
- Yong, C. Q. Y., Valiyaveetil, S., & Tang, B. L. (2020). Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems. *International journal of environmental research and public health*, 17(05), 1509.
- Yu, H., Chen, Q., Qiu, W., Ma, C., Gao, Z., Chu, W., & Shi, H. (2022). Concurrent water- and foodborne exposure to microplastics leads to differential microplastic ingestion and neurotoxic effects in zebrafish. *Water Res*, 219, 118582. doi:10.1016/j.watres.2022.118582
- Zhang, Q., Xu, E. G., Li, J., Chen, Q., Ma, L., Zeng, E. Y., & Shi, H. (2020). A review of microplastics in table salt, drinking water, and air: direct human exposure. *Environmental science & technology*, 54(7), 3740-3751.
- Zhao, J., Gomes, D., Jin, L., Mathis, S. P., Li, X., Rouchka, E. C., . . . O'Toole, T. E. (2022). Polystyrene bead ingestion promotes adiposity and cardiometabolic disease in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 232, 113239.
- Zurub, R. E., Cariaco, Y., Wade, M. G., & Bainbridge, S. A. (2023). Microplastics exposure: implications for human fertility, pregnancy and child health. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, 1330396. doi:10.3389/fendo.2023.1330396

CYP2D6 GEN POLİMORFİZMİNİN ANTİDEPRESAN METABOLİZMASINA ETKİSİ

Fatma Zehra DEMİR¹

Fatma Özlem KARGIN SOLMAZ²

1. GİRİŞ

İlaçların ve ksenobiyotiklerin vücuda alındıktan sonra kimyasal olarak yapılarının değişmesine metabolizma (biyotransformasyon) denir. Sitokrom P450 (CYP450) bu reaksiyonların %90'ından fazlasında görev alan enzim ailesidir (Zhao ve ark., 2021). Memelilerdeki en büyük CYP ailesi olan CYP2 ailesi ilaçların %20-25'inin metabolizmasında görev alır (Nebert ve Russell, 2002; Kantar, 2020). CYP2D6 toplam hepatik CYP içeriğinin sadece %2-4'ünü oluştursa da başlıca antidepresanlar, antipsikotikler, opioid analjezikler, beta blokörler, antiaritmikler gibi klinik açıdan önemli ilaçların oksidatif metabolizmasından sorumludur (Bernard ve ark., 2006; Taylor ve ark., 2020). CYP2D6 oldukça polimorfiktir ve pek çok aleli mevcuttur (Becker ve ark., 2024). Farklı alellerin aktivite düzeyine bağlı olarak CYP2D6 diplotipine bir aktivite puanı verilir. CYP2D6'nın aktivite skoruna göre genotip bazlı bir fenotip atanır. Bu değerlendirmeye göre zayıf metabolizör (PM), orta hızlı metabolizör (IM), normal metabolizör (EM) ve ultra hızlı metabolizör (UM) fenotipleri belirlenir. Bununla birlikte CYP2D6, yaygın olarak kullanılan çeşitli ilaçlar tarafından

¹ Eczacı, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, fatmazehra40@gmail.com ORCID: 0009-0006-3265-5548.

² Dr. Öğr. Üyesi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, ozlem.solmaz@afsu.edu.tr, ORCID:0000-0002-3908-3371.

inhibisyona oldukça duyarlıdır ve CYP2D6 fenotipini tahmin ederken CYP2D6 inhibitörlerinin eş zamanlı kullanımı dikkate alınmalıdır. Bu inhibitör ilaçlar, CYP2D6 NM'leri veya UM'leri, IM'lere veya PM'lere dönüştürebilir (Nahid ve Johnson, 2022). CYP2D6 alel frekansları etnik gruplar içinde de farklılıklara neden olur ve bu farklılıklar CYP2D6'nın enzimatik fonksiyonunu önemli ölçüde etkiler. (Kane, 2021).

İlaç metabolizmasındaki bireyler arası farklılıklar nedeniyle ilaçların optimal kan düzeylerine ulaşmak için gerekli dozlar bireyler arasında farklılık gösterir. Bu durum yan etki riskinde ve toksisitede artışa neden olabileceği gibi ilaç etkisinde azalışla birlikte tedavi süresinin uzamasına da yol açabilmektedir (Vos ve ark, 2023).

2. BİYOTRANSFORMASYON

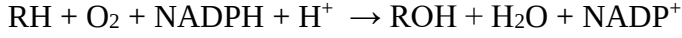
Genel olarak detoksifikasyon reaksiyonları ile ilaçların toksisiteleri azaltılır ancak bazı durumlarda bu enzimatik süreçte biyoaktivasyon reaksiyonları ile aktif moleküller oluşabilir (Zhao ve ark., 2021). Biyotransformasyon reaksiyonları temelde Faz 1 ve Faz 2 reaksiyonları olarak ikiye ayrılır. Faz 1 reaksiyonları ile daha polar hale getirilen ilaç molekülleri Faz 2 reaksiyonları için substrat görevi görür. Faz 2 reaksiyonları ile konjuge forma dönüşen ilaç moleküllerinin idrarda ya da safrada atılımı sağlanır (Özdemir ve Karakurt, 2016). İnsanlarda bu reaksiyonların katalizinden sorumlu birçok enzim vardır ve bunlar tüm dokularda bulunmakla birlikte esas önemli organ karaciğerdir (Croom, 2012).

2.1.CYP450 Monooksijenaz Reaksiyonları

CYP450 enzimleriyle katalizlenen reaksiyonlarda monooksijenazlar bir yandan substrata (RH) oksijenin bir

atomunu aktarıp substratı yükseltgerken (ROH); diğer yandan oksijeni su haline (H₂O) indirger.

Basit şekilde aşağıdaki gibi gösterilen bu reaksiyonda CYP izoformları oldukça benzer bir reaksiyon mekanizmasına sahiptir (Croom, 2012).



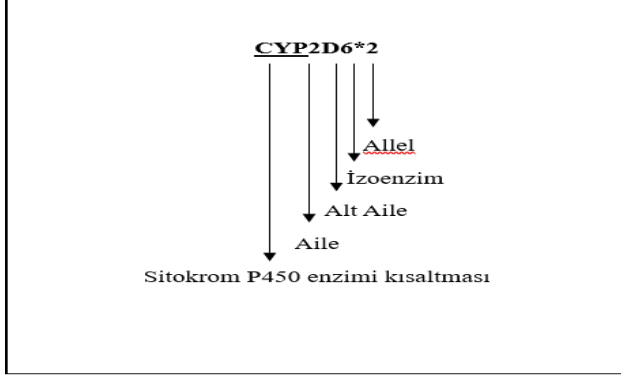
2.2.CYP450 Enzim Sistemi

CYP450, 1958 yılında Martin Klingenberg tarafından ilk olarak sıçan karaciğerinde mikrozomal karbon monoksit (CO) bağlayıcı pigmentin bir spektrumu olarak rapor edilmiştir (Klingenberg, 1958). Omura ve Sato 1962 yılında bu spektrumu karakterize ederek (Omura ve Sato, 1962) pigment kelimesini simgeleyen P ve bu pigmentlerin CO'ye bağlanarak 450 nm'de absorblanan en yüksek ışık miktarını vermesi ile 450 şeklinde raporlamışlardır (Guengerich, 2021).

CYP'ler "hem" içeren proteinler olup tüm canlı organizmalarda bulunur. İnsanda karaciğerde yüksek oranda olmak üzere böbrekler, barsaklar, akciğer ve beyinde yer alarak Faz 1 reaksiyonlarında önemli rol oynarlar (Özen, 2022).

CYP450 enzim ailesinde çok fazla izoenzim bulunması nedeniyle sistematik bir şekilde isimlendirilmesi gerekmiş ve aileler arasındaki benzerlikler dikkate alınarak bir sınıflandırma yapılmıştır. %40'tan daha fazla aminoasit benzerliğine sahip olan proteinler aynı ailede tanımlanırken bu benzerlik %55'ten fazla ise aynı alt aile altında sınıflandırılır (Gürbüz, 2023). CYP Adlandırma Komitesi tarafından yapılan sınıflandırmaya göre CYP enzimleri Şekil 1'teki gibi adlandırılır.

Şekil 1. CYP Enzimlerinin Adlandırılması

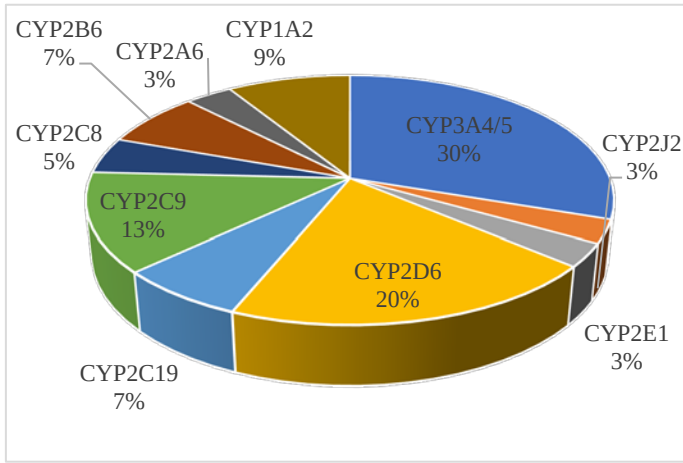


Kaynak: (Gürbüz, 2023)

Bir yıldız (*) aleli, tanımlanmış bir gen bölgesini (örneğin; CYP2D6*2) kullanan bir haploiti belirtir (Alade ve ark., 2024). CYP2D6*M×N ise gen duplikasyonlarını belirtirken; N, kopya sayısını gösterir (Gürbüz, 2023).

İnsanda tanımlanmış 59 adet izoenzim ve 18 adet aile bulunmakta olup bu aileler başlıca 3 gruba ayrılır: CYP1, CYP2 ve CYP3 (Gürbüz, 2023). Bu aileler Faz 1 metabolizmasının %75-80'inden sorumlu olup klinik olarak kullanılan ilaçların klirensinin %65-70'inden sorumludur (Dolžan, 2007). Özellikle CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 ve CYP3A5 alt aileleri klinik açıdan önemli pek çok ilacın biyotransformasyonunda görev alır (Al ve ark., 2017). CYP enzimleri tarafından metabolize edilen ilaçların oranına ait grafik Şekil 2’te belirtilmiştir.

Şekil 2. CYP İzoformları Tarafından Metabolize Edilen Klinik Olarak Kullanılan İlaçların Oranı

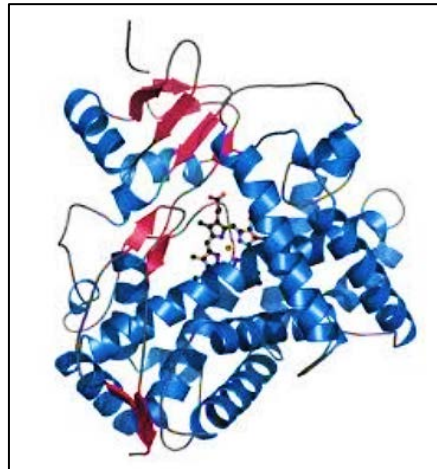


Kaynak: (Zanger ve Schwab, 2013)

2.2.1. CYP2D6 Enzim Sistemi

CYP2D6 enzimi 497 amino asitten oluşan ve sitozolik yüzeydeki endoplazmik retikulumun fosfolipid çift katmanına gömülü, hem içeren bir polipeptittir (Hassan ve ark., 2016; Gopisankar, 2017). Şekil 3'te 3 boyutlu yapısı gösterilmiştir.

Şekil 3. CYP2D6'nın 3 boyutlu yapısı



Kaynak: (Hassan ve ark., 2016).

Metabolizma bölgesinden 5-7 Å uzaklıktaki protonlanabilir nitrojen atomuna sahip lipofilik bazlar CYP2D6'nın substratlarını oluşturur (Ingelman-Sundberg, 2005). Tablo 1'de CYP2D6 substratları verilmiştir.

Tablo 1. CYP2D6 substratları

TCA	Amitriptilin Desipramin İmipramin Klomipramin Nortriptilin	SSRI/SNRI	Duloksetin Fluoksetin Fluvoksamin Paroksetin Sertralin Venlafaksin
Antipsikotikler	Aripiprazol Risperidon Olanzapin Tiyoridazin	Opioid Analjezikler	Kodein Oksikodon Tramadol
Beta Blokörler	Metoprolol Propranolol	Diğer	Tamoksifen Atomoksetin Sinarizin Flunarizin
Antiaritmikler	Amiodaron Propafenon		

Kaynak: (Zanger ve ark., 2004; Bernard ve ark., 2006; Zanger ve Schwab, 2013)

(TCA: Trisiklik antidepresanlar; SSRI: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri; SNRI: Serotonin ve norepinefrin geri alım inhibitörleri)

3. GENETİK POLİMORFİZM

İlaça verilen bireysel yanıtta farklılıkların %20-40'ından, istenmeyen yan etkilerin %50'sinden genetik farklılıklar sorumludur (Fejzullahu, 2018). Popülasyonun yüzde 1'inden fazlasında bulunan genetik değişikliklere “polimorfizm” denir ve en yaygın türü SNP'lerdir. SNP; DNA sekansındaki tek nükleotidlik değişimlerdir (Mroziejewicz ve Tyndale, 2010). %1'den daha az oranda bulunan değişimlere ise “mutasyon” adı verilir (Erdem ve Bacanlı, 2021). SNP'ler sonucu ilaçları metabolize eden enzimlerdeki özellikle CYP enzimleri üzerindeki genetik farklılıklar ile ilaçların metabolizma hızları ve bireylerin

ilaçlara duyarlılığı değişebilmektedir. CYP enzimlerinin çoğu alelik varyantlara sahip olup genetik polimorfizm göstermektedir. (Fejzullahu, 2018). Buna göre bireyler CYP2D6 bakımından dört farklı fenotipe sahiptir:

PM'ler, iki eksik alele sahip olup ilaçları belirgin derecede yavaş metabolize ederler.

IM'ler, PM fenotipinden EM fenotipine kadar olan bir aktiviteye sahip olup değişebilen geniş bir metabolik aktivite spektrumuna sahiptir.

EM'ler, popülasyonun çoğunluğunun sahip olduğu normal enzim aktivitesine sahip fenotiptir.

UM'lar, ikiden fazla fonksiyonel alele sahip olan bu fenotipe sahip bireyler ilaçları çok hızlı bir şekilde metabolize eder (Bernard ve ark., 2006).

3.1.CYP2D6 Polimorfizm Çalışmaları

CYP2D6, polimorfizm yönünden üzerine en çok çalışma yapılan CYP enzimi olup polimorfik P450'ler arasında moleküler düzeyde karakterize edilen ilk polimorfizmdir. *CYP2D6*'nın şu ana kadar 165 alelik varyantı keşfedilmiştir (Becker ve ark., 2024) *CYP2D6* geni *CYP2D* alt ailesinin protein kodlayan tek geni olup 22q13.1 kromozom bölgesine lokalizedir (Ingelman-Sundberg 2005; Kantar, 2020). Bir bireyin sahip olduğu *CYP2D6* alellerinin kombinasyonu o kişinin diploitini vermektedir ve her alele bir değer atanarak diploitin aktivite skoru hesaplanır ve bu değere göre bireyin fenotipi belirlenir (Kane, 2021). Buna göre *CYP2D6* alelleri aktivitelere göre 3 sınıfa ayrılmış olup bunlar şu şekilde belirtilmiştir:

Normal aktivite gösteren aleller: *CYP2D6**1, *2, *17×2, *27, *29×2, 33, *34, *35, *39, *45, *46, *48, *53

Azalmış aktivite gösteren aleller: CYP2D6*9, *9×2, *10, *10×2, *14, *17, 29, *32, *41, *41×2, *41×3, *49, *50, *52, *54, *55, *59, *91, *109, *119, *132

Aktivite göstermeyen aleller: CYP2D6*3, *3×2, *3×N, *4, *4×2, *4×N, *4×≥3, *5, *6, *6×2, *6×N, *7, *8, *11, *12, *13, *15, *18, *19, *20, *21, *31, *36, *36×2, *36×N, *38, *40, *42, *44, *47, *51, *56, *60, *62, *68, *69, *81, *92, *96, *99, *100, *101, *114, *120, *124, *129, *143, *144, *156, *161 (Al ve ark., 2017; <https://www.pharmgkb.org/>, Erişim tarihi: 20 Şubat 2024).

CYP2D6*1 aleli referans olarak kabul edilir ve normal enzim aktivitesine sahiptir (Kane, 2021). Aktivite skoru normal aktiviteye sahip aleller için 1, normal aktiviteli alelin duplikasyonu için 2, azalmış aktiviteli aleller için 0.5 ve aktivite göstermeyen aleller için 0 olarak tanımlanmıştır (Al ve ark., 2017). Bu değerlendirmeye göre belirlenen fenotipler Tablo 2’de belirtildiği üzeredir.

Tablo 2. Hesaplanan Aktivite Skoruna Belirlenen Uygun Fenotipler

Uygun Fenotip	Aktivite Skoru
Yavaş metabolize edici (PM)	0
Orta düzey metabolize edici (IM)	0,25- 1
Normal metabolize edici (EM)	1,25- 2,25
Ultra hızlı metabolize edici (UM)	>2,25

Kaynak: (Kane, 2021)

Yapılan pek çok çalışmada CYP2D6 alel frekansının etnik gruplar içinde farklılıklara neden olduğu görülmüştür. Küresel olarak EM ve IM en yaygın görülen fenotiplerdir. EM’ler popülasyonun %43-67’sini oluştururken, IM’ler %10-44’ ünü oluşturur. PM ve UM ise daha az yaygındır ancak ilaçların beklenen terapötik etkiyi göstermesi açısından kritik öneme sahiptirler (Kane, 2021). CYP2D6 PM ve UM’lerin oranı

sırasıyla %0,4-10 ve %1-21 arasında değişmektedir (Kehinde ve ark., 2023).

4. CYP2D6 İNHİBİSYONU VE İNDÜKSİYONU

CYP enzimlerinin indüksiyonu ve inhibisyonu ilaç-ilaç ve besin-ilaç etkileşmelerinde önemli yere sahip olaylardır. Birbirinden farklı iki ilacın birlikte kullanılmasıyla bir ilacın diğerinin metabolizmasından sorumlu olan enzimler üzerinde indüksiyon ya da inhibisyona yol açmasıyla diğer ilacın beklenen etkisinde artış veya azalış olmasına metabolizma düzeyinde ilaç etkileşimleri denir (Büyükokuroğlu ve ark., 2019). İlaçlara ek olarak diyet, kozmetik kullanımı, çevresel kirleticiler vb. yoluyla çok sayıda başka kimyasal maddeye de maruz kalma ile de CYP enzimleri indüklenebilir ya da inhibisyona uğrayabilir (Hakkola ve ark., 2020).

CYP2D6 çoğunlukla indüklenemez ancak birçok ilaç tarafından ilaç-ilaç etkileşimlerine yol açan inhibisyona maruz kalır. CYP2D6 inhibitörleri içinde bupropion, fluoksetin, kinidin, paroksetin, sinakalset ve *H. canadensis* (Altın mühür) bitkisi güçlü inhibitör etkinliğe sahiptir (Özen, 2022).

CYP2D6 metabolizması, CYP2D6 inhibitörlerinin kesilmesinden 5-7 gün sonra normal aktivitesini kazanabilir. UM fenotipi yalnızca genetik çeşitlilik yoluyla gerçekleştirilebilirken, PM ve IM fenotipleri genotip, ilaç etkileşimlerine dayalı olarak ortaya çıkabilir. Bu sebeple, CYP2D6 inhibitörlerinin eş zamanlı kullanımı, birey genotipik olarak EM olsa bile PM gibi davranmasına neden olabilir. Bu nedenle, CYP2D6 substratlarıyla tedavinin kişiselleştirilmesi arayışında tek başına CYP2D6 genotipinin dikkate alınması yetersizdir (Nahid ve Johnson, 2022).

5. ANTİDEPRESANLAR VE CYP2D6 GEN POLİMORFİZMİ

Depresyon tedavisinde antidepresanlar için ortalama yanıt oranı %42 ila %53 arasında değişirken hastaların yaklaşık %50'sinin tedavi sırasında advers reaksiyonlar yaşadığı bilinmektedir. Advers etkiler ve terapötik etkisizlik, antidepresanlara uyumun zayıf olmasına ve antidepresanların bırakılmasına önemli bir katkıda bulunmaktadır (Kee ve ark., 2023). Antidepresanlar, CYP450 enzimlerinin çeşitli izoformları, özellikle CYP2D6 ve CYP2C19 izozimleri tarafından metabolize edilir (Vos ve ark., 2023). İlaç metabolizmasındaki bireyler arası farklılıklar nedeniyle antidepresanların optimal kan düzeylerine ulaşmak için gereken doz hastalar arasında büyük ölçüde farklılık gösterir (Milosavljevic ve ark., 2021).

5.1. Trisiklik Antidepresanlar ve CYP2D6 Polimorfizmi

TCA'lar için farmakogenetik önemlidir çünkü terapötik TCA plazma konsantrasyonları iyi tanımlanmıştır ve tedaviye sıklıkla yüksek yan etki riski eşlik etmektedir. Terapötik bir TCA plazma konsantrasyonuna ulaşmak için, genellikle birkaç hafta süresince birden fazla dozaj ayarlaması yapılması gerekir. Bu arada yetersiz tedavi, depresif semptomları ve intihar eğilimini kötüleştirebilir, tedavi süresini uzatabilir ve sağlık maliyetlerini artırabilir (Vos ve ark., 2023).

5.1.1. Amitriptilin

Amitriptilin, majör depresif bozukluk (MDB), OKB, yaygın anksiyete bozukluğu ve bulimia dahil olmak üzere çeşitli psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılan bir trisiklik antidepresandır. Amitriptilin esas olarak CYP2C19 tarafından nortriptiline metabolize edilse de hem amitriptilin hem de nortriptilin CYP2D6 tarafından hidroksilasyon yoluyla sırasıyla (E) -10-OH-amitriptilin ve (E) -10-OH-nortriptiline dönüştürülür.

Nortriptilin de tıpkı amitriptilin gibi aktif bir bileşiktir ve depresyon tedavisinde kullanılır (Ryu ve ark., 2017).

Klinik Farmakogenetik Uygulama Konsorsiyumu (CPIC), 2016 yılında CYP2C19 ve CYP2D6 genotipleri ve TCA için doz önerilerinin bulunduğu bir kılavuz geliştirdi. Kılavuz, ikiden fazla CYP2D6 normal fonksiyon alelini taşıyan UM'ler için potansiyel terapötik etkinlik eksikliği nedeniyle TCA kullanımından kaçınılmasını ve CYP2D6 tarafından metabolize edilmeyen alternatif bir ilacın kullanılmasını önerir. Bir azalmış fonksiyonlu ve bir işlevsiz alel taşıyan ara metabolizörler için dozun %25 oranında azaltılmasını önerir (Dean, 2017).

5.1.2. İmipramin ve Desipramin

İmipramin, 1950'lerin sonlarında depresyon tedavisinde kullanılan ilk trisiklik olup hala MDB, OKB, TSSB gibi çeşitli psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılan bir trisiklik antidepressandır. Ayrıca nöropatik ağrı, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu ile 6 yaş ve üzeri çocuklarda enürezis tedavisinde de endikasyon dışı olarak kullanılmaktadır (Dean, 2012). İmipraminin ana metabolik yolu CYP2C19 tarafından katalizlenen N-demetilasyon ile desipramin oluşumudur. Desipramin de depresyon, manik depresif hastalığının depresif fazında ve psikotik depresyon tedavisinde endikedir (Schenk ve ark., 2008). Desipramin öncelikle CYP2D6 tarafından 2-hidroksi desipramine dönüştürülür (Samant ve ark., 2017). Yan etkilerin yüksek trisiklik plazma konsantrasyonlarına bağlı olması daha muhtemel olduğundan CPIC, CYP2D6 PM'ler için alternatif ajanlar önermektedir. Trisiklik kullanımının gerekli olduğu durumlarda ise, CPIC olağan başlangıç dozunun %50 azaltılmasının düşünülmesini önerir ve terapötik ilacın izlenmesini şiddetle tavsiye eder.

CYP2D6 UM'ler ise, EM'lere kıyasla terapötik aralıkta olmak için daha yüksek dozlarda imipramine ihtiyaç duyarlar.

Bununla birlikte, imipramin dozunun arttırılması, kardiyotoksisite riskini artırabilecek yüksek plazma desipramin konsantrasyonlarına yol açabilir. Bu nedenle CPIC, CYP2D6 UM'ler için alternatif bir ajanın kullanılmasını önermektedir (Dean, 2012).

5.1.3. Klomipramin

Klomipramin 1989 yılında OKB için FDA onaylı ilk ilaç olup günümüzde de on yaş ve üzeri için OKB tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca narkolepsiye eşlik eden kas zayıflığı katapleksi, nöropatik ağrı, panik bozukluğu, pediatrik gece enürezisi gibi hastalıkların tedavisi için de endikasyon dışı kullanılmaktadır (Wilson ve Tripp, 2022).

Klomipraminin çeşitli CYP450 enzimleri tarafından N-Desmetil klomipramine metabolize olur. N-Desmetil klomipramin aktif bir metabolit olup hem ana ilaç hem de aktif metabolit, CYP2D6 tarafından katalize edilen hidroksilasyona uğrar (Dubey ve Fozdar, 2018).

CYP2D6*4, Kafkasyalılarda en yaygın varyant aleldir (alel sıklığı %20) ve PM fenotipinde en sık görülen işlevsel olmayan aleldir; PM'lerin %75'inden fazlası bu polimorfizmin taşıyıcılarıdır. Bu fenotipik varyantlar klomipramin konsantrasyonlarında 40 kat farka neden olabilir (Wilson ve Tripp, 2022).

5.2. Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SSRI) ve CYP2D6 Polimorfizmi

SSRI'lar, MDB için birinci basamak tedavi seçenekleri arasındadır. Bunun yanı sıra panik bozukluğu, sosyal anksiyete, OKB, TSSB, otizm, yeme bozuklukları, premenstrüel sendrom tedavisinde de kullanılırlar (Edinoff ve ark., 2021).

5.2.1. Fluoksetin

Fluoksetin, 1987 yılında ABD'de tıbbi kullanım için onaylanmasının ardından hala dünya çapında en yaygın kullanılan antidepresanlardan biridir. Fluoksetin MDB, OKB, panik bozukluğu, bulimia nevroza ve premenstrüel disforik bozukluğu tedavisinde kullanılan güçlü bir SSRI'dır (Deodhar ve ark., 2021).

Fluoksetin CYP enzimleri ile büyük ölçüde metabolize edilir ve sadece %2'si değişmeden idrarla atılır. CYP2D6 fluoksetin metabolizmasında rol oynayan başlıca CYP450 enzimidir. Fluoksetin için iki ana metabolik yol vardır: Norfluoksetin'e (N-desmetilfluoksetin) N-demetilasyon ve p-triflorometilfenol'e O-dealkilasyon. Fluoksetin, güçlü bir CYP2D6 inhibitörü olmasının yanında orta derecede CYP2C19 ve zayıf olarak da CYP3A4 inhibitörüdür (Zhou, 2009; Deodhar ve ark., 2021). CYP2D6 bakımından PM fenotipli bireylerde EM'lere kıyasla plazma fluoksetin/norfluoksetin oranı daha yüksek olmakta ve hem ilacın hem de metabolitlerin yarı ömürleri uzamaktadır. Bu durum fluoksetin tedavisi kesildikten sonra bile ilaç etkileşim riskini arttırmaktadır (LLerena ve ark., 2004; Zhou, 2009).

5.2.2. Fluvoksamin

Fluvoksamin OKB tedavisinde ilk onaylanan SSRI olup MDB ve anksiyete bozukluklarının tedavisinde kullanılır (Dilbaz ve Karamustafalıoğlu, 2008; Zhou, 2009).

Fluvoksamin, temel olarak CYP2D6 ve daha az ölçüde CYP1A2 tarafından idrardaki inaktif ana metabolitine (5-demetoksilenmiş karboksilik asit) dönüştürülür. Fluvoksamin güçlü bir CYP1A2 inhibitörü, orta derecede CYP2C19 ve 3A4 inhibitörü ve zayıf bir CYP2D6 inhibitörüdür. (Hrdina, 1991; Zhou, 2009). SSRI'ların ve kinidinin spartein metabolizması üzerindeki inhibisyon etkilerini inceleyen çalışmada incelenen

bileşiklerin CYP2D6 karşısındaki *in vitro* etkinlik sıralaması şu şekildedir: kinidin> paroksetin> fluoksetin = norfluoksetin =sertaline> fluvoksamin. SSRI'lar içinde fluvoksaminin en düşük ilaç etkileşim potansiyeline sahip olduğu göstermektedir (Ereshefsky ve ark., 1995).

CPIC tarafından yayınlanan dozaj kılavuzunda CYP2D6 PM'ler için önerilen başlangıç dozunun %25-50 oranında azaltılmasını ve daha yavaş titrasyon programını veya CYP2D6 tarafından metabolize edilmeyen alternatif bir ilacın kullanılmasını önerilmektedir (Zastrozhin ve ark., 2018).

5.2.3. Paroksetin

Paroksetin depresyon, panik bozukluğu, OKB, sosyal anksiyete bozukluğu, yaygın anksiyete bozukluğu ve TSSB tedavisinde kullanılan bir SSRI'dır. Paroksetin, oral uygulamadan sonra neredeyse tamamen emilir ve karaciğerde büyük oranda metabolize edilir. Oluşan metabolitleri farmakolojik olarak aktif değildir.

Paroksetin, CYP2D6 tarafından metabolize edilmesinin yanı sıra bu enzim üzerinde inhibitör etkiye de sahip olduğu için birlikte kullanıldığı ilaçların metabolizmasını da etkileyebilir. Bu durum, özellikle dar bir terapötik indeksi olan, bu enzim tarafından metabolize edilen bazı trisiklik antidepresanlar, antipsikotikler ve antiaritmikler gibi ilaçların plazma konsantrasyonlarının artmasına neden olabilir. Çalışmalar, paroksetinin desipramin ve imipramin plazma konsantrasyonlarında önemli bir artışa neden olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla, özellikle birlikte verilen ilacın dar bir terapötik indeksi varsa, paroksetin başka CYP2D6 substratlarıyla birlikte kullanıldığında dikkatli olunmalıdır (Gunasekara ve ark., 1998). Tüm SSRI'lar içinde paroksetin CYP2D6 için en yüksek inhibitör etkiye sahiptir (Kowalska ve ark., 2021).

5.2.4. Sitalopram/Essitalopram

Sitalopram, S- ve R- enantiyomerlerin rasemik bir karışımıdır, ancak terapötik etkisinin çoğunun veya tamamını S-enantiyomeri olan essitalopramdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Essitalopram majör depresif bozukluk tedavisi için sıklıkla reçete edilen bir SSRI'dır. Essitalopram öncelikle CYP2C19 ve CYP3A4 tarafından N- demetilasyonla S-desmetilsitaloprama metabolize edilir. Ardından oluşan bu metabolit CYP2D6 ile inaktif formdaki S- didemetilsitaloprama dönüştürülür (Han ve ark., 2013; Ji ve ark., 2014).

Aripiprazol, MDB tedavisi için standart antidepresan tedavisiyle birlikte etkili bir güçlendirme seçeneği olup ağırlıklı olarak CYP2D6 tarafından metabolize edilir (Kirschbaum ve ark., 2008). Islam ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada CYP2D6 üzerinde zayıf inhibitör etkili essitalopramın CYP2D6 substratı olan aripipirazolle eş zamanlı tedavisi uygulanan hastalarda CYP2C19 ve CYP2D6 metabolizör fenotipleri ile tedaviye yanıt ve tolere edilebilirlik arasındaki ilişkileri incelemişlerdir. Essitalopram + aripipirazol tedavisinde CYP2D6 EM'lerin yalnız essitalopram monoterapisi uygulanan CYP2D6 EM'lere kıyasla sürekli olarak daha yüksek essitalopram serum seviyeleri gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca essitalopram + aripipirazol tedavisinde CYP2D6 IM ve PM'lerin tedavi ile ilişkili santral sinir sistemi yan etkisi bildirme olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

5.2.5. Sertralin

Sertralin MDB, OKB, panik bozukluğu, PMDB, TSSB, sosyal anksiyete bozukluğunda endike olan bir SSRI'dır (Singh ve Saadabadi, 2019).

Sertralin, oral uygulamayı takiben yavaş yavaş emilir ve ilk geçiş oksidasyonuna uğrayarak karaciğerde N-desmetil-sertralin metabolitine dönüştürülür. Sertralin karaciğerde

CYP2D6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 ve CYP3A4 dahil birçok CYP izoformu ile metabolize edilir. CYP2D6 PM'lerin sertralin metabolizmasında istenmeyen yan etkilere maruz kaldığı rapor edilse de diğer CYP izoformlarının da sertralinin N-demetilasyonuna katkıda bulunması ile bu etkiler tolere edilebilir seviyelerde olmaktadır. N-desmetil-sertralin zayıf aktif bir metabolit olsa da serotonin geri alım inhibisyonu üzerinde ana ilaç sertralinin %5-10'luk etkisine sahiptir (De Vane ve ark., 2002).

Kurtz ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada imipramin ve desipraminle birlikte çoklu doz sertralin uygulanmasında sertralinin imipramin ve desipramin metabolizmasını inhibe ettiğini göstermiştir. CYP2D6 ile metabolize edilen imipramin ve desipraminin sertralin ve metaboliti olan N-desmetil-sertralinle inhibisyonu ile plazma imipramin ve desipramin seviyelerinde artış görülmüştür.

5.3.Diğer Antidepresanlar

SSRI'ların kullanıma sunulmasından sonra, farklı etki mekanizmalarına sahip yeni nesil antidepresanlar klinik uygulamaya girmiştir. Bu ilaçlar TCA'lar ve monoamin oksidaz inhibitörleri gibi birinci nesil antidepresanlarla karşılaştırıldığında, farmakodinamik ilaç etkileşimleri açısından daha düşük risklidir. Buna karşın farmakokinetik ilaç etkileşimlerine duyarlıdır. Tüm yeni nesil antidepresanlar karaciğerde CYP izoenzimleriyle metabolize edilir ve eş zamanlı CYP izoenzim inhibitörlerinin veya indükleyicilerinin uygulamasında plazma konsantrasyon seviyelerinde değişikliklere neden olur (Spina ve ark., 2012).

5.3.1.Venlafaksin

Venlafaksin ABD'de klinik uygulamaya sunulan ilk serotonin noradrenalin geri alım inhibitörü (SNRI) idi. FDA tarafından onaylanmış dört klinik endikasyonu vardır: MDB,

yaygın anksiyete bozukluğu, panik bozukluğu ve sosyal fobi. Venlafaksin serotonin geri alımını noradrenalin geri alımından daha fazla inhibe eder ve bu inhibisyon sıralı bir şekilde gerçekleşir. Bu duruma bağlı olarak venlafaksin tedavisinin başında serotonine bağlı yan etkiler (baş ağrısı, yorgunluk, bulantı) görülürken sonraki yan etkiler ise hem serotonin hem de norepinefrin ile ilişkilidir (ağız kuruluğu, gece terlemeleri). Yüksek dozlarda venlafaksin dopamin geri alımı üzerine de zayıf inhibisyon gösterir (Spina ve ark., 2012; Sansone ve Sansone, 2014).

Venlafaksin karaciğerde CYP2D6 tarafından aktif metaboliti o-desmetilvenlafaksine (desvenlafaksin) ve CYP3A4 tarafından da inaktif metaboliti N- desmetilvenlafaksine metabolize edilir. Desvenlafaksin de tıpkı venlafaksin gibi serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörüdür ancak daha düşük etkilidir (Spina ve ark., 2008; Shelton, 2019). Desvenlafaksin/venlafaksin konsantrasyonlarının oranının CYP2D6'yı hızlı ve yavaş metabolize edenler olarak fenotiplemek için kullanılabilir. *İn vitro* çalışmalara göre venlafaksin; fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin ve sertralin gibi SSRI'lara kıyasla daha zayıf bir CYP2D6 inhibitörüdür (Spina ve ark., 2012).

5.3.2. Duloksetin

Duloksetin, ABD'de kullanımı FDA tarafından onaylanan ikinci SNRI olup bu grup içinde en fazla endikasyona sahip olan ilaçtır. MDB, yaygın anksiyete bozukluğu, diyabetik nöropatik ağrı, fibromiyalji, osteoartrit, kronik kas iskelet ve bel ağrısı tedavilerinde endikedir. Duloksetinin serotonin geri alım inhibisyonu noradrenalin geri alım inhibisyonuna kıyasla on kat daha yüksek afinite gösterir (Sansone ve Sansone, 2014). Duloksetin karaciğerde CYP1A2 ve CYP2D6 izoenzimleri ile

metabolize edilerek inaktif metabolitlere dönüştürülür. (Spina ve ark., 2012).

Duloksetin CYP2D6'nın orta derecede bir inhibitörüdür ve bu özelliği nedeniyle özellikle dar terapötik indekse sahip ilaçlarla birlikte (TCA'lar, antipsikotikler gibi) kullanıldığında dikkatli olunmalıdır (Spina ve ark., 2008).

Zastrozhin ve ark. (2020), CYP2D6 gen polimorfizminin duloksetin metabolizmasına etkisine dair yaptıkları çalışmada, CYP2D6 polimorfik gen markerinin (1846 G> A, rs3892097) etkilerini incelemişlerdir. A alelini taşıyan hastaların ilaç denge konsantrasyonu G aleli taşıyanlara göre daha düşük seviyededir. G aleli taşıyan hastalarda duloksetin metabolizmasının ve eliminasyonun azalmasına bağlı olarak ilacın plazmada birikerek yan etkilere yol açtığı gözlenmiştir.

Bu çalışmadan yola çıkarak Maciaszek ve ark. (2023), CYP2D6 gen polimorfizmlerinin MDB hastalarında anksiyete belirtilerini azaltmada duloksetinin etkinliği üzerine bir klinik çalışma yayınlamışlardır. Yapılan bu çalışmada duloksetin yavaş metabolizması olan (GA ve GG genotipler) hastalarda ilacın plazma konsantrasyonu daha yüksektir. Bu durum ilaca bağlı yan etkileri arttırmakta ve anksiyete belirtilerini normal metabolize edicilere kıyasla daha az azaltmaktadır.

5.3.3. Mirtazapin

Mirtazapin merkezi presinaptik alfa-2 adrenerjik reseptörleri inhibe ederek serotonin ve noradrenalin salımını artırır. 5-HT1A aracılı serotonerjik iletim artırarak antidepresan etkisini gösterir. Mirtazapinin FDA onaylı tek endikasyonu MDB'dur. Panik bozukluğu, sosyal anksiyete bozukluğu, TSSB, fibromiyalji ve gerilim tipi baş ağrısı tedavisinde profilaksi amaçlı endikasyon dışı kullanıma sahiptir (Jilani ve ark., 2018).

Mirtazapin bir rasemattır ve hem S- (+) hem de R- (-) enantiyomerleri farmakolojik olarak aktiftir. Karaciğerde büyük oranda metabolize edilen ilacın biyotransformasyonundan CYP2D6, CYP1A2 ve CYP3A4 izoenzimleri sorumludur. CYP2D6 ve CYP1A2 ile 8-hidroksilasyona, CYP3A4 ile N-demetilasyona ve N-oksidasyona uğrar ve farmakolojik olarak tek aktif metaboliti desmetilmirtazapindir (Anttila ve Leinonen, 2001; Spina ve ark., 2012).

Lind ve ark. (2009), İsveç'te yaptıkları çalışmada CYP2D6 genotiplerinin mirtazapin ve metabolitlerinin enantiyomerik kararlı durum serum konsantrasyonlarına etkisini araştırmışlardır. UM'ler en düşük S (+)-mirtazapin konsantrasyonlarına sahipti. Heterozigot PM'ler ve EM'ler ise homozigot EM'lere göre daha yüksek ortalama serum S (+)-mirtazapin konsantrasyonlarına ve mirtazapinin S (+) / R (-) enantiyomer oranlarına sahipti. Bu çalışma CYP2D6'nın S (+)-metabolizmasını katalize ettiğini ancak R (-)-mirtazapin metabolizmasını katalize etmediğini göstermektedir.

Mirtazapinin *in vitro* yapılan çalışmalarda CYP izoformları üzerinde minimal inhibisyon etkileri vardır ve ilaç etkileşimleri için düşük risk taşıdığı görülmektedir (Spina ve ark., 2008).

6. SONUÇ

CYP2D6, 165 alelik varyantla ve üzerinde yapılmış birçok polimorfizm çalışmasıyla önemli bir farmakogendir (Becker ve ark., 2024). İlaç metabolizmasının %20-25'inde görev alan enzim antidepresanlar, antipsikotikler, beta blokörler, antiaritmikler, opioidler gibi klinik olarak önemli ilaç gruplarının ve tamoksifen, atomoksetin gibi ilaçların metabolizmasında ana rol oynar (Taylor ve ark., 2020).

Kafkas ırkında frekansı en yüksek varyant alel olan *CYP2D6*4* aleli PM fenotipine neden olurken Asya popülasyonlarında sıklıkla görülen *CYP2D6*10* aleli ise IM fenotipinden sorumludur (Kane, 2021). Farmakogenomik çalışmalarda bireyler arası genetik farklılıklara ek olarak bu etnik farklılıklar da göz önünde bulundurulduğunda daha doğru bir genotip-fenotip uyumu ve tedavi planı sağlanır.

Antidepresan tedavisine başlanmadan yapılacak olan genetik testler ile hastaların kendilerine en uygun ilacı en doğru dozda alması sağlanabilir. Böylece klasik uygulamada deneme yanılma yönteminden uzaklaşarak ilaçların yan etkilerini azaltıp hasta uyumunun artırılması ve sağlık maliyetleri azaltması beklenir.

CYP2D6 PM'lerde kullanılan ilaçların hem kendisi hem de metabolitlerinin yarı ömürleri uzamaktadır. Uzun yarı ömür ilaç tedavisi kesildikten sonra bile etkileşim riskinde ve toksisitede artışa neden olabileceği için tedavi öncesi genotipleme önem taşımaktadır. Özellikle yaşlı hastalarda genotipleme faydalı olabilir çünkü 60 yaşın üzerindeki hastalarda *CYP* enzim aktivitesindeki azalışa ve hepatik kan akımının azalışına bağlı olarak daha yüksek plazma konsantrasyonlarında ilaca maruz kalırlar. 60 yaş üstündeki birçok hasta polifarmakoterapi almakta ve sıklıkla antidepresan tedavisine antipsikotik ilaçlar da eşlik etmektedir. Etkileşime açık bu ilaç gruplarında ve riskli hastalar için farklı genler hakkındaki bilgiler, çoklu ilaç-gen etkileşimleri nedeniyle faydalı ve uygun maliyetli olabilir.

Ancak *CYP2D6* için yapılan testlerden sonra belirlenen fenotipler bazı durumlarda yanıltıcı olabilmektedir. *CYP2D6* substratı bir ilaçla birlikte *CYP2D6* inhibitörünün ya da inhibitör etkiye sahip bitkilerin kullanımı fenotiplerde kaymalara neden olabilmektedir. Hastaların tedavi sırasında ilaçla birlikte kullandığı bitkisel ürünler ilaç-bitki etkileşimlerine yol açarak

kullanılan ilacın etkisini tam olarak gösterememesine ya da vücutta toksik etkiler oluşturmaya neden olabilmektedir. Tedavi öncesi ve tedavi süresi boyunca hastanın kullandığı tüm ilaç, bitkisel ürün ve takviye gıdalar öğrenilerek hasta bilgilendirilmelidir. Bu sayede olası etkileşimlerin önüne geçilebilir.

Yapılan literatür çalışması sonucunda CYP2D6 bazında yapılan farmakogenomik ve farmakogenetik çalışmalar yaygınlaştırılarak geleneksel tedaviden uzaklaşarak kişiselleştirilmiş etkin tedavinin sağlanmasını gerekli bulunmuştur. Antidepresan tedavisinde kişilerin genetik farklılıkları tıpkı hastanın yaşı, cinsiyeti, varsa eşlik eden hastalığı gibi parametreler yanında değerlendirilerek uygun ilaç ve doz seçimi yapılmalıdır. İlaç yan etkileri, toksisiteler ve etkileşimler gibi durumların analizlerinde genetik farklılıklar göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKÇA

- Al, M., Kılıç, M., Şahin, A. S., Soner, B. C. (2017). Farmakogenetik Yönden Bireyler Arası Farmakokinetik Varyasyonlar. *Selçuk Tıp Dergisi*, 33(4), 82-90.
- Anttila, S. A., Leinonen, E. V. (2001). A Review of the Pharmacological and Clinical Profile of Mirtazapine. *CNS Drug Reviews*, 7(3), 249-264.
- Becker, D., Bharatam, P. V., Gohlke, H. (2024). Molecular Mechanisms Underlying Single Nucleotide Polymorphism-Induced Reactivity Decrease in CYP2D6. *BioRxiv*, 2024-01.
- Bernard, S., Neville, K. A., Nguyen, A. T., Flockhart, D. A. (2006). Interethnic Differences in Genetic Polymorphisms of CYP2D6 in the US Population: Clinical Implications. *The Oncologist*, 11(2), 126-135.
- Büyükokuroğlu, M. E., Tanyeri, P., Keleş, R. (2019). İlaç-İlaç Etkileşimleri Konusunda Farkındalık. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(3), 377-391.
- Croom, E. (2012). Metabolism of Xenobiotics of Human Environments. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 112, 31-88.
- De Vane, C. L., Liston, H. L., Markowitz, J. S. (2002). Clinical Pharmacokinetics of Sertraline. *Clinical Pharmacokinetics*, 41, 1247-1266.
- Dean, L. (2012). Imipramine Therapy and CYP2D6 and CYP2C19 Genotype. *Medical Genetics Summaries*.
- Dean, L. (2017). Amitriptyline Therapy And CYP2D6 and CYP2C19 Genotype. *Medical Genetics Summaries*.
- Deodhar, M., Rihani, S. B. A., Darakjian, L., Turgeon, J., Michaud, V. (2021). Assessing the Mechanism of

- Fluoxetine-Mediated CYP2D6 Inhibition. *Pharmaceutics*, 13(2), 148.
- Dilbaz, N., Karamustafalıoğlu, O. (2008). Obsesif Kompulsif Bozukluk ve Obsesif Kompulsif Spektrum Bozukluklarında Tedavi: Fluvoksamin'in Yeri. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 18, 208-221.
- Dolžan, V. (2007). Genetic Polymorphisms and Drug Metabolism'. *Slovenian Medical Journal*, 76.
- Dubey, N. K., Fozdar, B. I. (2018). Interconversion From N-Desmethyl Clomipramine to Clomipramine and Its Impact on a Bioequivalence Study'. *Separation Science Plus*, 1(11), 714-725.
- Edinoff, A. N., Akuly, H. A., Hanna, T. A., Ochoa, C. O., Patti, S. J., Ghaffar, Y. A., et al. (2021). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Adverse Effects: A Narrative Review. *Neurology International*, 13(3), 387-401.
- Erdem, O. (2021). Genetik Polimorfizm ve Toksikolojik Açıdan Önemi. Editörler; Erdem, O., Bacanlı, M., *Temel Toksikoloji*. 1. baskı. Ankara: Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, s. 131-147.
- Ereshefsky, L., Riesenman, C., Lam, Y. F. (1995). Antidepressant Drug Interactions and the Cytochrome P450 System: The Role of Cytochrome P450 2D6. *Clinical Pharmacokinetics*, 29, 10-19.
- Fejzullahu, A. (2018). Genetik Faktörlerin (CYP2D6) İlaç Metabolizması Üzerindeki Etkisi. *Aydın Sağlık Dergisi*, 4(1), 1-20.
- Gopisankar, M. G. (2017). CYP2D6 Pharmacogenomics. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 18(4), 309-313.

- Guengerich, F. P. (2021). A History of the Roles of Cytochrome P450 Enzymes in the Toxicity of Drugs . *Toxicological Research*, 37(1), 1-23.
- Gunasekara, N. S., Noble, S., Benfield, P. (1998). Paroxetine: An Update of Its Pharmacology and Therapeutic Use in Depression and a Review of Its Use in Other Disorders. *Drugs*, 55, 85-120.
- Gürbüz, M. E. (2023). *Total Diz Artroplastisi Uygulanan Hastaların Postoperatif Dönemde Ağrılarının Tedavisinde Tramadol Etkinliğinin CYP2D6 Gen Polimorfizmi ile İlişkisi*. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Denizli.
- Hakkola, J., Hukkanen, J., Turpeinen, M., Pelkonen, O. (2020). Inhibition and Induction of CYP Enzymes in Humans: An Update. *Archives of Toxicology*, 94, 3671-3722.
- Han, K. M., Chang, H. S., Choi, I. K., Ham, B. J., Lee, M. S. (2013). CYP2D6 P34S Polymorphism and Outcomes of Escitalopram Treatment in Koreans with Major Depression. *Psychiatry Investigation*, 10(3), 286–293.
- Hassan F., Mohammed G., Mahdi S., Mahdy S., Win Y.F., Mohammed S., et al. (2016). Cytochrome P450s in Breast Cancer. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 243-51.
- Hrdina, P. D. (1991). Pharmacology of Serotonin Uptake Inhibitors: Focus on Fluvoxamine. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 16(2 Suppl 1), 10.
- <https://www.pharmgkb.org/>, Erişim tarihi: 20 Şubat 2024
- Ingelman-Sundberg, M. (2005). Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Clinical Consequences, Evolutionary Aspects and Functional Diversity. *The Pharmacogenomics Journal*, 5(1), 6-13.

- Islam, F., Marshe, V. S., Magarbeh, L., Frey, B. N., Milev, R. V., Soares, C. N., et al. (2022). Effects of CYP2C19 and CYP2D6 Gene Variants on Escitalopram and Aripiprazole Treatment Outcome and Serum Levels: Results from the CAN-BIND 1 Study. *Translational Psychiatry*, 12(1), 366.
- Ji, Y., Schaid, D. J., Desta, Z., Kubo, M., Batzler, A. J., Snyder, K., et al. (2014). Citalopram and Escitalopram Plasma Drug and Metabolite Concentrations: Genome-Wide Associations. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 78(2), 373–383.
- Jilani, T. N., Gibbons, J. R., Faizy, R. M., Saadabadi, A. (2018). Mirtazapine. In *StatPearls*.
- Kane, M. (2021). CYP2D6 Overview: Allele and Phenotype Frequencies. In *Medical Genetics Summaries*.
- Kantar, A. A. (2020). *Bulantı Kusma Şikâyeti ile Acil Servise Başvuran Hastaların Tedavisinde Metoklopramid Etkinliğinin CYP2D6 Gen Polimorfizmi ile İlişkisi*. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Denizli.
- Kee, P. S., Maggo, S. D. S., Kennedy, M. A., Chin, P. K. L. (2023). The Pharmacogenetics of CYP2D6 and CYP2C19 in a Case Series of Antidepressant Responses. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1080117.
- Kehinde, O., Ramsey, L. B., Gaedigk, A., Oni-Orisan, A. (2023). Advancing CYP2D6 Pharmacogenetics Through a Pharmacoequity Lens. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 114(1), 69–76.
- Kirschbaum, K. M., Müller, M. J., Malevani, J., Mobascher, A., Burchardt, C., Piel, M., et al. (2008). Serum Levels of Aripiprazole and Dehydroaripiprazole, Clinical Response

- and Side Effects. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 9(3), 212-218.
- Klingenberg, M. (1958). Pigments of Rat Liver Microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 75(2), 376-386.
- Kowalska, M., Nowaczyk, J., Fijałkowski, Ł., Nowaczyk, A. (2021). Paroxetine-Overview of the Molecular Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1662.
- Kurtz, D. L., Bergstrom, R. F., Goldberg, M. J., Cerimele, B. J. (1997). The Effect of Sertraline on the Pharmacokinetics of Desipramine and Imipramine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 62(2), 145-156.
- Lind, A. B., Reis, M., Bengtsson, F., Jonzier-Perey, M., Golay, K. P., Ahlner, J., et al. (2009). Steady-State Concentrations of Mirtazapine, N-Desmethyilmirtazapine, 8-Hydroxymirtazapine and Their Enantiomers in Relation to Cytochrome P450 2D6 Genotype, Age and Smoking Behaviour. *Clinical Pharmacokinetics*, 48, 63-70.
- LLerena, A., Dorado, P., Berecz, R., González, A. P., Peñas-Lledó, E. M. (2004). Effect of CYP2D6 and CYP2C9 Genotypes on Fluoxetine and Norfluoxetine Plasma Concentrations During Steady-State Conditions. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 59, 869-873.
- Maciaszek, J., Pawłowski, T., Hadryś, T., Machowska, M., Wiela-Hojeńska, A., Misiak, B. (2023). The Impact of the CYP2D6 and CYP1A2 Gene Polymorphisms on Response to Duloxetine in Patients with Major Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), 13459.

- Milosavljevic, F., Bukvic, N., Pavlovic, Z., Miljevic, C., Pešic, V., Molden, E., et al. (2021). Association of CYP2C19 and CYP2D6 Poor and Intermediate Metabolizer Status with Antidepressant and Antipsychotic Exposure: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, 78(3), 270–280.
- Mroziewicz, M., Tyndale, R. F. (2010). Pharmacogenetics: A Tool for Identifying Genetic Factors in Drug Dependence and Response to Treatment. *Addiction Science and Clinical Practice*, 5(2), 17.
- Nahid, N. A., Johnson, J. A. (2022). CYP2D6 Pharmacogenetics and Phenoconversion in Personalized Medicine. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 18(11), 769–785.
- Nebert, D. W., Russell, D. W. (2002). Clinical Importance of the Cytochromes P450. *The Lancet*, 360(9340), 1155-1162.
- Omura, T., Sato, R. (1962). A New Cytochrome in Liver Microsomes. *The Journal of Biological Chemistry*, 237, 1375-1376.
- Özdemir, Z., Karakurt, A. (2016). İlaç Metabolizması ve Farmasötik Kimyada Önemi. *Annals of Health Sciences Research*, 5(2), 35-46.
- Özen, M. B. (2022). *CYP2D6 Genotipinin Mesalazin Metabolizmasındaki Öneminin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Ryu, S., Park, S., Lee, J. H., Kim, Y. R., Na, H. S., Lim, H. S., et al. (2017). A Study on CYP2C19 and CYP2D6 Polymorphic Effects on Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Amitriptyline in Healthy Koreans. *Clinical and Translational Science*, 10(2), 93-101.

- Samant, T. S., Lukacova, V., Schmidt, S. (2017). Development and Qualification of Physiologically Based Pharmacokinetic Models for Drugs with Atypical Distribution Behavior: A Desipramine Case Study. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 6(5), 315-321.
- Sansone, R. A., Sansone, L. A. (2014). Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitors: A Pharmacological Comparison. *Innovations in Clinical Neuroscience*, 11(3-4), 37–42.
- Schenk, P. W., Van Fessem, M. A. C., Rij, V. V., Mathot, R. A. A., van Gelder, T., Vulto, A. G., et al. (2008). Association of Graded Allele-Specific Changes in CYP2D6 Function with Imipramine Dose Requirement in a Large Group of Depressed Patients. *Molecular Psychiatry*, 13(6), 597-605.
- Shelton, R. C. (2019). Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors. *Antidepressants: From Biogenic Amines to New Mechanisms of Action*, 145-180.
- Singh, H. K., Saadabadi, A. (2019). Sertraline. *In StatPearls*.
- Spina, E., Santoro, V., D'Arrigo, C. (2008). Clinically Relevant Pharmacokinetic Drug Interactions with Second-Generation Antidepressants: An Update. *Clinical Therapeutics*, 30(7), 1206-1227.
- Spina, E., Trifirò, G., Caraci, F. (2012). Clinically Significant Drug Interactions with Newer Antidepressants. *CNS Drugs*, 26, 39-67.
- Taylor, C., Crosby, I., Yip, V., Maguire, P., Pirmohamed, M., Turner, R. M. (2020). A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. *Genes*, 11(11), 1295.
- Vos, C. F., Ter Hark, S. E., Schellekens, A. F., Spijker, J., van der Meij, A., Grotenhuis, A. J., et al. (2023). Effectiveness of

- Genotype-Specific Tricyclic Antidepressant Dosing in Patients with Major Depressive Disorder: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Network Open*, 6(5), e2312443.
- Wilson, M., Tripp, J. (2022). Clomipramine. In *StatPearls*.
- Zanger, U. M., Raimundo, S., Eichelbaum, M. (2004). Cytochrome P450 2D6: Overview and Update on Pharmacology, Genetics, Biochemistry. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 369, 23-37.
- Zanger, U. M., Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism: Regulation of Gene Expression, Enzyme Activities and Impact of Genetic Variation. *Pharmacology and Therapeutics*, 138(1), 103-141.
- Zastrozhin, M. S., Grishina, E. A., Denisenko, N. P., Skryabin, V. Y., Markov, D. D., Savchenko, L. M., et al. (2018). Effects of CYP2D6 Genetic Polymorphisms on the Efficacy and Safety of Fluvoxamine in Patients with Depressive Disorder and Comorbid Alcohol Use Disorder. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 113-119.
- Zastrozhin, M. S., Petukhov, A. E., Pankratenko, T. Y., Grishina, E. A., Ryzhikova, K. A., Skryabin, V. Y., et al. (2020). Impact of Polymorphism of CYP2D6 on Equilibrium Concentration of Duloxetine in Patients Suffering from Major Depressive Disorder. *Psychopharmacology Bulletin*, 50(3), 47-57.
- Zhao, M., Ma, J., Li, M., Zhang, Y., Jiang, B., Zhao, X., et al. (2021). Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12808.
- Zhou, S. F. (2009). Polymorphism of Human Cytochrome P450 2D6 and Its Clinical Significance: Part II. *Clinical Pharmacokinetics*, 48, 761-804.

FARMASOTİK TOKSİKOLOJİDE İLERİ ARAŞTIRMALAR

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com