

**Haziran 2008**

**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**İKİUÇLU BOZUKLUK OLAN HASTALARDA  
SERUM NİTRİK OKSİT DÜZEYİ VE  
ARGİNAZ AKTİVİTESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Nurdan ÖZLÜ CEYLAN**

**BİYOKİMYA ve KLİNİK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENCİ**

## ÖNSÖZ

Biyokimya ve Klinik Biyokimya uzmanlık eğitimim süresince bilgi deneyimleriyle bana destek olan kıymetli tez danışmanım Doç. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENCİ'ye, kıymetli bölüm başkanımız Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU'na ve değerli hocalarım Prof. Dr. Necat YILMAZ'a, Doç. Dr. A. Binnur ERBAĞCI'ya, Yrd. Doç. Dr. Seyithan TAYSİ, Doç. Dr. Nur AKSOY'a, Yrd. Doç. Dr. Hülya ÇİÇEK'e ve en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Uzmanlık eğitimimiz boyunca hayatı paylaştığımız sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Hatice SEZEN'e, Dr. Edibe SARIÇİÇEK'e, Dr. Gülşen ESGİ'ye sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmalarım ve pratik çalışmalarım sırasında bilgi ve birikimleri ile yardımlarını benden esirgemeyen ve sevgili Emine NAMIDURU'ya şükranlarımı sunarım. Tez çalışmalarım süresince klinik deneyimlerini bizimle paylaşan ve desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Haluk SAVAŞ'a, tezimin istatistik analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Tuncay DEMİRYÜREK ve Doç. Dr. Cemil SAVAŞ'a teşekkür ederim.

Desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili eşim Haluk CEYLAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nurdan ÖZLÜ CEYLAN

Haziran 2008

## İÇİNDEKİLER

ÖZ.....	5
ABSTRACT.....	6
KISALTMALAR.....	7
TABLO LİSTESİ.....	9
ŞEKİL LİSTESİ.....	10
1-GİRİŞ VE AMAÇ .....	11
2-GENEL BİLGİLER .....	13
2. 1. İKİÜÇLÜ BOZUKLUK.....	13
2.1.1. İkiüçlü Bozukluğun Tarihçesi.....	13
2.1.2 İkiüçlü Bozukluk Klinik Şekilleri.....	14
2.1.2.1. İkiüçlü bozukluk I.....	14
2.1.2.2. İkiüçlü bozukluk II: .....	14
2.1.2.3. İkiüçlü bozukluk III: .....	15
2.1.3. İkiüçlü Bozukluk Sınıflandırılması.....	15
2.1.4. İkiüçlü Bozukluk Epidemiyolojisi.....	15
2.1.5. İkiüçlü Bozukluğun Toplumsal Sonuçları.....	16
2.1.6. İkiüçlü Bozukluklar İçin DSM IV-TR Atak Ölçütleri.....	17
2.1.6.1. Majör Depresif Atak Ölçütleri.....	17
2.1.6.2. Manik Atak Ölçütleri.....	18
2.1.6.3. Hipomanik Atak Ölçütleri.....	19
2.1.7. İkiüçlü Bozukluk Tedavisi.....	20
2.1.7.1. Lityum.....	20
2.1.7.2. Valproat ve Karbamezapin.....	20
2.1.7.3. Lamotrijin.....	21
2.1.7.4. Antipsikotikler.....	21
2.1.7.5. Antidepresanlar.....	21
2.1.7.6. Elektrokonvülsif Tedavi.....	22
2.1.7.7. Psikoterapi.....	22
2.1.8. İkiüçlü Bozuklukta Sürdürüm Tedavisi.....	23
2.1.9. İkiüçlü Bozuklukta Gidiş ve Sonlanış.....	23
2.1.9.1. İkiüçlü bozukluk olumlu gidiş göstergeleri .....	24
2.1.10. İkiüçlü Bozukluk ve Serbest Radikaller.....	24
2.2. NİTRİK OKSİT.....	25
2.2.1. Nitrik Oksit Sentezi ve Özellikleri.....	26
2.2.2. NO Nörotransmisyonadaki Önemi.....	27
2.2.3. Beyinde NO Biyosentezi.....	28
2.2.4. Nörotransmitter Salınımı Üzerine NO'nun Düzenleyici Etkisi.....	29
2.2.5. Non-sinaptik İleti ve NO.....	29
2.2.6. Oksidatif Stres Ve Oksidatif Nöronal Hasar.....	30
2.2.7. NO ve Diğer Serbest Oksijen Radikalleri Arasındaki Reaksiyonlar.....	31

2.2.8. NO ve Psikiyatrik Hastalıklardaki Membran Patolojileri.....	32
2.2.9. NO' in Nöropsikiyatrik Hastalıklardaki Fizyopatolojik Rolü.....	33
2.2.10. NO' in İkiüçlü Bozukluk Fizyopatolojisindeki Rolü.....	33
2.3. ARGİNAZ.....	34
2.3.1. L-Arginin.....	35
2.3.2. Arginaz Ve Üre Siklusu.....	36
2.3.3. Arginaz ve NO Sentezi.....	37
2.3.4. Arginaz ve İkiüçlü Bozukluk.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Çalışmanın Tanımlanması Ve Etik Kurallara Uygunluğu.....	40
3.2. Hasta Seçimi .....	40
3.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması .....	41
3.4. Örneklerin Çalışmaya Uygunluğu ve Hazırlanması.....	41
3.5. Kullanılan Gereç Ve Cihazlar.....	41
3.6. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	42
3.7. Yöntemler.....	42
3.7.1. NO Ölçümü.....	42
3.7.1.1. NO Ölçümü İçin Gerekli Çözeltiler.....	43
3.7.1.2. Deproteinizasyon.....	44
3.7.1.3. Kadmiyum Aktivasyonu.....	45
3.7.1.4. Deneyin Yapılışı.....	45
3.7.1.5. Hesaplama.....	46
3.7.2. Arginaz Ölçümü.....	46
3.7.2.1. Arginaz Ölçümü İçin Gerekli Çözeltiler.....	47
3.7.2.2. Deneyin Yapılışı.....	47
3.7.2.3. Hesaplama.....	49
3.8. İstatistiksel Analizler .....	49
4. BULGULAR.....	50
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇLAR.....	61
7. KAYNAKLAR.....	63

**ÖZ**

**İKİUÇLU BOZUKLUK OLAN HASTALARDA SERUM NİTRİK OKSİT  
DÜZEYİ VE ARGİNAZ AKTİVİTESİ**

ÖZLÜ CEYLAN, Nurdan

Uzmanlık Tezi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENCİ

Haziran 2008, 70 sayfa

İkiuçlu bozukluk yaygın görülen bir hastalıktır. Hastalığın fizyopatolojisinde rol alan faktörler kesin olarak ortaya konamamıştır. Son yıllarda oksidatif dengenin bu hastalıkta bozulduğu görüşü ileri sürülmüştür. Nitrik oksit (NO) NO sentetaz tarafından sentezlenen, santral ve periferik sinir sisteminde bulunan, serbest oksijen radikali ve nörotransmitter olarak aktivite gösteren bir moleküldür. İkiuçlu bozukluk dahil, birçok nöropsikiyatrik hastalığın patogeneğinde NO'nin rolü olduğu düşünülmektedir. Arginaz esas olarak karaciğerde aktivite gösteren, üre sentezini katalizleyen bir enzimdir. Substrat olarak NO sentezinde de kullanılan L-arginini kullanmaktadır.

Bu çalışmaya ikiuçlu bozukluk tanısı almış 33 hasta ve 33 sağlıklı birey alınmıştır. Olguların tedavi öncesi ve 1 aylık tedavi sonrasındaki serum NO düzeyi ile arginaz aktivitesi ölçülmüştür. NO düzeyi Griess reaksiyonuyla, arginaz aktivitesi modifiye Geyer ve Dabich metoduyla ölçüldü. Tedavi öncesi serum NO düzeyi  $192,2 \pm 13,7 \mu\text{mol/L}$ , tedavi sonrası NO düzeyi  $126,1 \pm 6,3 \mu\text{mol/L}$  (mean $\pm$ SEM) bulunmuştur. Tedavi sonrası NO düzeyi tedavi öncesi düzeye göre anlamlı olarak düşüktü ( $p < 0.001$ ). Kontrol grubunda ortalama NO düzeyi  $109,5 \pm 6,2 \mu\text{mol/L}$  saptandı. Hastaların tedavi öncesi ölçülen NO düzeyleri kontrol grubunun NO düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0.001$ ). Hastaların tedavi öncesi arginaz aktivitesi  $17,5 \pm 1,8 \text{U/L}$ , tedavi sonrası arginaz aktivitesi  $10,3 \pm 1,4 \text{U/L}$  bulundu. Tedavi öncesi arginaz aktivitesi tedavi sonrasına göre anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0.001$ ). Kontrol grubunun arginaz aktivitesi  $8,5 \pm 1,5 \text{U/L}$  saptanmıştır. Hastaların tedavi öncesi ölçülen arginaz aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0.001$ ). Hastaların tedavi sonrası saptanan arginaz aktivitesi ve NO düzeyi ile kontrol grubunun arginaz aktivitesi ve NO düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Sonuçlarımız ikiuçlu bozukluk patogeneğinde NO ve arginazın rolü olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** İkiuçlu bozukluk, nitrik oksit, arginaz

**ABSTRACT**  
**SERUM NITRIC OXIDE LEVELS AND ARGINASE ACTIVITIES IN**  
**PATIENTS WITH BIPOLAR AFFECTIVE DISORDER**

OZLU CEYLAN, Nurdan

Residency Thesis, Department of Biochemistry and Clinic Biochemistry

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Iclal GEYIKLI CIMENCI

June 2008, 70 Pages

Bipolar affective disorder (BAD) is a common disease. The physiopathological factors that cause BAD are not clear. It was recently hypothesized that the disordered oxidative factors have role in the etiology.

Nitric oxide (NO), which is synthesized by nitric oxide synthetase, is found both in central and periferic nervous system. NO acts as an free oxygen radical and a neuro-transmitter. It is estimated that NO has a role in the pathophysiology of many neuropsychiatric disease including bipolar affective disorder. Arginase is mainly located in the liver and catalyzes urea synthesis. This enzyme catalyzes L-arginine which is also used for NO synthesis.

Thirty three patients with BAD and 33 healthy controls were included in this study. Serum NO levels and arginase activity were measured before and 1 month after the therapy in patients. The controls' samples were also measured. NO levels were measured by Griess reaction. Arginase activity was detected using modified Gayer and Dabich methods.

Serum NO levels were found  $192,2 \pm 13,7$   $\mu\text{mol/L}$  (mean $\pm$ SEM)  $126,1 \pm 6,3$   $\mu\text{mol/L}$  before and after the treatment, respectively ( $p < 0.001$ ). The mean NO level was  $109,5 \pm 6,2$   $\mu\text{mol/L}$  in controls, and the difference was statistically not significant when compared to post treatment results ( $p > 0.05$ ). Serum arginase activities were found  $17,5 \pm 1,8$  U/L and  $10,3 \pm 1,4$  U/L before and after the treatment, respectively ( $p < 0.001$ ). Arginase activity was  $8,5 \pm 1,5$  U/L in controls and the difference was not statistically significant when compared to post treatment results ( $p > 0.05$ ).

Our results support that serum NO and arginase have role in the pathogenesis in the BAD.

**Key words:** Bipolar affective disorder, nitric oxide, arginase

## KISALTMALAR

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

cGMP: Siklik guanozin monofosfat

CO: Karbon monoksit

DAM: Diasetil monoksim

DSM: : Ruhsal hastalıkların tanısal ve istatistiksel klavuzu (Diagnostic and statistical manual of mental disorders)

EKG: Elektro kardiyo grafi

EKT: Elektrokonvulsif tedavi

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentetaz

FAD: Flavin adenin dinükleotid

FeCl<sub>3</sub>: Demir klorür

FMN: Flavin mono nükleotid

GABA: Gama amino bütirik asit

HDÖ: Hamilton depresyon ölçekleri

ICD: Hastalıkların ve bunlarla ilişkili sağlık sorunlarının uluslararası istatistiksel sınıflandırılması (International statistical classification of diseases and related health problems)

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz

JAK: Janus tirozin kinaz

MAO: Monoamin oksidaz

NADP: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NED: N-naftil etilen diamin

NMDA: N-metil-D-aspartat

nNOS: Nöronal nitrik oksit sentetaz

NO: Nitrik oksit

NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: Nitrit

·NO<sub>2</sub>: Nitrojen dioksit

NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Nitrat

$N_2O_3$ : Nitrojen trioksit

NOS: Nitrik oksit sentetaz

$NO_x$ : Reaktif nitrik oksit

$O_2^{\cdot-}$ : Süper oksit anyon radikali

$\cdot OH$ : Hidroksil radikali

$ONOO^-$ : Peroksinitrit

PMD: Psikoz manyak depresif

ROS: Reaktif oksijen türleri

SD: Standart deviyasyon

-SH: Tiyol

SOD: Süper oksit dismutaz

-S-NO: Nitrozotiyoller

SSS: Santral sinir sistemi

STAT: Sinyal ileticileri ve transkripsiyon aktivatörleri (Signal transducer and activators of transcription)

TDMU: Tiyosemikarbazit-diasetil monoksim-üre

TSC: Tiyosemikarbazit

XO: Ksantin oksidaz



## TABLO LİSTESİ

**Tablo 1.** NO ölçümü sırasında kullanılan kör, standart ve örneklerin miktarları

**Tablo 2.** Arginaz aktivitesini ölçmek için preinkübasyon öncesi kullanılan örnek ve reaktif miktarları

**Tablo 3.** Arginaz aktivitesi ölçmek için inkübasyon sonrası kullanılan örnek, asit ve renk ayırıcı miktarları

**Tablo 4.** İkiüçlü bozukluk olan hastaların ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı

**Tablo 5.** İkiüçlü bozukluk olan hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum NO düzeyleri ve kontrol grubunun serum NO düzeyi

**Tablo 6.** İkiüçlü bozukluk olan hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum arginaz aktiviteleri ve kontrol grubunun serum arginaz aktivitesi

## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1.** NOS enzimi ile NO sentezinin reaksiyonu

**Şekil 2.** NO'nun hücre içi etkileri, guanilat siklaz aktivasyonu

**Şekil 3.** L-arginin yapısı

**Şekil 4.** L-argininin substrat olarak kullanıldığı reaksiyonlar

**Şekil 5.** L-arginin kullanılarak NOS enzimi ile NO ve arginaz enzimi ile üre sentezinin yapıldığı reaksiyonlar

**Şekil 6.** Griess reaksiyonunda nitrozillenmiş sulfanilamidin NED ile etkileşimi sonucu azo boyası ürünü oluşumundaki reaksiyonlar

**Şekil 7.** Arginazın katalizlediği ve ürün olarak ürenin oluştuğu reaksiyon

**Şekil 8.** Hastaların tedavi öncesi ve sonrası ortalama serum NO düzeyleri ve kontrol grubunun ortalama serum NO düzeyi

**Şekil 9.** Hastaların tedavi öncesi ve sonrası ortalama serum arginaz aktiviteleri ve kontrol grubunun ortalama serum arginaz aktivitesi

## 1- GİRİŞ VE AMAÇ

İkiüçlü bozukluk tarihçesi 2000 yıl öncesine dayanan ve günümüzdeki tanımıyla, tekrarlayan manik ve depresif ataklarla giden bir hastalıktır. Her iki dönemde de kişinin duygu durumunda normal bir seyirden farklı emosyonel değişiklikler olur (1). İkiüçlü bozukluk %1'e yakın sıklığıyla çok sayıda insanı etkileyen, ağır morbidite ve mortalite ile seyreden önemli bir hastalıktır (2). İkiüçlü bozukluk bireysel ve toplumsal açıdan ciddi hasarlara neden olmaktadır. Hastalar hem kendilerini hem çevrelerini zor ve tehlikeli durumlara sokabilmektedirler.

Son zamanlarda bu hastalık etiopatogenezini net olarak ortaya koyabilmek amacıyla yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Birçok nöropsikiyatrik hastalıkta olduğu gibi ikiüçlü bozuklukta da oksidatif dengenin bozulduğu ve serbest radikallerin veya reaktif oksijen türlerinin hastalığın patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (3).

Oksidatif stres hücrel hasara neden olan patofizyolojik olayları başlatır. Oksidatif stres, artmış nitrik oksit (NO) nedeniyle oluşan peroksinitrit (ONOO-) tarafından verilen hasarın en büyük sebebi olarak bilinmektedir (4). ONOO- lipidler, proteinler, amino asitler ve nükleik asitler de dahil birçok biyolojik moleküle hasar verir. Öte yandan ONOO<sup>-</sup> membranlardan da difüze olur ve sentezlendiği yerlere de hasar verir (5). NO daha çok lipid membranlarda oluşan bir ürünü olan reaktif nitrojen oksit (NOx) ile oksidatif strese neden olur ve hidrojen peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) tarafından oluşturulan oksidatif stresi de artırır. NO oksidatif stres sırasında oluşan lipid peroksid gibi diğer reaktif oksijen türleri ile de reaksiyona girer (6).

Çoklu doymamış yağ asitleri, santral sinir sistemi (SSS) hücrelerinin membranlarında bulunur. Çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona uğrar ve bunun sonucunda membranların fonksiyonları bozulur. NOx doymamış lipidlerle etkileşime girer, oksidasyonu başlatır ve nitratlı lipid ürünleri oluşur. Lipid peroksidasyonu nöronal gelişimi ve membran reseptör aracılı sinyal iletimini etkiler. Bu etkiler karmaşık nöronal patolojilere ve hatta nöronal ölümlere neden olabilir (7).

ONOO<sup>-</sup> potent bir oksidan ve nitratlayıcı ajandır. Bu radikal birçok lipid peroksidasyon ürünü oluşturabilir. NO<sub>x</sub> ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile reaksiyon sonucu oluşan lipid peroksidasyonu membran fosfolipidlerinin kalitesini ve miktarını değiştirir. Bu değişiklikler nöropsikiyatrik hastalıkların fizyopatolojisine katkıda bulunur (8).

Arginaz, argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizler. Arginaz bir binükleer mangan metalloenzimdir. Birçok ara metabolizmada rol alan anahtar bir enzimdir. Bir arginaz substratı olan L-arginin aynı zamanda NO üreten, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi için de substrattır. Arginaz, arginin regülasyon sisteminin ve NO üretiminin önemli bir parçası olan nöroregülatuar bir ajandır (9).

Arginazın oksidatif dengedeki rolü NOS ile aynı substratı kullanması ile ilişkilidir. Aynı substratı kullanan bu iki enzim arasındaki ilişki günümüzde net olarak ortaya konabilmiş değildir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ikiüçlü bozukluk etiyopatogenezinde arginazın rolü ve NO ile arginaz arasındaki ilişki konusundaki bilgiler oldukça sınırlı düzeydedir (9).

Bu çalışmada ikiüçlü bozukluk tanısı konmuş hastaların serumlarında NO düzeyi ve arginaz aktivitesi ölçülmüştür. İkiüçlü bozukluk etiyopatogenezinde NO ve arginazın rolü ile bu patogenezde NO sentezi ve arginaz aktivitesi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2- GENEL BİLGİLER

### 2. 1. İKİUÇLU BOZUKLUK

İkiüçlü bozukluk belli bir düzen olmaksızın tekrarlayan depresif, manik ya da her ikisini de kapsayan karışık hecmelerle giden ve bu hecmeler arasında kişinin tamamen sağlıklı duygudurum haline (ötimi) dönebildiği bir duygulanım bozukluğudur (10).

Olguların yaşamları boyunca içine girdikleri tüm hastalık dönemlerinin büyük kısmı depresif, daha küçük bir kısmı ise hipomanik ya da manik dönemlerden oluşmaktadır (11). Her iki dönemin de ortak özelliği, kişinin duygu durumunda olağan gidişten farklı nitelikte ve süreklilik gösteren emosyonel bir yaşantı olmasıdır. Bu farklılık, depresif dönemde duygulanımda izlenen elem ve keder yönünde (disfori) ya da manik dönemde izlenen neşe tarzında (öfori) bir artıştır. Mani belirtilerinin süre ve şiddet olarak daha hafif seyrettiği durumlar ise "hipomani" olarak adlandırılır (1). Hem depresif hem de manik döneme ait belirtilerin bir arada bulunduğu karışık özellikli olgularda ise, tabloya neşeden çok huzursuzluk hakim olup (disforik mani), bu tablolara da tipik görünümlü tablolar kadar sık rastlanmaktadır. Manik ya da depresif hecmeler bir yıl içinde dört defa veya daha fazla izleniyorsa, bu duruma "hızlı döngülü ikiüçlü bozukluk" adı verilmekte olup, bu tablolar kadınlarda daha sık olarak izlenmektedir (12).

#### 2.1.1. İkiüçlü Bozukluğun Tarihçesi

Duygudurum bozuklukları yaklaşık 2000 yıldır insanlığın en yaygın hastalığı olarak anlatılmıştır (13). Tarih öncesi çağlara ait din kitaplarında, Yunan ve Latin yapıtlarında ağır depresyon ve taşkınlık nöbetleri geçiren hastalar anlatılmıştır. Homeros, İlyada Destanı'nda "mani" (Yunanca öfke ve gazap anlamında) sözcüğünü kullanmıştır. M.Ö. 400'lü yıllarda uykusuzluk, yememe, keder, irritabilite, umutsuzluk halindeki görünüm için "melankoli" deyimini ilk olarak Hipokrat kullanmıştır (14) ve bunu kara safraya bağlamıştır (15). Depresyon veya maniye yatkınlığın fizyolojik bir bozukluğa bağlı olduğu eski Grek literatüründe geniş kabul görmüştür. Aristo'nun

“Problemata” kitabında ve Galen’in yazılarında tanımlanmıştır (14). Ortaçağda ruhsal çökkünlüğü en iyi tanımlayanlardan biri İbn-i Sina olmuştur ve ilginç örnekler vermiştir (15). Klinik tarihçiler ikiüçlü bozukluk kavramının 19. yüzyılda geliştiğini öne sürerler. Bu dönemde akıl hastaları hastane yatışlarıyla tanışmıştır (13). Fransız ve Alman ruh hekimleri 19. yüzyılda mani ve melankolinin değişik türlerini ve klinik belirtilerini yazmışlarsa da; Kraepelin 1896’da hepsini psikoz manyak depresif (PMD) adı altında toplamış, hastalığın belirtilerini, gidiş ve sonlanışını tanımlamıştır (15).

1957’de Leonhard’ın mani ve aile öyküsünün varlığı ile ayırttığı ikiüçlü bozukluk kavramı betimleyici yaklaşımın temelini oluşturan ICD (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems: Hastalıkların ve bunlarla ilişkili sağlık sorunlarının uluslararası istatistiksel sınıflandırılması) ve DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: Ruhsal hastalıkların tanıs ve istatistiksel klavuzu) sistemlerinde yerini almıştır (14). Günümüzde Avrupa’da daha çok ICD, Amerika Birleşik Devletleri’nde ise daha çok DSM sınıflandırma dizgeleri kullanılmaktadır.

## 2.1.2 İkiüçlü Bozukluk Klinik Şekilleri

**2.1.2.1. İkiüçlü bozukluk I:** Geçmişte ya da şimdiki öyküde bir ya da daha fazla manik ya da karışık hecmelerle seyreden dönemler izlenir (tanı için manik hecmenin görülmesi gereklidir). Geçmişte ya da şimdiki öyküde bir major depresif hecme izlenir (tanı için depresif hecmenin görülmesi şart değildir). Manik ya da depresif hecmeler, genel tıbbi durum, ilaç tedavisi, ilaç kötüye kullanımı, ya da depresyon tedavisi için kullanılan ilaçlara bağlı olarak ortaya çıkmamıştır ve belirtiler şizofreni ya da sanrıs bozukluk gibi bir psikotik bozuklukla bağlantılı değildir. İkiüçlü bozukluk I kadın ve erkeklerde benzer oranlarda görülür (16).

**2.1.2.2. İkiüçlü bozukluk II:** Geçmişte veya şu anda bir ya da daha fazla major depresif hecme izlenir ve en az bir hipomanik hecme bulunur. Duygudurum hecmeleri, genel tıbbi durum, ilaç tedavisi ya da ilaç kötüye kullanımı, depresyon tedavisi için kullanılan ilaçlara bağlı olarak ortaya çıkmamıştır ve belirtiler şizofreni ya da sanrıs bozukluk gibi bir psikotik bozuklukla bağlantılı değildir. Bu bozukluk, bazen

"hipomanik hecmelerle giden tekrarlayıcı major depresif hecme" olarak da isimlendirilir. İkiüçlü bozukluk II, kadınlarda daha sık izlenir (17).

**2.1.2.3. İkiüçlü bozukluk III:** Antidepresan ilaçlarla bağlı olarak gelişen hipomanik/manik hecmeler ve depresif hecmelerle karakterize duygudurum bozukluğudur.

### **2.1.3. İkiüçlü Bozukluk Sınıflandırılması**

Amerika Birleşik Devletleri'nde İkiüçlü bozukluğun yaşam boyu yaygınlığı % 1.2- 2.4 arasında bulunmuştur (17).

DSM IV sınıflandırmasında (1994) 4 tip ikiüçlü bozukluk yer almıştır; 1. İkiüçlü bozukluk I, 2. İkiüçlü bozukluk II, 3. Siklotimi ve 4. Başka türlü adlandırılmayan ikiüçlü bozukluk. DSM IV antidepresan tedavinin yol açtığı manik nöbetleri "maddenin neden olduğu manik hecme" tanımı altında ayrıca ele almıştır. Öte yandan karışık ve hipomanik hecmeler için de ayrı ölçütler getirmiştir (18).

DSM IV-TR sınıflandırması (2000) içinde yer alanlar;

- I. İkiüçlü bozukluk I ve İkiüçlü bozukluk II,
- II. Siklotimik bozukluk,
- III. Başka türlü adlandırılmayan ikiüçlü bozukluk,
- IV. ...'e bağlı duygudurum bozukluğu, (genel tıbbi duruma veya madde kullanımına bağlıdır)
- V. Başka türlü adlandırılmayan duygudurum bozukluğu şeklindedir (19).

### **2.1.4. İkiüçlü Bozukluk Epidemiyolojisi**

Epidemiyolojik araştırmalar, tüm duygudurum bozukluklarının 40 yaşın altında daha sık izlendiğini ortaya koymuştur. Major Depresif Bozukluk 20–40 yaş arasında başlarken, ikiüçlü bozukluk daha erken yaşta başlamakta olup, ortalama başlangıç yaşı 20 civarındadır. Kadın ve erkekte başlama yaşı önemli fark göstermemektedir (19–20).

İkiüçlü bozukluğun yaşam boyu riski %0.5 ile %1.5 arasındadır. Hastaların %10'unda ilk hecme 50 yaşından sonra başlamaktadır. Olguların %20-30'unda ise ilk hecme 21 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (20).

Cinsiyet ve kültürel etkenlerin ikiüçlü bozukluk üzerine etkisi saptanmamıştır. Kadın ve erkekte eşit sıklıkta olmasına rağmen, hecmelerin özellikleri cinsiyete göre farklılık göstermektedir. Örneğin; erkeklerde ilk başlangıç hecmeleri daha çok manik olup, daha sonrasında da manik hecmeler daha sıktır. Kadınlarda ise depresif hecmeler daha sıktır ve kadınlar daha fazla karışık hecme yaşamaktadır (21).

Ailesinde ikiüçlü bozukluk olan hastalarda risk artarken, ayrı yaşayan ve boşanmış kişilerde risk ayrıca artmaktadır (20-21). Sosyoekonomik duruma ilişkin veriler kesin değildir. Kentlerin kenar mahallelerinde yaşayanlarda merkezi bölgelerde yaşayanlara göre riskin daha yüksek olduğunu bildiren çalışmaların yanında, son yıllarda hastalığın daha çok şehirlerde ve üst sosyoekonomik düzeydeki insanlarda izlendiğini ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır (21). İkiüçlü bozukluğu olan erkek hastalarda daha fazla madde ve alkol kullanım bozukluğu bildirilmektedir (21).

Hastalar yaşam boyu ortalama 8 -10 atak geçirirler. Ancak hızlı döngülü ikiüçlü hastalarda olduğu gibi, bazı hastalar çok daha fazla sayıda atak geçirmektedir. Hastaların %28'inde hecmeler mevsimsel özellik göstermektedir (22-23). Hastalığın kalıtsal yükünlüğü sonucunda bir sonraki nesilde tekrarladığı zaman başlama yaşı daha erken olmakta ve prognoz daha kötü seyretmektedir (24,25). Erken başlayan olgular (18 yaşından önce), geç başlayanlara göre (40 yaşından sonra) daha fazla psikotik hecme, daha fazla karma hecme, daha fazla oranda panik bozukluk birlikteliği gösterirler. Yine erken başlayanların birinci derece akrabalarında duygudurum bozukluğu öyküsü de daha fazladır. Bunlar genel olarak daha ağır seyrederek ve koruyucu lityum tedavisine daha düşük yanıt verirler. Hastaların %40'ının tedavi görmediği ve %15-25'inin intihar ettiği ileri sürülmektedir. Tüm duygudurum bozukluklarının %10-20'sini ikiüçlü bozukluklar oluşturmaktadır (26). İkiüçlü bozukluk olan hastalardaki intihar girişimlerinin ölümle sonuçlanma olasılığı, genel popülasyondaki oranlardan 15 kat fazladır (22,23,27). İkiüçlü bozuklukta depresyondaki hastalarda intihar davranışı ise manidekinden 35 kat daha fazladır (28).

### **2.1.5. İkiüçlü Bozukluğun Toplumsal Sonuçları**

Genel topluma oranla; ikiüçlü bozukluk olan hastalardaki boşanma oranı 3 kat, işsizlik oranı ise 2 kat daha fazladır. İntihar oranı 30 kat daha fazla olup, hastaların %25-50'si yaşamlarının bir döneminde intihar girişiminde bulunur ve %10-15'i intihar



sonucu yaşamlarını kaybederler. Manik dönemde aşırı para harcama, trafik kazası yapma ya da suç işleme gibi kişinin kendisine ve çevresine zarar verici olaylar yaşaması mümkündür. Ayrıca alkol ve madde kullanımı gibi durumlar da çok sık izlenebilir. Tedavi harcamaları, hastaneye yatırılma, iş gücü kaybı gibi nedenlerle ekonomik kayıplara neden olabilir (29).

İkiüçlü bozukluk hastaları alt gruplara ayırma hem teorik olarak hem de klinik pratikte önemlidir. Klinik olarak her bir alt grubun ilaçlara yanıtı değişkenlik gösterebilir. Kuramsal olarak bu ayrımların hastalığın etiyoloji ve patogenezinin anlaşılması açısından da ilerleme sağlayabileceği ileri sürülmektedir (29).

## **2.1.6. İkiüçlü Bozukluklar İçin DSM IV-TR Atak Ölçütleri**

### **2.1.6.1. Majör Depresif Atak Ölçütleri**

A. İki haftalık bir dönem sırasında, daha önceki işlevsellik düzeyinde bir değişiklik olması ile birlikte aşağıdaki belirtilerden beşinin (veya daha fazlasının) bulunmuş olması; belirtilerden en az birinin ya depresif duygudurum ya ilgi kaybı ya da artık zevk alamama olması gerekir.

1. Hastanın kendi başvurusu (örneğin üzgün ya da boşlukta hisseder) ya da başkalarının gözlemesi (örneğin ağlamaklı bir görünümü vardır) ile belirli, hemen her gün neredeyse gün boyu süren depresif duygudurum olması. Çocuklarda ve ergenlerde ise huzursuz duygudurum bulunabilir.

2. Hemen her gün, neredeyse gün boyu süren, tüm etkinliklere karşı ya da bu etkinliklerin çoğuna karşı ilgide belirgin azalma ya da bu etkinliklerden zevk alamıyor olma (hastanın kendisinin bildirmesi ya da başkalarınca gözleniyor olması ile belirlenir).

3. Diyet yapmadığı halde önemli ölçüde kilo kaybetme ya da kilo alma (örneğin bir ayda beden ağırlığında %5'den fazla değişim) ya da hemen her gün iştahta artma veya azalma olması. Çocuklarda ise beklenen kilo artımının olmaması.

4. Hemen her gün uykusuzluk ya da aşırı uyuma olması.

5. Hemen her gün psikomotor ajitasyon veya retardasyon olması (huzursuzluk ya da yavaşlama olduğu duygularının sadece hasta tarafından belirtilmesi değil, bunların başkaları tarafından da gözleniyor olması gerekir).

6. Hemen her gün yorgunluk ya da enerji kaybı olması.

7. Hemen her gün değersizlik, aşırı ya da uygun olmayan suçluluk duyguları (sanrısız olabilir) olması (sadece hasta olmaktan dolayı kendini kınama ya da suçluluk duyma değil).

8. Hemen her gün düşünme ya da yoğunlaşma yetisinde azalma ya da kararsızlık olması (ya hastanın söylemesi ya da başkaları tarafından gözlenmesi gerekir).

9. Yineleyici ölüm düşünceleri (sadece ölüm korkusu değil), özgül bir plan olmaksızın yineleyici intihar düşünceleri, intihar girişimi ya da intihar etmek üzere özgün bir tasarısı olması.

B. Bu belirtiler bir karışık atak belirtilerini karşılamamaktadır.

C. Bu belirtiler klinik açıdan belirgin bir sıkıntıya ya da toplumsal, mesleki alanlarda ya da önemli diğer işlevsellik alanlarında bozulmaya neden olur.

D. Bu belirtiler bir maddenin (örneğin ilaç kullanımı, bir tedavi edici ilaç) doğrudan fizyolojik etkilerine ya da genel bir tıbbi duruma (örneğin hipotiroidizm) bağlı değildir.

E. Bu belirtiler yaşla daha iyi açıklanamaz, yani sevilen birinin kaybından sonra bu belirtiler 2 aydan daha uzun sürer ya da bu belirtiler işlevsellikte belirgin bozulma, değersizlik düşünceleri ile hastalık düzeyinde uğraşma, intihar düşünceleri, psikotik belirtiler ya da psikomotor retardasyonla belirlidir (19).

### **2.1.6.2. Manik Atak Ölçütleri**

A. En az bir hafta süren (hastaneye yatmayı gerektiriyorsa herhangi bir süre), olağandışı ve sürekli yükselmiş, taşkın ya da iritabl ayrı bir duygudurum döneminin olması.

B. Duygudurum bozukluğu dönemi sırasında aşağıdaki belirtilerden üçü [ya da daha fazlası (duygudurum sadece iritabl ise dördü)] belirgin derecede bulunur.

1. Benlik saygısında abartılı ölçüde artma ve büyüklük.

2. Uyku gereksiniminde azalma (örneğin sadece 3 saat uyuduktan sonra kendini dinlenmiş hisseder).

3. Her zamankinden daha konuşkan olma ya da konuşmayı sürdürmeye zorlama.

4. Fikir uçuşmaları ya da öznel olarak düşünceler yarıştırmış gibi yaşama.

5. Çelinebilirlik, yani dikkat çok kolaylıkla önemsiz ya da ilgisiz bir dış uyarana çekilebilir.

6. Amaca yönelik etkinlikte artış (toplumsal olarak, işte, okulda, ya da cinsel olarak) ya da psikomotor ajitasyon.

7. Kötü sonuçlar doğurma olasılığı yüksek, zevk veren etkinliklere aşırı katılma (sınırsızca alış veriş yapma, düşüncesizce cinsel girişimlerde bulunma, yanlış iş yatırımları gibi).

C. Bu belirtiler bir karışık atak belirtilerini karşılamaz.

D. Bu duygudurum bozukluğu mesleki işlevsellikte, olağan toplumsal etkinliklerde veya başkalarıyla olan ilişkilerde belirgin bir bozulmaya yol açacak, kendisine ya da başkalarına zarar vermesini önlemek için hastaneye yatırmayı gerektirecek şiddettedir veya psikotik özellikler içerir.

E. Bu belirtiler bir maddenin (örneğin ilaç kötüye kullanımı, bir tedavi için kullanılan bir ilaç ya da diğer bir tedavi yöntemi) veya genel bir tıbbi durumun (örneğin hipertroidizm) doğrudan fizyolojik etkilerine bağlı değildir (19).

### 2.1.6.3. Hipomanik Atak Ölçütleri

A. Olağan depresif olmayan duygudurumdan açıkça farklı, en az dört gün boyunca süren sürekli yükselmiş, taşkın ve irritabl ayrı bir duygudurum döneminin olması.

B. Duygudurum bozukluğu dönemi sırasında, aşağıdaki belirtilerden üçü [veya daha fazlası (duygudurum sadece irritabl ise dördü)] belirgin derecede bulunur.

1. Benlik saygısında abartılı ölçüde artma ve büyüklük.

2. Uyku gereksiniminde azalma (örneğin sadece 3 saat uyuduktan sonra kendini dinlenmiş hisseder).

3. Her zamankinden daha konuşkan olma veya konuşmayı sürdürmeye zorlama.

4. Fikir uçuşmaları veya öznel olarak düşünceler yarışıyor gibi yaşama.

5. Çelinebilirlik, yani dikkat çok kolaylıkla önemsiz ya da ilgisiz bir dış uyarana çekilebilir.

6. Amaca yönelik etkinlikte artış (toplumsal olarak, işte, okulda, veya cinsel olarak) ya da psikomotor ajitasyon.

7. Kötü sonuçlar doğurma olasılığı yüksek, zevk veren etkinliklere aşırı katılma (sınırsızca alışveriş yapma, düşüncesizce cinsel girişimlerde bulunma, aptalca iş yatırımları).

C. Atak sırasında kişinin belirtili olmadığı dönemde görülmeyecek düzeyde işlevselliğinde belirgin değişiklik görülür.

D. Duygudurum bozukluğu ve işlevsellikteki değişiklik başkaları tarafından gözlenebilir düzeydedir.

E. Bu atak toplumsal ve mesleki işlevsellikte belirgin bir bozulmaya yol açacak ya da hastaneye yatırmayı gerektirecek derecede şiddetli değildir ve psikotik özellikler içermez.

F. Bu belirtiler bir maddenin (örneğin ilaç kullanımı, bir tedavi için kullanılan bir ilaç ya da diğer bir tedavi yöntemi) ya da genel bir tıbbi durumun (örneğin hipertroidizm) doğrudan fizyolojik etkilerine bağlı değildir (19).

### **2.1.7. İkiüçlü Bozukluk Tedavisi**

İkiüçlü bozukluk oldukça yaygın olarak bulunan, kötü sonuçlar doğurabilen fakat tedavi edilebilir bir hastalıktır. %1'e yakın sıklığıyla ülkemizde pek çok insanı etkilemekte, ağır morbidite ve hatta mortalite ile seyretmektedir. İkiüçlü bozukluklar konusunda klinik psikiyatri alanındaki en sık karşılaşılan problemlerden biri de pek çok ilaç arasından hangisinin seçileceği konusudur (2).

#### **2.1.7.1. Lityum**

Lityum ikiüçlü bozukluk profilaksisinde en yaygın kullanılan ilaçtır. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda tek başına lityum kullanan hastaların %50-60 kadarının iyilik halini devam ettiremedikleri gösterilmiştir (30). Lityum tedavisinden önce; böbrek, tiroid, kan ve kalbin durumu incelenir. İnceleme için; serum kreatinin düzeyi, elektrolitler, tiroid fonksiyon testleri, tam kan sayımı, EKG ve uygunsuz gebelik testleri yapılır (31). Lityum toksisitesi öldürücü olabilir (32).

#### **2.1.7.2. Valproat ve Karbamezapin**

Bu ilaçlar özellikle atipik klinik özellikleri olan hastalarda, hızlı döngüleri olan hastalarda, lityum tedavisine yanıt vermeyen ya da uyum göstermeyen hastalarda

kullanılmaktadır (33).

### **2.1.7.3. Lamotrijin**

Lamotrijin bir antiepileptik olduğu kadar Amerika Birleşik Devletleri İlaç ve Gıda İdaresi'nce ikiüçlü bozukluk depresif dönemlerini geciktirmek amacıyla idame tedavisinde onaylanmış bir ilaçtır. Lamotrijinin en fazla iki uçlu depresyonda etkinliği gözlenmiş olup antimanik ve antihipomanik olarak etki ettiği şu ana kadar net olarak ortaya konmuş değildir (34). İkiüçlü bozukluğun depresif dönemi ve hızlı döngülerin tedavisinde de etkili olduğu, depresif dönemlerin ortaya çıkışını geciktirdiği gösterilmiştir (35-37).

### **1.7.4. Antipsikotikler**

İkiüçlü bozuklukta %60 oranında, başta hezeyanlar olmak üzere psikotik belirti hikâyesi bulunur. Duygudurum bozukluklarının tedavisinde antipsikotikler tek başına, diğer ilaçları destekleyici, güçlendirici olarak veya tedaviye direnç durumlarında kullanılabilir.

Antipsikotikler içerisinde yeni geliştirilen ve atipik antipsikotik olarak adlandırılan ilaçlar başta şizofreni olmak üzere birçok psikiyatrik rahatsızlıkta giderek artan oranda kullanılmaya başlanmıştır (38). Antipsikotik ilaçların ikiüçlü bozukluk sürdürüm tedavisinde tek başlarına kullanılabilmesine ilişkin yakın zamanda yayınlanmış çalışmalar vardır (39,40). Bununla birlikte ikiüçlü bozuklukta kullanılan atipik antipsikotik ilaçların metabolik sendrom başta olmak üzere çeşitli yan etkilere yol açtıkları da gösterilmiştir (41-44).

### **2.7.1.5. Antidepresanlar**

Altshuler tarafından yapılan bir çalışmada, ikiüçlü bozuklukta antidepresanların düşük doz kullanımının özellikle hızlı döngülü olanlarda depresyonu düzelttiği ancak döngü sıklığını arttırdığını gösterilmiştir. Buna göre tedavide düşük doz antidepresan eklenen hastaların %35'i maniye kaymış %26'sının ise döngüleri hızlanmıştır (45).

- Klasik Monoaminoksidaz (MAO) inhibitörleri; günümüze kadar ikiüçlü depresyonun sağaltımına ilişkin yapılan çalışmalarda en yüksek etkinlik oranı bildirilen ilaç tranilipromindir. Çift-kör bir karşılaştırmada hem imipraminden üstün hem de %81

oranında olumlu yanıt bildirilmiştir. MAO'ya geri dönüşsüz bağlanan tranilsipromin ülkemizde bulunmamaktadır (46).

- Reversibl inhibitör monoaminooksidaz (RIMA); çift-kör çalışmada maklobemidle imipramin eşdeğer bulunmuştur (46).

- Seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSGİ); genel olarak depresyon sağaltımındaki yaygın kullanımları ve özellikle yan etki profillerindeki üstünlükleri ikiüçlü bozuklukta depresyonda kullanılmalarına yol açmıştır. Bununla birlikte hemen tüm SSGİ'lerinin ikiüçlü bozukluk hastalarında manik kaymaya yol açtığına dair yayınlar mevcuttur (47).

- Bupropion; ülkemizde ruhsat aldığı halde piyasaya sunulmayan bu ilacın ABD'de neredeyse ilk tercih olduğu görülmektedir. Bunun nedeni psikomotor retardasyonu iyileştirici özel etkisi ile daha az manik kaymaya yol açtığı yönündeki yaygın kanıdır (46).

#### **2.7.1.6. Elektrokonvülsif Tedavi**

Elektrokonvülsif tedavi (EKT), birçok psikiyatrik hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (48,49). EKT ikiüçlü bozukluk tedavisinde de en etkili seçeneklerden birisidir. Genellikle ilaçların etkili olmadığı durumlarda, intihar riskinin yüksek olduğu olgularda, ağır psikotik bulgulu olgularda ve gebelikte uygulanmaktadır (50).

Uygulanan tedavi seçeneklerinin başarısız olması durumunda tedaviye lityum veya valproat ilaveten karbamazepin, klozapin veya EKT eklenmesi önerilmektedir. Hastanın hem kendi hem de çevresi için tehlikeli olması, farmakolojik tedavinin kontrendike olduğu durumların bulunması, geçmişinde EKT'ye iyi cevap vermiş olması durumlarında EKT ilk adım olabilir. EKT yaygın olarak maninin akut ve sürdürüm tedavisinde kullanılmaktadır.

EKT'nin akut mani ve depresyondaki etkinliği iyi bilinen bir özelliğidir. Ancak gerek klinisyenler gerekse hastalar EKT'yi bir son seçenek gibi düşünmektedir. Oysa intihar riski yüksek ağır olgularda erken bir seçenek olabileceği unutulmamalıdır.

#### **2.7.1.7. Psikoterapi**

Her türlü ruhsal bozuklukta olduğu gibi bu hastalıkta da psikoterapötik yaklaşım

önemlidir. İkiüçlü duygudurum bozukluğu olan hastaya terapötik yaklaşım esneklik gerektirir. Çünkü hastanın duygudurumu, bilişsel durumu, davranışsal durumu hastalığın evresine göre değişir. Bu arada yine hastalığın evresine göre, hastanın bağımlılık düzeyi de dalgalanır, azalır, çoğalır. Terapötik ilişkide dikkat edilmesi gereken nokta, uzun vadeli bir yaklaşım göstermektir. İkiüçlü bozuklukta bilişsel terapi, psikoanalitik yönelimli psikoterapi, destekleyici psikoterapi, grup terapisi, aile terapisi uygulanan farmakolojik tedaviye ek olarak kullanılabilen terapilerdir (51).

### **2.1.8. İkiüçlü Bozuklukta Sürdürüm Tedavisi**

Günlük uygulamaların da gösterdiği gibi koruma döneminde, hastaların hemen tamamı akut dönemde de etkili olan duygudurum düzenleyiciyi kullanmaktadır. Bununla birlikte, birçok hastada ikili hatta üçlü ilaç kombinasyonu gerekebilmektedir. Bu dönemde dikkat edilecek önemli noktalardan birisi, hastaların sağaltımı kesme eğilimleridir (52).

Sürdürüm tedavisine rağmen, ikiüçlü bozukluğu olan hastalar belirti şiddetinde iniş-çıkışlar ve birden çok nüks yaşayacaklardır. Günümüzde iki uçlu bozukluğun uzun dönem tedavisinde kullanılan çok sayıda terapötik ajan bulunmaktadır. Sürdürüm tedavisinde uzun yıllardır kullanılan lityum, valproik asid gibi duygudurum düzenleyicilerin yerine atipik antipsikotiklerinde kullanılabileceğini gösteren çalışmalar son yıllarda artmaktadır (40).

İkiüçlü bozuklukların sürdürüm tedavisinde psikoterapilerin yeri önemlidir. İkiüçlü bozuklukların biyolojik ve genetik yüklülüğünün olduğu ve farmakolojik sağaltımın vazgeçilmez olduğu konusunda kuşku yoktur. Ancak psikoterapiler, hastanın tedavi işbirliğinin sağlanmasına, aile ve hastanın ikiüçlü bozuklukların doğası ve ilaç yan etkileri konusunda eğitilmelerine, hastanın toplumsal ve işi ile ilgili işlevselliğinin ve yaşam zorlukları ile başa çıkma yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır (53).

### **2.1.9. İkiüçlü Bozuklukta Gidiş ve Sonlanış**

Depresif hecme, genellikle 2-4 ay kadar sürer. Hastaların bir bölümü sağaltım görmese bile kendiliğinden düzelir. İkiüçlü bozuklukta kendiliğinden iyileşmelerin ardından ya da iyileşme dönemi olmaksızın manik hecme başlayabilir. Sağaltım

görmeyenlerde ölüm veya sakatlıkla sonuçlanan intihar oranı %15'dir. Yaşla beraber yineleme olasılığı artar (32).

Manik hecme, genellikle ortalama 4–6 hafta sürer. Hastalar kendilerini ve çevrelerindeki tehlikeli ve zor duruma sokabilen bir hal aldıkları için depresif hecmeye oranla hekime başvuru daha fazladır. Genel olarak hastalığın başlangıcı, atakların yinelemesi, iyileşme dönemleri süre, sıklık ve klinik belirtiler bakımından çok değişkendir (32).

#### **2.1.9.1. İkiuçlu bozukluk olumlu gidiş göstergeleri :**

- Manik hecmelerin baskın olmaması
- Ağır psikotik belirtilerin bulunmaması
- Depresif hecmelerin çok uzun sürmemesi
- Hasta ve ailesinin tedaviye uyum sağlaması
- İyilik dönemlerinin uzun olması
- Hastalığın tek uçlu türden çok iki uçlu türde olması
- Atakların çevresel koşullara bağlı olmaması
- Aile, iş ve uğraşı koşullarının olumluluğu
- Alkol ve ilaç-madde alışkanlıklarının bulunmaması
- Yaşın çok ilerlemiş olmaması
- Ağır kişilik bozukluğunun bulunmaması (32)

#### **2.1.10. İkiuçlu Bozukluk ve Serbest Radikaller**

Psikiyatrik bozukluklarda oksidatif stresin yeri ile ilgili Türkiye'deki merkezler de dahil olmak üzere birçok merkezde çalışmalar yapılmış ve halen yapılmaktadır. Bu araştırmalarda özgül oksidan ve antioksidan moleküllerin dışında ayrıca toplam oksidan ve antioksidan seviyeleri de değerlendirilmiştir.

Psikiyatrik bozuklukların seyri ve tedavisi üzerinde oksidatif stresin rolü ile ilgili yapılmış olan araştırmalar sonucunda şizofreni, otistik bozukluk, ikiuçlu bozukluk, depresyon, panik bozukluk ve erişkin dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunda oksidatif dengenin bozulduğu, bazı hastalıklarda remisyon zamanında bile bu dengesizliğin sürdüğü, bir kısım özgül belirtilerle ilişkili olduğu ve bazılarında ise tedavi ile düzeldiği görülmüştür (24,27,54-58).



Buradaki bozuk işleyişin nasıl olabileceği ile ilgili değişik varsayımlar vardır. Örneğin, oksidanlar zarla ilişkili proteinlerle tepkimeye girerek doğal işleyişteki enzimler veya nörotransmitterlerin alımını engelleyerek hastalığa yatkınlaştırıcı bir etmen olabilirler. Çünkü oksidanlar merkezi sinir sisteminde zar patolojileriyle ilişkilidir ve nöropsikiyatrik bozukluklarda önemli rol oynayabilirler (59). Özgül oksidanların bir kısmı metabolizmadaki başka bileşenlerin istenmeyen artışlarına neden olabilir ve bu durum psikiyatrik bozukluklarda özgül belirtilere neden olabilir. Örneğin, psikotik özelliklerden sanrısı olan mani hastalarında artmış NO düzeyi, glutamat yolağı üzerinden böyle bir etkiye yol açmış olabilir (54).

Araştırma sonuçlarına göre psikiyatrik bozukluklarda bozulmuş bir oksidatif denge söz konusudur. Bazı hastalıklarda tedaviye klinik yanıtla birlikte bu dengesizlik düzelebilirken, orta veya ağır psikiyatrik bozukluklarda oksidatif dengesizlik sürebilmektedir. Oksidatif dengesizlikle ilgili veriler halen psikiyatrik tabloların tamamını açıklamaktan uzaktır ancak, alternatif tedavilerin bulunması, tedavi yanıtının biyolojik işaretçilerle daha özgül olarak izlenmesi, özgül belirtilerin serum örnekleriyle taranması gibi konulara ışık tutmaktadır.

## 2.2. NİTRİK OKSİT

NO biyokimyadaki en basit biyolojik aktif moleküllerden biridir. NO NOS enziminin 3 izoenzimi tarafından sentezlenir. NO sentezi L-arginin amino asitinden beş redoks koenziminin varlığında gerçekleştirilir. NO insan vücudundaki bazı organ ve hücrelerin fonksiyonunda major rol oynar. Bir hormon, ROS, nörotransmitter, mediator, sitoprotektif molekül ve sitotoksik molekül olarak görev yapan tek endojen moleküldür. NO'nun santral sinir sistemindeki gelişimsel sürece etkili olduğu bilinmektedir (60). Noradrenalin ve dopamin salınımı, hafıza ve öğrenme, serebrovasküler sistemin düzenlenmesi, uyanıklığın sağlanması, koku ve besin alımının düzenlenmesi etkili olduğu başlıca fonksiyonlardır. Ayrıca ikiçüklü bozukluk, şizofreni, major depresyon, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, alkol ve madde bağımlılığı, serebral iskemi ve inme gibi belli nöropsikiyatrik patolojilerde de rolü vardır (61-66).

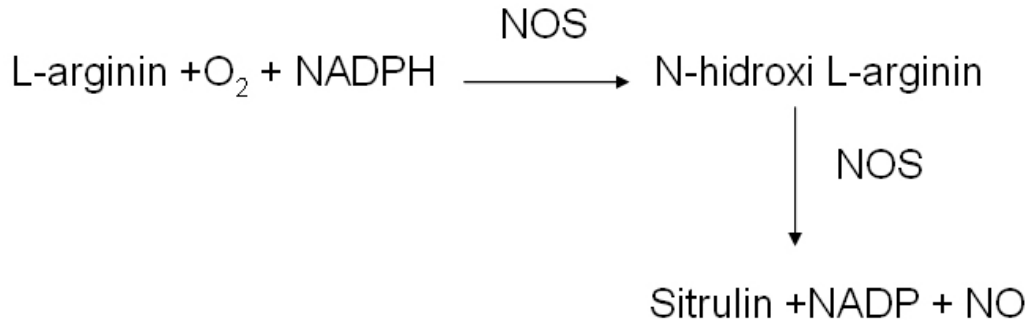
NO oldukça labil bir moleküldür ve biyolojik sıvılarda ölçülemez. NO sentezlendiği yerde saniyeler içinde nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) ve daha sonra da nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) okside olur. NO son ürünleri olan  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  biyolojik sıvılarda ölçülebilir ve NO

üretiminin in vivo ve in vitro indikatörleri olarak kullanılabilir (67,68). Bu nedenle plazma  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  (toplam  $\text{NO}_2^-$ ) konsantrasyonları NO üretiminin bir indeksi olarak kabul edilmiştir.

NO amino asitlerdeki ve proteinlerdeki tiyol (-SH) grupları ile reaksiyona girer ve sabit nitrozotiyoller oluşur. NO üretimindeki azalma oksidatif fosforilasyonu uyarır ve periferik oksijen alımını artırır (69,70). NO süperoksit ( $\text{O}_2^-$ ) gibi serbest oksijen radikalleri ile de etkileşir.  $\text{O}_2^-$  ile eşleşir ve  $\text{ONOO}^-$  oluşur. Bu hücrel yapılar için zararlı bir bileşiktir (71). Lipid peroksidasyonu, bazı moleküllerin nitrozilasyonu, sodyum kanallarının inaktivasyonu ve demir, bakır gibi redoks potansiyeli olan metallerle reaksiyona girerek hücrel hasara neden olur (72).

### 2.2.1. Nitrik Oksit Sentezi ve Özellikleri:

Memelilerde nitrik oksit sentezi; nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), hem ve tiyol grupları koenzim olarak kullanılarak L-argininin L-sitruline oksidasyonu ile gerçekleşir.



**Şekil 1.** NOS enzimi ile NO sentezinin reaksiyonu

NO üç farklı NOS enzimi kullanılarak üretilir. Nöronlarda baskın olarak bulunan NOS-1 veya nNOS, sinapslar arasında retrograd haberleşmeyi sağlar. İndüklenebilen bir form olan iNOS veya NOS-2 ise bağışıklık hücrelerinde ve diğer birçok dokuda bulunur. Hücrel bağışıklık yanıtında görev alır (73). Endoteliyal dokuda baskın olarak bulunan ise NOS-3 veya eNOS formudur ve birinci fonksiyonu vasküler tonusu ayarlamaktır (74).

Hücre içi kalsiyum konsantrasyonları normal olduğunda iNOS ile NO üretimi, yalnız var olan enzim, substrat veya kofaktör miktarı ile sınırlanır (74). Tam tersi eNOS ve nNOS normal kalsiyum konsantrasyonunda inaktiftir. Belli koşullarda NOS enzimi oksijen radikali ve ONOO<sup>-</sup> oluşturarak in vitro hücrel hasara neden olur (75).

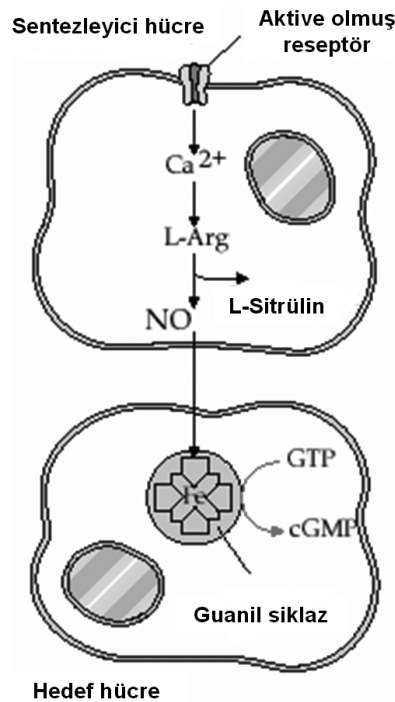
Oda ısısında ve basıncında NO nonpolar renksiz bir gazdır. Suda nitrojen, O<sub>2</sub> ve karbonmonoksit (CO) benzer şekilde düşük düzeyde çözünürlük gösterir. NO aktivitesi büyük oranda membran permeabilitesi ve difüzyonu ile oluşur. Difüzyon kapasitesi herhangi bir biyolojik molekülden daha yüksektir. 37°C'de oksijen veya CO'in 1-4 katı difüzyon kapasitesi vardır. Diğer nitrojen oksitler gibi NO de termodinamik olarak labildir. Bu yüzden oksijen ve nitrojen elementlerinden, oldukça büyük miktarlarda ve yalnız yüksek sıcaklıklarda sentezlenir. NO; nitrojeninden yedi, oksijeninden sekiz elektrona sahip yüksüz bir moleküldür. En üst orbitalde eşleşmemiş bir elektron vardır. Bu moleküler yapı NO'in bir serbest radikal olduğunu gösterir. Eşleşmemiş elektronları olan diğer moleküllerle hızla reaksiyona girer. Özellikle serbest radikallerle ve hem demiri gibi metallere de reaksiyona girer. Bu yüksek reaksiyon hızı hem in vitro (saniyeler) hem in vivo (3-4 saniye) kısa yarı ömrününün nedenini açıklar (76).

### 2.2.2. NO Nörotransmisyonundaki Önemi

NO küçük ve hidrofobik olduğundan membranlardan kolayca geçer ve in vivo olarak birkaç saniye kaldığı için birçok hücre çapına difüze olur (77). NO'in hücreler arası difüzyonu, hücre içindeki reaksiyonlarından daha hızlıdır. Bu nedenle belli bir andaki NO konsantrasyonu yan yana NO üreten hücrelerin konsantrasyonu ile belirlenir (73). NO daha çok parakrin etki gösteren bir mesajcıdır. Sinyal sonrası geri alım yerine reaksiyonla ortamdan uzaklaştırılmalıdır (78).

Şu anki bilgiler NO'in çoklu moleküler hedefleri olduğunu göstermektedir. Direkt olarak transkripsiyon aktivitesini etkiler, yukarı doğru sinyal kaskadını düzenler, mRNA stabilitesini ve translasyonunu düzenler ve aynı zamanda primer gen ürünleri işlemlerini düzenler (79).

NO memelilerin bağışıklık sisteminde, kardiyovasküler sisteminde ve sinir sisteminde önemli bir sinyal ileti molekülüdür. NO'in in vivo kritik bir rolü, çözünebilir



**Şekil 2.** NO'nun hücre içi etkileri, guanilat siklaz aktivasyonu

guanilat siklaz aktivatörü olmasıdır (80). Guanilat siklazın uyarılması biyolojik olarak önemli bir ikinci mesajcı olan cGMP sentezini başlatır ve daha sonra hedef hücredeki cGMP bağımlı kinazlar aktive olur. NO'nun nanomolar konsantrasyonları bile guanilat siklazı aktive edebilir ve cGMP düzeylerini yükseltebilir (81). cGMP hücre dışına  $Ca^{+2}$  çıkışını ve endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi organellerde  $Ca^{+2}$  depolanmasını uyararak sitozolik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun düşmesine yol açar. Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun düşmesi NO aracılı vasküler ve nonvasküler düz kas gevşemesinden, trombosit adezyon ve agregasyonunun inhibisyonundan, nötrofil kemotaksisinin baskılanmasından, santral ve periferik sinir sisteminde sinyal iletiminden sorumludur (82).

### 2.2.3. Beyinde NO Biyosentezi

Beyinde NO dağılımına bakıldığında, en yüksek NOS aktivitesi substantia innominata, serebellar korteks, nukleus akumbens ve subtalamik bölgede bulunur. En düşük NOS aktivitesi ise korpus kallozum, talamus, oksipital korteks, dentat nukleustadır (83). Beyinde nNOS serebral kortikal nöronların %2'sinde ve serebral damarlarla ilişkili olan dentrit ve aksonlarda lokalizedir (84). NOS'ın beyindeki

topografik dağılımı NO'in beyindeki fizyolojik fonksiyonlarını yansıtır. NO'in nörotransmitter benzeri bir düzenleyici olduğu ve parkinson, alzheimer, alkolizm, şizofreni gibi nörodejeneratif hastalıkları tetiklediği düşünülmektedir. Santral sinir sisteminde tüm NOS formları bulunmasına rağmen nöronal iletideki spesifik aktivasyonlar primer olarak nNOS tarafından üretilen NO ile gerçekleştirilir (85). Bu enzim yalnız nöronların küçük bir kısmı tarafından sentezlenir. NO üretimi kalmodilin bağımlı bir süreçtir, bu nedenle öncesinde intrasellüler kalsiyum iyonunun ( $Ca^{++}$ ) konsantrasyonunun yükselmesi gerekir. İlginç olarak nNOS ile NO üretimi yalnız N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aktivasyonu sonrasında gerçekleşir (86).

#### **2.2.4. Nörotransmitter Salınımı Üzerine NO'nun Düzenleyici Etkisi**

Nörotransmitter salınımı üzerine NO'in uyarıcı bir etkisi vardır. İntrasellüler olarak sentezlenen NO nöronal membrandan dışarı difüze olur ve ekzojen NO gibi nöronal membran depolarizasyonunu uyarır. NO ile uyarılan nörotransmitter salınımı  $Ca^{++}$ - bağımlı ve -bağımsız süreçler şeklindedir. Beyindeki birçok nörotransmitter; asetil kolin, dopamin, norepinefrin, glutamat, gama amino butirik asit (GABA), taurin gibi nöroaktif amino asitler ve diğer klasik nörotransmitterlerin NO'ten etkilendiği düşünülmektedir (87).

#### **2.2.5. Non-sinaptik İleti ve NO**

Son zamanlarda yapılmış olan birçok araştırma ve gözlem araştırmacılara nöronal iletişimi sağlayan sinaptik ileti dışında alternatif bir yol olduğunu düşündürmektedir. Bu yol non-sinaptik veya ekstra-sinaptik yol olarak isimlendirilmektedir. Beyindeki bilgiler hem sinaptik hem de non-sinaptik difüzyon yoluyla iletilmektedir. Non-sinaptik ileti nörotransmitterlerin sentezlendikleri hedef hücreden ekstrasellüler sıvıya difüzyonuyla gerçekleşir. Böylece sinaptik boşluğa ulaşarak ekstrasinaptik ve intrasinaptik reseptörlerin aktivasyonunu sağlarlar. Non-sinaptik ileti ayrıca NO ve CO'in ekstrasellüler sıvıya ve selüler membranlara difüzyonunu da içerir. Bu non-sinaptik ileti sinyalleri özgündür, çünkü biyolojik membranları geçerek hücre içinde kendi hedef moleküllerini bulurlar. Non-sinaptik ileti tipi sinapsların esas özelliği, biyolojik olarak yeterli konsantrasyonda olan transmitterin sinaptik aralık dışına difüzyonuna izin verebilmesidir (88,89).

NO yüksek oranda difüze olabilen bir gazdır ve biyolojik membranları herhangi bir zorlukla karşılaşmadan geçebilir. Yarı ömrü birkaç saniye olmasına rağmen, bu kısa sürede bile birkaç yüz mikrometre difüze olur (90). Sinaptik aralığın genişliği veya bir vücut hücresinin büyüklüğü düşünüldüğünde, glutamaterjik sinapta üretildiği kesin olan NO sinaps çevresindeki çok sayıda nöronun fonksiyonunu etkileyebilir. Bu nedenle NO non-sinaptik etkileşimler için ideal bir mediyatördür (91,92).

NO monoamin aracılı nöronal iletinin düzenlenmesinde de rol almaktadır (93). NO ayrıca monoamin taşıyıcılarının fonksiyonunu inhibe edebilir. NO gazı dopamin, noradrenalin ve 5-hidroksi triptaminin; striatuma, hipokampusa ve sinaptozomlara geri alımını inhibe eder (94,95). Glutamaterjik ve monoaminerjik yollar arasındaki etkileşim belli beyin bölgelerinin spesifik fonksiyonları için çok önemlidir. Bu bölgeler hareket koordinasyonunun yapıldığı striatum ile öğrenme ve hafıza merkezinin bulunduğu hipokampustur (85) .

### **2.2.6. Oksidatif Stres Ve Oksidatif Nöronal Hasar**

Birçok nöropsikiyatrik hastalığın artmış serbest radikal veya ROS aracılığı ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (3). ROS aracılı nöronal hasar oksidatif stres olduğunda ortaya çıkar. Oksidatif stres, oksidan sistem ile antioksidan savunma sistemi arasında bir dengesizliğin olması durumudur. Genellikle ROS üretiminin artmasından sonra veya antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması veya her iki olayın birden olması durumunda ortaya çıkar. Oksidatif stres, nedeni ne olursa olsun, hücresel hasara neden olan birçok patofizyolojik olayı başlatır. ROS oksijen içeren birçok normal biyokimyasal reaksiyonda in vivo olarak üretilir. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri, mikrozomal elektron taşıma sistemi, NADPH bağımlı oksidazlar, çoklu doymamış yağ asitlerinin ve katekolaminlerin oksidasyonu bu reaksiyonlara dahildir. Normal fizyolojik koşullarda dopamin metabolizmasının serbest radikaller ürettiği bilinmektedir (96). Antioksidan savunma zayıf olduğunda dopamin otooksidasyona çok hassastır (97). Dopamin aracılı toksisitenin ayrıca NMDA glutamat reseptörleri aracılığı ile dopamin aktivitesi üzerinden gerçekleştiği saptanmıştır (98). Öte yandan NMDA aracılı eksitotoksiste  $O_2^{\cdot -}$  ve NO gibi serbest radikallere ihtiyaç duyar. Glutamat ile NMDA aktivasyonu fosfolipaz  $A_2'$  yi aktive ederek araşidonik asit salınımına neden olur. Araşidonik asit ikinci mesajcı olarak görev yapar ve bu döngü ROS oluşumuna neden

olur (99).

Oksidatif stres, artmış NO nedeniyle oluşan ONOO<sup>-</sup> tarafından verilen hasarın en büyük sebebi olarak bilinmektedir (4). Oksidatif metabolizmalar sırasında O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve ONOO<sup>-</sup> oluşurken, superoksid dismutaz (SOD) enziminin en önemli görevi oluşan oksijen radikallerinin organizmaya zarar vermeden daha az zararlı bir bileşik olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' e dönüştürülmesini sağlamaktır. SOD aktivitesi azaldığında ONOO<sup>-</sup> lipidler, proteinler, amino asitler ve nükleik asitler de dahil birçok biyolojik moleküle hasar verir. Öte yandan ONOO<sup>-</sup> membranlardan da difüze olur ve sentezlendiği yerlere de hasar verir (5). NO daha ziyade lipid membranlarda oluşan bir ürünü olan NO<sub>x</sub> ile de oksidatif strese neden olur ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından oluşturulan oksidatif stresi de artırır. Ayrıca oksidatif stres sırasında oluşan lipid peroksid gibi diğer reaktif oksijen türleri ile de reaksiyona girer (6).

### 2.2.7. NO ve Diğer Serbest Oksijen Radikalleri Arasındaki Reaksiyonlar

NO O<sub>2</sub><sup>-</sup> gibi diğer reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girer ve ONOO<sup>-</sup>, nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub>), dinitrojen trioksit (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) gibi çeşitli toksik ara ürünlerin oluşumuna neden olur. Bu oksidan ajanlar lipid, DNA, tiyol, amino asit, metaller gibi biyomolekül sınıfları ile reaksiyona girerek moleküllerin oksidasyon ve nitrasyonuna neden olur. Eğer patolojik düzeylerde üretilirlerse hücre fonksiyonlarında eninde sonunda hasara neden olurlar. Örneğin enzimlerde fonksiyon kaybına, membran bütünlüğünde bozulmaya ve DNA mutasyonlarına neden olurlar. NO ile O<sub>2</sub><sup>-</sup> reaksiyonu ONOO<sup>-</sup> oluşumuna neden olur ve NO'nin vazodilatatör etkisi azalır (100). Peroksinitrit aromatik amino asitleri, okside tiyolleri ve lipidleri hidroksiller, proteine bağlı ve serbest tirozin rezidülerini nitratlar (101). Sekonder olarak NO<sub>x</sub> oluşturan bu reaksiyonlar NO'nin yüksek oksidatif hasar oluşturma potansiyelini gösterir. Bunun tersine NO oksidasyon reaksiyonlarını doğrudan inhibe eder. Bunu lipid peroksil ve alkoksil radikallerinin zincirini sonlandırarak ve antioksidan enzim indüksiyonu yapan hücre sinyallerini düzenleyerek yapar. Düşük NO konsantrasyonları birçok fizyolojik olayda rol alırken (düz kas gevşemesi, trombosit agregasyon inhibisyonu gibi), yüksek NO konsantrasyonları, özellikle artmış oksidan üretimi ile kombine olduğunda, NO<sub>2</sub>, ONOO<sup>-</sup> ve diğer nitrozan, oksidan araçların üretimi ile doku hasarı ve inflamasyona neden olur (102).

İlginç olarak NOS hem içeren monooksijenaz ailesinin bir üyesidir. Spesifik substratının sıkı kontrolü altında serbest radikal üretebilir. NO üretimi yalnız L-arginine bağlıyken, substrat konsantrasyonu düşük olduğunda NOS  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  üretir. NO, NOS tarafından üretilen bu ROS ile reaksiyona girer (103).

### 2.2.8. NO ve Psikiyatrik Hastalıklardaki Membran Patolojileri

Çoklu doymamış yağ asitleri SSS hücrelerinin membranlarında yerleşiktir ve serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona uğrarlar. Membran lipidlerinin peroksidasyonu, membranın taşıma mekanizmasını, reseptör etkileşimlerini iyon kanal fonksiyonlarını etkileyerek fonksiyonlarını bozar. Fosfolipaz  $A_2$  belli fosfolipidlerden araşidonik asit salınımını başlatarak membran fosfolipid metabolizmasında ve prostoglandin sentezinde görev alan en önemli hız sınırlayıcı enzimdir. Araşidonik asit ve bazı diğer çoklu doymamış yağ asitleri özellikle beyin gri cevherinde yoğunlaşmıştır. Plazma (104), serum (105) ve trombosit (106) fosfolipaz aktivitesi şizofreni hastalarında sağlıklı psikiyatrik kontrollere göre belirgin şekilde artmıştır.  $NO_x$  doymamış lipidlerle bir seri karmaşık etkileşime girer, oksidasyonu başlatır ve nitratlı lipid ürünlerinin oluşmasına neden olur.  $NO_x$  lipid aracılı sinyal ileti reaksiyonlarında çoklu karmaşık etkiler gösterir. Nöronal membran lipidleri beyin gelişimi, değişimi ve nöronal fonksiyonu için kritik öneme sahiptir. Peroksit grubu bileşiklerin en fazla lipidleri etkilemesi sonucu nöronal gelişim ve aynı zamanda nörotransmitterlerin, hormonların, büyüme faktörlerinin, iyonların membran-reseptör aracılı sinyal iletimi etkilenir. Bu etkiler karmaşık nöro-patolojilere katkıda bulunur ve hatta nöronal ölüme neden olabilir (7).

Birçok çalışmada NO'den  $NO_x$  derive edildiği ve biyolojik sistemlerde lipid oksidasyonunu hem başlattığı hem de inhibe ettiği gösterilmiştir. Lipid oksidasyon reaksiyonları da NO biyoyararlılığını değiştirebilir (107). Birçok  $NO_x$ , örneğin  $ONOO^-$  potent bir oksidandır ve akciğer sıvısında glutatyon, ürik asit ve askorbatı tüketir (108). Doymamış lipidleri substrat olarak kullanan lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimler,  $NO_x$  ile etkileşime girerse hızlarında ve lipid oksidasyon ürünlerinde değişiklikler meydana gelir.  $ONOO^-$  potent bir oksidan ve nitratlayıcı ajandır. Linoleik asit, fosfatidil kolin, kolesteril linoleat ve serbest kolesterol gibi saf lipidler kullanılarak yapılan çalışmalarda  $ONOO^-$  radikalinin birçok lipid peroksidasyon ürünü



oluşturabildiği gösterilmiştir. Bu ürünler malondialdehid, lipid peroksitler, lipid hidroksidler, F2 izoprostanlar ve oksisterollerdir (8).

NO<sub>x</sub> ve ROS ile reaksiyon sonucu oluşan lipid peroksidasyonu membran fosfolipidlerinin kalitesini ve miktarını değiştirir. Bu değişiklikler nöropsikiyatrik hastalıkların fizyopatolojisine katkıda bulunur. Membranlardaki fosfolipidlerin dağılımını değiştirir, membranın fizikokimyasal özelliklerini değiştirir, membran proteinlerinin aktivitelerini etkiler, diaçil gliserol ve inozitol trifosfat gibi ikinci mesajcıların nörotransmitter reseptör aracılı üretim düzeyini düşürür (109).

SSS hücreleri serbest radikallerin toksik etkilerine vücuttaki diğer organlara göre daha çok maruz kalırlar. Çünkü SSS'de oksidatif metabolik aktivite hızı ve oksijen alım hızı yüksektir. Ayrıca katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin koruyuculuk düzeyi ise düşüktür. Ayrıca membran yüzeyinin sitoplazmik hacme oranı yüksektir ve okside olabilecek membran çoklu doymamış yağ asiti konsantrasyonu yüksektir (110). Diğer yandan spesifik nörokimyasal reaksiyonlarla endojen ROS üretimi (dopamin oksidasyonu) beyinde yüksek miktarda gerçekleşmektedir. Dahası beyin genellikle yüksek oksidatif strese maruz kaldığından oksidatif hasara hassastır (109).

### **2.2.9. NO' in Nöropsikiyatrik Hastalıklardaki Fizyopatolojik Rolü**

Son zamanlardaki araştırmalar, nöropsikiyatrik hastalıklarda NO'in moleküler fizyolojik ve biyokimyasal rolü üzerine yoğunlaşmıştır. NO beyinde hücre haberleşmesinde bir aracı olarak önemlidir. Çünkü beyinde santral nörotransmitter olarak en yüksek miktarda bulunan ve uyarıcı bir amino asit olan glutamat, NO sentez reaksiyonunu tetiklemektedir. NMDA veya norepinefrin reseptör aktivasyonu sonrası NO üretimi SSS patolojilerinde önemli gibi görünmektedir. Bu nedenle NO yolu birçok nöropsikiyatrik durumun tedavisinde yeni ilaçların keşfini sağlayabilir. Bunlara ikiüçlü bozukluk da dahildir (109).

### **2.2.10. NO' in İkiüçlü Bozukluk Fizyopatolojisindeki Rolü**

Savaş ve ark. bir klinik prospektif çalışmalarında ikiüçlü bozukluk olan hastalardaki plazma NO düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu ve

NOS/NO yolağının anormal olduğunu bulmuşlardır (66). NO'in ROS toksisitesine karşı koruyucu olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu yükselme organizmanın bir kompensasyon meknizması gibi kabul edilmiştir. Çünkü, NO  $O_2^-$  tüketilmesini sağlayarak hücrel ve hücre dışı yapıları  $O_2^-$  ve ROS etkilerinden korur. Diğer yandan NOS ve ksantin oksidaz aktivitesi ONOO<sup>-</sup> oluşumuna neden olur. ONOO<sup>-</sup> ise nörotoksositeye neden olur. NO'in nöronal fonksiyonlardaki rolü nedeniyle NO düzeylerindeki değişiklikler ikiüçlü bozuklukta anlamlı olabilir (111).

NO'in duygudurum bozukluğunda da potansiyel bir rolü olabilir (112). NO kısa ve uzun dönem nöronal adaptasyon değişikliklerini düzenler. Dolayısıyla antidepresan ilaçların neden olduğu nöronal adaptasyonda rol oynayabilir. NO' in hedefi guanilat siklaz, G protein, amino asit, amin ve nöropeptidlerin salınması ve taşınmasıdır. NO ayrıca major depresyon patogenezi de karıştır (113). Depresyonu tetikleyen interferonun NO gen ekspresyonunu uyardığı bulgusu, NO'in ikiüçlü bozuklukta rolü olduğu hipotezini desteklemektedir. NOS inhibitorleri de anti depresan benzeri özellikler göstermektedir (114).

### 2.3. ARGİNAZ

Arginaz (L-arginin aminohidrolaz, EC 3.5.3.1) L-argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizler. Arginaz birçok ara metabolizmada rol alan ve kofaktör olarak mangan kullanan anahtar bir enzimdir. Memelilerde arginaz proteinini kodlayan iki ayrı gen saptanmıştır. Bu iki izoenzim amino asit dizilimi açısından %60 benzerlik gösterir. Enzimatik özellikleri ve mangana olan ihtiyaçları açısından birbirlerine benzerler (115-116). Doku dağılımı, subselüler lokalizasyon ve immunolojik reaktivite açısından birbirlerinden farklıdır (117).

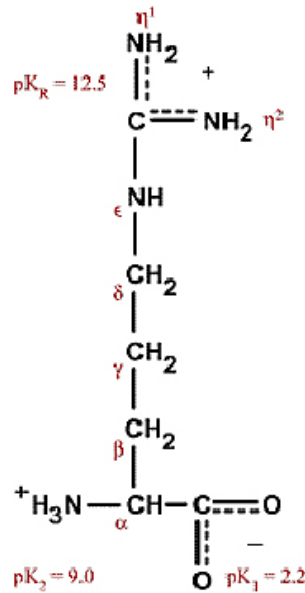
Arginaz I daha çok karaciğerde bulunur. Hepatik arginaz olarak da bilinen arginaz I sitozolik bir enzimdir. Üre siklusunun son basamağında esas rol oynar. Total vücut arginaz aktivitesinin çoğunluğunu oluşturur.

Arginaz II ekstrahepatik dokularda sentezlenen mitokondriyal bir enzimdir. Yaygın bir doku dağılımı vardır. Daha çok böbreklerde, beyinde, ince barsaklarda, meme dokusunda, prostatta ve makrofajlarda bulunur. Karaciğerde ekspresyonu çok azdır veya hiç yoktur (118-121). Arginaz II glutamik asit, pirolin ve poliaminlerin sentezinde önemli bir metabolit olan ornitinin sağlanmasında görevlidir (122- 124).

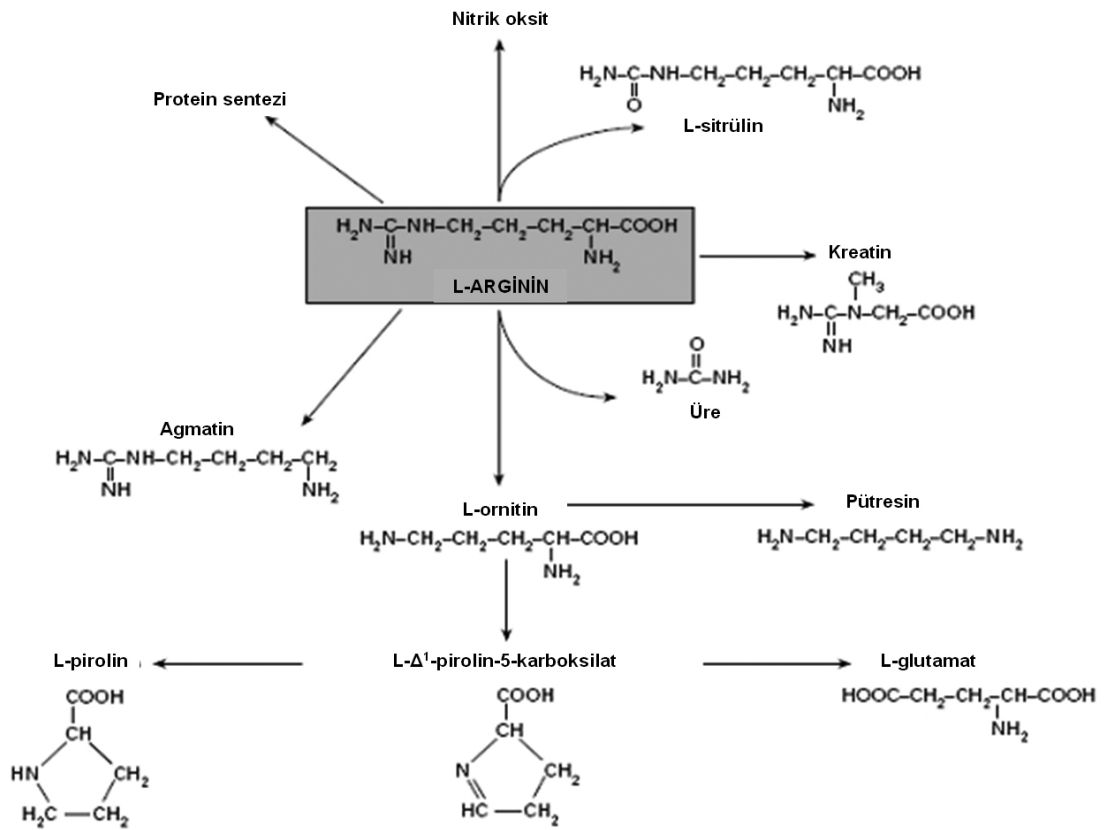
### 2.3.1. L-Arginin

L-arginin birçok fizyolojik olayda rol alır. Yarı esansiyel, katyonik, pozitif yüklü, R grubu bulunduran bir amino asittir (Şekil 3). Hedin tarafından 1895’de bulunmuştur. Molekül ağırlığı 174 daldondur. D- ve L-arginin izomerlerinden L-arginin formu proteinlerin yapısına girer. L-arginin; L-pirolin, poliaminler, agmatin, kreatin ve protein sentezi için gerekli bir prekürsördür (Şekil 4) (125, 126).

Besinlerdeki proteinlerin hidrolizi sonucu serbestleşen L-arginin, ince barsak lümeninden enterositler tarafından alınır. Aktif transportla emilerek portal dolaşımla karaciğere taşınır. Karaciğerde metabolize olmamış arginin sistemik dolaşıma geçer. Arginin oral yol ile alındıktan yaklaşık 1-2 saat sonra plazmada en yüksek düzeylere ulaşır. Glomeruler filtrasyona uğrar ve hemen hemen tamamı reabsorbe olur. Endojen olarak glutamat ve sitrülinden arginin sentezi ince barsak, böbrek ve karaciğerde gerçekleşir. Endojen olarak sentezlenen arginin plazma arginin düzeyine %10 oranında katkıda bulunur. L-arginin hem arginaz için hem de NO üreten NOS için bir substrattır. Arginin arginaz regülasyon sisteminin ve NO üretiminin önemli bir parçası olan nöroregülatuar bir ajandır (9).



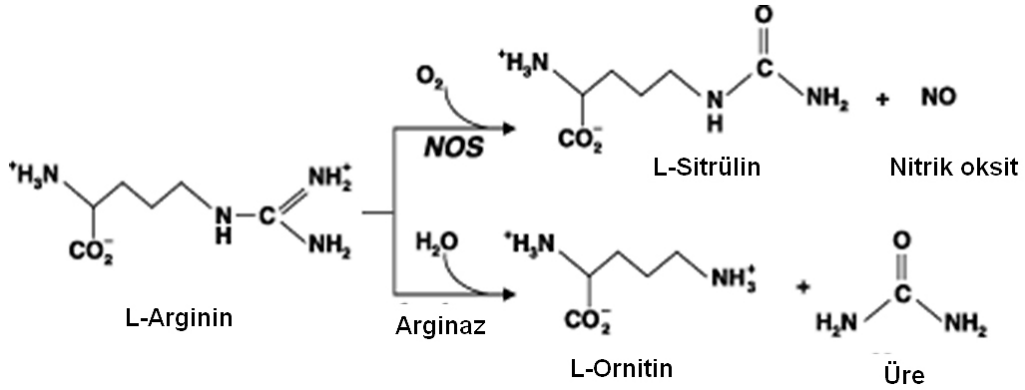
Şekil 3. L- arginin yapısı



Şekil 4. L-argininin substrat olarak kullanıldığı reaksiyonlar

### 2.3.2. Arginaz Ve Üre Siklusu

Tip I arginaz ve üre siklusundaki diğer metabolitler, nitrojen ürünlerinin detoksifikasyonunda görevlidir (Şekil 5). Üre siklusu nitrojen metabolitlerinin detoksifikasyon işleminin yüksek bir etkinlikle gerçekleştirildiği çok önemli bir metabolik yoldur. Arginaz üre döngüsü enzimleri içinde iki ayrı izoenzimi olan tek enzimdir. Tip I (hepatik) arginaz defektinin olduğu durumlarda, böbreklerde tip II arginaz ekspresyonu artar (127,128). Böylece ortaya çıkacak klinik problemlerin azaltılması sağlanır (129). Mangan uygun pH'da hepatik arginazı allosterik olarak aktive eder. Arginaz aktivitesinin pH'ya bağımlı olarak düzenlenmesi, pH bağımlı hepatik üre üretimine katkıda bulunabilir (130). Bununla birlikte hepatik amino asit transportundaki değişiklikler ve hatta amino asit katabolizmasında yer alan anahtar enzim aktivitesindeki değişiklikler hepatik üre sentezinin pH'a bağımlı olarak düzenlenmesinde üre siklusunda yer alan enzim aktivitesindeki değişikliklerden daha önemlidir (131,132).



**Şekil 5.** L- arginin kullanılarak NOS enzimi ile NO ve arginaz enzimi ile üre sentezinin yapıldığı reaksiyonlar

Üre siklus enzimlerinin tümü belli miktarlarda ince barsaklarda da bulunduğundan, araştırmacıların çoğu barsaklarda da metabolik olarak anlamlı oranlarda üre siklusunun fonksiyon gördüğünü düşünmektedir (133-135). Argininin katalizlediği tepkimede üre ve ornitin olmak üzere iki ürün meydana gelmektedir. Argininden meydana gelen ürünlerden biri olan ornitin akut inflamasyon sırasında hücre proliferasyonunu sağlayan poliaminlere dönüşür. Poliaminler tüm memeli hücrelerinde bulunur. Hücre proliferasyonunun arttığı durumlarda poliamin düzeyinin de arttığı gösterilmiştir. Poliaminler, DNA ve RNA sentezi ile DNA'nın stabilizasyonunda uyarıcı etki gösterirler (136,137). Arginaz üç tetramerden oluşur. Esas fonksiyonunu görebilmesi için iki molekül mangan elementine ihtiyaç duyar. Mn<sup>2+</sup> iyonu enzimi stabilize eder. Suyun da reaksiyona katılmasını sağlayarak L-argininin ornitin ve üreye hidrolizini gerçekleştirmiş olur (138).

### 2.3.3. Arginaz ve NO Sentezi

İlk bakışta arginaz arginin için NO senteziyle yarışamaz gibi görünmektedir. Memeli argininin substrat L-arginin için Km'i 2-20 mM aralığındadır (139). Çeşitli NOS izoenzimleri için bu aralık 2-20 µM'dır (140). Diğer yandan rat karaciğer arginazı için fizyolojik pH'da hesaplanan Vmax mg başına yaklaşık 1400 µmol /dk iken NOS enzimleri için 1000 kattan daha düşük, yaklaşık mg başına 1µmol /dk'dır (140, 141). Düşük L-arginin konsantrasyonlarında NO sentezi için benzer oranlarda substrat

kullanımını göstermektedir. Sağlıklı bir hücrede yeterli arginaz miktarı NO sentezi için arginin kullanımını sınırlayabilir. Örneğin yaralarda ve makrofaj kültürlerinde ekstraselüler sıvıdaki ornitin artarken arginin hemen hemen tamamen tükenmektedir. Bu da yüksek arginaz aktivitesini göstermektedir (142, 143). Yapılan bir çalışmada kemirici makrofajlarında arginaz inhibisyonu ile argininin sitriline dönüştüğü gösterilmiştir. Bu da iNOS ve arginazın L-arginin için yarışabileceğini göstermektedir. Açıklığa kavuşturulması gereken nokta iNOS ve arginazın hangi durumlarda hücre içi L-arginin havuzu için doğrudan yarıştığıdır. Bu önemli bir nokta çünkü hücrel NO sentez hızı arginin gerialım hızının sınırlandırılması ile azaltılabilir. Hücre dışı L-arginin konsantrasyonundaki azalma NO sentez hızı üzerine, hücre içi L-arginin konsantrasyonundaki azalmadan daha etkili olabilir (144).

Aslında NOS ve arginaz arasındaki ilişki yalnızca aynı substartı kullanmaları ile sınırlı değildir, daha komplikedir. Örneğin iNOS eksprese eden makrofajlar ve endotel hücreleri, arginaz aktivitesini inhibe etmek için yeterli  $N^G$ -hidroksiarginin de üretebilirler . Kültürdeki hücreler yeterince perfüze olmazken, hayvanlardaki sağlıklı endotel hücreleri sürekli perfüze olmaktadır. Dolayısıyla bu hücrelerin in vivo olarak hücrel arginaz aktivitesini inhibe edecek, yeterli  $N^G$ -hidroksiarginin üretip üretmeyeceği açık değildir (144-146).

Bu çalışmaların yapıldığı hücre kültür ortamlarındaki L-arginin konsantrasyonu plazma arginin konsantrasyonunun 10 katı kadardır. Bu nedenle hücre kültürlerinde  $N^G$ -hidroksiarginin üretimi muhtemelen in vivo olarak üretilenden çok daha fazladır. Yalnız yaralar gibi perfüzyonun sınırlı olduğu bölgelerde, inhibisyona yetecek konsantrasyonda  $N^G$ -hidroksiarginin birikimi sağlanabilir. Çeşitli hem proteinleri ile  $N^G$ -hidroksiarginin NO ve sitriline okside olur. Peroksidazlar, sitokrom  $P_{450}$ , hemoglobin, ve katalaz ve aynı zamanda superoksid anyonları bunlar arasındadır. L-arginin metabolizmasında  $N^G$ -hidroksiarginin önemli bir yer tutmaktadır (147-149).

Birçok çalışmada yaralardaki makrofaj kaynaklı arginaz aktivitesinin dokunun iyileşmesinde, inflamasyon ve enfeksiyona karşı korunmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Arginaz NO sentezinde substrat olarak kullanılan arginini ortamdan uzaklaştırır ve ayrıca kollojen sentezlenirken ihtiyaç duyulan pirolini sentezlemek için ornitin üretir (150-156).

#### **2.3.4. Arginaz ve İkiçlu Bozukluk**

Elgün ve ark. major deprasyonlu hastalarda arginaz aktivitesinin arttığını göstermişlerdir (157). Depresyon hastalarındaki artmış arginaz aktivitesi ve hastalığın ağırlığı ile arginaz aktivitesi arasındaki pozitif korelasyon, arginaz aktivite artışının depresyon semptomatolojisi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (109).

## 3-GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Çalışmanın Tanımlanması ve Etik Kurallara Uygunluğu

Bu çalışmada ikiüçlü bozukluk tanısı yeni konmuş hastalarda, hastaneye yatış öncesi ve bir aylık tedavi sonrası ve sağlıklı kontrol bireylerinde NO düzeyi ve arginaz aktivitesi ölçüldü. Ölçümler Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Çalışma öncesinde Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul'undan, araştırmanın yapılmasının uygunluğuna dair 14.05.2007 tarihli ve 05-2007/09 karar numaralı onay alındı. Bütün hastalar ve sağlıklı kontrol bireyleri Helsinki Bildirgesi'nde belirtildiği gibi kendilerine yapılacak işlemler ve çalışma hakkında bilgilendirildi. Tüm katılımcılardan yazılı onay alındı, onay verecek düzeyde iletişim kuramayan hastaların yakınları aynı şekilde bilgilendirildi ve yazılı onay alındı.

### 3.2. Hasta Seçimi

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Psikiyatri Polikliniği Duygudurum Bozuklukları Birimi'ne başvuran ve DSM-IV tanı ölçütlerine göre ikiüçlü bozukluk tanısı alan ve ilaç bağımlılığı, diyabet, hipertansiyon gibi kronik sistemik hastalığı olmayan, 13 kadın ve 20 erkek olmak üzere, 19-55 yaş arası toplam 33 hasta dahil edildi. Hastaların tanısı en az iki ayrı uzman hekim tarafından konuldu. Yaş ve cinsiyet ve sigara içme durumu bakımından hasta grubu ile bire bir eş özelliklerde olan 33 sağlıklı birey kontrol grubunu oluşturdu. Ayrıca bu grupların beslenme alışkanlıkları da benzerdi. Hastaların vücut kitle indeksi ortalama 24,9 (20,3-28) kg/m<sup>2</sup> idi. Kontrol grubunun vücut kitle indeksi ortalama 24,2 (27,7-19,2) idi. Obez olan bireyler çalışmaya dahil edilmedi. Tüm hastalar tedavi süresince sabit dozlarda duygudurum düzenleyiciler, tipik ve atipik antipsikotikler aldılar. İlaç seçimi araştırmadan bağımsız olup her hastaya göre farklı olarak belirlendi. Hastaların 17'si EKT görmüş, 9'u atipik antipsikotik, 3'ü klasik antipsikotik, 20'si duygudurum düzenleyici, ve 16'sı



antidepresan kullandı. Hastaların tümü depresif hecmde idi.

### **3.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması**

Hastalardan NO ve arginaz ölçümü için kan örnekleri hastaneye yatış öncesi ve 1 aylık tedavi süresini tamamlayıp hastaneden çıktıktan sonra olmak üzere toplam iki kez alındı. Bütün örnekler alınırken test sonuçlarının etkilenmemesi için kan verecekleri günün öncesinde katılımcılara; ağır egzersiz yapmamaları, sigara ve alkol tüketmemeleri ve akşam yemeğinden sonra bir şey yememeleri önerildi. Sabah saat 8.00-10.00 arası katılımcıların antekübital venlerinden, oturur pozisyonda, enjektörle venöz kan örnekleri alındı ve düz tüplere aktarıldı. Alınan kan pıhtılaşması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Tüpler soğutmalı santrifüjde 3000 rpm'de 10 dakika 10-18°C'de santrifüj edilerek, elde edilen serum ependorf tüplere kondu ve analiz zamanına kadar -80°C'de saklandı (158).

### **3.4. Örneklerin Çalışmaya Uygunluğu ve Hazırlanması**

Venöz kandan elde edilen serum veya plazma, doku örnekleri ve kültür ortamı NO ve arginaz ölçümü için uygundur (158). Uzun süre saklamak gerekiyorsa -20°C'de ve daha düşük sıcaklıklarda saklanması gereğine, örneklerin bir defadan fazla dondurulup çözülmemesine, belirgin hemoliz veya lipemi bulunmamasına dikkat edildi. Çalışma öncesinde dondurulmuş örneklerin oda ısısında çözünmesi beklendi. Örnekler çözüldükten sonra analiz öncesi 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

### **3.5. Kullanılan Gereç Ve Cihazlar**

- Çeşitli ayarlanabilir otomatik pipet (Socorex, İsveç, 20-200µl, 100-1000µl)
- Cam pipetler ve çeşitli cam malzemeler
- Ependorf tüpler
- Santrifüj (NF 800 R, masaüstü santrifüj, Nüve, Türkiye)
- Spektrofotometre (UV-1601 Shimadzu, Japonya)
- Vorteks ( VF2, Janke Kunkel, İKA Labortechnik, Almanya)
- Benmari (BM 402, Nüve, Türkiye)
- Hassas terazi (Sartorius-Basic)
- Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Ikamag RH, Janke Kunkel, İKA Labortechnik,

Almanya)

-pH metre (Hanna instrument 8521, İtalya)

### 3.6. Kullanılan Kimyasal Maddeler

-Mangan klorür dihidrat ( $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ , Merck, Almanya)

-L-Arginin (Sigma, ABD)

-Sodyum hidrojen karbonat ( $NaHCO_3$ , Merck, Almanya)

-Sodyum karbonat ( $Na_2CO_3$ , Merck, Almanya)

-Diasetil monoksim (DAM,  $C_4H_7NO_2$ , Merck, Almanya)

-Tiyosemikarbazit (TSC,  $CH_5N_3S$ , Merck, Almanya)

-Demir klorür ( $FeCl_3$ , Sigma, ABD)

-Orto fosforik asit ( $H_3PO_4$ , Atabay Kimya)

-Sülfirik asit ( $H_2SO_4$ , Carlo Erba)

-Perklorik asit ( $HClO_4$ , Merck, Almanya)

-Üre ( $(NH_2)_2CO$ , Merck, Almanya)

-Kadmiyum granül (Cd, Merck, Almanya)

-Glisin ( $H_2NCH_2COOH$ , Merck, Almanya)

-Sodyum hidroksit ( $NaOH$ , Sigma, ABD)

-Sülfanilamid (Sigma, ABD)

-Hidroklorik asit ( $HCl$ , Merck, Almanya))

-N-naftil etilen diamin( Sigma, ABD)

-Çinko sülfat ( $ZnSO_4$ , Fluka, İsveç))

-Bakır sülfat ( $Cu SO_4$ , Merck, Almanya)

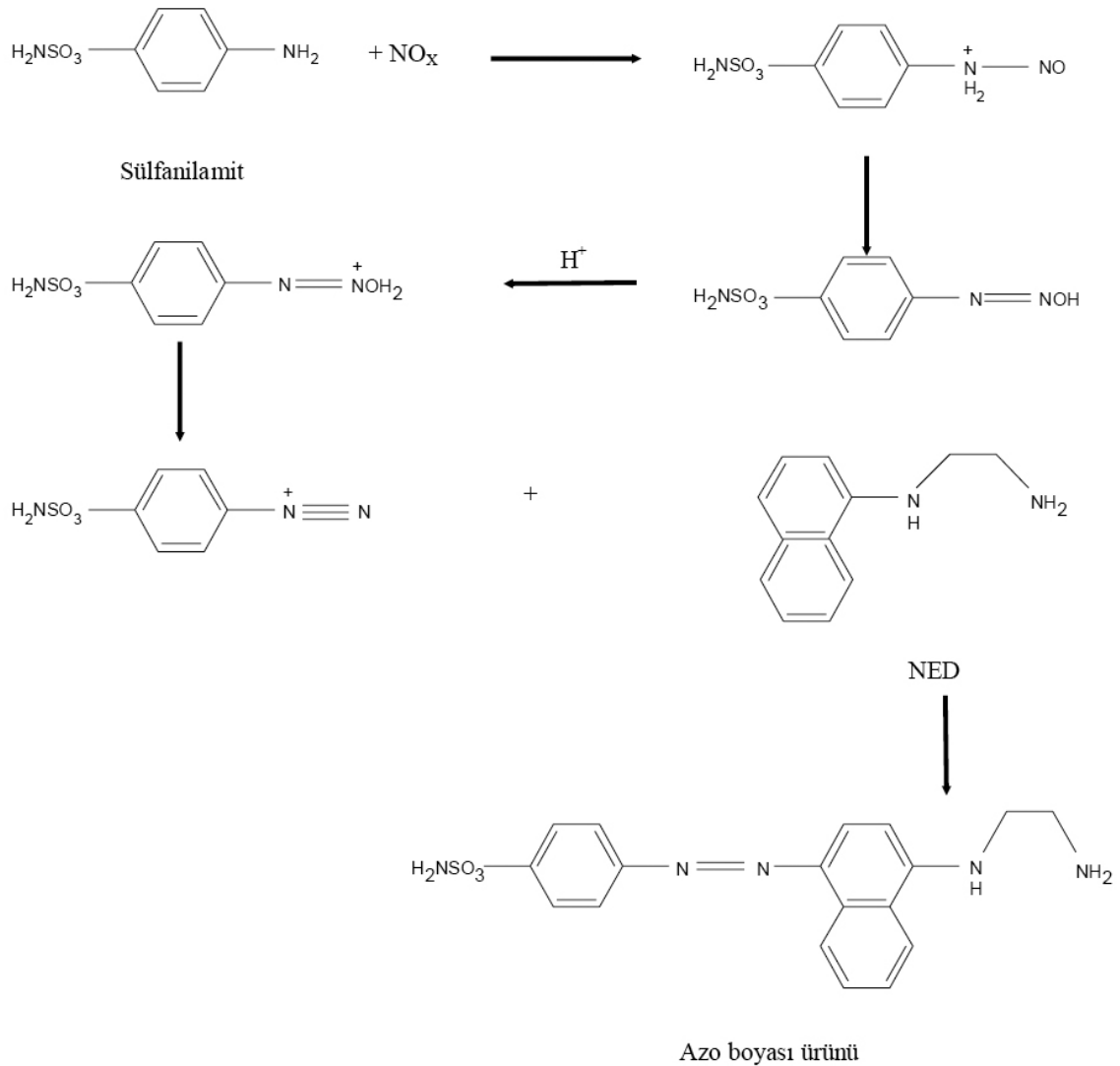
-Sodyum nitrit ( $NaNO_2$ , Sigma, ABD)

### 3.7. Yöntemler

#### 3.7.1. NO Ölçümü

Serum NO düzeyleri Griess yöntemi ile ölçüldü. Griess yöntemi  $NO_2^-$  ' in asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamid ile reaksiyonu ve N-1-naftil etilen diamin (NED) ile mor renkli bir azo ürünü oluşturması ilkesine dayanır. Bu reaksiyona Griess Reaksiyonu denir. Griess Reaksiyonu,  $NO_2^-$  iyonlarına duyarlı olduğundan

ortamdaki  $\text{NO}_3^-$ 'in  $\text{NO}_2^-$ 'e indirgenmesi, in vivo olarak oluşan NO'nun gerçeğe yakın miktarda ölçümüne olanak sağlar (158).



**Şekil 6.** Griess reaksiyonunda nitrozillenmiş sulfanilamidin NED ile etkileşmesi sonucu azo boyası ürünü oluşumundaki reaksiyonlar.

### 3.7.1.1. NO Ölçümü İçin Gerekli Çözeltiler

1) Kadmiyum Granül: Granüller her örnek için yaklaşık 2 g hesabıyla 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde saklandı. Kadmiyum granüllerinin tamamen redüksiyonu için kullanılmadan önce en az 12 saat süreyle 0.2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde kalması gerekir. Çalışma

yapılmadığı sürelerde kadmiyum granülleri 0.2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde oda ısısında saklandı.

2) Glisin- NaOH çözeltisi: 15 g glisin bir miktar distile su içinde çözüldü ve hacim distile su ile 1L'ye tamamlandı. Daha sonra 2 M NaOH ile çözeltinin pH'ı 9.7'ye gelene kadar küçük miktarlarda ilave edilerek pH ayarlaması yapıldı.

3) Griess Reaktifi: Eşit miktarlarda Sulfanilamid ve NED çözeltisinin karıştırılması ile elde edilir.

Sulfanilamid çözeltisi: 3 M, bir miktar HCl çözeltisi içinde 5gr sulfanilamid çözüldü ve hacim HCl ile 500 ml'ye tamamlandı.

NED çözeltisi: bir miktar distile su içerisinde 100 mg NED çözüldü ve hacim distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

4) NaOH çözeltisi: 55 mM NaOH çözeltisi hazırlamak için 2.2 g NaOH tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

5) ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi: 75 milimolar ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlamak için 21.5 g ZnSO<sub>4</sub> tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

6) CuSO<sub>4</sub> çözeltisi: 100 mM CuSO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlamak için 25 g CuSO<sub>4</sub> tartıldı, bir miktar glisin-NaOH çözeltisi içinde çözüldü ve hacim glisin-NaOH çözeltisi ile 1 litreye tamamlandı.

7) Standartlar: 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 µmol/L konsantrasyonlarda NaNO<sub>2</sub> çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiler kadmiyumsuz ortamda direkt Griess reaktifi ile renklendirilerek standart eğri elde edildi.

100 µM NaNO<sub>2</sub> çözeltisi hazırlamak için 6.9 mg NaNO<sub>2</sub> tartıldı, bir miktar distile su içinde çözüldü ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı. Stok çözelti 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100 seyreltilerek diğer konsantrasyonlar elde edildi.

### 3.7.1.2. Deproteinizasyon

Serum örnekleri 5'erli gruplar halinde çalışmaya alındı ve çift olarak çalışıldı. Her bir örnekten 300 µl alınıp, temiz cam tüplere kondu, üzerine 600 µl 55 mM NaOH çözeltisi eklendi. Vorteksle en az 30 saniye karıştırıldı. Bunun üzerine 600µl 75 mM ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi ilave edildi. Vorteksle en az 30 saniye karıştırıldı. Beyaz bulanık hale gelen tüm örnekler soğutmalı santrifüj cihazına konarak 5000 rpm'de 10 °C'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonunda tüplerin üst kısmında kalan saf su berraklığındaki supernatant kısmı alınarak bundan sonraki aşamalarda kullanıldı.

Bu işlem sırasında 5 kez dilüsyon yapılmış oldu.

### 3.7.1.3. Kadmiyum Aktivasyonu

Çalışma için yetecek kadar ve en az 12 saat  $H_2SO_4$  içinde bekletilmiş olan kadmiyum granülleri üzerindeki  $H_2SO_4$  boşaltıldı. Granüller yeterli miktarda distile su ile yıkandı. Ardından her 100 g kadmiyum için 15 ml 100 mM  $CuSO_4$  çözeltisi granüller üzerine ilave edildi. Granüllerin bulunduğu kap çalkalanmadan hafifçe döndürülerek mavi renkli solüsyonun berrak, renksiz hale dönmesi sağlandı. Bu aşamada kadmiyum granülleri koyulaştı. Distile su boşaltıldı. Granüller üzerine üç kez yeterli miktarda glisin-NaOH çözeltisi eklenerek yıkandı ve solüsyon boşaltıldı. Burada glisin-NaOH çözeltisi tampon olarak,  $CuSO_4$  çözeltisi ise kadmiyumların redüksiyon özelliği kazanması için kullanıldı. Böylece kadmiyum granüllerinin aktivasyonu sağlanmış oldu. Bu andan itibaren kadmiyum, redüksiyon kapasitelerinin azalmaması için en geç 1 saat içinde kullanıldı.

### 3.7.1.4. Deneyin Yapılışı

Örnekler, standartlar ve kör için uygun sayıda tüp alındı. Örnek tüplerine yaklaşık 2 g aktive edilmiş kadmiyum granülü kondu. Her birinin üzerine 1000  $\mu$ l glisin-NaOH çözeltisi ilave edildi. Daha sonra tüplere aşağıdaki ilaveler yapıldı.

**Tablo 1.** NO ölçümü sırasında kullanılan kör, standart ve örneklerin miktarları

	Standart tüpleri	Örnek tüpleri	Kör tüpü
Örnek	-	500 $\mu$ l	-
Standart	500 $\mu$ l	-	-
Distile su	500 $\mu$ l	500 $\mu$ l	1000 $\mu$ l

Bu aşamada daha önce 5 kez dilüe edilmiş örneklere 4 kez daha dilüsyon yapılmış oldu. Tüm örneklerin işlemleri tamamlandıktan sonra tüplerin kapakları kapatılarak karıştırıcı cihazda 90 dakika döndürüldü. Bu sırada tüplerin çalkalanmamasına dikkat edildi.

Bu sürenin sonunda tüm tüpler 3000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Tüplerin üzerindeki süpernatanttan 1000 $\mu$ l alındı ve yeni temiz tüplere kondu. Hazırlanan örnek tüplerine ve daha önce hazırlanmış olan standart ve kör tüplerine 1000  $\mu$ l griess reaktifi kondu. Tüpler, reaksiyonun ışıktan etkilenmemesi için, karanlık bir ortamda 30 dakika

inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda renklenen örnekler ve standartlar köre karşı 545 nm dalgaboyunda spektrofotometrede okutuldu.

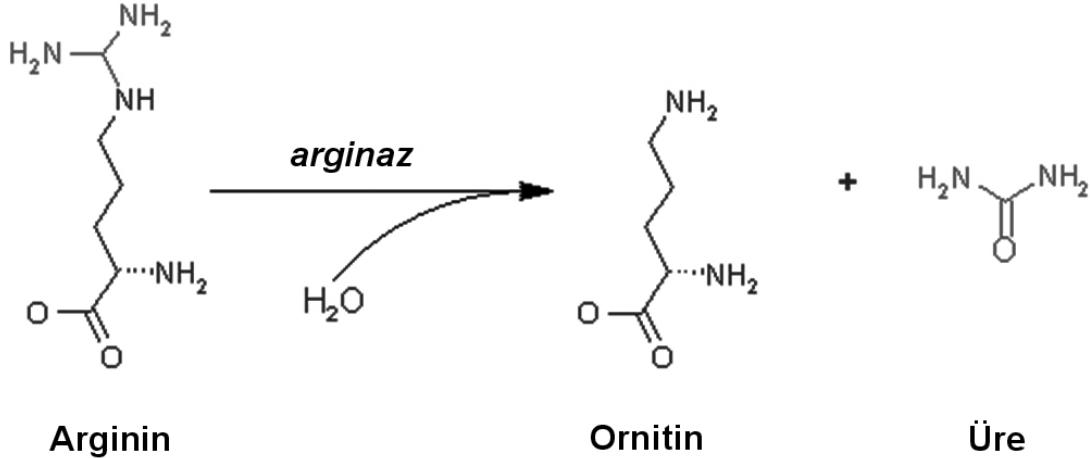
### 3.7.1.5. Hesaplama

Standart konsantrasyonları ile absorbanları arasındaki lineer ilişki, standart eğri çizilerek saptandı. Örnek absorbanları standart eğriden elde edilen faktörle çarpıldı. Çıkan sonuç seyreltme faktörü olan 20 ile çarpılarak konsantrasyonlar hesaplandı. Sonuçlar  $\mu\text{mol/L}$  olarak verildi.

### 3.7.2. Arginaz Ölçümü

Serum arginaz aktivitesi Geyer ve Dabich (1971) metodu ile, serum için bazı modifikasyonlar yapılarak çalışıldı (159-160).

Bu yöntemde arginaz aktivitesi indirekt olarak ölçülür. Arginaz substrat olarak L-arginin kullanır ve ürün olarak üre ve ornitine dönüştürür. Oluşan reaksiyonla ortamda biriken üre miktarı arginaz aktivitesi ile doğru orantılıdır.



Şekil 7. Arginazın katalizlediği ve ürün olarak ürenin oluştuğu reaksiyon

Arginazın katalizlediği reaksiyonla oluşan ve ortamda biriken üre düzeyi spektrofotometrik olarak tiyosemikarbazit-diasetil monoksim-üre (TDMU) yöntemiyle ölçüldü. TDMU yönteminde üre, DAM ile oluşturduğu rengin 520 nm'de ölçülmesi ilkesiyle saptanmaktadır.

Serum arginaz aktivitesi Ünite olarak verilmiştir. 1 ünite enzim aktivitesi, 1 dakikada 1 $\mu$ mol üre oluşturan arginaz aktivitesi olarak tanımlanmıştır.

### 3.7.2.1. Arginaz Ölçümü İçin Gerekli Çözeltiler

1) MnCl<sub>2</sub> çözeltisi: 5 mM MnCl<sub>2</sub> çözeltisi hazırlamak için 0.4 g MnCl<sub>2</sub> tartıldı, bir miktar distile su içinde çözüldü ve hacim distile su ile 500 ml'ye tamamlandı. Preinkübasyon esnasında serumun sulandırılması ve enzimin aktifleştirilmesi için kullanıldı.

2) L-arginin çözeltisi: 65 mM çözelti hazırlamak için 1.369 g L-arginin tartıldı, bir miktar distile su içinde çözüldü ve hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3) Karbonat tamponu: 8.4 g NaHCO<sub>3</sub> tartıldı, hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. 10.6 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartıldı hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. NaHCO<sub>3</sub> çözeltisinden 100ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden 220 ml alındı. HCl kullanılarak, tampon pH'sı 9.7'ye ayarlandı.

5) Renk ayırıcı: (DAM-TSC) Bu karışım 0.0036 M TSC ve 0.0062 M DAM içermektedir. 6.23 g DAM ve 0.328 g TSC tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. Ayraç koyu renkli şişede ve oda ısısında saklandı.

6) Asit karışımı: 0.12 M FeCl<sub>3</sub>, %85 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, %20 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içermektedir. 3.24 g FeCl<sub>3</sub> tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü, üzerine 66.7 ml %85 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> eklendi ve hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. Bu karışımdan 1 ml alındı ve 999 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> üzerine eklendi. Koyu renkli şişede oda ısısında saklandı.

7) HClO<sub>4</sub>: 1 N HClO<sub>4</sub> hazırlamak için, 86 ml HClO<sub>4</sub> ( MA: 100.46 g, 1 L= 1.67 g, %70) alındı distile su ile 1 L'ye tamamlandı. Proteinleri çöktürmek amacıyla kullanıldı.

8) Stok standart çözeltisi: 100  $\mu$ M stok standart çözeltisi hazırlamak için, 6 mg üre tartıldı, hacim 100ml'ye 0.016 M benzoik asit ile tamamlandı.

Günlük çalışma standardı hazırlamak için stok standart çözeltisi 1/10 sulandırıldı. Sulandırma işlemi için benzoik asit kullanıldı.

### 3.7.2.2. Deneyin Yapılışı

Serum örnekleri MnCl<sub>2</sub> çözeltisi ile 100  $\mu$ l serum 900  $\mu$ l MnCl<sub>2</sub> olacak şekilde

1/10 sulandırıldı. Vorteksle en az 30 saniye olmak üzere iyice karıştırıldı. Hazırlanan bu örnekler enzim aktivitesinin maksimuma çıkması için benmaride 55°C'de 8 dakika preinkübe edildi. Her bir örnek için ayrı ayrı 0 zaman ve 37°C tüpleri aşağıdaki tabloda gösterilen şekilde hazırlandı.

**Tablo 2.** Arginaz aktivitesini ölçmek için preinkübasyon öncesi kullanılan örnek ve reaktif miktarları

	0 zaman tüpleri	37°C tüpleri
L- arginin	0.4 ml	0.4 ml
Karbonat tamponu	0.4 ml	0.4 ml
Örnek	0.2 ml	0.2 ml

Preinkübasyon süresi dolduktan sonra alınan örnekler ve 37 °C tüpleri benmaride 37°C'de 3 dakika bekletilerek aynı sıcaklığa gelmeleri sağlandı. Örnek tüplerinden 37°C tüplerine 0.2ml serum eklenerek 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda oda ısısında beklemekte olan 0 zaman tüplerine 37°C'de bekletilen örneklerden 0.2 ml eklendi.

Her iki zaman tüpüne 0.5ml 1 N HClO<sub>4</sub> eklendi. Vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Bu basamakta proteinlerin çökmesi sağlandı. Elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak ağzı kapaklı tüplere aktarıldı. Aşağıdaki tabloda gösterildiği şekilde renk ayırıcı ve asit karışımı eklendi.

**Tablo 3.** Arginaz aktivitesi ölçmek için inkübasyon sonrası kullanılan örnek, asit ve renk ayırıcı miktarları

	Reaktif Körü	Standart	0 zaman tüpleri	37 °C tüpleri
Distile su	1 ml			
Standart		1 ml		
Örnek			1 ml	1 ml
Asit karışımı	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml
Renk ayırıcı	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Hazırlanan bu tüpler benmaride 10 dakika kaynatıldı, ardından çıkarılan tüpler 5 dakika buz banyosunda bekletildi. Renklenen örnekler ve standart köre karşı 520 nm dalgaboyunda spektrofotometrede okutuldu.



### 3.7.2.3. Hesaplama

$$\Delta A_{\text{örnek}} = A(37^{\circ}\text{C örnekte}) - A(0 \text{ zaman örnekte})$$

Buradan her bir örnek için elde edilen  $\Delta A$  ile standart eğrisinden elde edilen faktör çarpılarak enzim aktivitesi hesaplandı. Sonuçlar U/L olarak verildi.

### 3.8. İstatistiksel Analizler

Verilerin kaydı ve istatistiksel analizlerinde; SPSS 11.0 (SPSS Inc.) istatistik programı kullanıldı. Verilere Levene's Testi uygulanarak normal dağılıma uydukları saptandı. Birbirine bağımlı olan gruplar için Student's t test, bağımsız gruplar için ise Mann Whitney testi uygulandı.

Ayrıca Pearson Korelasyon analizi yapıldı. Sonuçlar ortalama (mean) ve standart hata (SEM) olarak verildi. Tüm istatistiksel değerlendirmede 0.05'den küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edildi (161).

## 4-BULGULAR

Bu çalışmaya ikiçülu bozukluk tanısı konmuş, yaşları 19 ile 55 arasında değişen ( $30.8 \pm 9.7$ : ortalama  $\pm$ SD) 33 hasta dahil edildi. Olguların 13'ü kadın 20'si erkekti. Hastalarla cinsiyet ve yaş açısından bire bir uyumlu bireylerden oluşan kontrol grubu oluşturuldu (13 kadın, 20 erkek. Yaş ortalaması  $30.8 \pm 9.7$ ). Hastaların ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4'te gösterilmiştir. İki grup arasında yaş ve cinsiyet açısından önemli bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 4.** İkiçülu bozukluk olan hastaların ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı

	İkiçülu bozukluk olan hastalar	Kontrol grubu	
Yaş (ortalama $\pm$ SD)	19-55 yaş ( $30.8 \pm 9.7$ )	19-55 yaş ( $30.8 \pm 9.7$ )	$p > 0.05$
Cinsiyet	13K/ 20E	13K/ 20E	$p > 0.05$

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların tedaviye yanıtı Hamilton depresyon ölçekleri (HDÖ) ile saptandı. Tedaviye başlandığı gün ortalama skala  $28.2 \pm 2.6$  iken tedavinin bitiminde ortalama skala  $6.2 \pm 1.3$  idi.

Hastaların tedavi öncesi NO düzeyleri ortalama  $192.2$  ( $111-474.7$ )  $\mu\text{mol/L}$ , tedavi sonrası NO düzeyleri ortalama  $126.1$  ( $57.7-207.2$ )  $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçülmüştür. Tedavi öncesi ve sonrası ölçülen NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Tedavi sonrası ölçülen NO düzeyi tedavi öncesi saptanan düzeye göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Kontrol grubunun NO düzeyi  $109.5$  ( $55-179.2$ )  $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçülmüştür. Hastaların tedavi öncesi NO düzeyleri ile kontrol grubunun NO düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Hastaların tedavi öncesi ölçülen NO düzeyleri kontrol grubunun NO düzeylerine göre önemli derecede yüksek bulunmuştur.

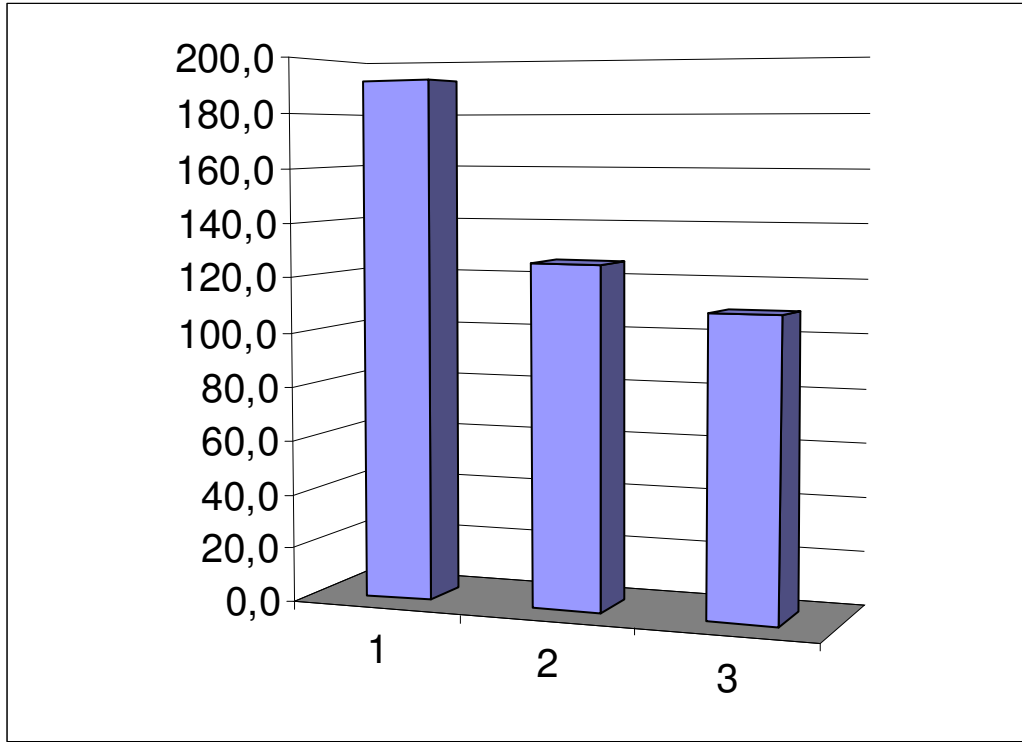
Hastaların tedavi sonrası NO düzeyleri ile kontrol grubunun NO düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

İkiüçlü bozukluk tanısı konmuş hastalarda tedavi öncesi ve bir aylık tedavi sonrası alınan kan örneklerinde ölçülen serum NO düzeyleri ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinde ölçülen serum NO düzeyleri ve p değerleri Tablo 5'te ve Şekil 8'de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Kontrol grubunun serum NO düzeyi ve ikiüçlü bozukluk tanısı konan hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum NO düzeyleri

<i>Sıra No</i>	<b>Kontrol Grubu</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>Hasta Grubu</b>	
		<b>Tedavi Öncesi</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>Tedavi Sonrası</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )
1	91,7	180,9	57,7
2	60,2	206,7	95,5
3	95,2	180,2	85,1
4	119,7	281,6	77,0
5	75,6	209,8	95,5
6	151,2	177,0	118,4
7	86,1	211,4	125,8
8	80,5	244,9	83,6
9	139,3	216,0	99,2
10	87,5	271,5	122,1
11	67,9	298,7	111,0
12	144,2	364,3	159,0
13	98	121,0	183,2
14	104,3	138,5	114,4
15	114,0	157,6	157,6
16	151,9	150,5	107,2
17	108,5	148,8	109,6
18	171,5	180,9	141,6
19	134,4	111,0	132,8
20	165,2	474,7	196,0
21	100,1	111,0	97,6
22	123,9	254,2	207,2
23	144,2	128,8	75,2
24	60,2	206,5	137,6
25	55,0	199,5	112,8
26	80,6	188,3	137,6
27	136,3	135,9	121,6
28	80,0	122,1	112,0
29	76,2	123	170,0
30	179,2	143,6	169,6
31	173,4	129,9	166,4
32	105,6	141,0	148,8
33	101,8	132,0	133,6
<b>Ort<math>\pm</math>SEM</b>	<b>109,5<math>\pm</math>6,2*</b>	<b>192,2<math>\pm</math>13,7*<math>\ddagger</math></b>	<b>126,1<math>\pm</math>6,3<math>\ddagger</math></b>

\* p<0.001,  $\ddagger$  p<0.001



**Şekil 8.** Kontrol grubunun ortalama serum NO düzeyi ve hastaların tedavi öncesi ve sonrası ortalama serum NO düzeyleri (1- tedavi öncesi hastalar, 2- tedavi sonrası hastalar, 3- kontrol grubu)

İkiüçlü bozukluk tanısı konmuş hastalarda tedavi öncesi ve sonrası alınan kan örneklerinde saptanan arginaz aktivitesi ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinde saptanan arginaz aktivitesi Tablo 6’da ve Şekil 9’da gösterilmiştir.

Hastaların tedavi öncesi arginaz aktivitesi 17.5 (3.4-54.4) U/L iken, tedavi sonrası arginaz aktivitesi 10.3 (2.6-30.9) U/L olarak ölçülmüştür. Tedavi öncesi ve sonrası ölçülen arginaz aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli fark saptanmıştır ( $p<0.01$ ). Tedavi sonrası ölçülen arginaz aktivitesi tedavi öncesi ölçülen aktiviteye göre önemli derecede düşük bulunmuştur.

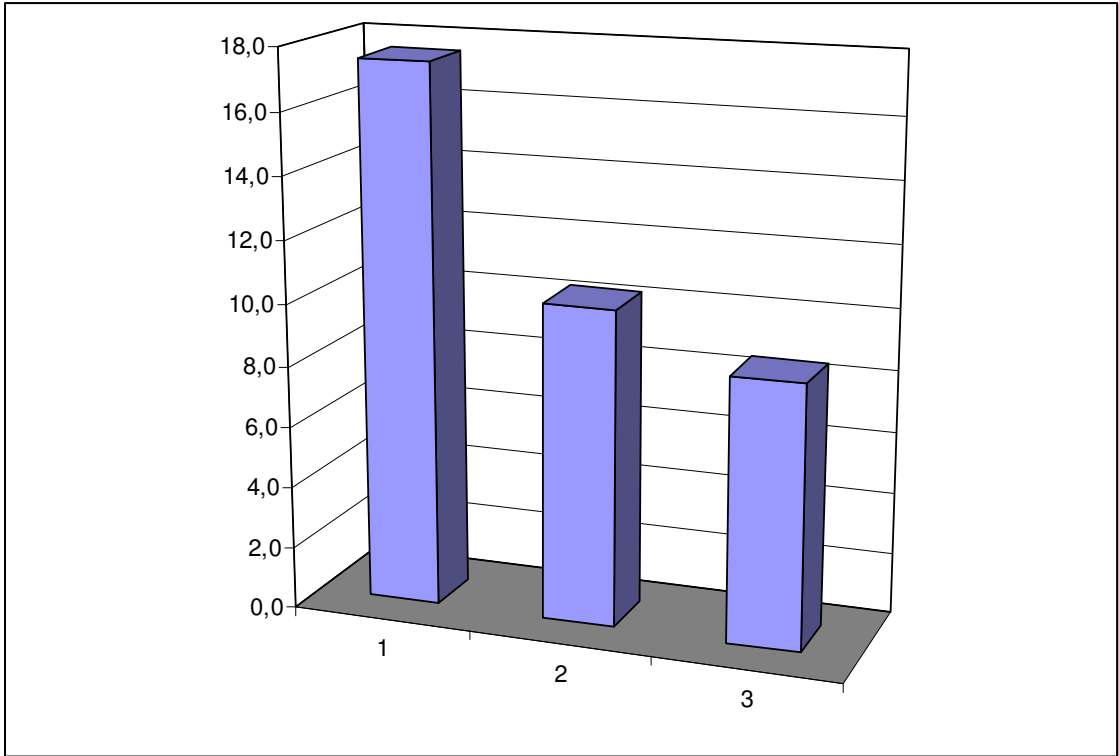
Kontrol grubunun arginaz aktivitesi 8.5 (0.7-50.6) U/L olarak ölçülmüştür. Hastaların tedavi öncesi saptanan arginaz aktivitesi ile kontrol grubunun arginaz aktivitesi arasında istatistiksel olarak önemli fark saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Hastaların tedavi öncesi ölçülen arginaz aktiviteleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Hastaların tedavi sonrası saptanan arginaz aktivitesi ile kontrol grubunun arginaz aktivitesi arasında istatistiksel olarak önemli fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 6.** Kontrol grubunun serum arginaz aktivitesi ve ikiçülu bozukluk tanısı konan hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum arginaz aktiviteleri

<i>Sıra No</i>	<b>Kontrol Grubu</b>	<b>Hasta Grubu</b>	
	<b>(U/L)</b>	<b>Tedavi Öncesi (U/L)</b>	<b>Tedavi Sonrası (U/L)</b>
1	12,2	16,8	2,6
2	7,9	11,1	5,3
3	0,7	17,2	3,7
4	7,0	15,1	27,9
5	8,5	27,4	8,5
6	6,8	10,2	3,0
7	11,3	3,4	7,4
8	6,6	19,0	25,8
9	8,1	25,8	24,1
10	22,3	16,5	7,8
11	4,9	21,3	10,2
12	17,3	15,0	9,2
13	50,6	22,4	8,8
14	15,4	13,4	8,8
15	11,5	7,5	30,9
16	5,35	5,1	3,1
17	4,1	5,4	6,8
18	11,9	17,0	8,5
19	5,8	40,0	3,1
20	9,9	26,0	7,0
21	7,5	54,4	10,2
22	2,7	22,8	21,3
23	3,3	33,2	28,1
24	0,8	10,2	7,8
25	8,1	9,7	7,7
26	2,7	17,2	5,1
27	6,6	13,4	4,9
28	7,8	13,6	12,0
29	7,0	11,7	4,1
30	2,4	17,2	7,0
31	3,1	12,6	4,1
32	4,6	10,4	2,9
33	1,8	16,2	12,1
<b>Ort±SEM</b>	<b>8,5±1,5*</b>	<b>17,5±1,8*‡</b>	<b>10,3±1,4‡</b>

\*  $p<0.001$ , ‡  $p<0.01$



**Şekil 9.** Kontrol grubunun ortalama serum arginaz aktivitesi ve hastaların tedavi öncesi ve sonrası ortalama serum arginaz aktiviteleri (1- tedavi öncesi hastalar, 2- tedavi sonrası hastalar, 3- kontrol grubu)

Hastalar ve kontrol grubu ayrıca cinsiyetlerine göre de gruplandırılarak analiz edildi. NO düzeyleri cinsiyetler arasında hem hasta grubunda hem kontrol grubunda karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı.

Tedavi öncesi kadınlarda ortalama NO düzeyi  $186,8 \pm 18,2 \mu\text{mol/L}$  (ort $\pm$ SEM), erkeklerde ise  $200,3 \pm 21,4 \mu\text{mol/L}$  idi ( $p > 0,05$ ). Tedavi sonrası kadınlarda ortalama NO düzeyi  $118,6 \pm 7,8 \mu\text{mol/L}$  iken erkeklerde bu değer  $137,6 \pm 9,7$  idi ( $p > 0,05$ ). Kontrol grubundaki kadınlarda ortalama NO düzeyi  $108,9 \pm 11,1 \mu\text{mol/L}$  erkeklerde ise  $112,3 \pm 7,4 \mu\text{mol/L}$  idi ( $p > 0,05$ ).

Aynı analiz cinsiyetler arasında arginaz için de yapıldı. Bu parametre için de hasta grubunda ve kontrol grubunda cinsiyetler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı. Tedavi öncesi kadınlarda ortalama arginaz aktivitesi  $16,7 \pm 1,9 \text{U/L}$  (ort $\pm$ SEM), erkeklerde ise  $18,6 \pm 3,4 \text{U/L}$  idi ( $p > 0,05$ ). Tedavi sonrası kadınlarda ortalama arginaz aktivitesi  $9,7 \pm 2 \mu\text{mol/L}$  iken erkeklerde bu değer  $10,6 \pm 1,9$  idi

( $p>0,05$ ). Kontrol grubundaki kadınlarda ortalama arginaz aktivitesi  $7,7\pm0,8$  U/L erkeklerde ise  $11,6\pm3,6$  U/L idi ( $p>0,05$ ).

Hastaların tedavi öncesi arginaz aktiviteleri ile NO düzeyleri arasında Pearson korelasyon testi yapıldı. Bu iki veri arasında önemli bir korelasyon saptanmadı ( $p=0,9280$ ). Ayrıca hastaların tedavi sonrası arginaz aktiviteleri ve NO düzeyleri arasında da Pearson korelasyon testi yapıldı. Bu iki veri arasında da önemli bir korelasyon saptanmadı ( $p=0,4545$ ).

## 5-TARTIŞMA

Manik depresif ataklarla seyreden ikiüçlü bozuklukta her iki dönemde de farklı emosyonel değişiklikler olur (1). Hastalığın yaşam boyu görülme sıklığı %0.5-1.5 arasında olup 20'li yaşlarda ortaya çıkmaya başlar (19,20).

İkiüçlü bozukluk olgularının %40'ının tedavi görmediği ve bunların %15-25'inin de intihar ettiği tahmin edilmektedir. Tüm duygudurum bozukluklarının %10-20'sini ikiüçlü bozukluklar oluşturmaktadır (21). Bu hastaların intihar oranı normal populusyona göre 30 kez daha fazladır. İntihar girişimlerinin ölümcül sonuçlanma olasılığı, normal populusyona göre 15 kat daha fazladır (22,23,27). İkiüçlü bozukluk hem hastanın kendisine hem çevresine hem de topluma zarar verir (29). Hastanın çevresinde yaşayan pek çok insanı etkiler ve ağır toplumsal kayıplara yol açar (2).

Fizyolojik, sosyal ve genetik faktörlerin etkili olduğu düşünülen ikiüçlü bozukluk etiyopatogenezi halen aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Birçok nöropsikiyatrik hastalıkta olduğu gibi ikiüçlü bozukluğun ortaya çıkışında da serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri suçlanmaktadır (3). Tedavi öncesi hasta grubumuzda NO düzeyleri yüksek olup istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). NO öncelikle ONOO<sup>-</sup> oluşumuna yol açar ve bu molekül de hücrel hasara neden olur (4). Oksidatif stres, artmış NO nedeniyle oluşan ONOO<sup>-</sup> tarafından verilen hasarın en büyük nedeni olarak bilinmektedir. ONOO<sup>-</sup> hem birçok biyolojik moleküle hasar verir hem de NO'in diğer bir ürünü olan NO<sub>x</sub> ile de oksidatif strese neden olur. Ek olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından oluşturulan oksidatif stresi de artırır (6).

Dokulara kolayca difüze olan NO SSS'ne de difüze olarak beyin hücreleri üzerinde hasara neden olur. Nöromodülatörlerle ve monoaminlerle etkileşerek bunların sinaptik aralığa salınımını uyarır (87,162). Hücre içinde sentezlenen NO hücre dışına difüze olduğunda eksojen NO gibi davranarak nöronal membran depolarizasyonunu uyarır. NO uyarılması ile salınan nörotransmitterler arasında asetil kolin, dopamin,



norepinefrin, glutamat, gama amino butirik asit (GABA) ve taurin gibi nöroaktif moleküller bulunmaktadır (87).

NO'in SSS'deki nörotransmitterlerin salınımı üzerine olan etkileri bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Nitekim hastaların tedavi sonrası sonuçları incelendiğinde birkaç hasta dışında NO düzeylerinin tedaviyle kontrollere yaklaştığı görülmektedir. Tedaviye rağmen NO düzeyleri azalmamış olan hastalar incelendiğinde, bunların klinikte tedaviye uyum sağlamamış hastalar oldukları saptanmıştır.

NO düzeyindeki artış hastalardaki oksidatif fosforilasyonu olumsuz yönde etkilemekte ve periferik oksijen alımını azaltmaktadır (163,164). Bunun sonucunda yeterince oksijenlenmeyen beyinde ve periferik dokularda enerji kaybı olmaktadır. Tüm bu biyokimyasal değişimler sonucunda depresif dönemdeki hastalarda stupor hali görülmektedir ve hastalar yaşam enerjilerini kaybetmektedir. Savaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar da bizim sonuçlarımızı desteklemektedir (165). NO'in oluşturduğu oksidan ürünler ve diğer serbest radikaller ikiüçlü bozukluğun nöropatofizyolojisinde rol alıyor olabilir.

Bir başka çalışmada yine depresyonlu hastalarda plazma NO düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (166) NO'in depresyon fizyopatolojisindeki rolü hayvan deneyleriyle de araştırılmıştır (167). Sonuçlar NO düzeyinin depresif dönemdeki hastaların nörofizyopatolojisiyle ilişkili olduğu fikrini desteklemektedir. Tedavi sonrası NO düzeylerinin düşmesi bu fikri kuvvetlendirmektedir.

Bu görüşlerin yanı sıra Selley ve ark. ise major depresyonlu hastalarda plazma NO düzeyinin azaldığını saptamışlardır. Azalmış NO düzeyinin serebral kan damarlarından yakındaki nöronlara difüze olan NO miktarını azalttığı ve nörotransmitter salınımını etkilediği bulunmuştur (168).

Major depresyon gibi endojen kaynaklı depresyon hastaları depresif dönemdeki ikiüçlü bozukluk hastalarından farklı nörofizyopatolojiye sahip olabilirler. Çalışmalarımıza devam edip major depresyonlu hastaları depresif dönemdeki ikiüçlü bozukluk hasta sonuçlarıyla karşılaştırmayı düşünmekteyiz. Sonuç olarak her iki durumda da NO düzeyindeki değişiklikler hastalığın nörofizyopatolojisi ile ilişkili görünmektedir.

Bununla birlikte psikiyatrik hastalardaki NO artışının serbest oksijen radikallerinin sitotoksik etkisine karşı koruyucu olduğunu savunanlar da vardır. Bu artış

vücudun bir kompensatuar mekanizması olarak da kabul edilebilir. Çünkü NO'nin hücrel ve ekstraselüler yapıları O<sup>•</sup>, O<sub>2</sub> ve •OH radikaline karşı koruduğu gösterilmiştir (169). Diğer yandan beyin hücrelerinde NOS ve ksantin oksidaz (XO) aktivasyonu sonucu ONOO<sup>-</sup> oluştuğu ve nörotoksisitede önemli bir faktör olduğu da gösterilmiştir (170).

Giovannoni ve ark. yaptıkları bir çalışmada total NO<sub>2</sub><sup>-</sup> düzeylerinin beyindeki NO aktivitesi ile paralellik gösterdiğini, NO parametrelerinin periferik düzeyinin SSS'den kaynaklanan NO değişikliklerinin bir belirteci olduğunu göstermişlerdir (171).

Yaptığımız çalışmada, ikiüçlü bozukluk olan hastalarda tedavi öncesi arginaz aktivitesi kontrollere göre önemli derecede yüksekti (p<0,01). Arginaz ve NOS ile ilgili biyokimyasal özellikler açık bir şekilde ortaya konmaya başlandıktan sonra, arginazın NOS ile L-arginin için yarışarak NO sentezini inhibe edebileceği fikri ortaya atılmıştır. NOS için Km 2-20 µmol/L iken arginaz için Km 1-5mmol/L'dir, ancak fizyolojik L-arginin konsantrasyonunda arginaz aktivitesi NOS'a göre 1000 kat fazladır. Bu da her iki enzimin aynı oranda substrat harcadığını düşündürmektedir (172).

Genetik çalışmalar da L-arginin kullanılabilirliğinin düzenlenmesi konusunda arginazın önemli bir rolü olduğu fikrini destekler niteliktedir. Hem insanlarda hem hayvanlarda arginaz-I eksikliği hiperargininemi ile sonuçlanmıştır (173,174).

Arginaz L-arginini ortamdan uzaklaştırarak, hem iNOS ekspresyonunu inhibe ederek (175) hem de üre oluşturarak iNOS aracılı NO üretimini inhibe edebilir (176). Ancak SSS'de aktif olan NOS enzimi nNOS olduğundan arginazın bu enzim üzerine olan düzenleyici etkisi ortaya konamamıştır. Elgün ve ark. depresyonda arginaz aktivitesinin arttığını gösteren çalışması bizim sonuçlarımızı desteklemektedir (157).

Yanık ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada NO düzeyini yüksek arginaz aktivitesini ise düşük bulmuşlardır (177). Bizim çalışmamızda hastaların tedavi öncesi alınan serumlarındaki arginaz aktivitesi tedavi sonrası alınan serumlardaki arginaz aktivitesine göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.001). Hastalarda analiz ettiğimiz parametrelerin tedavi öncesi ve sonrası sonuçları arasında önemli fark bulunması nedeniyle tedavi için kullanılan ilaçların ve EKT'nin olumlu sonuç verdiğini ve klinik açıdan önem arz ettiğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak ikiüçlü bozukluğu olan hastalardaki NO düzeyinin ve arginaz aktivitesinin kontrollere göre yüksek olması hem NOS'ın hem de arginaz enziminin

aynı substratı kullanmasıyla biyokimyasal olarak ilişkili olabilir. NOS izoenzimleri farklı dokularda görev aldıkları için SSS'deki izoenzim olan nNOS'un etki mekanizmasına bağlı rolü olabilir. nNOS izoenzimini subsellüler kalsiyum kanallarına yakın lokalizasyonu aktivitesinin sıkı bir denetim altında olmasını sağlamaktadır. Bu izoenzimin lokalizasyonu ve fizyolojisi ile ilgili çalışmalar güncel araştırma konuları arasında olup çalışmalar halen devam etmektedir (178,179). Veriler çoğaldıkça hem fizyolojisi hem de ilgili hastalıkların fizyopatolojisi daha iyi anlaşılacaktır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda arginaz enzim aktivitesinin vasküler hücrelerde de olduğu gösterilmiştir (180,181). Bu hücrelerde arginaz ekspresyonunu düzenleyen sinyal yolları hakkında bilinen çok az şey olmasına rağmen 'Janus tirozin kinaz'(JAK) - 'Signal transducer and activators of transcription' (STAT) yolağının siklik adenozin monofosfatın (cAMP) vasküler düz kas hücrelerinde arginaz indüksiyonu yaptığı gösterilmiştir (182) Rho ve Rho kinaz da endotelial arginaz aktivitesini trombin ile artırmaktadır (183,184). Vasküler hücrelerdeki arginaz aktivitesi saptanmasına rağmen damar endotelindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise dışarıdan verilen argininin hem arginaz hem iNOS tarafından kullanıldığı gösterilmiştir ancak, üre siklusunda sentezlenen argininin hepatik NO sentezinde kullanılıp kullanılmadığı açıkça ortaya konamamıştır (185).

Wu ve ark. arginaz DNA'sı klonlandıktan sonra ve arginaz hakkında yeni bilgiler elde edildikçe bugüne kadar alınan sonuçların çoğunun tekrar gözden geçirilebileceğini ve yeni çalışmalar düzenleneceğini öngörmüşlerdir (186).

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrollerin sigara içen gruptan olması, yaş ve cinsiyetlerinin birebir aynı olmasına özen gösterilmesi, obez olmayan grupların tercih edilmesi nedeniyle sigara ve obezite hasta ve kontrol grubu arasında fark oluşturmamıştır. Cinsiyet ayrımı yapıldığında ise grupların kendi aralarında ve gruplar arası yapılan analizlerde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır.

İkiüçlü bozukluk olan hastalardaki serum NO ve arginaz düzeyinin etiyopatogenezle olan ilişkisini açıkça ortaya koyabilmek için daha geniş serilerle çalışma yapmaya ihtiyaç vardır. NO ve arginaz arasındaki ilişkiyi ve bu sonuçların ikiüçlü bozukluk etiyopatogenezindeki rolünü tam olarak belirleyebilmek için de çalışmalara eklenecek diğer parametrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu parametreler arginaz enzim kofaktörü olan mangan, NOS aktivitesi, uygun NOS izoenziminin

belirlenmesi olabilir. Ayrıca ikiüçlü bozukluk etiopatogenezinde rolü olduğu düşünölen oksidatif dengesizliğin açık bir şekilde ortaya konabilmesi için NO ile birlikte antioksidan parametrelerin hatta total oksidan durumun ve total antioksidan durumun da analiz edilmesinin anlamlı ve yerinde olacağı kanatindeyiz.

## 6-SONUÇLAR

Yaptığımız çalışmada ikiüçlü bozukluk tanısı konmuş olan hastalarda tedavi öncesi ve 1 aylık tedaviden sonra aldığımız serum örneklerinde NO düzeyini ve arginaz aktivitesini ölçtük. Bu sonuçları kontrol grubunda ölçtüğümüz serum NO düzeyleri ve arginaz aktiviteleri ile karşılaştırdık.

Hastaların tedavi öncesi serum NO düzeylerini ortalama 192.2 (111-474.7)  $\mu\text{mol/L}$ , tedavi sonrası serum NO düzeylerini ortalama 126.1 (57.7-207.2)  $\mu\text{mol/L}$  olarak saptadık. Tedavi sonrası ölçülen serum NO düzeyini tedavi öncesi ölçülen düzeye göre önemli olarak düşük bulduk ( $p<0.001$ ).

Kontrol grubunun serum NO düzeyini 109.5 (55-179.2)  $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçtük. Hastaların tedavi öncesi ölçülen serum NO düzeylerini kontrol grubunun NO düzeylerine göre önemli olarak yüksek bulduk ( $p<0.001$ ).

Hastaların tedavi sonrası saptanan serum NO düzeyleri ile kontrol grubunun serum NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli fark saptamadık ( $p>0.05$ ).

Hastaların tedavi öncesi serum arginaz aktivitesini ortalama 17.5 (3.4-54.4) U/L, tedavi sonrası serum arginaz aktivitesini ortalama 10.3 (2.6-30.9) U/L olarak ölçtük. Tedavi sonrası ölçülen arginaz aktivitesini tedavi öncesi ölçülen aktiviteye göre önemli olarak düşük bulduk ( $p<0.01$ ).

Kontrol grubunun arginaz aktivitesini 8.5 (0.7-50.6) U/L olarak ölçtük. Hastaların tedavi öncesi saptanan arginaz aktivitelerini kontrol grubuna göre önemli olarak yüksek bulduk ( $p<0.001$ ).

Hastaların tedavi sonrası saptanan arginaz aktivitesi ile kontrol grubunun arginaz aktivitesi arasında istatistiksel olarak önemli fark saptamadık ( $p>0.05$ ).

Hasta ve kontrol grubunu cinsiyetlerine göre gruplandırdık. Her iki grupta da cinsiyetler arasında, NO düzeyi ve arginaz aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptamadık.

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası arginaz aktiviteleri ile NO düzeyleri arasında Pearson korelasyon testi yaptık. Bu iki veri arasında önemli bir korelasyon saptamadık. Sırasıyla  $p=0,9280$  ve  $p=0,4545$ .

## KAYNAKLAR

1. Mitchell PB, Malhi GS, Ball JR. Major advances in bipolar disorder. *Med J Aust.* 2004;181:207–10
2. Konuk N, Kocabaşođlu N. Bipolar affektif bozuklukta g¼ncel tedaviler. *Yeni Symposium.* 2000;38:56–62
3. Mahadik SP, Mukherjee S: Free radical pathology and antioxidant defense in schizoprenia: a review. *Schizophr Res.* 1996; 19: 1-17.
4. Beckman JS, Chen J, Ischiropoulos H, Crow JP: Oxidative chemistry of peroxynitrite. *Methods Enzymol.* 1994; 233: 229-240
5. Marla SS, Lee J, Groves JT: Peroxynitrite rapidly permeates phospholipid bilayers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94: 14243-14248
6. Ioannidis I, de Groot H: Cytotoxicity of nitric oxide in FU5 hepatoma cells: evidence for co-operative action with hydrogen peroxide. *Biochem J.*1993; 296: 341-345
7. Mahadik SP, Sitasawas S, Mulchandani M: Membrane peroxidation and the neuropathology of schizophrenia. In: Peet, M, Glen, I, and Horrobin, DF (Eds.), *Phospholipid Spectrum Disorder in Psychiatry* Marius Press, Lancashire, UK, pp. 1999; 99-111
8. Patel RP, Diczfalusy U, Dzeletovic S, Wilson MT, Darley-USmar VM: Formation of oxysterols during oxidation of low density lipoprotein by peroxynitrite, myoglobin, and copper. *J Lipid Res.* 1996; 37: 2361-2371
9. Palmer RMJ, Ashton AS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from l-arginine. *Nature* 1998; 333: 664–6

10. Angst J, Ernst C. Current concepts of the classification of affective disorders. *Int Clin Psychopharmacol.* 1993;8:211–215
11. Angst J, Sellaro R. Historical perspectives and natural history of bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2000;15:445–457
12. Akiskal HS, Bourgeois ML, Angst J, Post R, Moller H, Hirschfeld R. Re-evaluating the prevalence of and diagnostic composition within the broad clinical spectrum of bipolar disorders. *J Affect Disord.* 2000;1;5–301
13. Akdeniz, F: Hızlı Döngülü Bipolar Bozukluk. Ege Psikiyatri Sürekli Yayınları .1. baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, 1997; s:5-8
14. Ceylan E, Oral T: Duygudurum Bozuklukları. 1. baskı, 2001;s: 1-11
15. Öztürk MO, Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, 10. Basım , Ankara: 2004.
16. Coryell W, Keller M, Lavori P, Endicott J. Affective syndromes, psychotic features, and prognosis. II. Mania. *Arch Gen Psychiatry.* 1990;47:658–62
17. Kessler RC, Rubinow DR, Holmes C. The epidemiology of DSM-III-R Bipolar I Disorder in a general population survey. *Psychol Med.* 1997;27:1079–89
18. American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Washington DC, American Psychiatric Association. 1994;151–189
19. American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Ed. IV-TR. Washington DC, American Psychiatric Association. 2000;151–189
20. Akiskal HS, Pinto O. The evolving bipolar spectrum. Prototypes I, II, III, and IV. *Psychiatr Clin North Am.* 1999;22:517–34
21. Angst J. The emerging epidemiology of hypomania and bipolar II disorder. *J Affect Disord.* 1998;50:143–151



22. Bebbington P, Ramana R. The epidemiology of bipolar disorder. *Sos Psychiatry Epidemiology*. 1995;30:279–92
23. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Faravelli C, Greenwald S, Hwu HG ve ark. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA*. 1996;276:293–9
24. Selek S, Savas HA, Gergerlioglu HS, Bulbul F, Uz E, Yumru M. Probable Oxidative Imbalance in Bipolar Depression: The Course Of Nitric Oxide And Superoxide Dismutase During The Treatment Of Depressive Episode. *J Affect Disord*. 2008;107:89-94
25. Chen YW, Dilsaver SC. Comorbidity for obsessive-compulsive disorder in bipolar and unipolar disorders. *Psychiatry Res*. 1995;55:27–32
26. Berk M, Segal J, Janet L, Vorster M. Emerging options in the treatment of bipolar disorders. *Drugs*. 2001;10:1407–1414
27. Savas HA, Gergerlioglu HS, Armutcu F, Herken H, Yilmaz HR, Kocoglu E ve ark. Elevated serum nitric oxide and superoxide dismutase in euthymic bipolar patients: impact of past episodes. *World J Biol Psychiatry*. 2006;7:51–55
28. Akiskal HS. Dysthymic and cyclothymic depressions: therapeutic considerations. *J Clin Psychiatry*. 1994;55:46–52
29. Akiskal HS, Hantouche EG, Bourgeois ML. Gender, temperament, and the clinical Picture in dysphoric mixed mania: findings from french national study. *J Affect Disord*. 1998;50:175–186
30. Saka CM, Özer S, Uluşahin A. Bipolar Bozuklukta Bir Yıllık İzlem Çalışması. *Türk Psikiyatri Dergisi*. 2001;12:283–292
31. Kaplan IH, Sadock JB. Klinik Psikiyatri El Kitabı Çev. Abay E, 2.Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri.1999:235–237
32. Öztürk OM. Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, 9.Basım, Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri. 2002:86–92

33. Özcan Y, Özcan EM, Boztepe VA, Karlıdağ R. Akut Manide Lityum, Karbamazepin ve Valproatın Klinik Etkinliğinin Karşılaştırılması: Bir Ön Çalışma. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni. 1999;9:203–207

34. Bülbül F, Savaş E, Savaş HA, Selek S, Kaya C. İkiüçlü ve Teküçlü Bozuklukta Lamotrijin Kullanımı: Geriye Yönelik Bir Çalışma. Türkiye’de Psikiyatri. 2005;7:88–90

35. Bowden CL, Calabrese JR, Sachs G. A randomized, placebo-controlled 18-month trial of lamotrigine and lithium maintenance treatment in recently manic or hypomanic patients with bipolar I disorder. J Clin Psychiatry. 2004;64:1013–1024

36. Moreno RA, Moreno DH, Soares MB, Ratzke R. Anticonvulsants and antipsychotics in the treatment of Bipolar Disorder. Rev Bras Psiquiatr. 2004;26:37–43

37. Baldassano CF, Ballas CA, O’Reardon JP. Rethinking the treatment paradigm for bipolar depression: the importance of long-term management. CNS Spectr. 2004;9:11–18

38. Yumru M, Savas HA, Kokaçya H, Vırit O. Şizofreni tedavisinde uzun etkili risperidon: Geriye dönük bir çalışma. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni. 2007;17:119–123

39. Savas HA, Yumru M, Ozen ME. Use of long acting risperidone in bipolar disorder. J Clin Psychopharmacol. 2006;26:530–531

40. Savas HA, Yumru M, Selek S, Kaya MC. Atypical antipsychotics as “mood stabilizers”: a retrospective chart review. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007;31:1064–1067

41. Yumru M, Savas HA, Kurt E, Kaya MC, Selek S, Savaş E et al. Atypical Antipsychotics Related Metabolic Syndrome In Bipolar Patients. J Affect Disord. 2007;98:247–252

42. Gergerlioglu S, Savas HA, Celik A, Savas E, Yumru M, Tarakcioglu M et al. Atypical Antipsychotic Usage Related Higher Serum Leptin Levels and Disabled Lipid Profiles in Euthymic Bipolar Patients. Neuropsychobiology. 2006;53:108–112

43. Yumru M, Savas HA, Selek S, Savas E. Acute Dystonia After An Initial Dose Of Ziprasidone: A Case Report. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30:745–747

44. Ozen ME, Yumru M, Savas HA, Cansel N, Herken H. Neuroleptic Malignant Syndrome Induced By Ziprasidone On The Second Day Of Treatment: A Case Report. *World J Biol Psychiatry*. 2007;8:42–44

45. Altshuler LL, Post RM, Leverich GS, Mikaluskas K, Rosoff A, Ackerman L. Antidepressant-induced mania and cycle acceleration: a controversy revisited. *Am J Psychiatry*. 1995;152:1130–1138

46. Vahip S. Arařtırmalardan Klinik Uygulamaya Bipolar Depresyon Tedavisi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*. 1999;9:213–221

47. Kul M, Kılıncaşlan A, Yumru M, Kandemir H, Adaletli H, Ceylan M. Escitalopram induced mania in children. *J Child and Adolescent Psychopharmacology*. 2008;18:119-120

48. Yumru M, Savaş HA, Savaş E. Tek Doz Klorpromazin Uygulaması Sonrası Gelişen ve Elektrokonvulsif Tedaviye Olumlu Yanıt Veren Nöroleptik Malign Sendrom: Olgu sunumu. *Türkiye'de Psikiyatri*. 2005;7:126–128

49. Yumru M, Savaş HA, Cansel N, Özen ME, Kandemir H. Nöroleptik malign sendrom ve nöropsikiyatrik sekelleri: Geriye dönük bir araştırma. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*. 2006;16:31–34

50. Vahip S. İkiuçlu Duygudurum Bozukluğunda Depresif Epizod Sağaltımı. *Psikiyatri, Psikoloji ve Psikofarmakoloji Dergisi*. 2000;8:13–19

51. Vahip I, Kocadere M. İkiuçlu bozuklukta sağaltıma uyum sorunları ve psikososyal girişimler. *Psikiyatri, Psikoloji ve Psikofarmakoloji Dergisi*. 2000;8:36–43

52. Oral ET. İkiuçlu Bozuklukta Koruma: Neyle yapılmalı? Nasıl yapılmalı? *Psikiyatri, Psikoloji ve Psikofarmakoloji Dergisi*. 2003;11:15–20

53. Tunca Z, Özerdem A, Kaya N. İkiüçlü bozuklukta koruyucu sağaltıma alınan hastaların izlenmesinde uygulamalar. *Psikiyatri, Psikoloji ve Psikofarmakoloji Dergisi*. 2000;8:9–18
54. Gergerlioglu HS, Savas HA, Bulbul F, Selek S, Uz E, Yumru M. Changes in nitric oxide level and superoxide dismutase activity during antimanic treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31:697–702
55. Herken H, Gurel A, Selek S, Armutcu F, Ozen ME, Bulut M et al. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Arch Med Res*. 2007;38:247–252
56. Herken H, Akyol O, Yilmaz HR, Tutkun H, Savas HA, Ozen ME et al. Nitric oxide, adenosine deaminase, xanthine oxidase and superoxide dismutase in patients with panic disorder: alterations by antidepressant treatment. *Hum Psychopharmacol*. 2006;21:53–59
57. Yanik M, Vural H, Kocyigit A, Tutkun H, Zoroglu SS, Herken H et al. Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of schizophrenia? *Neuropsychobiology*. 2003;47:61–65
58. Sogut S, Zoroglu SS, Ozyurt H, Yilmaz HR, Ozugurlu F, Sivasli E et al. Changes in nitric oxide levels and antioxidant enzyme activities may have a role in the pathophysiological mechanisms involved in autism. *Clin Chim Acta*. 2003;331:111–117
59. Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan E, Gecici O, Tunckol H, Ustundag B. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychobiology*. 2002;46:27–32
60. Black MD, Selk DE, Hitchcock JM, Wettstein JG, Sorensen SM: On the effect of neonatal nitric oxide synthase inhibition rats: a potential neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropharmacology*. 1999;38:1299–1306
61. Akbarian S, Bunney WE Jr, Potkin SG, et al: Altered distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-diaphorase cells in frontal lobe of schizophrenics implies disturbances of cortical development. *Arch Gen Psychiatry*. 1993;50:169–177

62. Das I, Khan NS, Puri BK, Sooranna SR, de Bellerocche J, Hirsch SR: Elevated platelet calcium mobilization and nitric oxide synthase activity may reflect abnormalities in schizophrenic brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 212:375–380

63. Deutsch SI, Rosse RB, Schwartz BL, Fay-McCarthy M, Rosenberg PB, Fearing K: Methylene blue adjuvant therapy of schizophrenia. *Clin Neuropharmacol.* 1997;20:357–363

64. Herken H, Uz E, Ozyurt H, Akyol O: Red blood cell nitric oxide levels in patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2001;52:289–290

65. Herken H, Uz E, Ozyurt H, Sogut S, Virit O, Akyol O. Evidence that the activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes and the products of lipid peroxidation are increased in different forms of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2001;6: 66–73.

66. Savas HA, Herken H, Yurekli M, et al: Possible role of nitric oxide and adrenomedullin in bipolar affective disorder. *Neuropsychobiology.* 2002;45: 57–61

67. Totan Y, Cekic O, Borazan M, Uz E, Sogut S, Akyol O: Plasma malondialdehyde and nitric oxide levels in age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:1426–1428

68. Shen W, Hintze TH, Wolin MS: Nitric oxide. An important signalling mechanism between vascular endothelium and parenchymal cells in the regulation of oxygen consumption. *Circulation.* 1995;92:3505–3512

69. Kuo PC, Schroeder RA: The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg.* 1995;221: 220–235

70. Szabo C, Salzman AL, Ischiropoulos H: Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123 occurs in early stages of endotoxic and haemorrhagic shock and ischemia-reperfusion injury. *FEBS Lett.* 1995;372:229–232

71. Kirkeboen KA, Strand QA: The role of nitric oxide in sepsis—an overview. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1999;43:275–288

72. Mayer B, Hemmens B: Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells, *Trends Biochem Sci.* 1997;22:477-481

73. Xie Q-W, Nathan C: The high-output nitric oxide pathway: role and regulation, *J Leukocyte Biol.* 1994;56:576-582

74. Lancaster JR: Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:8137-8141

75. Xia Y, Zweier JL: Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 6954-6958, 1997.

76. Kelm M, Schrader J: Control of coronary vascular tone by nitric oxide. *Circ Res.* 1990;66: 1561-75

77. Lancaster JR: A tutorial on the diffusibility and reactivity of free nitric oxide. *Nitric Oxide.* 1997;1:18-30

78. Kerwin JF, Lancaster JR, Feldman PL: Nitric oxide: a new paradigm for second messengers, *J Med Chem.* 1995;38:4343-4362

79. Bogdan C: Nitric oxide and the regulation of gene expression. *TRENDS in Cell Biol.* 2001;11:66-75

80. Dierks EA, Burstyn JN: Nitric oxide (NO) the only nitrogen monoxide redox form capable of activating soluble guanylyl cyclase. *Biochem Pharmacol.* 1996;51:1593-1600

81. Hobbs AJ, Ignarro LJ: Nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system. *Meth Enzymol.* 1996;269:134-148

82. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D: Antioxidant Therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia-reperfusion injury. *Jpet* 2001;53:135-159

83. Blum-Degen D, Heinemann T, Lan J, Pedersen V, Leblhuber F, Paulus W, Riederer P, Gerlach M: Characterization and regional distribution of nitric oxide synthase in the human brain during normal ageing. *Brain Res.* 1999;834: 128–135

84. Snyder SH, Bredt DS: Nitric oxide as a neuronal messenger. *Trends Pharmacol Sci.* 1991;12: 125-128

85. Kiss JP, Vizi ES: Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. *TRENDS Neurosci.* 2001;24:211-215

86. Garthwaite J, Boulton CL: Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol.* 1995;57:683–706

87. Ohkuma S, Katsura M: Nitric oxide and peroxynitrite as factors to stimulate neurotransmitter release in the CNS. *Prog Neurobiology.* 2001;64:97-108

88. Barbour B, Houser M: Intersynaptic diffusion of neurotransmitter. *Trends Neurosci.* 1997;20:377-384

89. Garris PA, Ciolkowski EL, Pastore P, Wightman RM: Efflux of dopamine from the synaptic cleft in the nucleus accumbens of the rat brain. *J Neurosci.* 1994;14: 6084-6093

90. Gally JA, Montague PR, Reeke GN, Jr, Edelman GM: The NO hypothesis: Possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:3547–3551

91. Vizi ES: Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in the central nervous system. *Pharmacol Rev.* 2000;52:63–90

92. Vizi ES, Kiss JP: Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: Synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus.* 1998;8:566–607

93. Kiss JP: Role of nitric oxide in the regulation of monoaminergic neurotransmission. *Brain Res Bull.* 2000;52:459–466

94. Pogun S et al: Nitric oxide inhibits [3H]dopamine uptake. *Brain Res.* 1994;641:83–91

95. Lonart G, Johnson KM: Characterization of nitric oxide generator-induced hippocampal [3H]norepinephrine release. II. The role of calcium, reverse norepinephrine transport and cyclic 3',5'-guanosine monophosphate. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;275:14–22

96. Akyol O, Herken H, Uz E, Fadillioglu E, Unal S, Sogut S, Ozyurt H, Savas HA: The indices of endogenous oxidative and antioxidative processes in plasma from schizophrenic patients. The possible role of oxidant/antioxidant imbalance. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2002;26:995-1005

97. Zhang F, Dryhurst G: Effects of l-cysteine on the oxidative chemistry of dopamine: new reaction pathways of potential relevance to idiopathic Parkinson's disease. *J Med Chem.* 1994;37:1084-1098

98. Cadet JL, Kahler LA: Free radical mechanisms in schizophrenia and tardive dyskinesia. *Neurosci Biobehav Rev.* 1994;18:457-467

99. Patel M, Day BJ, Crapo JD, Fridovich I, McNamara JO: Requirement for superoxide in excitotoxic cell death. *Neuron.* 1996;16:345-355

100. Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S, Laursen JB, Capers Q 4th, Taylor WR, Harrison DG, de Leon H, Wilcox JN, Griendling KK: p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. 1997; *Circ Res* 80: 45-51

101. Beckman JS, Ischiropoulos H, Zhu L, van der Woerd M, Smith C, Chen J, Harrison J, Martin JC, Tsai M: Kinetics of superoxide dismutase- and iron-catalysed nitration of phenolics by peroxynitrite. *Arch Biochem Biophys.* 1992;298: 438-445

102. Moellering D, McAndrew J, Patel RP, Cornwell T, Lincoln T, Cao X, Messina J, Forman HJ, Darley-Usmar VM: Nitric Oxide dependent induction of glutathione synthesis through increased activity of c-glutamylcysteine synthetase. *Arch Biochem Biophys.* 1998;358: 74-82



103. Porasuphatana S, Tsai P, Rosen GM: The generation of free radicals by nitric oxide synthase. *Comp Biochem Physiol Part C*. 2003;134: 281-289

104. Gattaz WF, Kollish M, Thuren T, Virtanen JA, Kunnunen PKJ: Increased plasma phospholipase-A activity in schizophrenic patients: reduction after neuroleptic treatment. *Biol Psychiatry*. 1987; 22: 421-426

105. Noponen M, Sanfilippo M, Samanich K, Rye H, Ko G, Angrist B, et al: Elevated PLA2 activity in schizophrenics and other psychiatric patients. *Biol Psychiatry*. 1993; 34: 641-649

106. Gattaz WF, Schmitt A, Maras A: Increased platelet phospholipase A2 activity in schizophrenia. *Schizophr Res*. 1995; 16: 1-6

107. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A: Cyclooxygenase inhibition restores nitric oxide activity in essential hypertension. *Hypertension*. 1997; 29: 274-279

108. Kelly FJ, Tetley TD: Nitrogen dioxide depletes uric acid and ascorbic acid but not glutathione from lung lining fluid. *J Biochem*. 1997; 325: 95-99

109. Akyol O, Zoroglu SS, Armutcu F, Gurel A: Nitric oxide as a physiopathological factor in neuropsychiatric disorders. *In Vivo*. 2004 May-Jun;18(3):377-390. Review

110. Evans PH: Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull*. 1993; 49: 577-587

111. Deliconstantinos S, Villiotou V: NO synthase and xanthine oxidase activities of rabbit brain synaptosomes: peroxynitrite formation as a causative factor of neurotoxicity. *Neurochem Res*. 1996; 21: 51-56

112. Harvey BE Affective disorders and nitric oxide: a role in pathways to relapse and refractoriness? *Hum Psychopharmacol*. 1996; 11: 309-319

113. Amsterdam JGC, Opperhuizen A: Nitric oxide and biopterin in depression and stress. *Psychiatry Res*. 1999; 85: 33-38

114. McDonald EM, Mann AH, Thomas HC: Interferons as mediators of psychiatric morbidity: an investigation in a trial of recombinant alpha-interferon in hepatitis-B carriers. *Lancet*. 1987; 2: 1175-1178

115. DizikesGJ, GrodyWW, KernRM, CederbaumSD. Isolation of human liver arginase cDNA and demonstration of nonhomology between the two human arginase genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1986; 141: 53–59

116. Vockley JG, Jenkinson CP, Shukla H, Kern RM, Grody WW, Cederbaum SD. Cloning and characterization of the human type II arginase gene. *Genomics*. 1996; 2: 118–223

117. Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. Comparative properties of arginases. *Comp. Biochem. Physiol.* 1996; 114B: 107–132

118. Dizikes GJ, Grody WW, Kern RM, Cederbaum SD. Isolation of human liver arginase cDNA and demonstration of nonhomology between the two human arginase genes. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;141:53– 59.

119. Takiguchi M, Haraguchi Y, Mori M. Human liver-type arginase gene: structure of the gene and analysis of the promotor region. *Nucleic Acids Res* 1988;16:789– 802

120. Obtake A, Takiguchi M, Shigeto Y, Amaya Y, Kawamoto S, Mori M. Structural organisation of gene for rat-liver-type arginase. *J Biol Chem*. 1988; 263: 2245– 2249

121. Gotoh T, Araki M, Mori M. Chromosomal localisation of the human arginase II gene and tissue distribution of its mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997; 233: 487– 491

122. Russell DH, McVicker TA. Polyamine biogenesis in the rat mammary gland during pregnancy and lactation. *Biochem J* 1972;130:71– 76

123. Abraham AK. Role of polyamine in macromolecular synthesis. *Trends Biochem Sci*. 1981; 6: 106–107

124. Tabor CW, Tabor H. Polyamines. *Annu Rev Biochem*. 1984; 53: 749–790

125. Barbul B. Arginine: Biochemistry, physiology, and therapeutic implications. *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 1986; 10: 227-238
126. Wu G, Morris Jr SM. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* 1998; 336: 1-17
127. Spector, E. B., Rice, S. C. H. and Cederbaum, S. D. Immunologic studies of arginase in tissues of normal human adult and arginase-deficient patients. *Pediatr. Res.* 1983; 17: 941-944
128. Grody, W. W., Argyle, C., Kern, R. M., Dizikes, G. J., Spector, E. B., Strickland, A. D., Klein, D. and Cederbaum, S. D. Cloning of rat liver arginase cDNA. *J. Clin. Invest.* 1989; 83: 602-609
129. Brusilow, S. W. and Horwich, A. L. In *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*, 7th edn. (Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S. and Valle, D., eds.), pp. 1187-1232, McGraw-Hill, Inc., New York
130. Kuhn, N. J., Ward, S., Piponski, M. and Young, T. W. *Arch. Biochem. Biophys.* 1995; 320: 24-34
131. Boon, L., Blommaart, P. J. E., Meijer, A. J., Lamers, W. H. and Schoolwerth, A. C. Acute acidosis inhibits liver amino acid transport: no primary role for the urea cycle in acid-base balance *Am. J. Physiol.* 1994; 267: 1015-1020
132. Boon, L., Blommaart, P. J. E., Meijer, A. J., Lamers, W. H. and Schoolwerth, A. C. Response of hepatic amino acid consumption to chronic metabolic acidosis *Am. J. Physiol.* 1996; 271: 198-202
133. Hurwitz, R. and Kretchmer, N. Development of arginine-synthesizing enzymes in mouse intestine *Am. J. Physiol.* 1986; 251: 103-110
134. Hall, L. M., Johnson, R. C. and Cohen, P. P. The presence of carbamyl phosphate synthetase in intestinal mucosa *Biochim. Biophys. Acta.* 1960; 37: 144-145

135. Raijman, L. Effect of ATP translocation on citrulline and oxaloacetate synthesis by isolated rat liver mitochondria. *Biochem. J.* 1974; 138: 225-232
136. Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. *Biochem. J.* 2003; 376, 1-14
137. Matthews HR. Polyamines, chromatin structure and transcription. *Bioassays.* 1993; 15: 561-566
138. Costanzo D., Moulin D. Expression, purification, assay, and crystal structure of perdeuterated human arginase I. *Arch. Biochemistry and Biophysics.* 2007; 465, 82-89.
139. Grody W. W., Dizikes, G. J. and Cederbaum, S. D. Isozymes *Curr. Top. Biol. Med. Res.* 1987; 13: 181-214
140. Griffith, O. W. and Stuehr, D. J. Nitric oxide synthases: properties and catalytic mechanism *Annu. Rev. Physiol.* 1995; 57: 707- 736
141. Reczkowski, R. S. and Ash, D. E. Binuclear manganese(II) centers in rat liver arginase *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 312, 31-37
142. Currie, G. A., Gyure, L. and Cifuentes, L. Microenvironmental arginine depletion by macrophages in vivo. *Br. J. Cancer .* 1979; 39: 613-620
143. Vodovotz, Y., Kwon, N. S., Pospischil, M., Manning, J., Paik, J. and Nathan, C. Inactivation of nitric oxide synthase after prolonged incubation of mouse macrophages with IFN-gamma and bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 1994; 152: 4110-4118
144. Hecker, M., Nematollahi, H., Hey, C., Busse, R. and Racke, K. Inhibition of arginase by N<sup>G</sup>-hydroxy-L-arginine in alveolar macrophages: implications for the utilization of L-arginine for nitric oxide synthesis. *FEBS Lett.* 1995; 359: 251-254
145. Buga, G. M., Singh, R., Pervin, S., Rogers, N. E., Schmitz, D. A., Jenkinson, C. P. Cederbaum, S. D. and Ignarro, L. Arginase activity in endothelial cells: inhibition by N<sup>G</sup>-hydroxy-L- arginine during high-output NO production. *J. Am. J. Physiol.* 1996; 271: 1988-1998
146. Meyer, J., Richter, N. and Hecker, M. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Nitric Oxide Synthase-Related Arginine Derivatives in Vitro and in Vivo. *Anal. Biochem.* 1997; 247: 11-16

147. Boucher, J. L., Genet, A., Vadon, S., Delaforge, M., Henry, Y. and Mansuy, D. Cytochrome P450 catalyzes the oxidation of N omega-hydroxy-L-arginine by NADPH and O<sub>2</sub> to nitric oxide and citrulline. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992; 187: 880-886
148. Boucher, J. L., Genet, A., Vadon, S., Delaforge, M. and Mansuy, D. Formation of nitrogen oxides and citrulline upon oxidation of N omega-hydroxy-L-arginine by heme proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992; 184: 1158-1164
149. Modollel, M., Eichmann, K. and Soler, G. *FEBS Lett.* 1997; 401: 123-126
150. Currie, G. A, Gyure L, Cifuentes L. Microenvironmental arginine depletion by macrophages in vivo *Br. J. Cancer.* 1979; 39: 613-620
151. Kung J. T, Brooks S. B, Jakway J. P, Leonard L. L, Talmage D. W. Polyamines in Growth Normal and Neoplastic. *J. Exp. Med.* 1977; 146: 665-672
152. Mastrofrancesco B, Caldwell M. D. Arginine metabolism in wounds. *Am. J. Physiol.* 1988; 254: 459-467
153. Albina J. E, Abate J. A, Mastrofrancesco B. Role of ornithine as a proline precursor in healing wounds. *J. Surg. Res.* 1993; 55: 97-102
154. Kung J. T, Brooks S. B, Jakway J. P, Leonard L. L, Talmage D. W. Suppression of in vitro cytotoxic response by macrophages due to induced arginase. *J. Exp. Med.* 1977; 146: 665-672
155. Albina, J. E., Mills, C. D., Henry, Jr., W. L. and Caldwell, M. D. *J. Immunol.* 1990; 144: 3877-3880
156. Shearer J. D, Richards J. R, Mills C. D, Caldwell M.D. Differential regulation of macrophage arginine metabolism: a proposed role in wound healing. *Am. J. Physiol.* 1997; 272: 181-190
157. Elgun S, Kumbasar H: Increased serum arginase activity in depressed patients. *Prog Neuropharmacol Biol Psychiat.* 2000; 24: 227-232

158. Cortas NK, Wakid NW Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 1990; 36 (8 Pt 1):1440-1443
159. Ahi S, Meram İ, Özdemir Y İnsan serum arginaz enziminin özellikleri ve aktivite ölçümünde duyarlı bir yöntemin geliştirilmesi. *Erciyes Tıp Dergisi.* 1999; 21(2): 3-9
160. Geyer JW, Dabich D, Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem.* 1971; 39: 412–417
161. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik (7. baskı)* Ankara, 1997: 128-133
162. Fossier P, Blanchard B, Ducrocq C, Leprince C, Tauc L, Baux G. Nitric oxide transforms serotonin into an inactive form and this affects neuromodulation. *Neuroscience.* 1999;93(2):597-603
163. Shen W, Hintze TH, Wolin MS. Nitric oxide. An important signalling mechanism between vascular endothelium and parenchymal cells in the regulation of oxygen consumption. *Circulation* 1995;92:3505–3512
164. Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Annals of Surgery* 1995;221:220–235.
165. Selek S, Savas HA, Gergerlioglu HS, Bulbul F, Uz E, Yumru M. The course of nitric oxide and superoxide dismutase during treatment of bipolar depressive episode. *J Affect Disord.* 2008;107: 89-94
166. Suzuki E, Yagi G, Nakaki T, Kanba S, Asai M: Elevated plasma nitrate levels in depressive states. *J Affect Disorders.* 2001; 63: 221-224
167. Yildiz F, Erden BF, Ulak G, Utkan T, Gacar N: Antidepressant-like effect of 7-nitroindazole in the forced swimming test in rats. *Psychopharmacology.* 2000;149: 41-44
168. Selley ML: Increased (E)-4-hydroxy-2-nonenal and asymmetric dimethylarginine concentrations and decreased nitric oxide concentrations in the plasma of patients with major depression. *J Affect Disorder* 2004; 80: 249-256

169. Wink DA, Hanbauer I, Krishna MC, De Graff W, Gamson J, Mitchell JB. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1993;90:9813–9817

170. Deliconstantinos S, Villitou V. NO synthase and xanthine oxidase activities of rabbit brain synaptosomes: peroxynitrite formation as a causative factor of neurotoxicity. *Neurochemical Research* 1996;21: 51–56

171. Giovannoni G, Heales SJ, Silver NC, O’Riordan J, Miller RF, Land JM, et al. Raised serum nitrate and nitrite levels in patients with multiple sclerosis. *Journal of Neurological Sciences* 1997;145:77–81

172. Wu G, Morris Jr SM. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* 1998; 336: 1-17

173. Crombez EA, Cederbaum SD. Hyperargininemia due to liver arginase deficiency. *Mol. Genet. Metab.* 2005; 84: 243-251

174. Iyer RK, Yoo PK, Kern RM et al. Mouse model for human arginase deficiency. *Mol. Cell. Biol.* 2002; 22: 4491- 4498

175. Lee J, Ryu H, Ferrante RJ, Morris Jr SM, Ratan RR. Translational control of inducible nitric oxide synthase expression by arginine can explain the arginase paradox. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2003; 100: 4843-4848

176. Prabhakar SS, Zeballos GA, Montoya-Zavala M, Leonard C. Urea inhibits nitric oxide synthase in macrophage cell line. *Am. J. Physiol.* 1997; 273: C1882-1888

177. Yanik M, Vural H, Tutkun H, Zoroglu S, Savas H, Herken H, Koçyigit A, Keles H, Akyol O. The role of the arginine-nitric oxide pathway in the pathogenesis of bipolar affective disorder *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2004; 254 : 43–47

178. Xia H, Bredt D. S. Cloned and expressed nitric oxide synthase proteins. *Methods Enzymol.* 1996; 268: 427-436

179. Schild L, Jaroscakova I, Lendeckel U, Gerald W, Gerburg K. Neuronal nitric oxide synthase control enzyme activity pattern of mitochondria and lipid metabolism. *J. FASEB.* 2005;96: 38-58

180. Durante W, Liao L, Peyton KJ, Schafer AI. Lysophosphatidylcholine regulates cationic amino acid transport and metabolism in vascular smooth muscle cells: Role in polyamine synthesis. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 30 154–159

181. Berkowitz DE, White R, Li D *et al.* Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation* 2003; 108: 2000–2006

182. Wei LH, Jacobs AT, Morris SM Jr, Ignarro LJ. IL-4 and IL-13 upregulate arginase I expression by cAMP and JAK/STAT6 pathways in vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2000; 279: 248-256

183. Ming X-F, Barandier C, Viswambharan H *et al.* Thrombin stimulates human endothelial arginase enzymatic activity via the RhoA/ROCK pathway: Implications for atherosclerotic endothelial dysfunction. *Circulation* 2004; 110: 3708-3714

184. Nelin LD, Chicoine LG, Reber KM, English BK, Young TL, Liu Y. Cytokine-induced endothelial arginase expression is dependent on epidermal growth factor receptor. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2005; 33: 394-401

185. Stadler, J, Barton, D, Beil-Moeller, H, Diekmann, S, Hierholzer, C, Erhard, W, Heidecke, C. D. Hepatocyte nitric oxide biosynthesis inhibits glucose output and competes with urea synthesis for L-arginine. *Am. J. Physiol.* 1995; 268: 183- 188

186. Guoyao WU, Sidney M. Morris, JR. Arginine metabolism : nitric oxide and beyond – arginase and NO homeostasis -2. *Biochem. J.* 1998; 336: 1-17