

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR BOZUKLUĞU OLAN HASTALARDA
OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ, NÖROTROFİN-4 VE
HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİNİN ROLLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Soner ERDİN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ece ONUR

Manisa, 2012

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR

I.GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER ⁴	
II.1. Şizofreni	4
II.1.1. Şizofreni Tanım	4
II.1.2. Şizofreni Epidemiyolojisi	5
II.1.3. Şizofreni Etiyolojisi	5
II.2. Bipolar Bozukluk	8
II.2.1. Bipolar Bozukluk Tanım	8
II.2.2. Bipolar Bozukluk Epidemiyolojisi	9
II.2.3. Bipolar Bozukluk Etiyolojisi	10
II.3. Oksidatif Stres	12
II.3.1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri	13
II.3.2. Serbest Radikal Üretim Kaynakları	14
II.3.3. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	14
II.3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	18
II.3.5 Superoksit Dismutaz (SOD)	19
II.3.6. Total Glutatyon (GSH)	20
II.3.7. Nitrik Oksit (NO)	21
II.3.8. Malondialdehid (MDA)	23
II.3.9. Psikiyatrik Bozukluklar ve Oksidatif Stres	24
II.4. Nörotrofin-4	26
II.5. Homosistein	26
III. MATERYAL-METOD	32
III.1. Araç ve Gereçler	32
III.2. Yöntem	32
III.2.1. Çalışma Grubu	32
III.2.2. Süperoksit Dismutaz Tayini	33
III.2.3. Nitrik Oksit Tayini	34
III.2.3.1. NO Ölçümü İçin Gerekli Çözeltiler	35
III.2.3.2. Deproteinizasyon	36
III.2.3.3. Kadmiyum Aktivasyonu	37

III.2.3.4. Deneyin Yapılışı	37
III.2.3.5. Hesaplama	38
III.2.4. Nörotrofin-4 Tayini	38
III.2.5. Total Glutasyon ve Malondialdehid Tayini	38
III.2.6. Homosistein, Vitamin B12 ve Folik Asit Tayini	40
III.2.7. İstatistiksel Analiz	40
IV. BULGULAR	41
V. TARTIŞMA	59
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	72
VI. ÖZET	73
VII. İNGİLİZCE ÖZET	75

ÖNSÖZ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince verdikleri destek ve katkılarından, gösterdikleri sevgi ve anlayıştan dolayı tez hocam ve danışmanım Prof. Dr. Ece ONUR başta olmak üzere değerli hocalarım Prof. Dr. Fatma Taneli'ye, Prof. Dr. Zeki ARI'ya, Prof. Dr. Cevval ULMAN'a, Prof. Dr. Ahmet VAR'a, Yrd. Doç. Dr. Yeşim Güvenç'e,

Tezin fikir aşamasından yazım aşamasına kadar her süreçte yol gösterici olan ve desteklerini esirgemeyen Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ayşen Esen DANACI'ya ve Prof. Dr. Ömer AYDEMİR'e,

Dört yıl boyunca çalışmalarımızı uyumlu bir şekilde yürüttüğümüz, iyi ve kötü zamanlarda birbirimize destek olduğumuz asistan arkadaşlarım Dr. Metin Demir'e, Dr. Nesrin Özlen'e, Dr. Derya Güleç'e, Dr. Gürol Şahin Ulutaş'a, Dr. Ferda Doğan Bozyiğit'e, Dr. Nurser Arifoğlu'na, Dr. Esat Kılıç'a, Dr. Turgut Aktaş'a, Dr. Mehmet Çalkan'a, Dr. Ferhunde Pulular'a, Dr. Aysun Bilgi Yedekci'ye, Dr. Sezen Irmak'a, Dr. Sema Bilge'ye, Dr. Ceyhun Gözükara'ya, Dr. Arzu Oran'a ve tüm teknisyen arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her konuda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen sevgili anneme, babama ve ağabeyime,

Varlığıyla, başından beri, dünyanın daha yaşanılır bir yer olmasını sağlayan, sevdiğim, hayat arkadaşım Begüm'e,

En içten teşekkür ve şükranlarımı bir borç bilirim.

Dr. Soner ERDİN

KISALTMALAR

ACTH: Adrenokortikotropik hormon

ADP: Adenozin difosfat

ATP: Adenozin trifosfat

BDNF: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör

BHMT: Betain homosistein metil transferaz

CAT: Katalaz

CBS: Sistasyonin - β - sentaz

CCK: Kolesistokinin

D2: Dopamin reseptör D2

D4: Dopamin reseptör D4

DM: Diabetes Mellitus

DNA: Deoksiribonükleik asit

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

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

FAD: Flavin adenin dinükleotid

FMN: Flavin mono nükleotid

GABA: Gama-amino bütirik asit

GADPH: Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz

GDNF: Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör

GMP: Guanilat mono fosfat

cGMP: Siklik guanilat monofosfat

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

GSH: Glutasyon

GSSG: Glutasyon disülfid

GST: Glutasyon-S-Transferaz

GTP: Guanilat trifosfat

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HAM-D: Hamilton Depresyon Değerlendirme Ölçeği

5-HIAA: 5-Hidroksiindol asetik asit

4-HNE: 4-Hidroksinonenal

HOCl: Hipoklorik Asit

HRP: Horse Radish Peroxidasea

HVA: Homovalinik asit

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

LH: Lüteinizan hormon

LOOH: Lipid hidroperoksit

LOO[•]: Lipid peroksit radikalleri

MS: Metiyonin sentaz

MTHFR: Metilen tetrahidrofolat redüktaz

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen

NED: N-naftil etilen daimin

NGF: Nöronal büyüme faktörü

NMDA: N-metil-D-aspartat

NO: Nitrik oksit

NOs: Nitrik oksit sentaz

nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz

NO₂[•]: Azot dioksit

NO₃[•]: Nitrat

NT-4: Nörotrofin-4

O₂^{•-}: Süperoksit radikali

OH[•]: Hidroksil radikali

PUFA: Çoklu doymamış yağ asidi

RNT: Reaktif nitrojen türleri

ROO[•]: Peroksil radikali

ROT: Reaktif oksijen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

SS: Standart sapma

TBA: Tiyobarbitürik asit

TMB: Tetrametil benzidin

TNF: Tümör nekrozis faktör

TSH: Tiroid sitümilan hormon

TRH: Tiroid salgılatıcı hormon

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)

YMRS: Young Mani Değerlendirme Ölçeği

I. GİRİŞ

Şizofreni sıklıkla belirgin halüsinasyonlar ya da hezeyanlar ile seyreden, davranış düzeyinde kognitif, emosyonel ve diğer fonksiyonel bozulmalarda değişiklik görülen, kronik ve sıklıkla relapslarla seyreden bir klinik sendromdur. Dünya çapında popülasyonun yaklaşık %1'ini etkilemektedir. Hayatın erken yaşlarında başlama eğilimindedir ve beyin gelişimini olumsuz yönde etkiler [1]. Genç yaşta başlaması, uzun sürmesi hem hastalarda hem ailelerinde son derece olumsuz etkilere sebep olması ve toplumun kabullenmedeki güçlüğü (stigma), hastalığın sosyal yönünü daha da ağırlaştırmaktadır. Beynin en önemli fonksiyonları olan duyu, düşünce ve davranış alanında görülen bu bozukluklar, kişinin bütün insan ilişkilerini ve gerçek hayatını derinden etkilemektedir [2].

Manik-depresif hastalık olarak da bilinen bipolar bozukluk, nüfusun %1-2'sini etkileyen ciddi bir duygudurum bozukluğudur. Etiyopatogenezinde psikolojik, sosyal, genetik ve biyokimyasal etmenleri içeren bipolar bozukluk; tekrarlayıcı manik ve depresif epizodlarla ve ayrıca ötimi adı verilen iyilik dönemleriyle karakterize, yaşamı etkileyen önemli bir hastalıktır [3]. Kişinin duygudurumu, maniden depresyona aşırı iki uç arasında değişebildiği için 'bipolar bozukluk' olarak adlandırılmaktadır. Aile, ikiz ve adaptasyon çalışmalarından elde edilen bilgiler, hastalığın etiyojisinde genetik risk faktörlerinin önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir [4]. Patogenezindeki çeşitlilik birçok farklı bilim dalı tarafından araştırılmasını da beraberinde getirmiştir.

Yapılan son çalışmalar bipolar bozukluğu ve şizofrenisi olan hastalarda bir dizi kalıcı fonksiyon bozukluğunun oluştuğunu göstermiştir. Fakat bu hastalıkların patofizyolojisinin altında yatan nörokimyasal mekanizma tam olarak anlaşılammıştır. Oksidatif stresin bazı nöropsikiyatrik bozukluklarda nöropatolojik süreçlere aracılık ettiği düşünülmekte olup, son dönem verileri bipolar bozuklukta ve şizofrenide rolü olduğunu göstermektedir [5, 6]. Oksidatif stres; prooksidan-antioksidan dengesindeki bozukluktan kaynaklanan potansiyel hasar anlamına gelmektedir. Reaktif oksijen molekülleri etkili bir şekilde elimine edilemezlerse, lipid (membran ve organeller), protein (protein ve reseptörler) ve DNA peroksidasyonu gibi

oksidatif hasara yol açabilirler [5, 7]. Glutasyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi başlıca antioksidanlar, hücreleri dopamin metabolizmasında oluşan süperoksit anyon radikallerine karşı korur. Ayrıca bu hastalıklarda görülen nitrik oksit sentazlar tarafından artmış nitrik oksit (NO) sentezi de şizofreni ve bipolar bozukluğun patofizyolojisinde NO'nun muhtemel rolünü düşündürmektedir [6].

Homosistein, kükürt içeren bir aminoasit olup, bütün proteinlerin yapısal bileşeni olarak görev yapan 20 aminoasit arasında yer almayan, diğer aminoasitlerin aksine diyetle birlikte alınan metiyoninin metabolizması sonucu oluşan metabolik bir ara üründür. Nörotoksik bir aminoasit olan homosistein artışının kognitif bozukluk ve demans riskini artırdığına ilişkin daha fazla çalışma yapılmaktadır. Homosistein düzeyinin, bipolar bozuklukta ve şizofrenide arttığı ve bu hastalıklarda özellikle yürütücü fonksiyon bozukluklarının patofizyolojisinde rol aldığı ileri sürülmektedir [8-10].

Nörotrofinler santral sinir sisteminin; nöroplastisite, hücre yaşamının devamlılığı gibi birçok fonksiyonunda görev alan önemli faktörlerdir. Bipolar bozuklukta manik ve depresif periyodların temelinde dopaminerjik düzenlenim bozukluğunun (disregülasyon) yer aldığı kabul edilmektedir. Nörotrofin-4; nörotrofik faktör ailesinden olup dopaminerjik nöronlar üzerine direk koruyucu etkiye sahiptir. Daha önce yapılan çalışmalarda bipolar bozukluğu olan hastalarda BDNF'nin (beyin kaynaklı nörotrofik faktör) azaldığı [11], diğer trofik faktörler olan nörotrofin-3 ve GDNF'nin (glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör) arttığı gösterilmiştir [12, 13]. Sonraki çalışmalarda NT-4/5'in oksidatif stres hasarına karşı BDNF'den daha aktif rolü olduğu ileri sürülmüştür [13]. Fakat yapılan literatür taramalarında NT-4'ün şizofreni hastalarında çalışıldığına dair bir bilgi edinilememiştir.

Bipolar bozukluk ve şizofrenisi olan hastalarda, hastalık ilerledikçe ortaya çıkan fonksiyon bozukluğu araştırmaların ilgi konusu olmuştur ve hastalığın işlevselliği bozucu etkisi ile yakından ilişkilidir. Bipolar bozukluk ve şizofreni ile oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmışken, bipolar bozukluk ve şizofrenisi olan bireylerdeki nörotrofin-4 düzeyleri ve oksidatif stres arasındaki ilişki yeterince araştırılmamıştır. Çalışmamız bu konuda ilk olmaya adaydır.

Bu projede CBÜTF Psikiyatri polikliniğinde duygudurum bozuklukları biriminde takip edilen bipolar bozukluk tanısı olan 50 ötimik hasta ve psikoz biriminde takip edilen remisyonda 50 şizofreni hastası ile herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan, 50 sağlıklı kontrol vakasında; bu hastalıkların patogeneğinde yer aldığı ileri sürülen, total GSH, SOD gibi antioksidan savunma enzimleri, bir reaktif nitrojen türü olan NO, lipid peroksidasyonu son ürünü malondialdehid (MDA), dopaminerjik nöronları oksidatif stres hasarından koruduğu ileri sürülen nörotrofin-4, nörotoksik bir aminoasit olan homosistein düzeylerinin saptanması ve özellikle yürütücü fonksiyon bozukluklarının patofizyolojisinde yer aldığı ileri sürülen homosistein düzeylerinin hastalıkların ileri dönemleri ile olan ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Homosistein düzeylerinin yüksekliğinin diğer patolojilerden ayırımını yapabilmek için, yanı sıra B12 vitamini ve folat düzeyleri de incelenecektir.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. ŞİZOFRENİ

II.1.1. ŞİZOFRENİ TANIM

Şizofreni kişinin meslek, okul, çocuk bakımı, kendine bakım, bağımsız yaşama, insanlarla ilişkiler gibi alanlarda fonksiyon bozukluğuna yol açan; psikoz, apati ve sosyal çöküntü ve bilişsel bozukluk ile karakterize bir mental hastalıktır [14]. Şizofreni, kişinin alışlagelmiş algılama ve yorumlama biçimlerine yabancılaşarak, kendine özgü bir içe-kapanım dünyasına çekildiği ruhsal bir bozukluktur. İnsanı gençlik yıllarından başlayarak üretim dışına itebilen ve çevresiyle önemli uyumsuzluk ve çatışmalar yaşamasına yol açan bu bozukluğun, topluma maliyeti oldukça yüksektir [15].

Şizofreni, birçok davranış ve düşünce bozukluğuna neden olan; beynin yapısında, fizyoloji ve kimyasında önemli değişikliklerin olduğu çok sistemli psikiyatrik bozukluklardan biridir. Erken yaşlarda başlayarak hayat boyu sürebilen bir hastalıktır. Biyokimyasal, anatomik ve genetik alanlardaki birçok ilerlemelere karşın şizofreni kendine özgü yaşantıları ve davranışsal belirtileri olan ve ancak bu belirtilerin gözlenmesi ile tanı konabilen bir hastalık olarak kalmaya devam etmektedir. Algılama, düşünme, konuşma, dil, sosyal etkileşimler, motor davranış, dikkat, istem, dürtü kontrolü, duygusal ifadeler ve çevreye yanıt alanlarında önemli belirtiler vardır. Tanı koydurucu (patognomonik) bir belirtisi bulunmamaktadır. Eşlik eden özgül biyokimyasal, nöro-radyolojik, fizyolojik ve psikolojik test olmadığından bu tanı hala bir dışlama tanısı olarak kalmaktadır. İşlevselliği önemli ölçüde bozar ve olgular toplumdan dışlanır. Dışlanmalarında hastalık hakkında bilgi eksikliği önem taşır. Şizofreniyi klinik bir tanı olmaktan çok etyolojisi bilinmeyen, benzer belirtiler verebilen bir grup hastalık olarak ele alma eğilimi vardır [16].

Şizofreni psikiyatrik bozukluklar içinde yaygın bir bozukluk grubu olmamasına karşın, çeşitli özelliklerinden dolayı üzerinde en çok durulan ve en çok çalışılan psikiyatrik bozukluktur. Toplum için bu kadar önemli olan bir bozukluğun etiyolojik etkenlerinin bilinmesi, erken tanısı ve uygun tedavisi, korunması önemlidir [17].

II.1.2. ŞİZOFRENİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Şizofreni dünya çapında popülasyonun yaklaşık %1'ini etkilemektedir. Görülme sıklığı kadınlar ve erkeklerde eşittir ama genelde kadınlarda daha geç yaşta başlar. Hastalık genellikle ergenlik veya erken yetişkinlik dönemlerinde (15-30 yaş) başlamakla beraber daha geç yaşlarda başlaması da mümkündür. Hastalık ne kadar erken başlarsa, kişilik üzerindeki harabiyet o kadar fazla olmakta, normal bir yaşam sürme şansı da o kadar azalmaktadır.

Farklı ülkeler ve kültürel gruplar arasında dağılım ve görülme sıklığı bakımından önemli varyasyonlar görülmesine rağmen, daha sıkı tanı kriterleri uygulandığında bu varyasyonlar azalmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (World Health Organization) on farklı ülkede yaptığı çalışmalarda, şizofreni görülme sıklığı oldukça benzer çıkmıştır. Bu çalışma ayrıca gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde şizofreninin klinik belirtilerinin de aynı olduğunu göstermiştir [14].

II.1.3. ŞİZOFRENİ ETİYOLOJİSİ

Şizofreni fizyopatolojisinde etiyolojik süreç veya süreçler tam olarak bilinmemektedir. Genetik alanda ileri çalışmalar devam etmektedir. Kromozom bölgelerinin analizlerinde özgül adaylar tanımlanmaya ve adaylar belirlenmeye doğru yol alınmaktadır. Genlerin etkisinin yanında birçok başka etken hastalık oluşumda yer almaktadır. Şizofreninin nedenleri şu başlıklar altında toplanabilir:

a. Psikososyal Faktörler

b. Genetik Faktörler

c. Çevresel Faktörler

d. Biyokimyasal Faktörler

Bilgi, nöral döngüler içinde oluşan elektrik sinyalinin bir sinir hücresi aksonu ve sinapslar boyunca diğer bir sinir hücresinin bileşenleri üzerindeki postsinaptik reseptörlere aktarılması yoluyla iletilir. Sinir hücreleri sinyalleri alır, işler ve binlerce diğer hücreye gönderir. Sinyalin sinaps boyunca iletimi ve sinyalin bir hücre içinde işlenmesi karmaşık biyokimyasal olaylara ihtiyaç

duyar. Şizofrenideki genel biyokimyasal kavramdan, özgül teorilere geçiş üç temel bilgi kaynağına dayanmaktadır. Birinci kaynak; hücre zarından çekirdeğin genetik materyaline doğru olan hücre içi iletişimin ve beyindeki birçok nörotransmitter sistemi boyunca meydana gelen hücreler arası iletişimin iyice anlaşılmasıdır. İkincisi; davranış ve bilişsel işlevlerin temel farmakolojisi hakkında artan bilgilerdir. Üçüncüsü ise; şizofreni benzeri davranışlar ortaya çıkaran veya şizofreni hastalarındaki semptom şeklini değiştiren ilaçların etki mekanizmasının anlaşılmasıdır [18].

Araştırmacılar, tüm bu bilgi kaynaklarından yola çıkarak, 1990'ların ortalarında şizofreninin biyokimyasal / nörokimyasal teorilerini 3 temel alana ayırmışlardır. Bunlar;

1. Beyindeki monoamin mekanizmalarındaki anormal süreçler (Dopamin, serotonin, noradrenalin ve bunların yıkımından sorumlu enzim)
2. Amino asit nörotransmitterleri (Gamma-aminobütirik asit-GABA) inhibitörleri, uyarıcı bir nörotransmitter olan glutamat
3. Nöropeptidler (Kolesitokinin-CCK) [19].

Dopamin: Dopamin varsayımı, şizofrenide dopamin yollarının etkinliğinde bir artış olduğunu ileri sürer. Amfetamin ve kokain gibi dopamin etkinliğini artıran maddelerin normal kişilerde psikoz benzeri bir tabloya yol açması [20, 21] ve postsinaptik dopamin reseptörlerini bloke eden nöroleptiklerin şizofreni belirtilerini yatıştırması, dopamin varsayımını desteklemektedir [15, 21].

Dopaminerjik nöroanatomi üç nöronal sistemden oluşmaktadır. Bunlar: Ventral tegmentumdan limbik sisteme ve korteks ile septohipokampal alana uzanan mezolimbik-mezokortikal sistem, substantia nigradan striatuma uzanan nigrostriatal sistem ve hipotalamustan hipofize uzanan tuberoinfundibuler sistem şeklindedir. Nöroleptikler antipsikotik etkilerini mezolimbik-mezokortikal sistemdeki dopamin reseptörleri üzerinden göstermektedir. Nigrostriatal sistemdeki dopamin reseptör blokajı ekstrapiramidal yan etkilerden ve tuberoinfundibuler sistemdeki dopamin reseptör blokajı prolaktin salınımındaki artıştan kaynaklanan hormonal yan etkilerden sorumlu tutulmaktadır [15].

Şizofrenideki psikotik belirtilerin ve nöroleptik kullanımı ile oluşan etki ve yan etkilerin dopamin varsayımı ile açıklanması olanaklıdır. Ancak, söz

konusu varsayımın açıklamakta yetersiz kaldığı durumlar da vardır. Dopamin reseptör blokajının saatler içinde oluştuğu bilinmektedir. Buna karşın, antipsikotik etkinin ortaya çıkması günler ya da haftalar almaktadır. Bu gecikme, 'depolarizasyon inaktivasyonu' kavramıyla açıklanmaya çalışılmıştır [15, 20, 22].

Nöroleptiklerin; sanrı, varsanı ve pozitif yapısal düşünce bozukluğu gibi pozitif belirtileri yatıştırırken, ilgi ve istek azalması, duygulanımda küntleşme ve toplumsal çekilme gibi negatif belirtileri aynı düzeyde etkilememesi, hatta kimi zaman negatif belirtilerin şiddetlenmesine yol açması, dopamin varsayımının söz konusu çelişkiyi de açıklayacak şekilde yeniden kurgulanmasını zorunlu kılmaktadır. Bazı araştırmacılar, şizofrenide, prefrontal ve diğer kortikal alanlarda dopamin etkinliğinin azaldığını ve bu durumun negatif belirtilerden sorumlu olduğunu, buna karşın, subkortikal ve limbik bölgelerdeki etkinlik artışının pozitif belirtilere yol açtığını ileri sürmektedir [21]. Prefrontal korteksin subkortikal ve limbik bölgelerdeki dopamin iletimini baskıladığını ve prefrontal dopamin etkinliğindeki bir azalmanın bu bölgelerde bir etkinlik artışına yol açtığını kabul eden yaklaşım söz konusu çelişkiyi aşmak üzere ileri sürülmüştür. Böylece, pozitif ve negatif belirtiler aynı model içinde açıklanabilmektedir [15]. Yeni bir bulgu olarak şizofreniklerde dopamin reseptör D2'den başka dopamin reseptör D4'de de artma tespit edilmiş olup farklı alttıplerde farklı reseptörlerin rolü olabileceği savunulmuştur [16].

Norepinefrin: Norepinefrin sisteminin, tek başına değilse de, diğer nörotransmitter sistemleriyle birlikte şizofrenide rol oynadığı düşünülmektedir [16, 21, 22]. BOS norepinefrin düzeyi özellikle paranoid belirtilerin baskın olduğu hastalarda yüksektir [15, 21]. Ancak, norepinefrin düzeyindeki anormallik şizofreniye özgü olmayıp, duygudurum bozukluklarında da görülmektedir [15].

Serotonin: Son yıllarda klozapin ile sağlanan başarı, serotonin şizofrenideki rolüne dikkat çekmektedir [18, 21, 22]. Yapılan çalışmalar, klozapinin serotonerjik etkinliği baskıladığını ve 5-HT₂ reseptörlerini bloke ettiğini göstermektedir. Klozapinin, klasik antipsikotiklere göre, D₂ reseptörlerine bağlanma oranı daha düşük, serotonin reseptörlerine bağlanma oranı ise daha yüksektir. Bu durum, şizofrenide, serotonin ve

dopamin sistemleri arasındaki etkileşimde bir bozukluk olduğu düşüncesine yol açmaktadır. BOS HVA (homovalinik asit) / 5HIAA (5-hidroksi indol asetik asit) oranı düşük bulunan hastaların klozapine daha iyi yanıt vermeleri, söz konusu düşüncüyü desteklemektedir [15]. Ayrıca serotonin reseptör yoğunluğu frontal kortekste şizofreniklerde kontrollere göre daha düşük bulunmuştur [16].

Glutamat: Bir glutamat reseptörü olan N-metil-D-aspartatı (NMDA) bloke ederek etki gösteren fensiklidinin şizofreninin pozitif ve negatif belirtilerini bir arada içeren bir klinik tabloya yol açması, glutamat sisteminin şizofrenideki rolüne dikkat çekmektedir [15, 20, 22]. Ayrıca, akut fensiklidin entoksikasyonu, sağlıklı kişilerde tıpkı şizofrenidekine benzer bir hipofrontaliteye yol açmakta ve frontal kortikal metabolizmayı düşürmektedir. Fensiklidin ile böyle farklı bir tablonun ortaya çıkması, dopaminden bağımsız bir şizofreni alt tipi olabileceğini düşündürmektedir [15].

GABA (Gaba amino bütirik asit): Benzodiazepinlerin antipsikotik ilaçlara eklenmesinin sağaltım etkinliğini artırdığını gösteren çalışmalar, GABA reseptörlerinin de şizofreni belirtilerinin oluşumunda rolü olduğunu düşündürmektedir. Nitekim şizofrenide, prefrontal ve singulat kortekste GABA-erjik nöron yitimi saptanmıştır [16] Bir başka çalışmadaysa, nöron yitimi saptanmamış, ancak prefrontal bölgede, GABA sentezinden sorumlu bir enzim olan glutamik asit dekarboksilaz'a ait mRNA düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir [15].

II.2. BİPOLAR BOZUKLUK

II.2.1. BİPOLAR BOZUKLUK TANIM

Bipolar bozukluk öforik uyarılma ve depresif gerileme ile kendini belli eden tanı konulması ve sağaltımı kolay farmakolojik sağaltımla sonlanımı iyi olan bir bozukluk olarak tanımlanmıştır [23]. Kraepelin zamanından beri psikoz-manyak-depresif (PMD) olarak bilinen bu hastalığa daha çok Amerikan DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: Mental bozuklukların tanımlanması ve sınıflandırılması el kitabı) etkisi ile artık bipolar duygudurum bozukluğu denilmektedir [24]. Bipolar bozukluklar DSM IV (Mental

bozuklukların tanımlanması ve sınıflandırılması el kitabı IV. baskı) sınıflamasına göre “Duygudurum Bozuklukları” içinde değerlendirilebilir [25]. Bipolar bozukluk birçok yerde bipolar affektif (duygudurum) bozukluk olarak adlandırılmasına karşın, bu bozukluklarda önemli patoloji kişinin o anki emosyonel içeriğinin dışavurumunda değil kişinin sürekli içsel durumu olan “mizaç (duygudurumu, mood)”tır [26].

II.2.2. BİPOLAR BOZUKLUK EPİDEMİYOLOJİSİ

Bipolar bozukluğa ilişkin çok farklı epidemiyolojik veriler bulunmaktadır. Özellikle zaman içinde tanımlama ve sınıflandırmalarda gerçekleşen değişiklikler buna kaynak oluşturmıştır. Oldukça fazla miktarda araştırmacının derlenmesine dayanan ve bipolar bozuklukla ilgili bugüne kadar yazılmış en geniş kapsamlı kitaplarda biri olan Goodwin ve Jamison'ın klasikleşmiş kitabında (Goodwin ve Jamison 1990) genel olarak çıkarılan sonuçlar şunlardır: Bipolar bozukluğun hemen her toplumda benzer bir yaygınlıkta (yaklaşık %1), görüldüğü bilinmektedir.

Bipolar bozukluğun kadın ve erkeklerde görülme sıklığı hemen hemen benzer iken kadınlarda genel olarak depresif hecmeler daha sık görülür. Bipolar bozukluğun ortalama başlangıç yaşı kadın ve erkekler arasında değişmez ve yaklaşık yirmili yaşların erken yıllarıdır. 40 yaşın üstünde ise daha nadir görülür. Bir diğer önemli özellik bipolar bozukluğun aynı aile üyelerinde görülme sıklığının oldukça yüksek olmasıdır. Her ne kadar unipolar depresyonda da genetik geçişe işaret eden bulgular varsa da, bu bipolar bozukluk için çok daha net ve yüksek orandadır.

Bipolar bozukluğa özgü değilse bile bu tanıyı alan hastalarda çok daha sık karşılaşılan bir durum da mevsimsellikdir. Bipolar depresyon dönemlerinin sonbahar ya da kış mevsimlerinde görülme oranı yüksektir.

Bipolar bozukluğun bir diğer önemli özelliği yineleyicilik özelliğidir. Bipolar hastalarda yinelemeler (episodlar) yüksek oranda görülmektedir.

Sosyo-ekonomik duruma ilişkin çelişen bulgular mevcuttur. Bu konudaki tartışmaların ötesinde, bipolar hastaların akrabalarında ekonomik ve yaratıcı üretkenliğin varlığı yaygın olarak gösterilmiştir [27, 28].

II.2.3. BİPOLAR BOZUKLUK ETİYOLOJİSİ

Bipolar bozukluğun etyolojisi bugüne kadar kesin olarak gösterilememiştir [29]. Hastalığın ortaya çıkmasında etkin olduğu ileri sürülen etkenler şöyledir:

a. Genetik Etkenler:

Psikiyatrik hastalıklar arasında genetik yönü en çok araştırılan hastalıklardan biri bipolar bozukluktur ve özellikle son yıllarda araştırmalar yoğunluk kazanmıştır. Aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları genetik etiyolojinin önemine dair güçlü kanıtlar vermiştir. Son 20 yıldır yürütülen moleküler genetik çalışmalarla bipolar bozuklukta etiyolojik önemi olan majör lokus belirlenmeye çalışılmıştır ve bu güne kadar yapılan çalışmalarla kalıtım modu ve majör lokus henüz kesin olarak belirlenememiştir. Yapılan çalışmalarda bipolar bozuklukla ilişkili bazı kromozomal hassasiyet bölgeleri ve aday genlerle ilişkinin kanıtları bulunmuş ancak hiçbirisi kesin olarak ilişkilendirilememiştir [30, 31].

Moleküler genetik alanındaki çalışmalar, çelişkili sonuçlar vermiştir. Bipolar bozukluk ile 5, 11, 18 ve X kromozomları için bağlantı bildirilmiştir. 18p bölgesindeki bir lokusun hastalıktan sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir.

Genetik geçişin biçimi henüz aydınlatılamamıştır. Ancak bunun çok sayıda genle ilişkili olduğu, bunlardan bazılarının hastalığa yatkınlık için daha fazla bir etkinlikte olduğu ve çevresel faktörlerin sorumlu olduğu karmaşık bir geçiş düşünülmüştür. Bulgular; bipolar bozukluğun klasik mendel genetik yasalarıyla kalıtsal geçiş göstermediğini ve tek bir genetik alanla belirlenen dominant geçişe de uymadığını birden fazla geni ilgilendiren ve birçok işlevsel etkenin rol oynadığı bir kalıtım ile genetik geçiş gösterdiğini desteklemektedir [32].

b. Nörotransmitter Çalışmaları:

Son zamanlarda duygudurum bozukluklarında nörotransmitter etkinliğinin niceliğinden çok reseptörlerin yoğunluğu ve duyarlılığı (sensitivitesi) üzerinde durulmaktadır.

Noradrenerjik sistem: Mani oluşumunda noradrenerjik

aktivasyondan ve "noradrenerjik-kolinerjik" sistemler arasındaki denge bozukluğundan, kolinerjik yetersizlikten söz edilmektedir. Sağaltım ve korumada lityum nörotransmitter salınımını azaltır ve geri alınımını (reuptake) artırır.

Serotonerjik Sistem: Serotonin öncüsü olan L-triptofan, yüksek dozlarda verildiğinde mani benzeri tablo oluşturmaktadır [33]. Serotoninin uyku - uyanıklık, yeme isteği, libido, beden ısısı gibi işlevlerde önemli düzenleyici görevi vardır. Serotonin, adrenalin ve dopamin ile birlikte amaçlı devinim işlevlerinde, saldırgan davranışların kısıtlanmasında etkin yer alır [24].

Manide dopaminerjik sistem aktivitesinde uyarılma vardır [34]. Dopamin aktivitesinin genel olarak depresyonda düştüğü manide yükseldiği düşünülmektedir [29]. Asetilkolinin sinaptik salınımın depresyon, bunun azalmasının ise mani ile ilgili olduğu düşünülmektedir [34]. GABA gibi aminoasit nörotransmitterlerin ve özellikle vazopresin ve endojen opiyatlar gibi nöroaktif peptidlerin duygudurum bozukluklarının fizyopatolojisinde rol oynadığı düşünülmür [29].

c. İyon Sistemleri

Sodyum: Manik epizod sırasında hücre içi sodyum düzeyinin arttığı, iyileşme döneminde ise normale döndüğü gözlenmiştir [34].

Kalsiyum: Kalsiyumun nöral iletide çok önemli bir rolü vardır. Kalsiyum kanal blokörlerinin antimanik etkinliğinin olması da, kalsiyumun etyolojideki rolünü desteklemektedir [34].

d. Nöroendokrin Düzenleme

Hipotalamus nöroendokrin düzenlemenin merkezinde yer alır ve bir çok nörotransmitterden gelen nöronal uyarıyı alır. Mizaç bozukluğunun nedeni açısından teorik olarak nöroendokrin aksın kısmi bozukluğundan bahsetmek mümkünse de (örneğin tiroid aksı, adrenal aks), düzensizliklerin temel beyin bozukluğunu yansıtır olması daha sıklıkla düşünülmektedir [29]. Duygudurum bozuklukları ile ilgili majör nöroendokrin akslar adrenal, tiroid, ve büyüme hormonu akslarıdır [29]. Büyüme hormonu yanıtının azalması, LH salgısında azalma, vazopressin ve kalsitonin salgısında bozukluklar depresyonda izlenmektedir. Bipolar olgularda TRH'a TSH cevabı

artmaktadır. Depresyonda TRH'a TSH yanıtı azalır ve serum T4 düzeyi yükselir, hipertiroidide duygudurum kamçılanırken, hipotiroidide çökkünlük sık görülür. Nöroendokrin dizgenin bozukluklarında en iyi belirlenmiş olan, hipofizden ACTH salgılanmasının artmasıyla birlikte ACTH'a karşı sünrenal duyarlılığın da artması ve buna bağılı olarak plazma kortizol düzeylerinde yükselme görülmesidir [24].

e. İmmünolojik Etkenlerin Rolü

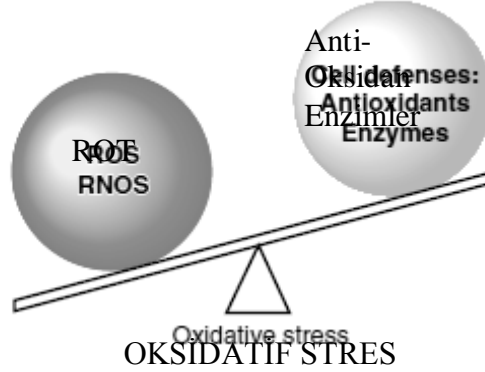
İmmun sistem tarafından üretilen bazı sitokinler (örneğin; interlökin-1, interlökin-6, tümör nekrozis faktör (TNF), interferon alfa, beta, gama vb.) bağıışıklık sistemindeki rollerinin yanı sıra nörotransmitter benzeri roller de üstlenirler.

Yüksek Interlökin-1 serum düzeyi ile oluşan "hastalık davranışı sendromu" belirtileri, depresyonun bazı vejetatif belirtilerine benzemektedir. Hastalık davranışı sendromunda depresyon sırasında hücresel bağıışıklık sistemi baskılanmaktadır. Bipolar bozuklukta hem depresif hem manik epizodlarda hücresel immünitede artış gözlenmektedir [34].

II.3.OKSİDATİF STRES

Yapısında bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atomik veya moleküler yapılara "serbest radikaller" denir. Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelebildiğı gibi (mitokondride gerçekleşen elektron-transport reaksiyonları, P450 metabolizması, peroksizomlarda gerçekleşen reaksiyonlar, inflamatuvar hücre aktivasyonları vb.), çeşitli dış kaynaklı etkilerle de (UV ışınları, X-ray, sigara, çevresel toksinler, farmakolojik tedaviler) oluşabilir. Serbest radikaller organizma için zararlıdır ve genel olarak "oksidanlar" olarak adlandırılırlar. "Oksidanlar" dediğimiz bu yıkım ürünlerinin yol açtığı biyolojik hasarlar için "oksidatif stres" tanımı kullanılmaktadır. İleri derecede tepkici serbest radikal olan veya hücrede kolayca bu serbest radikallerine çevrilen oksijen içeren bileşikleri tanımlamak için reaktif oksijen türleri (ROT) tanımlaması kullanılmaktadır [35]. Canlı organizmada oksidanların zararlı etkilerine karşı "antioksidanlar" dediğimiz savunma düzenekleri vardır [36-38]. Oksidatif stres de oksidan ve

antioksidan sistemlerin dengeye ulaşmadığı; yani serbest radikal üretiminin, sistemin reaktif araçları detoksifiye etmekteki kabiliyetini aştığı durumlarda oluşmaktadır [39] (Şekil 1).



Şekil 1. Oksidatif stres [35]

Oksidatif stres günümüzde birçok hastalığın patofizyolojisinde (kardiyovasküler hastalıklar, pulmoner hastalıklar, diabetes mellitus, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser) suçlanmaktadır [40]. Oksidatif stresin genellikle protein, lipid ve DNA metabolizması üzerindeki toksik etkilerinden dolayı hastalıklara yol açtığı savunulmuştur [41]. Reaktif oksijen türleri (ROT) aşırı miktarda üretildiğinde veya enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında zincirleme tepkimelerle hücre hasarı veya ölümü gerçekleşebilir [42]. Ayrıca artmış ROT'lar nörotransmitterlere, hormonlara ve birçok mediatöre etki ederek hemostatik mekanizmayı bozabilirler [37].

Birçok psikiyatrik hastalıkta oksidatif stresin önemli bir etken olabileceği gösterilmiştir [6, 39, 42]. Özgül oksidanların bir kısmı metabolizmadaki başka bileşenlerin "istenmeyen" artışlarına neden olabilir ve bu durum psikiyatrik bozukluklarda özgül belirtilere neden olabilir.

II.3.1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Hidroksil Radikali (OH^\bullet)

Süperoksit Anyonu ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)

Nitrojen dioksit (NO_2^\bullet)

Nitrik Oksit (NO)

Hipoklorik Asit (HOCl)

Peroksinitrit (ONOO⁻)

Singlet O₂

Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Peroksil Radikali (ROO[•])

II.3.2. Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikal oluşturan kaynaklar ekzojen ve endojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Serbest radikaller, ekzojen nedenlerle oluşabilir. Diyet faktörleri, çevresel faktörler (hava kirliliği), ilaçlar, ksenobiyotikler ve zararlı ışınlar (X-ray, U.V.) en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynaklarıdır. Endojen serbest radikal üretim kaynakları ise endoplazmik retikulum, redoks döngüsü, mitokondriyal elektron transport sistemi, araşidonik asit metabolizması, fagositoz, otooksidasyon, oksidan enzimlerin reaksiyonlarıdır [6, 36, 37].

II.3.3. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri:

1. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller histidin, triptofan, sistein, prolin, tirozin, metiyonin, arjinin ve lizin içeren aminoasit kalıntılarını hasara uğratabilir ve karbonil ürünleri oluşmasına neden olabilir. Ayrıca radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olurlar [43, 44]. Ayrıca reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin aşırı artması kritik enzimlerin inaktivasyonuna ve hücre ölümünü indükleyen kinaz ve kaspaz yollarının aktivasyonuna neden olabilir [45]. Yine serbest radikal saldırısı ve tripeptid glutatyonun (γ-glutamil-sisteinil-glisin) sistein sülfidril gruplarının oksidasyonu, hücrenin serbest radikal örsentisine karşı kullandığı savunmanın önemli bir bileşeni olan glutatyonu azaltacağından, tüm hücre üzerindeki oksidatif harabiyeti artırır [35].

2. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipidler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyonu, doymamış yağ

asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır [46].

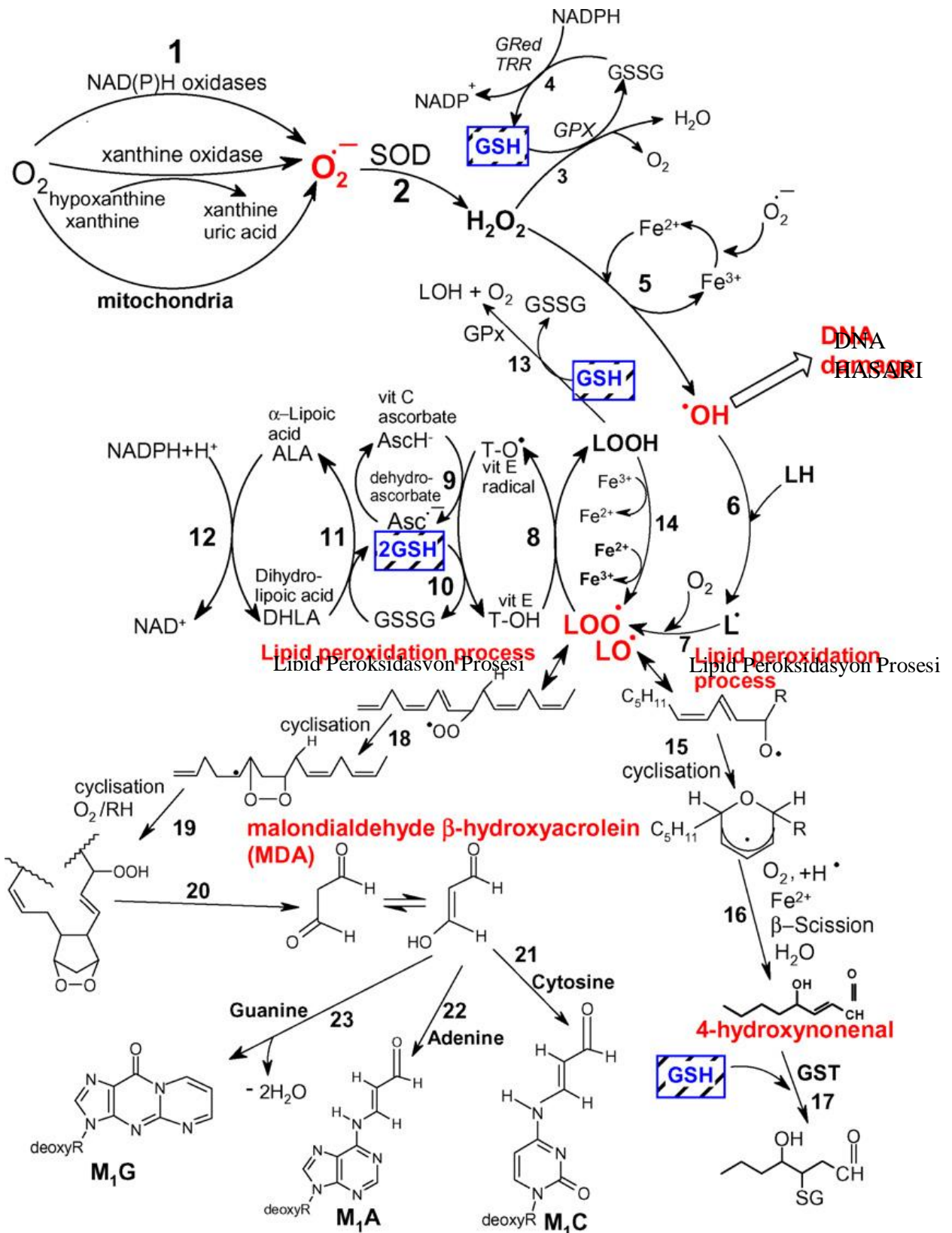
Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum,vs.) membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdırlar. ROT'lar ile hücre hasarı meydana gelirken lipid-serbest radikaller ve lipid peroksitler de oluşmaktadır. Bu tip reaksiyonlar "Serbest Radikal Otoksidasyonu" olarak isimlendirilir ve zincirleme reaksiyonun başlatılması için bir tetikleyici (başlatıcı) faktör gereklidir. Sözü edilen bu faktörün OH^{\bullet} radikali olduğu kabul edilmektedir [6]. Hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir ve RH'dan yeniden bir hidrojen atomunun ayrılmasını sağlar. Bu başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder. Birçok olayda bu şekilde oluşan lipid peroksiti RO^{\bullet} ve OH^{\bullet} verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan R radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur [46] (Şekil 2).

Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar arasında en önemlilerinden olan lipid peroksidasyonu, membran yapısında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksijen radikallerine maruz kalması sonucunda ve dört aşamada oluşur:

Lipid peroksitlerinin konsantrasyonları arttıkça, membranların akışkanlıkları azalır ve kalsiyum gibi iyonların hücre içine geçişi kolaylaşır ve hücre fonksiyonlarında bozukluklar ortaya çıkar.

Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan bileşiklerden aldehitler en toksik olanlarıdır ve diğer hücre bölümlerine de yayılarak hasara neden olurlar. Nonenzimatik oksidatif lipid peroksit dekompozisyonu sonucu malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) oluşur (Şekil 2). MDA'in asıl kaynağı ikiden fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otoksidasyonunda ve eikozanoid

sentezinde serbestleşen endoperoksitlerdir. MDA, protein amino gruplarına, fosfolipidlere ve nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir. Membran bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olur. Membranlardan kolaylıkla difüze olarak, DNA yapısında yer alan nitrojen bazlarla reaksiyona girer ve mutajen, karsinojen, genotoksik etkiler gösterir. Lipid peroksidasyonunun ölçümü doku hasarının iyi bir göstergesi kabul edildiğinden; peroksidasyon sırasında oluşan konjüge dienlerin ölçümü, in vivo lipid peroksit düzeyini yansıtabilecek önemli bir yöntemdir. MDA miktarının tiyobarbitürik asit testi ile ölçümü bu amaçla kullanılmaktadır [6].

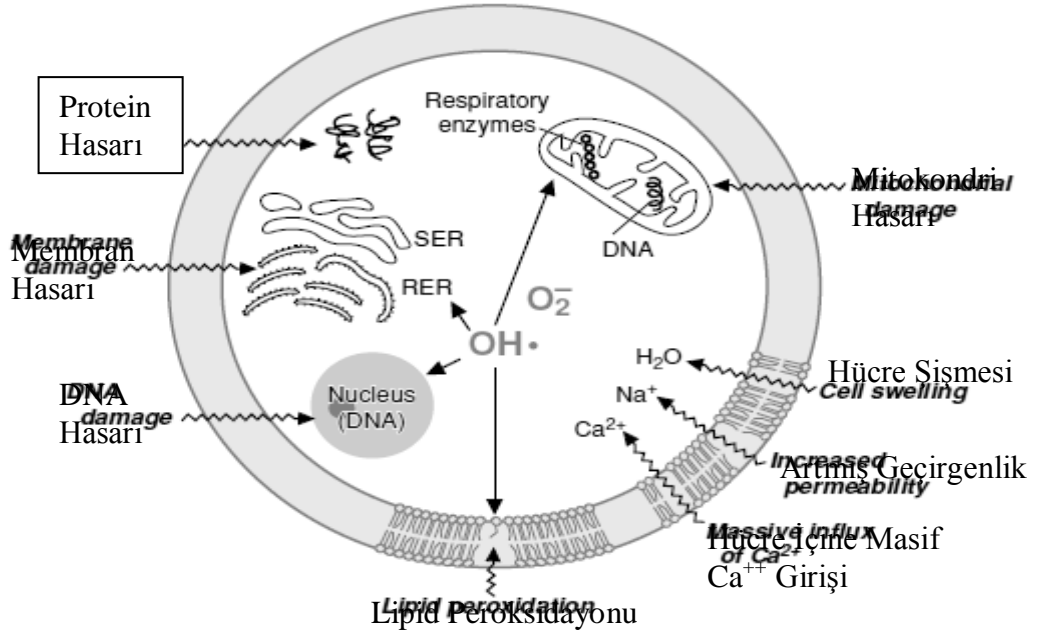


Şekil 2. Reaktif oksijen türlerinin üretimi ve lipid peroksidasyonu prosesi

[47]

3. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Normal metabolizma tarafından ya da ekzojen kaynaklarla oluşan serbest radikaller oksidatif DNA hasarına yol açarak mutageneze, karsinogeneze ve yaşlanmaya neden olurlar. DNA hasarlarının oluşumunda büyük oranda hidroksil radikali; baz ve şeker modifikasyonları, dizi kırıkları ve DNA-protein çapraz bağları mekanizmalarını kullanarak görev alır [45, 48].



Şekil 3. Serbest radikal aracılı hücre harabiyeti [35]

II.3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta “antioksidan savunma sistemi” adı verilen birçok savunma mekanizmaları mevcuttur. Hücreler savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı koymaktadır. Savunma sistemleri serbest radikal tutucuları ve bazı enzimlerden oluşmaktadır. Savunma sistemlerinde öncelikle enzim sistemleri etkili olmaktadır. Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılır.

A. Enzimatik Antioksidanlar

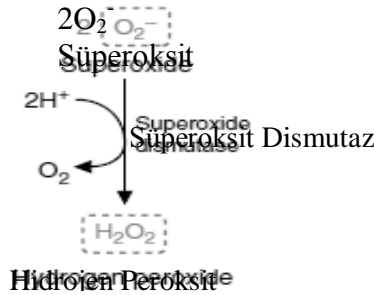
1. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)
2. Süperoksit Dismutaz (SOD)
3. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz
4. Katalaz
5. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)
6. Glutatyon Redüktaz

B. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1. Vitamin C (Askorbik Asit)
2. Karoten (Vitamin A ön maddesi)
3. Vitamin E (α -Tokoferol)
4. Melatonin
5. Diğerleri; Seruloplazmin, albumin, ürik asit, bilirubin, haptoglobulin, transferrin, selenyum vs. [6]

II.3.5 Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD'lar bir grup metalloenzim olup süperoksit anyonunun hidrojen perokside dismutasyonunu katalizler (Şekil 4).



Şekil 4. Süperoksit radikalinin SOD tarafından dismutasyonu [35]

SOD organizmada mitokondri, sitozol ve ekstraselüler alanda bulunur ve tek bilinen substratı süperoksit radikalidir. Süperoksit radikaline bağlı yıkıma karşı savunmada ilk adım olarak bilinen SOD enzimleri aktif bölgelerinde transisyon metali (Fe, Mn, Cu) içerirler.

SOD'un üç temel formu vardır:

SOD-1: Cu-Zn bağımlı SOD, sitoplazmada bulunur.

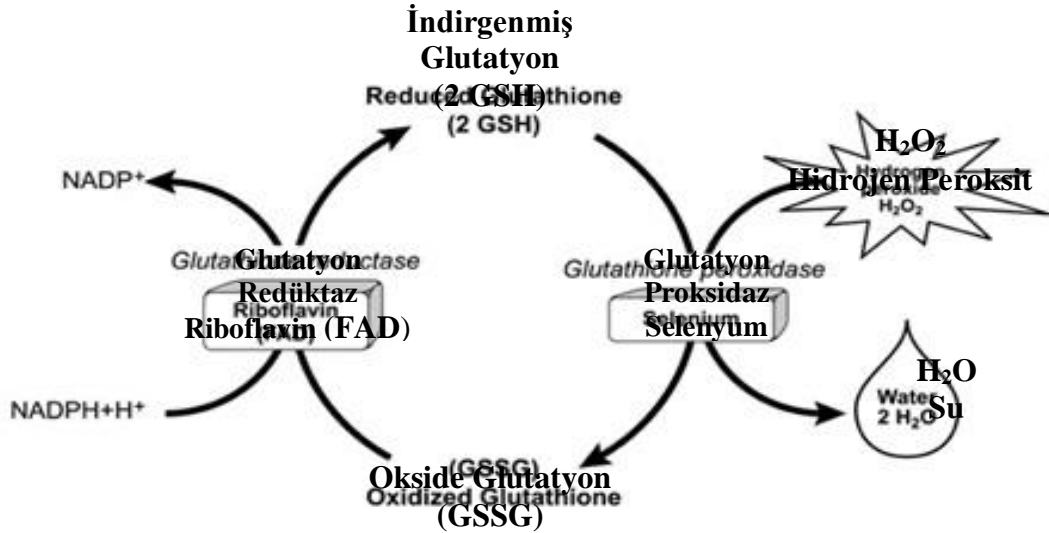
SOD-2: Mn bağımlı SOD, mitokondride bulunur

SOD-3: Ekstraselüler SOD [49].

SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz; oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. SOD ile $O_2^{\bullet-}$ 'nin dismutasyonu ile H_2O_2 çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H_2O_2 çıkarılması için SOD; katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile birlikte çalışır [50].

II.3.6. Total Glutatyon

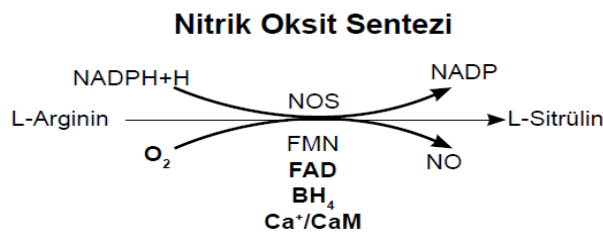
Glutatyon (GSH); glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan ve hücrel antioksidan savunmada görev alan başlıca tiyol bileşiğidir. Beynin majör antioksidan sistemini oluşturarak oksidatif strese anahtar bir rol oynar. Hücrelerde toplam GSH, serbest veya proteine bağlı biçimde bulunabilir. Serbest GSH'ın büyük bir kısmı indirgenmiş haldedir ve oksidatif stres ile oksitlenmiş biçimine (GSSG) dönüşür. GSH, hidrojen peroksiti GSH peroksidaz aracılığıyla detoksifiye eder ve GSSG bu aşamada oluşur. Yeni bir antioksidan savunma için glutatyon redüktaz enzimi aracılığı ile yeniden indirgenmesi gerekir. Glutatyonun redoks düzeyi, indirgenmiş ve oksitlenmiş düzeylerinin oranına (GSH / GSSG) bağlıdır (Şekil 5). Bazal düzeyde GSH / GSSG oranı 100'ün üzerindedir, ancak birçok oksidatif stres modelinde bu oran 1–10 arasında değişim göstermektedir. Bu tripeptidin önemli görevleri, hücreleri reaktif oksijen türevlerinden korumak ve hücre içi redoks dengesini sağlamaktır. Ayrıca hücre membranlarının stabilizasyonu, DNA, protein sentezi, aminoasitlerin taşınması ve ksenobiyotiklerin uzaklaştırılması gibi fizyolojik süreçlerde de görev almaktadır [39, 51].



Şekil 5. Glutasyon oksidasyon-redüksiyon (redoks) döngüsü [52]

II.3.7. Nitrik Oksit (NO)

NO, arginin ve oksijeni, sitrullin ve NO'e çeviren bir reaksiyonda nitrik oksit sentaz (NOs) enzimi tarafından oluşturulur (Şekil 6). Nitrik oksit (NO), nitrojen ve oksijenin her birinin bir atomundan oluşmuş küçük bir moleküldür. NO oldukça reaktif, yarılanma ömrü 2-30 sn olan radikal bir molekül olup, sinyal iletildikten sonra spontan olarak nitrite dönüşür. NO sentezi FAD, FMN, NADPH, tetrahidrobiopterin ve hem dahil çeşitli kofaktörler arasında elektron transferini içerir [53]. NO bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır [54]. Fakat tıpkı O₂ gibi yaşam için hem esansiyel, hem de toksiktir. Düşük derişimlerde iken fizyolojik olarak bir nörotransmitter ve vazodilatasyona neden olan bir hormon olarak görev yapar. Öte yandan, yüksek derişimde bulunacak olursa reaktif nitrojen türleri (RNT) gibi toksik ve tepkici türler oluşturmak üzere O₂ ve süperoksitle birleşir.



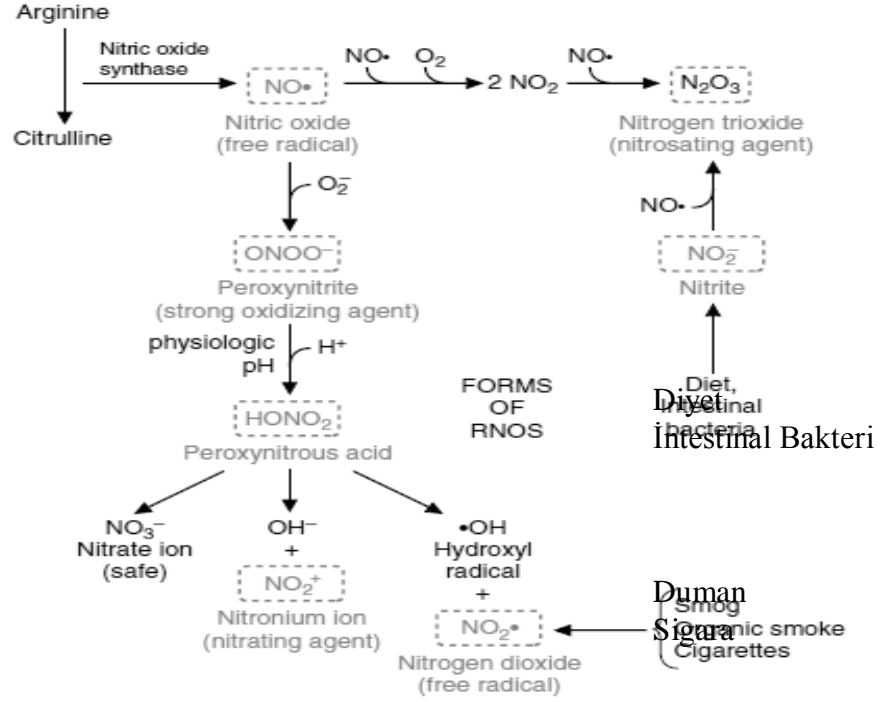
Şekil 6. NO sentezi [6]

Memelilerde NOs'ın 3 izoformu tanımlanmıştır: nöronal (nNOs), endotelyal (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) [55]. Birçok hormon ve ilaçlar hücre içi etkilerini hücre yüzeyinde spesifik reseptörlere bağlanarak ve hücre içi siklik AMP konsantrasyonunu artırarak gösterirken, NO hücre membranını geçerek Fe ve / veya sülfür içeren proteinlere bağlanarak etki göstermektedir. NO, özellikle nöronlar ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive eder. Guanilat siklaz ise GTP'den, bir ikincil haberci olan siklik GMP (cGMP) oluşumunu artırır. cGMP kendine uyan (kas gevşemesi, sinapstan uyarı akışı gibi) hücre içi prosesleri regüle eder. Böylece NO, guanilat siklaz aktivitesini etkileyerek damar dilatasyonu, sinirlerden uyarı geçişi gibi fonksiyonları gerçekleştirmektedir. Endotel kaynaklı NO, damar düz kaslarının gevşemesini sağlayarak kan akışı ve basıncının ayarlanmasını sağlamaktadır. Bu etki sistemik dolaşımda meydana geldiği gibi lokal olarak kalp, beyin, karaciğer, gastrointestinal sistemlerde gözlenebilmektedir. NO'nun, cGMP'den bağımsız olarak kullandığı diğer sinyal iletim mekanizmaları; glikolitik yolağın bir enzimi olan gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz'ın (GADPH) ADP-ribozilasyonu ve hem içeren ve non-hem demir-sülfür içeren proteinlerle olan etkileşimlerini içermektedir. NO, GADPH'a ADP-riboz transferini katalize eden, ADP-riboziltransferazı aktive eder. Bu GADPH'ın inaktive olmasına yol açarak glikolizin ve ATP üretiminin inhibe olmasına neden olur. NO'nun trombosit agregasyonunu engelleyici ve nörotoksisite etkisi glikolizi inhibe edici etkisi ile ilişkilendirilmiştir [56].

NO, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonları destekleyen bir nörotransmitter olarak etki etmektedir. Periferik sinir sisteminde ise nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilatasyon, solunum, genitoüriner ve mide barsak fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır [54].

NO metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp azot dioksidi (NO_2^\bullet) oluşturur. NO'nun ROT'lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO^-) oluşturduğu ve bunun da ileri dekompozisyonla OH^\bullet radikalinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmektedir (Şekil 7). OH^\bullet radikali ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik aminoasitleri nitratlayarak toksik nitro-türevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır.

Sonuç olarak NO, endotel hücre fonksiyonunu etkilemekte ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon, şizofreni, bipolar bozukluk ve DM gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir.



Şekil 7. NO ile reaktif nitrojen türlerinin oluşumu [56]

II.3.8. Malondialdehid (MDA)

MDA poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan temel zincir reaksiyonlarının yıkım ürünüdür ve oksidatif stres için güvenilir bir belirteçdir [57]. MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki edip membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir. Bu nedenle mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir [58].

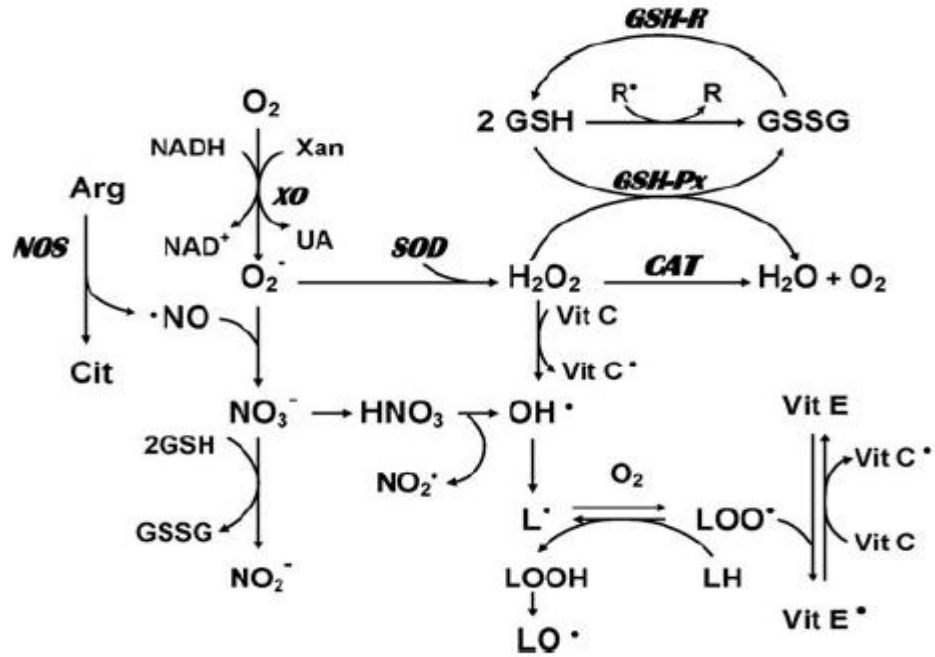
Lipid peroksidasyon ürünlerinin, toksik etkileri bulunmaktadır. Bu ürünlerin zarları geçebilme özelliğinde olması, lipid peroksidasyonunun hedef organ üzerindeki etkilerinden sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

Bu son ürünlerden özellikle aldehitler daha toksik etkilidirler. Bu son ürünler yüksek konsantrasyonda hücre ölümüne neden olmakta,

mitokondriyal solunum, monooksijenaz sistem fonksiyonları, protein sentezi gibi önemli fonksiyonlar inhibe etmektedir [59].

MDA ölçümü için kullanılan tiobarbitürik asit (TBA) reaksiyonu, kolaylığı ve duyarlılığı nedeniyle en çok kullanılan yöntemdir. MDA'ya dönüşüm asidite, ısı, reaksiyon zaman gibi birçok çevresel durumdan etkilenir [60].

Plazma MDA düzeyinin belirlenmesi, serbest oksijen radikallerinin dokularda oluşturduğu lipid peroksidasyonunun, dolayısıyla oksidatif stresin en duyarlı göstergelerinden biridir. Oksidatif stres, serbest radikaller ile antioksidan sistem ve aralarındaki korelasyon son yıllarda giderek ilgi odağı olmuş, oksidatif stresin göstergesi kan MDA düzeyleri ve antioksidan biyokimyasal parametreler bir çok hastalıkta araştırılmaktadır.

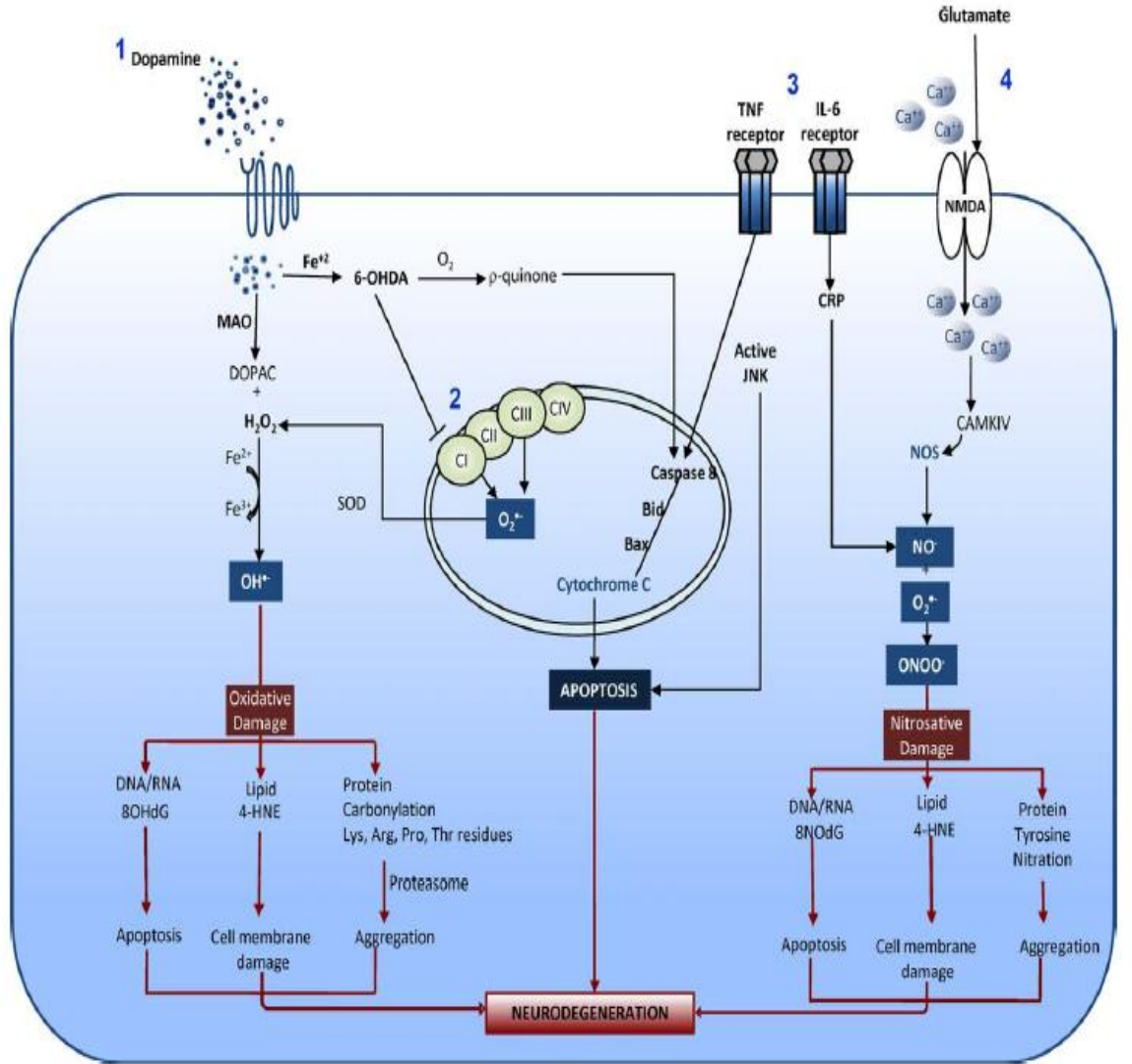


Şekil 8. Oksijen ve nitrojen serbest radikallerinin muhtemel üretim ve ortadan kaldırılma mekanizmalarının genel görünümü [61]

II.3.9. Psikiyatrik Bozukluklar ve Oksidatif Stres

Son zamanlarda psikiyatrik bozukluklarda oksidatif dengenin rolü ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda şizofreni, otistik bozukluk, iki uçlu bozukluk, depresyon, panik bozukluk ve erişkin dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunda oksidatif dengenin bozulduğu, bazı

hastalıklarda remisyon zamanında bile bu dengesizliğin devam ettiği, bir kısım özgül belirtilerle ilişkili olduğu ve bazılarında ise tedavi ile düzeldiği görülmüştür [38, 62]. Psikiyatrik hastalıklarda dopamin ve norepinefrin gibi katekolaminlerin oksidasyonu ve glutamatın aşırı artışı oksidatif strese artışa neden olmaktadır [63]. Örneğin dopaminin enzimatik metabolizması sırasında gerçekleşen dopamin oto-oksidasyonu ile oluşan dopamin kinonları ve superoksit, hidrojen perosit oluşumuna neden olarak ROS oluşumuna katkıda bulunmakta; bu da SOD ve glutatyon gibi antioksidan enzimlerin düzeylerini düşürmektedir [45]. Glutamatın toksik düzeyleri ise nöron hücrelerine Ca^{++} girişini ve güçlü bir oksidan olan NO üretimini artırmaktadır [64] (Şekil 9).



Şekil 9. Psikiyatrik hastalıklarda rol alan potansiyel yollar [64]

Beyin, antioksidan enzimleri göreceli olarak daha az içermesi ve buna ek olarak ROT / RNT oluşumunu katalizleyen metal iyonlarını (demir, bakır, çinko ve mangan) yüksek oranda içermesinden dolayı oksidatif hasara özellikle hassastır. Ayrıca total vücut ağırlığının %2'sini kaplasa da, oksijen tüketiminin %20'sinin gerçekleştiği beyin, yüksek konsantrasyonlarda çoklu doymamış yağ asidi içerdiğinden oksidatif hasara diğer organlardan daha duyarlıdır [45].

Beyinde artan oksidatif stres DNA hasarına, lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranı akışkanlığında azalmaya, hücre zarı proteinlerinde (enzim ve nörotransmitör reseptör işlevlerinde) bozulmaya yol açarak psikiyatrik hastalıkların etiyolojisinde rol alıyor olabilir.

II.4. NÖROTROFİN-4

Nörotrofik faktörler, nöronların hayatta kalmalarında, yaşamlarını sürdürebilmelerinde, işlevlerini yerine getirebilmelerinde ve nöroplastisitede oldukça önemli rollere sahiptir. Nörotrofik faktörlerin en çok bilineni ve en eskisi sinir büyüme faktörüdür (NGF). Daha sonra BDNF ve diğerleri bulunmuştur ve süreç devam etmektedir. Bugüne kadar yaklaşık 20 adet nörotrofik faktör bulunmuş, her birinin merkezi sinir sistemi işlevlerinde üstlendikleri roller, ayrıntılı biçimde incelenmiştir [65]. Özellikle bipolar bozuklukta BDNF'nin azaldığı, nörotrofin-3 ve GDNF'nin akut mood episodlarında arttığı tespit edilmiştir [13].

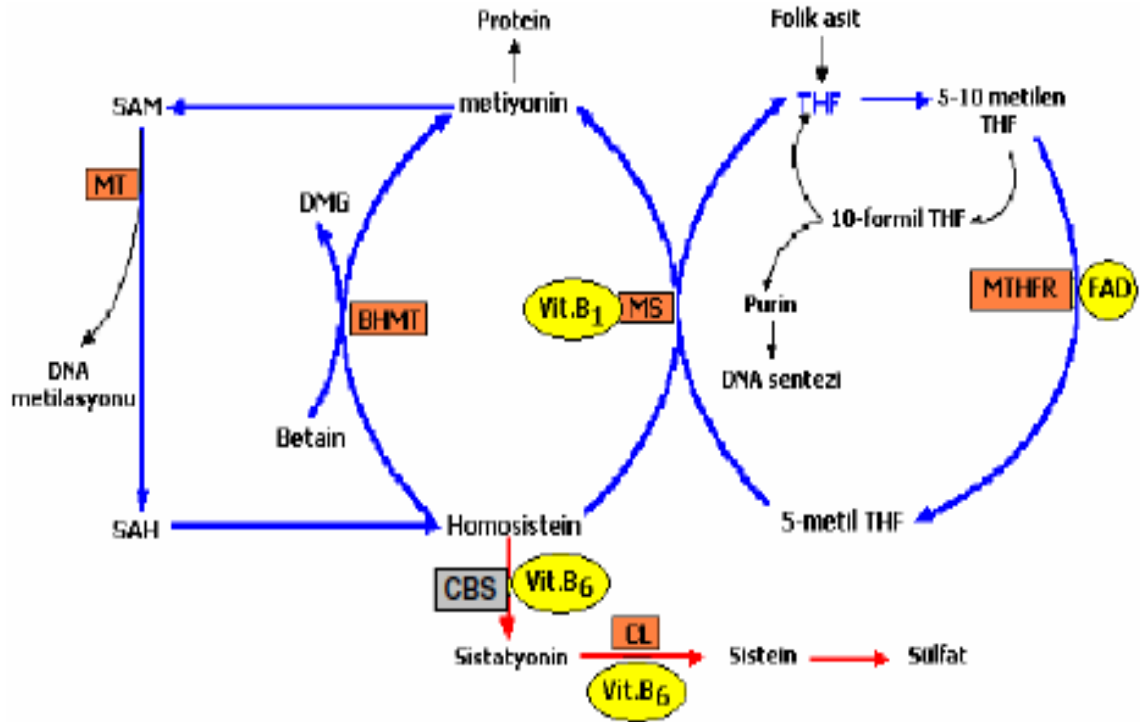
Nörotrofin-4 de bu trofik faktör ailesine mensuptur ve muhtemel olarak BDNF'den daha etkili bir biçimde dopaminerjik nöronları koruduğu ve oksidatif strese karşı aktif bir koruma sağladığı ortaya konmuştur. Dopaminerjik disregülasyonun bulunduğu hastalarda nörotrofin-4'in incelenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

II.5. HOMOSİSTEİN

Homosistein, metionin metabolizması sırasında oluşan, sülfür taşıyan ve tiol bileşiklerinin metabolik yollarında merkezi görev üstlenen bir amino asittir. İlk kez 1932 yılında DuVigneaud tarafından sentezlenmiştir [66-68].

Direkt olarak diyetle bulunmamasına rağmen esansiyel bir aminoasit olan metiyoninin sisteine metabolize olması sırasında oluşan bir ara üründür [66, 68]. Sistein sentezinde transsülfürasyonda, metiyonin sentezinde remetilasyonda ve DNA'nın, proteinlerin, lipidlerin ve küçük hormonal ve nöronal sinyal moleküllerinin transmetilasyonu gibi birçok metabolik yolda görev alır. Vücuttaki homosistein transsülfürasyon veya yeniden metilasyon (remetilasyon) yollarından birini kullanarak metabolize olur (Şekil 10). Transsülfürasyon yolunda; vitamin B6 bağımlı bir enzim olan sistasyonin β sentaz (CBS) enzimi görev yapar. Homosistein CBS katalizörlüğünde sistasyonine, o da sisteine hidrolize olur. Bu sistein de daha sonra sülfata hidrolize olarak idrarla atılır.

Remetilasyon yolunda; homosisteinden, metiyoninin yeniden sentezi (remetilasyon) iki farklı yolla gerçekleşir. Kısa yolda; betain homosistein metil transferaz enzimi, bir metil vericisi olan betainin metil grubunu, homosisteine aktararak metiyonin oluştururken kendisi dimetilglisine dönüşür. Uzun yolda ise 5-metiltetrahidrofolat, bir metil grubu vericisidir. 5-10 metilentetrahidrofolat, metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aracılığıyla 5 - metiltetrahidrofolata dönüşür. 5 - metiltetrahidrofolatın bir metil grubu, kobalamin (vitamin B12) bağımlı enzim olan metiyonin sentaz aracılığı ile homosisteine aktarılarak metiyonin oluşturulurken diğer taraftan da tetrahidrofolat meydana gelir. Bu tetrahidrofolat tekrar 5-10 metilentetrahidrofolata dönüşür [68]. Homosistein vücutta transsülfürasyon ve transmetilasyon reaksiyonlarına girer ve metabolizması kofaktörleri ile yakından ilişkilidir. Üç vitamin; vitamin B6, vitamin B12 ve folik asit homosistein metabolizmasında kofaktördür. Şekil 10'da homosistein metabolizması, transsülfürasyon ve remetilasyon reaksiyonları özetlenmiştir [69-73].



Şekil 10. Homosisteinin transsülfürasyon ve remetilasyon metabolize yolları [74]

Normal bireylerde homosisteinin %1-2'den daha azı serbest, %20-30'u diğer tiollerle (sistein veya redükte glutatyon) dimerler şeklinde ve %70-80'i de proteinlere bağlı olarak (disülfid bağları ile) bulunur. Sağlıklı kişilerde normal homosistein konsantrasyonu 5-15 $\mu\text{mol/L}$ 'dir. 16-30 $\mu\text{mol/L}$ hafif, 31-100 $\mu\text{mol/L}$ orta ve 100 $\mu\text{mol/L}$ üzeri ağır hiperhomosisteinemi olarak kabul edilmektedir [66, 75].

Serebral [76], koroner [77, 78] ve diğer vasküler hastalıklarda folat hemostazı ve homosistein metabolizması arasındaki ilişki çok önemlidir. Hiperhomosisteinemi vücutta fazla miktarda homosistein bulunması anlamına gelir ve folat ve vitamin B12 eksikliği ve çeşitli hastalıklarla ilişkilidir [66].

Plazma homosistein düzeyini arttıran faktörler:

1- Genetik:

Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzim defekti

Sistatyonin β sentaz (CBS) enzim defekti

Metiyonin sentaz enzim eksikliği

Down sendromu

Vitamin B12 transport veya koenzim sentez bozukluğu

2- Fizyolojik:

Yaşlılık

Erkek cinsiyet

Glomerüler filtrasyon hızında azalma

Menapoz

3- Yaşam Tarzı:

Sigara kullanımı

Kafein alımı

Sedanter yaşam

4- Hastalıklar:

Pernisiyöz anemi (vitamin B12 eksikliği)

Folat eksikliği

Vitamin B6 eksikliği

Böbrek yetersizliği

Hipotiroidi

Akut lenfoblastik lösemi

Diyabetes mellitus

Psöriazis

5- İlaçlar:

Folat antagonistleri (fenitoin, karbamazepin)

Dihydrofolat redüktaz inhibitörü (metotreksat)

Nitrik oksit (metiyonin sentaz inaktivatörü)

Vitamin B12 antagonistleri

Vitamin B6 antagonistleri (metilksantin)

Antiepileptikler

Diğerleri (L-dopa, kolestiramin, niasin) [68, 79].

Homosisteinin vücutta dört biyolojik işlevi vardır:

1- Sistationin ve sisteinin öncülüdür.

2- Metioninin korunmasında aracı olarak çalışır.

3- Kolin metabolizmasında zorunlu bir tepkime olan betain homosistein metil transferaz reaksiyonunda metil alıcısı olarak görev görür.

4- Doku folatının resiklusunda esansiyel bir substrattır [66, 67].

Homosistein endojen bir bileşiktir ve fizyolojik düzeylerden daha yüksek serum düzeylerinde nörotoksiktir. Yüksek homosistein düzeylerinin tıkaçıcı damar hastalıkları için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir [80]. Homosistein; oksidatif stres [81], DNA hasarı, apoptozisin uyarılması ve eksitotoksisite gibi nörodejenerasyonun bütün önemli mekanizmalarında işe karışır [82]. İnme hastaları ile yapılan bir çalışmada plazma homosistein düzeylerinde artışın, artmış oksidatif hasarın yansıması olabileceği öne sürülmüştür [80]. Homosistein özgül membran taşıyıcıları aracılığıyla hızla nörona alınır ve hücre içi homosistein düzeyi artar. Beyinde betain remetilasyon ve transsülfürasyon reaksiyonları olmadığı için homosisteinin zararlı etkilerine özellikle duyarlıdır [82].

Kuramsal olarak homosistein ve okside formlarının yüksek beyin düzeyleri, nörotransmisyonu değiştirebilir ya da NMDA reseptör ekspresyonu ile eksitotoksisiteyi indükleyebilir. İkinci bir mekanizma olarak hiperhomosisteinemi homosistein ve tek karbon metabolizmasındaki bir bozukluğa işaret eder ve homosistein artışı hücre içi S-adenosil homosistein konsantrasyonlarında artışa neden olur ki, bu bileşik biyojenik aminlerin O-metilasyonu, "myelin basic protein" metilasyonu ve fosfotidil kolin sentezini de içeren bir takım işlevler için hayati önemi olan birçok metilasyon reaksiyonunun potent inhibitörüdür [69]. Üçüncü olarak hiperhomosisteinemi ile tıkaçıcı damar hastalıkları [83] arasındaki ilişkiyi temel alır ki bu damar duvarındaki hasara ya da kanın pıhtılaşmasında yetersizliğe aracılık ediyor olabilir. Eğer beyinde bu oluşursa homosistein ile tetiklenen serebrovasküler hasar, ikincil olarak nöronal işlev bozukluğu ve dejenerasyon, beyaz madde hasarı ya da inmeye neden olabilir, bu da total homosistein düzeylerinde artış serebral infarkt, beyaz madde hasarları ve serebral atrofi gibi yapısal beyin değişiklikleri ile ilişkilendirilmiştir [84, 85]. Asidik homosistein türevlerinin metabotropik glutamat reseptörlerinin seçici agonisti olduğu gösterilmiştir, bu da hiperhomosisteinemiye bağlı hastalık patogenezinde katkıda bulunan risk faktörlerini etkileyebilir [75].

NMDA reseptörler agonistleri nöronal hücre göçü, hücre - hücre birleşmesi, hücre içi Ca^{++} akışı ve programlanmış hücre ölümünde temel düzenleyicidir [70, 86]. Nöronal gelişim sürecinde büyüme faktörü olarak da davranır. Homosistein yüksekliğinin erken gelişim sürecinde NMDA reseptör

antagonisti gibi davranarak, nöral tüp defektlerine neden olduğu, hayvan deneylerinde spontan düşük ve fetal ölümlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir [86]. Homosistein NMDA reseptörlerinin aracılık ettiği eksitotoksisite, nöronal DNA hasarı ve apoptozisin indüklenmesine katkıda bulunur [87]. Eksitotoksisite kuramına göre glutamat uyarıcı aminoasit reseptörlerinin aşırı etkinliğine ve nörona yoğun Ca^{++} akışına neden olur [88]. Homosistein NMDA glutamat reseptörlerinin glutamat bağlanma bölgelerine agonistik etki gösterdiği gibi glisin koagonist bölgelerine de kısmi antagonist olarak etkir ve fizyolojik glisin düzeylerinin varlığında homosisteinin milimolar konsantrasyonları nörotoksiktir [88, 89].

III. MATERYAL-METOD

III.1. Araçlar ve Gereçler:

1. **ELISA Okuyucu:** Biotek ELx800
2. **Elektronik Terazı:** Sartorius / Basic (USA)
3. **Otomatik Pipetler:** Thermo, Socorex
4. **Santrifüj:** Nüve NF 1200 R
5. **Derin Dondurucu:** Nuair Ultralow Freezer (-80°C) (ABD)
6. **Manyetik Karıştırıcı:** Ikamag RH / Isıtmalı (Germany)
7. **Cam Pipetler:** Precicolor HBG (Germany)
8. **Vorteks:** Yellowline (USA)
9. **pH metre:** Easy (Germany)
10. **Otoanalizör:** Beckman Coulter Dxl 800 otoanalizörü (ABD), Immulite 2000 analizörü (DPC IMMULITE 2000 Los Angeles, CA, ABD)
11. **HPLC:** Shimadzu Prominence HPLC analizörü (Japonya)

III.2. Yöntem

III.2.1. Çalışma Grubu

Araştırmanın çalışma örnekleme Ocak 2010 – Ağustos 2011 tarihleri arasında CBÜTF Psikiyatri polikliniğinde duygudurum bozuklukları biriminde takip edilen bipolar bozukluk tanısı olan 50 ötimik hasta, psikoz biriminde takip edilen remisyonda 50 şizofreni hastası ile herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan 50 sağlıklı kontrol dahil edildi. Çalışma öncesinde Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'ndan çalışmanın yapılmasında tıbbi etik açısından sakınca olmadığına dair onay alındı. Her hasta ve kontrol vakası, çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onamları alındı.

Çalışma örnekleme alınan kişilerden 10 cc. periferik venöz kan örnekleri, 1 kırmızı kapaklı (antikoagülansız, düz) ve 2 mor kapaklı (EDTA'lı) tüpe alındı. Alınan kan örnekleri 3500 devirde santrifüj edilerek serumları ve plazmaları ayrılarak, ayrıca 1 mor kapaklı tüp de tam kan halinde, çalışma gününe kadar -80 °C derecede derin dondurucuda saklandı. Serum

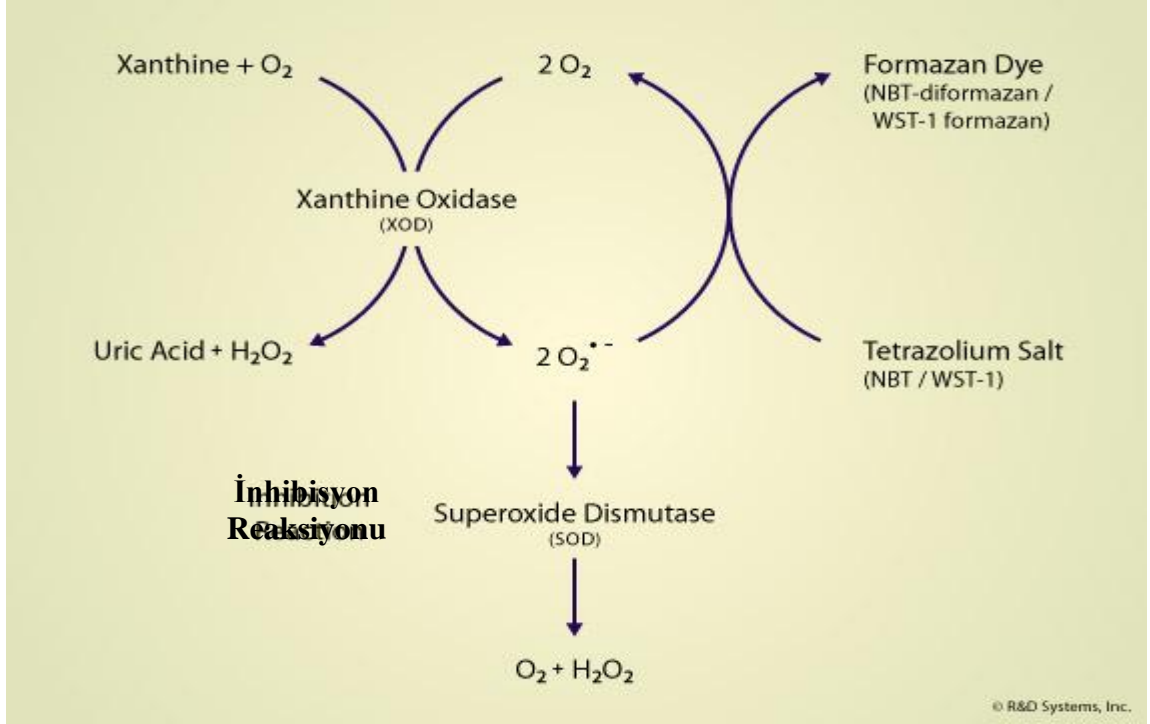
örneklerinde nörotrofin-4, SOD, NO gibi antioksidan enzimler ve homosistein, vit B12, folat düzeyleri; tam kan örneklerinde total GSH, plazmada ise lipid peroksidasyonu son ürünlerinden MDA analizi yapıldı.

Hasta Grubu: Çalışma örneğine CBÜTF Psikiyatri polikliniğinde duygudurum bozuklukları biriminde takip edilen bipolar bozukluk tanısı olan 50 ötimik hasta, ve psikoz biriminde takip edilen remisyonda 50 şizofreni hastası alındı. Bütün hastalar Helsinki Bildirgesi'nde belirtildiği gibi kendilerine yapılacak işlemler ve çalışma hakkında bilgilendirildi. Tüm hastalardan yazılı onay alındı. Her hastaya sosyodemografik bilgi formu doldurularak, DSM IV Yapılandırılmış Klinik Görüşmesi-Klinik Versiyonu uygulandı. Daha sonra Bipolar Bozukluk tanılı hastalara Hamilton Depresyon Değerlendirme Ölçeği (HAM-D) ve Young-Mani Derecelendirme Ölçeği (YMRS) uygulanarak, HAM-D'de 8'in, YMRS'de 5 puanın altında puan alan hastalar remisyonda kabul edilerek çalışmaya dahil edildi. Şizofreni hastalarına ise PANNS'a göre Andreasen kriterleri uygulandı.

Kontrol grubu: Herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan 50 sağlıklı kontrol vakası, Helsinki Bildirgesi'nde belirtildiği gibi kendilerine yapılacak işlemler ve çalışma hakkında bilgilendirildi. Tüm kontrol bireyleri yazılı onayları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

III.2.2. SOD Tayini

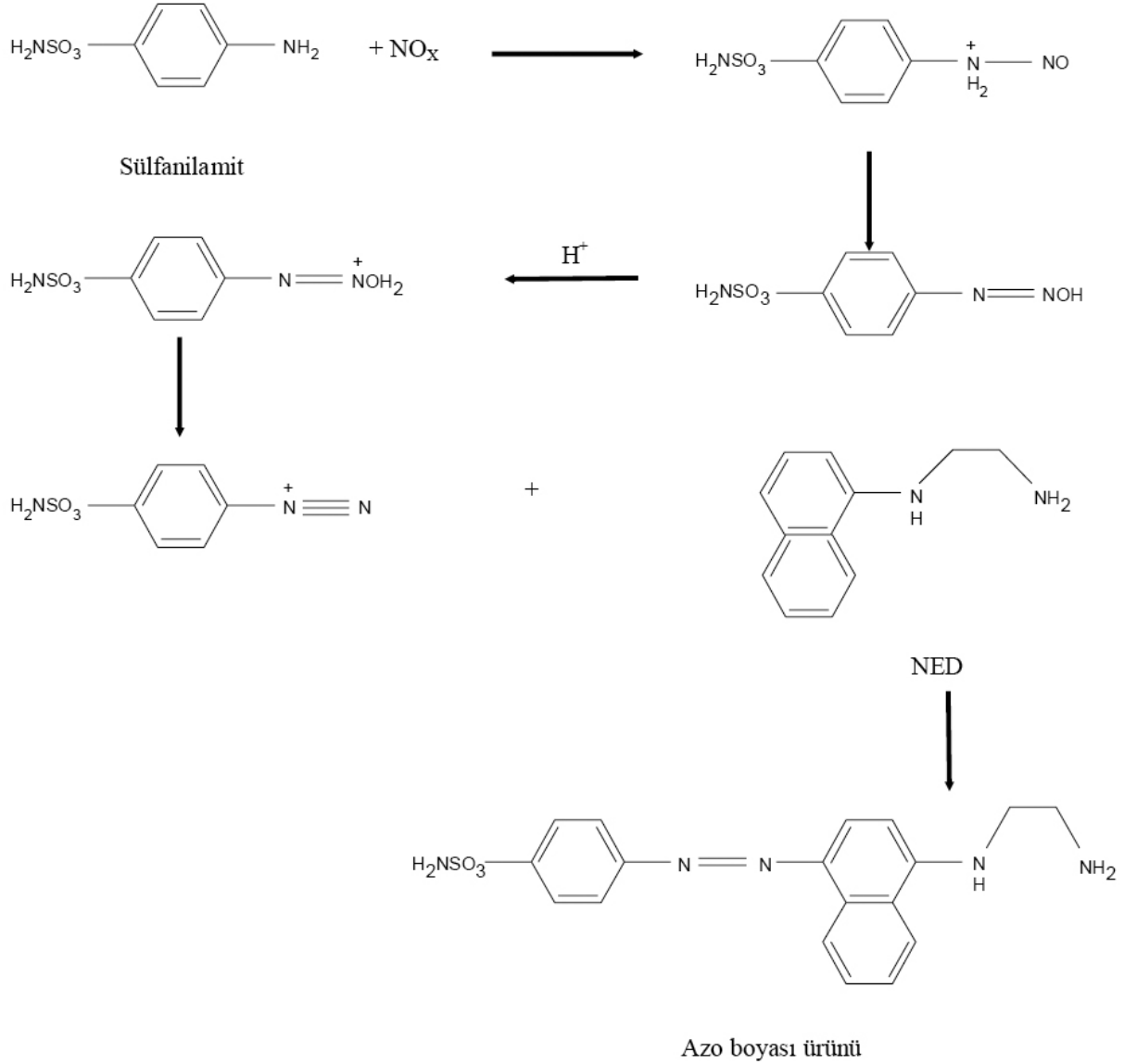
Serum örneklerinde SOD düzeyleri ELISA yöntemi ile Cayman Chemical Company, Michigan, USA kitleri ile çalışıldı. Kitin çalışma prensipi, ksantin oksidaz ile oluşturulan süperoksit radikalinin tetrazolium tuzu ile deteksiyonundan oluşmaktadır. SOD'un bir ünitesi, süperoksit radikalinin %50 dismutasyonu için gereken enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değeri %3.2; inter-assay CV değeri %3.7 olarak bulunmuştur. Kitin ölçüm aralığı 0.025-0.25 ünite/ml değerleri arasındadır.



Şekil 11. SOD testinin şeması

III.2.3. Nitrik Oksit Tayini

Serum NO düzeyleri Griess yöntemi ile ölçüldü. Griess yöntemi NO₂[•] in asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sulfanilamid ile reaksiyonu ve N-1-naftil etilen diamin (NED) ile mor renkli bir azo ürünü oluşturması ilkesine dayanır. Griess reaksiyonu, NO₂⁻ (nitrit) iyonlarına duyarlı olduğundan ortamdaki NO₃⁻ (nitrat)'ın, NO₂⁻'e indirgenmesi, in vivo olarak oluşan NO'nun gerçeğe yakın miktarda ölçümüne olanak sağlar [90].



Şekil 11. Griess reaksiyonunda nitrozillenmiş sulfanilamidin NED ile etkileşmesi sonucu azo boyası ürünü oluşumundaki reaksiyonlar

III.2.3.1. NO Ölçümü için Gerekli Çözeltiler

1) Kadmiyum Granülü: Granüller her örnek için yaklaşık 2 g hesabıyla 0,2 M H₂SO₄ içinde bekletildi. Kadmiyum granüllerinin tamamen redüksiyonu için kullanılmadan önce en az 12 saat süreyle 0,2 M H₂SO₄ içinde kalması gerektiğinden çalışma yapılmadığı sürelerde kadmiyum granülleri 0,2 M H₂SO₄ 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. 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 5 gr sulfanilamid çözüldü ve hacim HCl ile 500 ml'ye tamamlandı. NED çözeltisi: bir miktar distile su içerisinde 50 mg NED çözüldü ve hacim distile su ile 250 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) ZnSO₄ çözeltisi: 75 mM ZnSO₄ çözeltisi hazırlamak için 21,5 g ZnSO₄ tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

6) CuSO₄ çözeltisi: 5 mM CuSO₄ çözeltisi hazırlamak için 0,8 g CuSO₄ tartıldı, bir miktar glisin-NaOH çözeltisi içinde çözüldü ve hacim glisin-NaOH çözeltisi ile 1 litreye tamamlandı.

7) Standartlar: 0,78, 1,56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µmol/L konsantrasyonlarda nitrat çözeltisi kullanıldı. Bu çözeltiler örneklerle aynı şekilde çalışılarak standart eğrisi elde edildi.

III.2.3.2. Deproteinizasyon

Serum örneklerinden 500 µl alınıp, temiz plastik tüplere kondu, üzerine 400 µl 75 mM ZnSO₄ çözeltisi eklendi. Vorteksle yaklaşık 10 saniye karıştırıldı. Bunun üzerine 600µl 55 mM NaOH çözeltisi ilave edildi. Vorteksle yaklaşık 10 saniye karıştırıldı. Beyaz bulanık hale gelen tüm örnekler soğutmalı santrifüj cihazına konarak 3500 rpm'de 10 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonunda tüplerin üst kısmında kalan saf su berraklığındaki süpernatant kısmı alınarak, sonraki aşamalarda kullanıldı. Bu işlem sırasında 3 kez dilüsyon yapıldı.

III.2.3.3. 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. Granüller üzerine üç kez yeterli miktarda glisin-NaOH çözeltisi eklenerek yıkandı ve solüsyon boşaltıldı. Glisin-NaOH çözeltisi tampon olarak, $CuSO_4$ çözeltisi ise kadmiyumların redüksiyon özelliği kazanması için kullanıldı. Böylece kadmiyum granüllerinin aktivasyonu sağlandı. Sonrasında kadmiyum, redüksiyon kapasitelerinin azalmaması için en geç 1 saat içinde kullanıldı.

III.2.3.4. Deneyin Yapılışı

Örnekler, standartlar ve kör için uygun sayıda tüp alındı. Daha sonra tüplere aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde uygun pipetlemeler yapıldı.

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

	Kör Tüpü	Örnek Tüpü	Standart Tüpü
Glisin-Na-OH tamponu	500 µl	500 µl	500 µl
Numune		500 µl	500 µl
Distile su	1500 µl	1000 µl	1000 µl
Kadmiyum granülü	2 gr	2 gr	2 gr

Pipetlemeler yapıldıktan sonra tüm örnek ve standartlar 90 dakikalık inkübasyona alındı. İnkübasyonun ardından tüplerin üzerindeki süpernatanttan 1000 µl alındı ve yeni temiz tüplere kondu.

Hazırlanan örnek tüplerine ve hazırlanmış olan standart ve kör tüplerine önce 250'şer µl distile su, ardından 500'er µl sulfonilamid, son olarak ise 500'er µl NED eklendi. Tüpler, reaksiyonun ışıktan etkilenmemesi için, karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi

sonunda renklenen örnekler ve standartlar köre karşı 550 nm dalga boyunda fotometrik olarak okutuldu.

III.2.3.5. Hesaplama

Standart konsantrasyonları ile absorbanları arasındaki lineer ilişki, standart eğri çizilerek saptandı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 3 ile çarpılarak konsantrasyonlar hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

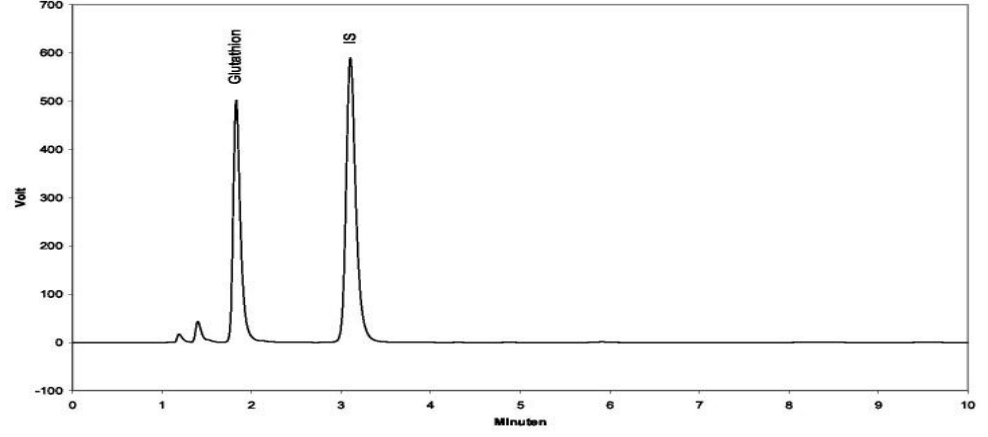
III.2.4. Nörotrofin-4

Serum örneklerinde NT-4 düzeyleri ELISA yöntemi ile Cusabio Biotech, Wuhan, China kitleri ile çalışıldı. NT-4'e spesifik antikorlar ELISA plağında kuyucuklara bağlı olarak mevcuttu. Standart ve örnekler uygun kuyucuklara konduktan sonra, önce biotin ile konjuge antikorlarla, daha sonra da avidin ile konjuge horseradish peroxidase (HRP) enzimiyle muamele edildi. Prosedüre uygun inkübasyon ve yıkamalardan sonra tüm kuyucuklara substrat olarak TMB (3,3',5,5' tetrametil-benzidine) eklendi. Gerçekleşen reaksiyonla örneklerdeki NT-4 ile bağlantılı olarak renklenme gözlemlendi. Enzim-substrat reaksiyonu sülfirik asit solüsyonu ile sonlandırıldı ve renk değişimi 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Örneklerle ait NT-4 konsantrasyonları standartlardan elde edilen eğri kullanılarak hesaplandı. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değeri $<8\%$, inter-assay CV değeri $<10\%$ olarak bulunmuştur. Kitin deteksiyon limiti 0.16 ng/ml olup, ölçüm aralığı 0,625-40 ng/ml değerleri arasındadır.

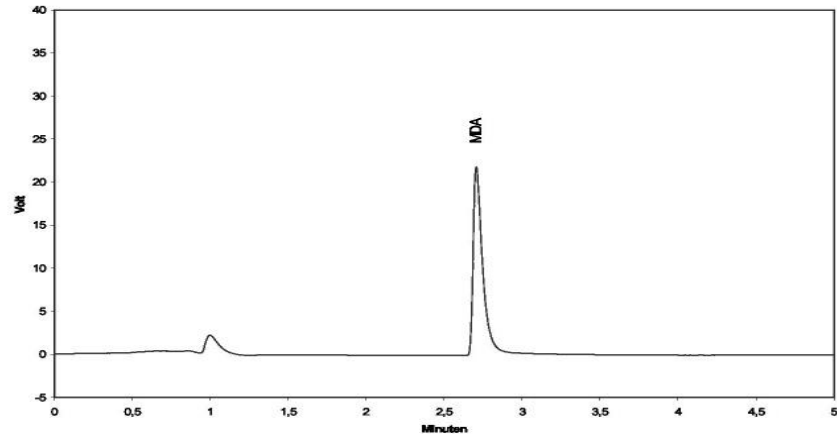
III.2.5. Total Glutasyon ve Malondialdehid Tayini

Tam kanda total glutasyon ve plazmada malondialdehid düzeyleri Immuchrom GmbH sisemleri kullanılarak Shimadzu Prominence cihazında HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Total glutasyon kitine ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değeri 551 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda 1.2% , inter-assay CV değeri 554 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda 2.8% olarak bulunmuştur. Kite ait deteksiyon limiti 2 $\mu\text{mol/L}$ 'dir. Malondialdehid kitine ait intra-assay

varyasyon katsayısı (CV) değeri 0.86 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda %9, 2.55 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda %6.4; inter-assay CV değeri 0.89 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda %10.9, 2.50 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda %7.5 olarak bulunmuştur. Kite ait deteksiyon limiti 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 'dir.



Şekil 12. Glutatyon ölçümüne ait kromotogram



Şekil 13. MDA ölçümüne ait kromotogram

III.2.6. Homosistein, Vitamin B12 ve Folik Asit Tayini

Serum B12 ve folat düzeyleri kemiluminesans ölçüm yöntemi ile Unicel DXI 800 (Beckman Coulter) otoanalizöründe tayin edildi. Serum homosistein düzeyleri ise kemiluminesans yöntemle, otomatik immunoassay analizör (Immulite-2000, Diagnostic Products Corporation LA, USA) kullanılarak tayin edildi. Vitamin B12 kitine ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 88 pg/ml konsantrasyonda %5, 775 pg/ml konsantrasyonda % 6.9 olarak hesaplanmıştır. Total CV değerleri, 88 pg/ml konsantrasyonda %8.5; 775 pg/ml konsantrasyonda % 7.5 olarak bulunmuştur. Kite ait deteksiyon limiti 50 pg/ml olup, ölçüm aralığı 75-1446 pg/ml değerleri arasındadır. Folik asit kitine ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 3.78 ng/ml konsantrasyonda %4.39, 15.7 ng/ml konsantrasyonda % 2.78 olarak hesaplanmıştır. İnter-assay CV değerleri, 3.78 pg/ml konsantrasyonda %2.78; 15.7 ng/ml konsantrasyonda % 1.84 olarak bulunmuştur. Kite ait deteksiyon limiti 0.5 ng/ml olup, ölçüm aralığı 6.71-18.96 ng/ml değerleri arasındadır. Homosistein kitine ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 3.94 µmol/L konsantrasyonda %7.4, 25.9 µmol/L konsantrasyonda %4.1 olarak hesaplanmıştır. İnter-assay CV değerleri, 3.94 µmol/L konsantrasyonda %10.4; 25.9 µmol/L konsantrasyonda %5.1 olarak bulunmuştur. Kite ait deteksiyon limiti 0.5 µmol/L olup, ölçüm aralığı 2-50 µmol/L değerleri arasındadır.

III.2.7. İstatistiksel Analiz

Araştırmada veri analizinde SPSS 15.0 istatistik programı kullanılmıştır. Üç grupta ortalamaların karşılaştırılmasında ANOVA, post hoc testi olarak da Tukey testi kullanılmıştır. İki grup arasında sürekli verilerin ortalamalarının karşılaştırılmasında Student's t testi, normal dağılıma uymayan veri için nonparametrik karşılığı olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Üç grupta yüzdelerin karşılaştırılması ki kare testi ile yapılmıştır. Tüm testlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

IV. BULGULAR

IV.1. Sosyodemografik ve Klinik Bulgular

Bu çalışmaya; 50 kişilik remisyonda olan şizofreni hasta grubu, 50 kişilik ötimik bipolar bozukluğu olan hasta grubu ve 50 kişilik herhangi bir psikiyatrik bozukluğu olmayan kontrol grubu olmak üzere 3 grup dahil edildi. Şizofreni grubunun yaş ortalaması 35.42 ± 11.68 iken bipolar grubunun yaş ortalaması 42.00 ± 12.42 , kontrol grubunun yaş ortalaması ise 29.64 ± 7.92 idi. Şizofreni grubunda 25 kadın (%50.00) ve 25 erkek (%50.00), bipolar grubunda 24 kadın (%48.00) ve 26 erkek (%52.00) ve kontrol grubunda ise 25 kadın (%50.00) ve 25 erkek (%50.00) yer alıyordu.

Hasta ve kontrol gruplarının sosyodemografik özellikleri tablo 2'de gösterilmiştir. Üç grup arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, yaş özellikleri bakımından anlamlı bir fark görülmektedir (Tablo 2).

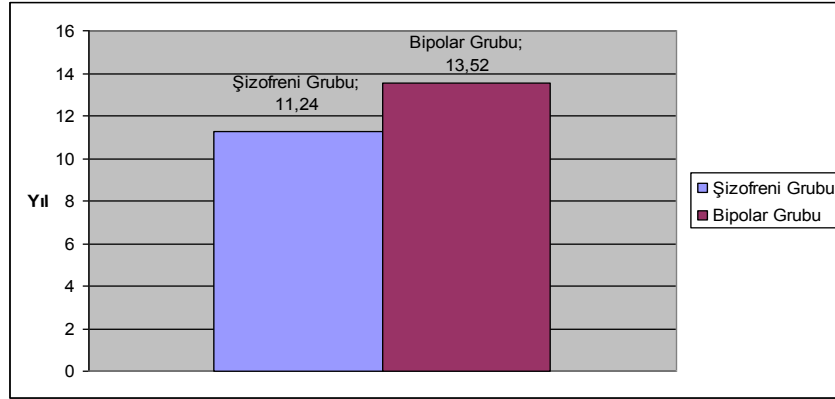
Tablo 2. Şizofreni, bipolar bozukluk ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet özellikleri

	Yaş		Cinsiyet	
	Ort. \pm ss	Min.-Maks.	Kadın	Erkek
Şizofreni (n=50)	35.32 ± 11.68	18-70	%50.00	%50.00
Bipolar Bozukluk (n=50)	42.00 ± 12.42	28-77	%48.00	%52.00
Kontrol (n=50)	29.64 ± 7.92	20-44	%50.00	%50.00
p	0.000		0.974	

Şizofreni ve bipolar hasta grupları; hastalık süreleri açısından değerlendirildiklerinde; şizofreni grubunun ortalama hastalık süresi 11.24 ± 8.08 yıl, bipolar grubunun ortalama hastalık süresi 13.52 ± 8.70 yıl olarak tespit edildi. Şizofreni grubunun hastalık süreleri 1-39 yıl arasında değişirken, bipolar grubunun hastalık süreleri 3-39 yıl arasında değişmektedir. Hastalık süreleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.178$)

Tablo 3. Şizofreni ve bipolar bozukluk gruplarının hastalık süreleri açısından karşılaştırılması

	Ort \pm ss	Medyan	Min-Maks	p
Şizofreni Hastalık Süresi (Yıl)	11.24 \pm 8.08	10	1-39	0.178
Bipolar Hastalık Süresi (Yıl)	13.52 \pm 8.70	12	3-39	

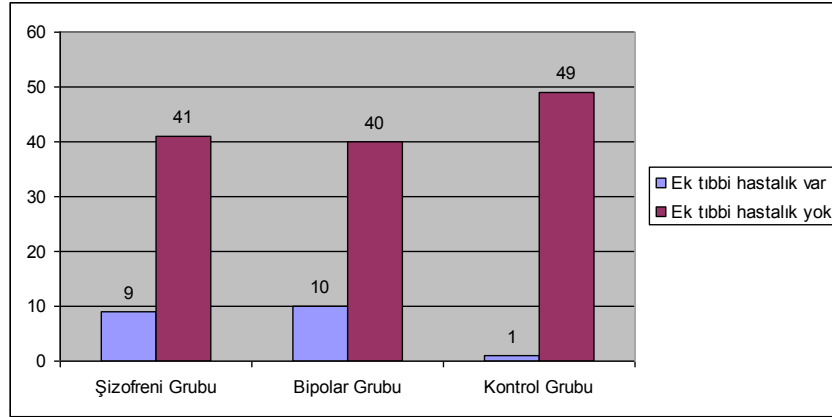


Grafik 1. Şizofreni ve bipolar bozukluk gruplarının hastalık süreleri açısından karşılaştırılması

Tüm gruplar ek tıbbi hastalıklar (hipertansiyon, diabetes mellitus, hiperlipidemi, hipotiroidi, hipertiroidi, koroner arter hastalığı, epilepsi ve diğer) açısından değerlendirildi. Şizofreni grubunda 9, bipolar bozukluk grubunda 10 hastada, kontrol grubunda ise 1 kişide ek tıbbi hastalık tespit edildi (Tablo 4) (Grafik 2).

Tablo 4. Üç grubun ek tıbbi hastalıklar açısından karşılaştırılması

	Ek Tıbbi Hastalık	
	Var	Yok
Şizofreni (n=50)	9	41
Bipolar Bozukluk (n=50)	10	40
Kontrol (n=50)	1	49



Grafik 2. Üç grubun ek tıbbi hastalıklar açısından karşılaştırılması

IV.2. Biyokimyasal Veriler

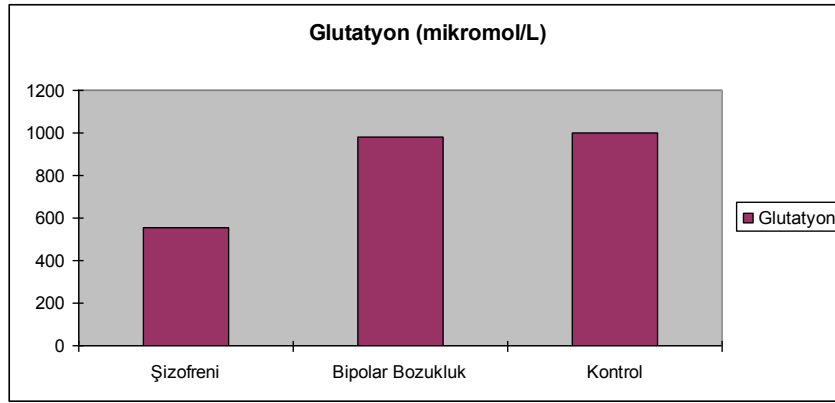
Hasta ve kontrol gruplarına ait biyokimyasal analiz sonuçları tablo 5'te gösterilmiştir. Oksidatif stres parametreleri olan glutatyon, malondialdehid, nitrik oksit ve süperoksit dismutaz parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0.000$). Fakat bir nörotrofik faktör olan nörotrofin-4 ile homosistein, folik asit ve vitamin B12 değerleri incelendiğinde üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir (p değerleri sırasıyla 0.385, 0.793, 0.234, 0.153).

Tablo 5. Şizofreni, bipolar bozukluk ve kontrol gruplarının biyokimyasal değerleri ve karşılaştırılması

	Şizofreni ^a (n=50)		Bipolar Bozukluk ^b (n=50)		Kontrol ^c (n=50)		p
	Ort.±ss	Min-Maks	Ort.±ss	Min-Maks	Ort ±ss	Min-Maks	
Glutatyon (mikromol/L)	554.58 ± 201.42	299-1361	978.20 ± 319.97	235-1508	1001.79 ± 179.60	525-1527	a<b=c, 0.000
MDA (mikromol/L)	1.18 ± 0.16	1-2	1.56 ± 0.59	0-3	1.04 ± 0.28	1-2	b>a=c 0.000
NO (mikromol/L)	96.95 ± 41.43	30-238	94.58 ± 42.04	33-234	64.07 ± 38.36	3-231	c<a=b 0.000
SOD (U/L)	0.25 ± 0.13	0-1	0.31 ± 0.10	0-1	0.39 ± 0.15	0-1	c>a=b 0.000
NT -4 (ng/ml)	5.26 ± 2.82	1-13	6.30 ± 4.92	0-30	5.85 ± 3.17	0-15	0.385
Homosistein (mikromol/L)	16.90 ± 9.86	5-50	16.29 ± 10.32	5-63	17.81 ± 13.12	8-74	0.793
Folik asit (ng/ml)	6.96 ± 9.64	2-72	5.83 ± 2.69	2-15	4.95 ± 1.91	2-12	0.234
Vit B12 (pg/ml)	270.96 ± 469.60	63-3375	234.16 ± 150.64	58-844	161.38 ± 47.53	76-297	0.153

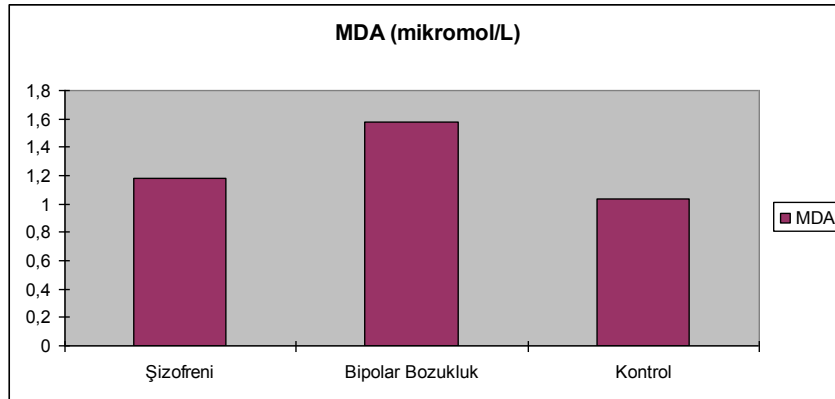
Her bir parametre ayrı ayrı incelendiğinde şizofreni ve bipolar bozukluk hastalarında biyokimyasal veriler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yaratan grubun belirlenmesi amacıyla posthoc analizler yapılmıştır.

Glutasyon düzeyleri incelendiğinde en düşük düzeyin şizofreni grubunda (554.58 ± 201.42 mikromol/L) elde edildiği görülmektedir. Şizofreni grubunun glutasyon düzeyi hem bipolar bozukluk hem de kontrol grubunun düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktür (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). Bipolar bozukluk grubunun glutasyon düzeyi kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0.877$) (Tablo 5) (Grafik 3).



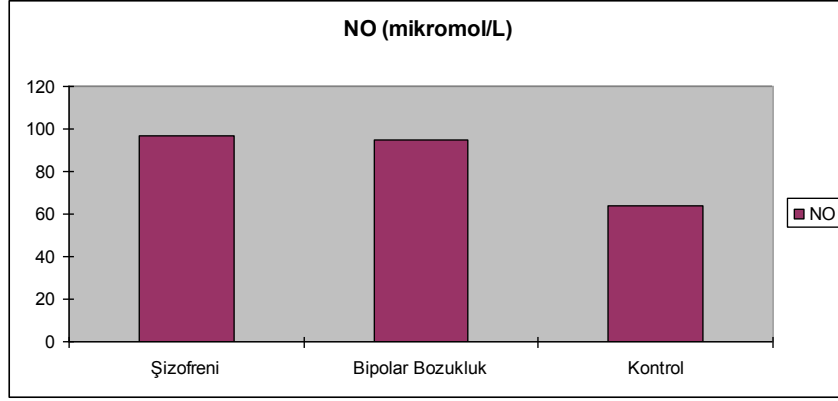
Grafik 3. Üç grup arasında Glutasyon düzeylerinin karşılaştırılması

MDA düzeyi açısından üç grup karşılaştırıldığında; bipolar bozukluk grubunun 1.56 ± 0.59 mikromol/L ile istatistiksel olarak farkı yaratan grup olduğu belirlenmiştir ($p=0.000$). Şizofreni ve kontrol grubunda MDA ortalamaları açısından istatistiksel bir fark gözlenmemektedir ($p=0.183$) (Tablo 5) (Grafik 4).



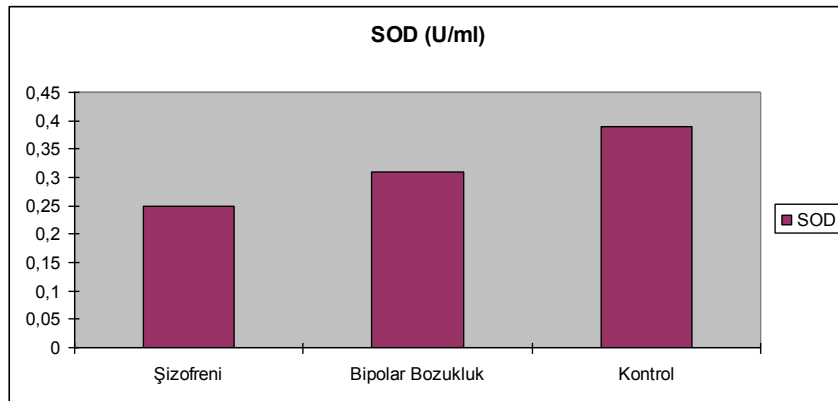
Grafik 4. Üç grup arasında MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Çalışmamızda NO sonuçları kontrol grubunda, hem şizofreni hem de bipolar bozukluk grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.001$). Bipolar bozukluk ve şizofreni gruplarının NO değerleri birbirlerine oldukça yakın olup aralarında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ($p=0.954$) (Tablo 5) (Grafik 5).



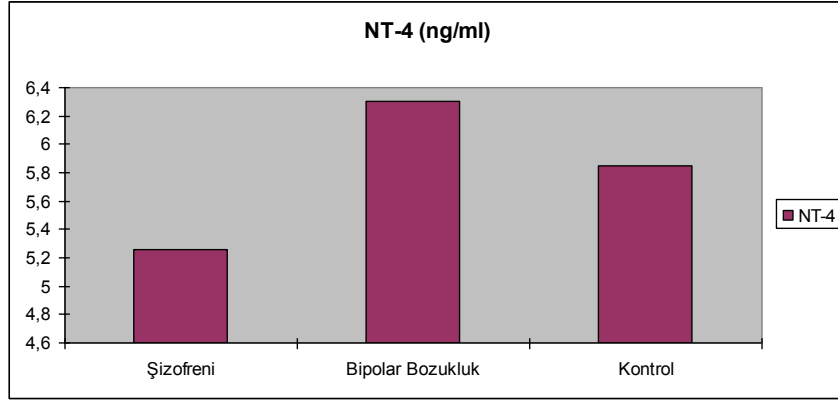
Grafik 5. Üç grup arasında NO düzeylerinin karşılaştırılması

Üç grup SOD düzeyleri açısından karşılaştırıldığında şizofreni ve bipolar bozukluk grubunun, kontrol grubuna göre daha düşük sonuçlar verdiği görülmektedir. Bipolar bozukluk grubunun SOD değeri şizofreni grubuna göre yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0.106$). Fakat hem şizofreni hem de bipolar bozukluk grubunun SOD düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşüktür (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.004$) (Tablo 5) (Grafik 4).



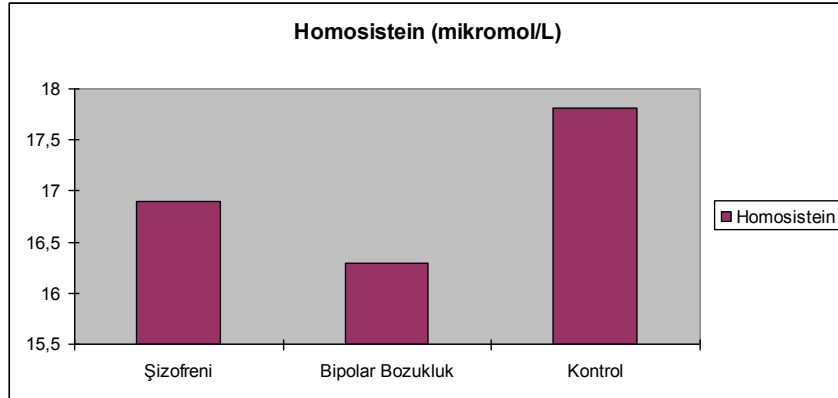
Grafik 6. Üç grup arasında SOD düzeylerinin karşılaştırılması

NT-4 düzeyleri, en yüksek bipolar bozukluk grubunda, en düşük ise şizofreni grubunda tespit edilmişse de üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0.385$) (Tablo 5) (Grafik 7).



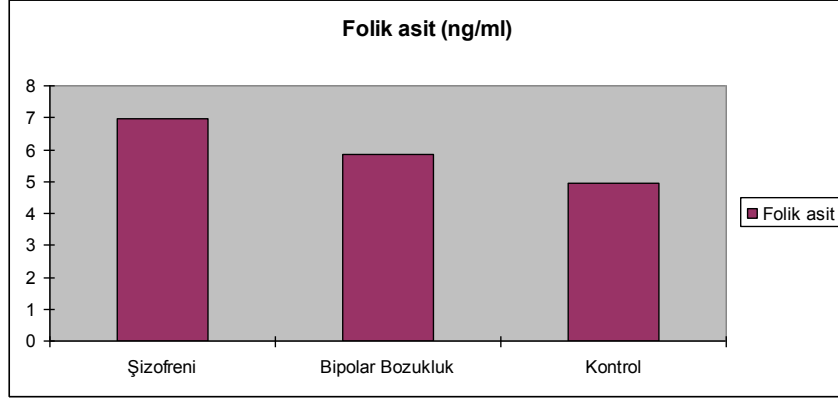
Grafik 7. Üç grup arasında NT-4 düzeylerinin karşılaştırılması

Şizofreni ve bipolar bozukluk gruplarının homosistein düzeyleri kontrol grubuna göre düşük olarak bulunmuşsa da üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.793$) (Tablo 5) (Grafik 8).

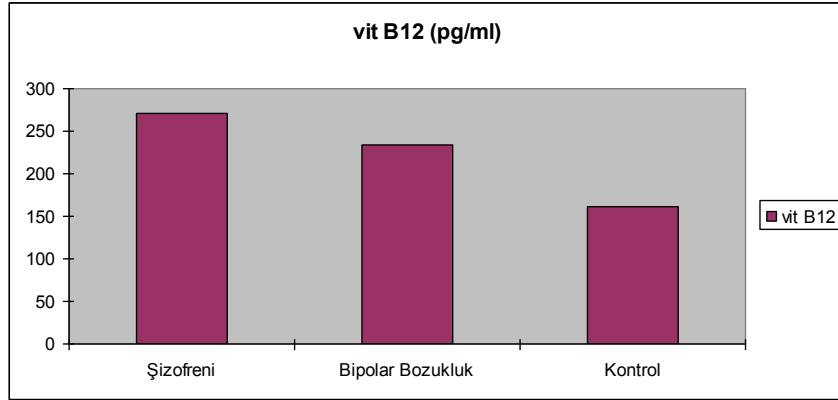


Grafik 8. Üç grup arasında Homosistein düzeylerinin karşılaştırılması

Folik asit ve vit B12 parametreleri incelendiğinde de üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p=0.234$, $P=0.153$) (Tablo 5) (Grafik 9-10).



Grafik 9. Üç grup arasında Folik Asit düzeylerinin karşılaştırılması



Grafik 10. Üç grup arasında Vit B12 düzeylerinin karşılaştırılması

IV.2.1. Hastalık Sürelerinin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

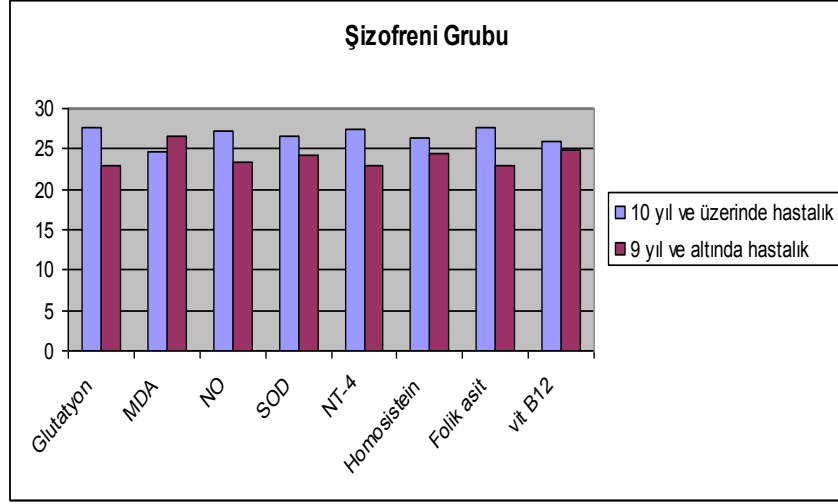
Şizofreni hastaları, hastalık süreleri açısından değerlendirildiklerinde medyan değer 10 yıl olarak tespit edildi. Buna göre 10 yıl ve üzerinde hastalık süreleri uzun, 9 yıl ve altında hastalık süreleri ise kısa olarak değerlendirilerek şizofreni hastaları iki gruba ayrıldı. Şizofreni grubunda hastalık süresinin biyokimyasal parametreler üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermediği tespit edildi.

Tablo 6. Şizofreni grubunda hastalık sürelerinin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Şizofreni Grubu	10 yıl ve üzeri hastalık süresi (n=28)	9 yıl ve altı hastalık süresi (n=22)	*p
Glutasyon sıra değeri (miromol/L)	27.57	22.86	0.257
MDA sıra değeri (mikromol/L)	24.61	26.64	0.625
NO sıra değeri (mikromol/L)	27.13	23.43	0.374
SOD sıra değeri (U/ml)	26.54	24.18	0.570
NT -4 sıra değeri (ng/ml)	27.50	22.95	0.274
Homosistein sıra değeri (mikromol/ml)	26.38	24.39	0.632
Folik asit sıra değeri (ng/ml)	27.54	22.91	0.265
Vit B12 sıra değeri (pg/ml)	26.00	24.86	0.784

*Mann- Whitney U testi

Çalışmamızda uzun hastalık sürelerine sahip şizofreni hastalarında, kısa hastalık sürelerine sahip olanlara göre artmış glutatyon, NO, SOD, NT-4, homosistein, folik asit, vit B12 ve azalmış MDA düzeyleri tespit edilmiş olmasına rağmen bunların hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 4) (Grafik 11).



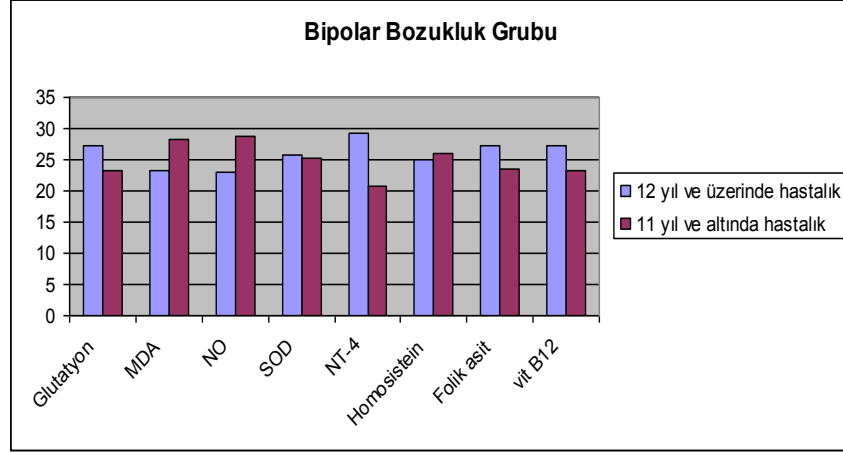
Grafik 11. Şizofreni grubunda hastalık sürelerinin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Bipolar bozukluk hastaları, hastalık süreleri açısından değerlendirildiklerinde medyan değer 12 yıl olarak tespit edildi. Buna göre 12 yıl ve üzerindeki hastalık süreleri uzun, 11 yıl ve altındaki hastalık süreleri ise kısa olarak değerlendirilerek bipolar bozukluk hastaları iki gruba ayrıldı. Bu iki grup, hastalık sürelerinin biyokimyasal parametrelere etkisi açısından karşılaştırıldı, sonuçlar tablo 7’de verildi. Buna göre hastalık süreleri glutatyon, MDA, NO, SOD, homosistein, folik asit ve vit B12 üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermezken; hastalık süresi uzadıkça NT-4 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir.

Tablo 7. Bipolar bozukluk grubunda, hastalık sürelerinin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Bipolar Grubu	12 yıl ve üzeri hastalık süresi (n=28)	11 yıl ve altı hastalık süresi (n=22)	p
Glutatyon sıra değeri (miromol/L)	27.18	23.36	0.358
MDA sıra değeri (mikromol/L)	23.34	28.25	0.237
NO sıra değeri (mikromol/L)	22.89	28.82	0.154
SOD sıra değeri (U/ml)	25.73	25.20	0.899
NT -4 sıra değeri (ng/ml)	29.21	20.77	0.042
Homosistein sıra değeri (mikromol/ml)	25.02	26.11	0.792
Folik asit sıra değeri (ng/ml)	27.14	23.41	0.369
Vit B12 sıra değeri (pg/ml)	27.27	23.25	0.333

Çalışmamızda bipolar bozuklukta uzun hastalık sürelerinin glutasyon, MDA, NO, SOD, homosistein, folik asit ve vit B12 değerleri üzerine anlamlı bir etkisi yokken, NT-4 değerlerini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı gösterilmiştir (Tablo 7) (Grafik 12).



Grafik 12. Bipolar bozukluk grubunda hastalık sürelerinin biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

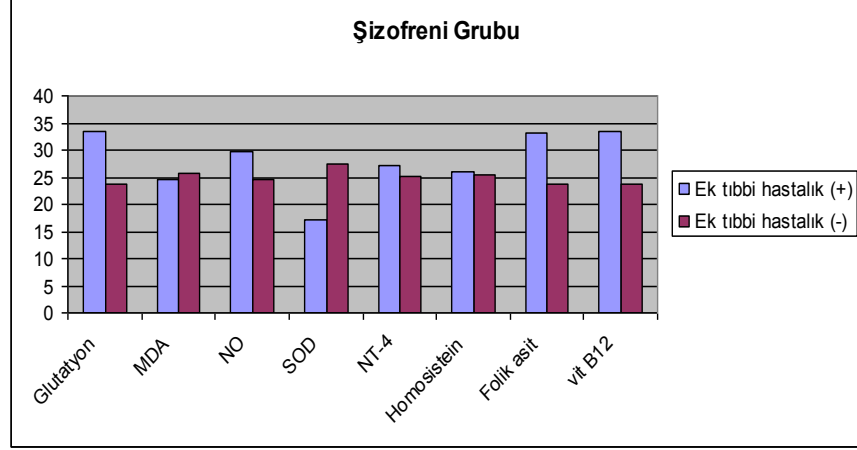
IV.2.2. Ek Tıbbi Hastalık Varlığının Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

Çalışmaya alınan şizofreni hastaları ek tıbbi hastalıkları açısından sorgulandıklarında 9 hastanın ek bir tıbbi hastalığı olduğu tespit edildi. Bu durumun çalışmada kullanılan biyokimyasal parametrelere olan etkisini araştırmak için şizofreni hastaları ek tıbbi hastalığı olan ve olmayan şeklinde iki gruba ayrıldı ve sonuçlar karşılaştırıldı. Buna göre ek tıbbi hastalık varlığı glutasyon, MDA, NO, NT-4, homosistein, folik asit ve vit B12 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmasa da, SOD için $p = 0.057$ elde edilmiştir. Bu durumda var olan ek tıbbi hastalık, SOD düzeylerine etkili olabilir.(Tablo 8).

Tablo 8. Şizofreni hastaları grubunda ek tıbbi hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Şizofreni Grubu	Ek tıbbi hastalık (-) (n=41)	Ek tıbbi hastalık (+) (n=9)	p
Glutasyon sıra değeri (miromol/L)	23.73	33.56	0.069
MDA sıra değeri (mikromol/L)	25.70	24.61	0.843
NO sıra değeri (mikromol/L)	24.55	29.83	0.331
SOD sıra değeri (U/ml)	27.33	17.17	0.057
NT -4 sıra değeri (ng/ml)	25.15	27.11	0.728
Homosistein sıra değeri (mikromol/ml)	25.40	25.94	0.921
Folik asit sıra değeri (ng/ml)	23.83	33.11	0.086
Vit B12 sıra değeri (pg/ml)	23.73	33.56	0.069

Şizofreni hastalarında ek tıbbi hastalık varlığı biyokimyasal parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmasa da; SOD değeri iki grup arasında oldukça farklı görünmektedir (Tablo 8) (Grafik 13).



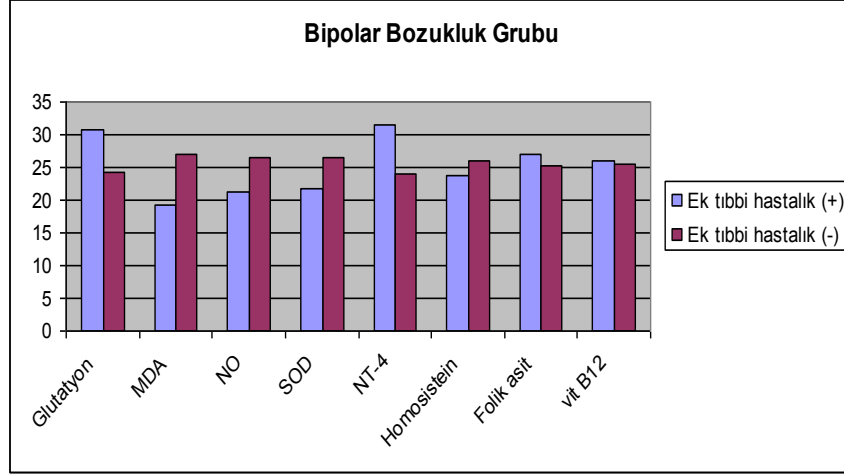
Grafik 13. Şizofreni hastaları grubunda ek tıbbi hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Çalışmaya alınan bipolar bozukluk hastaları ek tıbbi hastalıkları açısından sorgulandıklarında 10 hastanın ek bir tıbbi hastalığı olduğu tespit edildi. Bu durumun çalışmada kullanılan biyokimyasal parametrelere olan etkisini araştırmak için bipolar bozukluk hastaları ek tıbbi hastalığı olan ve olmayan şeklinde iki gruba ayrıldı ve sonuçlar karşılaştırıldı. Buna göre ek tıbbi hastalık varlığının glutatyon, MDA, NO, SOD, NT-4, homosistein, folik asit ve vit B12 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı gösterilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Bipolar bozukluk hastaları grubunda ek tıbbi hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Bipolar Grubu	Ek tıbbi hastalık (-) (n=40)	Ek tıbbi hastalık (+) (n=10)	p
Glutatyon sıra değeri (miromol/L)	24.20	30.70	0.215
MDA sıra değeri (mikromol/L)	27.05	19.30	0.138
NO sıra değeri (mikromol/L)	26.55	21.30	0.319
SOD sıra değeri (U/ml)	26.41	21.85	0.382
NT -4 sıra değeri (ng/ml)	24.03	31.40	0.158
Homosistein sıra değeri (mikromol/ml)	25.93	23.80	0.693
Folik asit sıra değeri (ng/ml)	25.14	26.95	0.729
Vit B12 sıra değeri (pg/ml)	25.39	25.95	0.914

Bipolar bozukluk hastalarında ek tıbbi hastalık varlığı biyokimyasal parametreler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamıştır (Tablo 9) (Grafik 14).



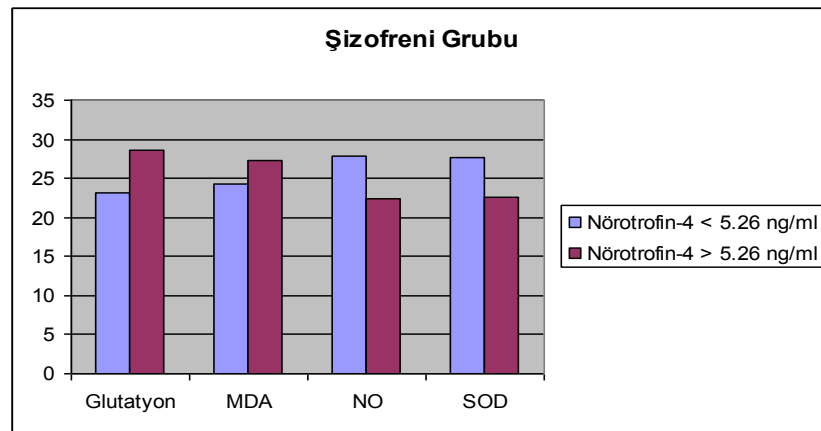
Grafik 14. Bipolar bozukluk hastaları grubunda ek tıbbi hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

IV.2.3. Oksidatif Stres Parametreleri ile Nörotrofin-4 Düzeylerinin İlişkisi

Şizofreni hastalarında, nörotrofin-4 ortalama değeri 5.26 ng/ml olarak tespit edildi. Buna göre 5.26 ng/ml değeri cut-off olarak alınarak, bu değerin üzerindeki nörotrofin-4 değerleri yüksek, 5.26 ng/ml ve altındaki değerler ise düşük olarak kabul edildi ve şizofreni hastaları iki gruba ayrıldı. Şizofreni grubunda nörotrofin-4 düzeylerinin oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı tespit edildi (Tablo 10) (Grafik 15).

Tablo 10. Şizofreni hastaları grubunda oksidatif stres parametreleri ile Nörotrofin-4 düzeylerinin ilişkisi

Şizofreni Grubu	Nörotrofin-4 < 5.26 ng/ml (n=29)	Nörotrofin-4 > 5.26 ng/ml (n=21)	p
Glutasyon sıra değeri (miromol/L)	23.21	28.67	0.191
MDA sıra değeri (mikromol/L)	24.24	27.24	0.473
NO sıra değeri (mikromol/L)	27.81	22.31	0.188
SOD sıra değeri (U/ml)	27.60	22.60	0.230

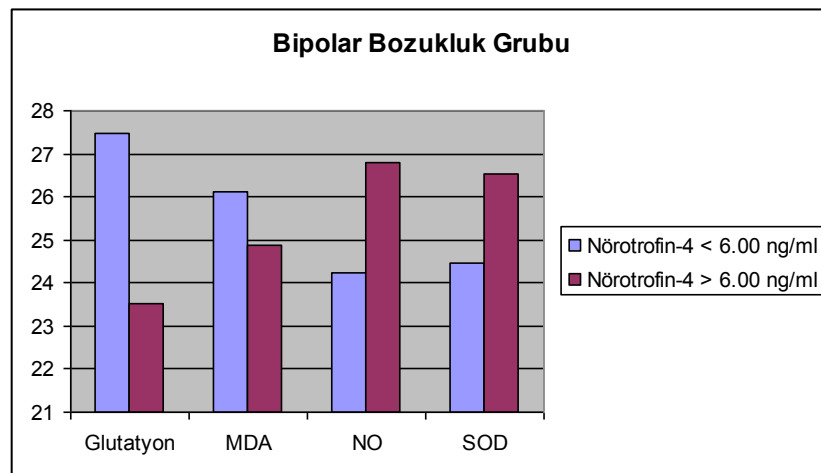


Grafik 15. Şizofreni hastaları grubunda oksidatif stres parametreleri ile Nörotrofin-4 düzeylerinin ilişkisi

Bipolar bozukluk hastalarında, nörotrofin-4 ortalama değeri 6.00 ng/ml olarak tespit edildi. Buna göre 6.00 ng/ml değeri cut-off olarak alınarak, bu değer üzerindeki nörotrofin-4 değerleri yüksek, 6.00 ng/ml ve altındaki değerler ise düşük olarak kabul edildi ve bipolar bozukluk hastaları iki gruba ayrıldı. Bipolar bozukluk grubunda nörotrofin-4 düzeylerinin oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı tespit edildi (Tablo 11) (Grafik 16).

Tablo 11. Bipolar bozukluk hastaları grubunda oksidatif stres parametreleri ile Nörotrofin-4 düzeylerinin ilişkisi

Bipolar Grubu	Nörotrofin-4 < 6.00 ng/ml (n=25)	Nörotrofin-4 > 6.00 ng/ml (n=25)	p
Glutasyon sıra değeri (miromol/L)	27.48	23.52	0.337
MDA sıra değeri (mikromol/L)	26.12	24.88	0.764
NO sıra değeri (mikromol/L)	24.22	26.78	0.535
SOD sıra değeri (U/ml)	24.48	26.52	0.620



Grafik 16. Bipolar bozukluk hastaları grubunda oksidatif stres parametreleri ile Nörotrofin-4 düzeylerinin ilişkisi

V. TARTIŞMA

Şizofreni ve bipolar bozukluk, dünya popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen kronik ve ciddi hastalıklardır. Bu hastalıkların etiyojisi halen tam olarak bilinmese de, birçok genetik varyasyonların ve çevresel uyarıların etkileşerek beyin gelişiminin erken veya geç döneminde etkili olduğu hipotezi ilgi görmektedir. Şizofreni ve bipolar bozukluk patogeneğinde yer alan sebepler arasında oksidan – antioksidan dengesindeki bozukluklar ve oksidatif stres sayılabilir. Yakın zamanda yapılan birçok çalışma da, bozulmuş oksidatif stres mekanizmalarının şizofreni ve bipolar bozukluk patogeneğine katkıda bulunduğunu desteklemektedir.

Oksidatif stresin şizofreni ve bipolar bozukluk patogeneğindeki rolünü araştırmak amacı ile yaptığımız çalışmaya, CBÜTF Psikiyatri polikliniğinde duygudurum bozuklukları biriminde takip edilen bipolar bozukluk tanısı olan 50 ötimik hasta ve psikoz biriminde takip edilen remisyonda 50 şizofreni hastası ile herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan, 50 sağlıklı kontrol vakası dahil edildi. Bu hastalıkların patogeneğinde yer aldığı ileri sürülen ve oksidan - antioksidan dengesinin önemli elemanlarından olan total GSH, SOD gibi antioksidan savunma enzimleri, bir reaktif nitrojen türü olan NO, lipid peroksidasyonu son ürünü olan malondialdehid (MDA), dopaminerjik nöronları oksidatif stres hasarından koruduğu ileri sürülen nörotrofin-4 ve nörotoksik bir aminoasit olan homosistein düzeyleri tayin edildi.

Çalışmamızda öncelikle şizofreni, bipolar ve kontrol grubunun demografik özelliklerini (yaş, cinsiyet) karşılaştırdık. Üç grup arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p= 0.974$), yaş özellikleri bakımından anlamlı bir fark tespit edildi ($p= 0.000$) (Tablo 2). Yaş özellikleri bakımından grupların eşleştirilememiş olması çalışmamızın en önemli eksiği olarak görünmektedir. Şizofreni ve bipolar grubundaki hastalar, hastalık süreleri açısından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p= 0.178$) (Tablo3). Üç grup ek tıbbi hastalıklar açısından sorgulandığında ise şizofreni grubunda 9, bipolar bozukluk grubunda 10 ve kontrol grubunda ise 1 ek tıbbi hastalık varlığı tespit edildi (Tablo 4).

Çalışmamızın en önemli sonucu, hastalık grupları ve kontrol grubu arasında, glutatyon, malondialdehid, nitrik oksit ve süperoksit dismutaz

parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiş olmasıdır ($p=0.000$) (Tablo 5). Antioksidan enzimlerden glutatyon düzeylerinin şizofreni grubunda, hem bipolar hem de kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük (sırasıyla $p= 0.000$, $p= 0.000$), SOD düzeylerinin ise hem şizofreni hem de bipolar bozukluk grubunda kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla $p= 0.000$, $p= 0.004$). Lipid peroksidasyon son ürünlerinden MDA düzeyi, bipolar bozukluk grubunda, şizofreni ve kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunurken (sırasıyla $p= 0.000$, $p= 0.000$) ; bir RNT olan NO, hem şizofreni hem de bipolar bozukluk grubunda kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p= 0.000$, $p= 0.001$). Fakat bir nörotrofik faktör olan nörotrofin-4 ile homosistein, folik asit ve vitamin B12 değerlerine bakıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir (p değerleri sırasıyla 0.385, 0.793, 0.234, 0.153) (Tablo 5).

Bunların yanında hastalık sürelerinin oksidatif stres parametreleri üzerine etkileri araştırılmış; şizofreni grubunda biyokimyasal parametreler üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı, bipolar bozukluk grubunda ise yalnızca nörotrofin-4 değerinin uzun hastalık sürelerine sahip olanlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir ($p= 0.042$) (Tablo 6-7). Aynı şekilde ek tıbbi hastalık varlığı ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki iki grup açısından incelendiğinde, ek hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 8-9).

Bu bulgular (şizofrenide azalmış glutatyon ve SOD düzeyleri ve artmış NO düzeyi ile bipolar bozuklukta artmış MDA ve NO düzeyleri ile azalmış SOD düzeyi) bize, her iki hastalıkta da artmış oksidatif stresi işaret etmekte ve bunun şizofreni ve bipolar bozukluğun patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Birçok çalışmada şizofrenide antioksidan enzim düzeylerindeki değişiklik gösterilmiş olsa da bu sonuçlar her zaman birbirleriyle uyumluluk göstermemektedir. Şizofreni hastalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azalmış antioksidan seviyeleri tespit edilirken [1, 91-94], diğer bir çalışmada herhangi bir farklılık gözlenmemiş [95] ya da artmış antioksidan düzeyleri saptanmıştır [41, 42, 96]. Son yıllarda yapılan bir meta-analizde şizofrenide

lipid peroksidasyon ürünleri düzeylerinin ve NO'nun arttığı, SOD aktivitesinin ise şizofreninin dezorganize tipinde anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir [97]. Yine aynı çalışmada glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerinin şizofreni hastalarında etkilenmediği gösterilmiştir [97]. Fakat glutatyon peroksidaz aktivitesi sonuçlarının da birbirleriyle uyumsuz olduğu gözlenmiştir [39, 42, 93, 98, 99]. SOD düzeylerinin artmış [41, 42, 96, 100, 101], azalmış [1, 93, 94, 102] veya değişiklik göstermemiş [103] olarak bulunmasıyla birbiriyle çelişen sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu farklılıklar; SOD düzeyi ölçüm tekniği, alınan örnek (plazma, serum vs.), uygulanan nöroleptik tedavi, örnek alınma zamanı, ırk, hayat tarzı ve diyet gibi birçok değişik faktöre bağlı olabilir [94]. Biz bu çalışmada, remisyonda olan şizofreni hastalarında azalmış SOD düzeyi tespit ettik. Hastalığın aktif olmayan döneminde de antioksidan bir enzim olan SOD düzeyinin düşüklüğü, bize remisyonda da oksidatif harabiyet sürecinin devam ettiğini düşündürmektedir. Literatüre bakıldığında ilginç olarak kronik şizofreni hastalarında SOD düzeylerinin arttığı [100, 101, 103] veya nöroleptik kullanmayan ilk episod şizofreni hastalarında ise azalmış olduğu [1], nöroleptiklerin şizofreni hastalarında endojen antioksidatif mekanizmaları arttırarak etkili olduğu öne sürülmüştür [104]. Fakat bu sonuçlarla çelişkili çalışmalar da mevcuttur. Yao ve ark. haloperidol tedavisinin SOD aktivitesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını rapor ederken [103], Akyol ve ark. hem düşük hem de yüksek doz nöroleptik tedavisi alan şizofreniklerde azalmış plazma SOD aktivitesi tespit etmişlerdir [99]. Bizim çalışmamızda ise, kullandıkları ilaçlar dikkate alınmadan, şizofreniklerde SOD düzeyleri ile hastalık süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Dolayısıyla hastalık sürelerinin SOD düzeylerini direkt etkilemediğini, hastalığın semptomatolojik ciddiyetinin antioksidan enzim düzeylerine etki ediyor olabileceğini [93] fakat bu yönde ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Rafa ve ark. ile Dietrich-Muszalska ve ark.'nın çalışmalarında tedavi edilmemiş şizofreni hastalarında plazma total glutatyon düzeyleri düşük olarak tespit edilmiştir [1, 105]. Postmortem çalışmalarda da şizofreni hastalarının kaudat nükleusunda [106] ve prefrontal kortekste GSH'ın azaldığı gösterilmiştir [39]. Yine manyetik rezonans spektroskopi ile yapılan başka bir çalışmada ilaç kullanmayan şizofreni hastalarının %27'sinin

serebrospinal sıvısında ve %52'sinin prefrontal korteksinde GSH düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir [107]. Buna rağmen başka spektroskopi çalışmalarında anterior singulat korteks [108], posterior medial frontal korteks [109] veya medial temporal lobta [110] GSH düzeylerinde bir azalma gösterilememiştir. Son üç çalışmadaki hastalar nöroleptik tedavisi almaktadır ve sonuçlardaki çeşitliliğin bir kısmının medikasyon durumu, örnek türü, etnik kimlik veya araştırılan beyin bölgesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda da yapılan klinik ve postmortem çalışmalara paralel olarak şizofreni hastalarının tam kan örneklerinde düşük glutatyon düzeyleri tespit edildi. SOD'un süperoksit radikalini dismutasyona uğratmasıyla oluşan hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüşmesinde rol oynayan glutatyon, hidroksil radikalinin oluşmasını önlemektedir. Dopamin metabolizması sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinin yaratacağı hasara karşı birbirleriyle koopere bir şekilde çalışan SOD ve GSH düzeylerinde tespit edilen azalmanın, şizofrenik hastalarda görülen oksidatif hasarı başlattığını ve artmış serbest radikal aracılı nörotoksisite / nörodejenerasyona neden olarak şizofreninin patofizyolojisinde rol aldığını düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmalarda şizofreni hastalarında lipid peroksidasyon ürünlerinin plazma, serum [94, 111, 112] ve kırmızı kan hücrelerinde [98] arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular hastalık patogenezinde ilaç etkilerinin sekelleri, kronik hastalık ve sigara kullanımından çok, erken patofizyolojik değişiklik olarak defektif bir antioksidan sisteminin olduğuna dair kanıtı güçlendirmektedir. Ranjekar ve ark. ise yaptıkları çalışmada şizofreni hastalarında TBARS seviyelerinde herhangi bir değişiklik saptamamışlardır [93]. Biz de, yaygın literatürün aksine, şizofreni hastalarının MDA düzeyinde, kontrol düzeyleri ile karşılaştırıldığında hafif bir artış olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptamadık. Bu durum çalışmaya alınan kişilerin hayat tarzları ve diyetel alışkanlıklarından kaynaklanabilecek etkilerin ekarte edilememiş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Buna rağmen artmış oksidatif stresin, oksidatif hasarın diğer türlerine (proteinlerin inaktivasyonu, DNA üzerine etkileri) neden olabileceği, bu mekanizmaların da şizofreni patofizyolojisine katkı sunabileceği unutulmamalıdır.

Şizofreni patofizyolojisinde nitrik oksit rol aldığına dair kanıtlar giderek artmaktadır. Nitrik oksid'in beyinde sinaptik plastisiteyi, nörotransmitter

salınımını ve nörogelişimi düzenlediğine dair birçok çalışma yapılmıştır. NO özellikle hem dopaminerjik hem de serotonerjik yolları kullanan NMDA reseptör aktivasyonunda ikincil mesajcı olarak görev alır. Bu yolların fonksiyonunda meydana gelen anormalliklerin şizofreninin patofizyolojisinde rol aldığı ileri sürülmüştür [45]. Bunun yanında NO, süperoksit anyonu ile etkileşerek, peroksinitrit oluşturabilir. Peroksinitrit ve ileri ürünleri ise lipid peroksidasyonu, bazı moleküllerin nitrozillenmesi ve sodyum kanallarının inaktivasyonu gibi birçok hücrel hasara yol açabilir [99]. Muhtemelen bunlarla bağlantılı olarak, NO sentaz inhibitörlerinin fensiklidinle indüklenmiş şizofreniyi taklit eden fenotiplerden koruduğu öne sürülmüştür [113-115]. İlginç olarak postmortem çalışmalarda şizofreni hastalarının beyin dokusunda NO ve NOs düzeylerinin arttığını rapor edilmiş ve NOs'un hastalıkta aktive olabileceği öne sürülmüştür [116-118]. Benzer şekilde Herken ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptığı çalışmada şizofreni hastalarının kırmızı kan hücrelerinde NO düzeylerinin belirgin olarak arttığı gösterilmiştir [98]. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada bu sonuçlarla paralellik gösterecek biçimde, NO düzeyini şizofreni hastalarında artmış olarak tespit ettik. Buna rağmen şizofrenideki NO metabolit düzeyleri ile ilgili birbiri ile çelişen bulgular mevcuttur [119-124]. Plazma NO düzeylerindeki azalma derecesinin, şizofrenideki negatif semptomların ciddiyeti ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [124]. NOs'un şizofrenideki rolüyle tutarlı olarak NOs geninde meydana gelen tek nükleotid polimorfizmlerinin şizofreni ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [125, 126]. Fakat bu sonuçlarla uyumsuz olan raporlar da bulunmaktadır [127]. Bütün bunların yanında NO'nun nörotransmisyonu (örn. kolinerjik transmisyon) etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiş ve şizofreni ile ilişkili bazı fenotiplerde rol alabileceği düşünülmüştür [45].

Oksidatif stres mekanizmaları şizofrenide olduğu gibi, bipolar bozukluğun patogenezinde de dahil olmaktadır [128]. Son yıllarda tedavi edilmemiş manik hastaların serumunda bir lipid peroksidasyon belirteci olan TBARS (thiobarbutiric acid reactive substance) düzeylerinin bipolar bozukluğun bütün safhalarında (manik, depresif veya ötimik) yükseldiği gösterilmiştir [129, 130]. Yine Savaş ve ark. yaptıkları bir çalışmada, bipolar bozukluğu olan hastaların ötimik evrelerinde, bir diğer lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyleri, sağlıklı kontrollere göre yüksek olarak bulunmuştur [131]. Biz de yaptığımız

çalışmada ötimik evredeki bipolar bozukluk hastalarında, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek MDA düzeyleri tespit ettik. Tüm bu çalışmalarda; artmış lipid peroksidasyon ürünlerinin membran fosfolipidlerinde hasar yaratabileceğini, oluşan doku hasarının membran reseptörlerinde değişikliğe yol açarak veya membran akışkanlığında değişikliklere neden olarak nöronal fonksiyonu etkilediği ileri sürülmektedir [132]. Bu durum, sırasıyla nörotransmitter alım ve salınımında bozukluk yaratarak hücre ölümüne neden olabilir. Bunların yanında, MDA'nın kendisi, fosfolipaz A2 stimülasyonuna ve bu yolla immün sistemi aktive ederek interlökinlerin salınımına neden olarak hücre zarlarında fonksiyon kaybına yol açabilmektedir [42]. Çalışmamızda, hastalığın ötimik evresinde, membranın lipid tabakasında yüksek MDA düzeylerinin meydana getirdiği oksidatif hasarın, bipolar bozukluğun tüm seyri boyunca devam ettiği, MDA düzeylerinin, hastalığın süresi veya şiddeti ile doğru orantılı olarak artabileceği ve hastalığın evrelendirmesinde faydalı olabileceğini düşündük. Fakat yaptığımız çalışmada hastalık süreleri ile MDA ve diğer oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişki saptamadık. Bu sonuç oksidatif stresin; diyetel faktörler, kullanılan ilaçlar, yaşam tarzı gibi birçok faktörden etkilenmesinden kaynaklanabilir. Bu nedenle elde edilen sonuçların, bahsedilen faktörlerin mümkün olduğunca standardize edildiği ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Yapılan çalışmalar, süperoksit radikallerinin detoksifikasyonundan sorumlu olan SOD, hidrojen peroksit metabolizmasından sorumlu olan glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi, antioksidan savunma mekanizmasında görev alan temizleyici enzimlerin üzerine yoğunlaşmıştır. Periferik kanda yapılmış olan çalışmalar oksidatif hasarın ve antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki anlamlı değişikliklerin bipolar bozuklukla ilişkisi olduğunu göstermiştir [133, 134].

Antioksidan enzimlerin bipolar hastalığıdaki rolünü değerlendirirken, araştırmaların hastalığın değişik safhalarında yapılmış olduğunu göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Örneğin Andrezza ve ark. antioksidan enzim aktivitelerini manik, depresif ve ötimik hastalarda değerlendirirken [130], Gergerlioğlu ve ark. ile Makado-Vieira manik bipolar hastaları incelemiş [129, 135]; Savaş ve ark. ise ötimik hastalarda çalışmıştır [136]. Ranjekar, Kuloğlu

ve Abdalla ise çalışmalarında hastalığın safhalarını karakterize etmemişlerdir [42, 93, 137]. Yine de SOD aktivitesinin bipolar bozukluğunda artmış olduğu güvenilir bir şekilde gösterilmiştir [42, 129, 130, 136, 137]. Bunun ötesinde Andrezza ve ark., artışın manik ve depresif fazlarda olduğunu fakat ötimik safhada bu artışın olmadığını bulmuşlardır [130]. Bu bulgu, tedavi edilmemiş manik bipolar hastalarda artmış SOD aktivitesini gösteren Makado-Viera ve ark. çalışmasını kısmen doğrulamaktadır. Buna rağmen Savaş ve ark. 27 ötimik hastada SOD düzeylerinin arttığını belirlemiş [136] ve Gergerlioğlu ve ark. ise 29 manik hastanın SOD düzeylerindeki azalışı rapor etmişlerdir [135]. Ranjekar ve ark. da yaptıkları çalışmada olduğu gibi [93]. bizim çalışmamızda da, ötimik bipolar hastalarda düşük SOD düzeyleri tespit edilmiştir. Bu anlamda, saptanan düşük SOD düzeyi, bazı yayınlarla desteklense de, yaygın literatürle çelişkili görünmektedir. Bu durum, antioksidan bir enzim olan SOD'un, artmış NO ve diğer serbest radikallere karşı savunmada kullanımından kaynaklanıyor ya da disfonksiyone bir antioksidan sistemi işaret ediyor olabilir. Öte yandan; çalışmaya alınan kişilerin yaş, diyetel faktörler ve alınan ilaçlar bakımından standardize edilememiş olması veya sınırlı hasta sayısı da bu çelişkiyi açıklayabilir.

SOD düzeylerindeki bu tutarsızlıklar diğer oksidatif enzim düzeylerinde de görülmektedir. Örneğin Andrezza ve ark. ötimik bipolar hastalarda glutatyon peroksidaz düzeylerinin arttığını gösterirken [130], diğerleri [42, 93, 137] bu enzim düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gösterememiştir. Biz de çalışmamızda bipolar bozukluk ile glutatyon düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edemedik. Andrezza ve ark. 2009 yılında, erken ve geç dönem bipolar bozukluk hastaları üzerinde yaptıkları bir diğer çalışmada erken dönem hastalarında GR (glutatyon redüktaz) ve GST açısından herhangi bir değişiklik gözlemezken, geç dönem hastalarda artmış GR ve GST düzeyleri tespit etmişler ve hastalık süresi ile bu parametreler arasında pozitif korelasyon bildirmişlerdir [138]. Biz ise yaptığımız çalışmada hastalık süresi ile glutatyon ve diğer oksidatif parametreler arasında herhangi bir ilişki saptamadığımızdan, antioksidan enzimlerin, hastalık süresince biriken oksidatif harabiyet yerine, süreç içerisinde çevresel, diyetel ve terapötik değişkenlerden etkilenebildiğini düşündük. Cui ve ark. ise fare serebral kortikal hücre kültürlerinde yaptıkları çalışmada oksidatif hasara karşı lityum

ve valproatin nöroprotektif etkilerinde glutasyonun önemli bir rol oynadığını göstermişlerdir [139]. Sonuçta glutasyon beyindeki temel serbest radikal temizleyicisi olduğu için, çalışmalar bir glutasyon prekürsörü olan N-asetilsistein (NAC) kullanılmasıyla oksidatif stresi tamir ederek, bipolar hastalıkta görülen temel semptomların azaltılıp azaltılamayacağı üzerine yoğunlaşmıştır. Berk ve ark. yaptıkları plasebo kontrollü bir çalışmada NAC'ın depresif semptomların tedavisinde, yaşam kalitesi ve fonksiyonlarının artırılmasında rol oynadığını göstermişlerdir [140].

Önemli bir serbest radikal olan NO düzeyleri, bipolar bozukluğun manik [90, 135, 141], depresif [142] ve ötimik [136] evrelerinde araştırılmış ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında bipolar bozuklukta daha yüksek olarak saptanmıştır. Fakat Özcan ve ark. bipolar tedavi öncesi olarak gruplandığı hastalarda düşük NO düzeyleri saptamıştır [143]. Biz çalışmamızda literatürle uyumlu olarak bipolar bozukluğu olan hastalarda artmış NO seviyesi tespit ettik. NO'in bipolar bozuklukta rolü şizofreni patofyolojisindeki rolüne benzemektedir. Artmış glutamat salınımı, intraselüler Ca^{++} düzeyini artırarak, Ca^{++} bağımlı bir enzim olan NOs aktivasyonuna ve artmış NO sentezine neden olabilir. Artmış glutamat salınımının bipolar bozukluk ve oksidatif stres ile ilişkisi daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Artan NO ise süperoksit radikali ile birleşerek yüksek oranda nörotoksik olan peroksinitrite dönüşebilmekte ve bu yolla aminoasit ve proteinlerin tiyol (-SH) gruplarına bağlanarak fonksiyon kaybına yol açabilmekte[5] artan NO seviyelerinin yarattığı bu harabiyet ise bipolar bozukluğun patofizyolojisinde yer alabilmektedir.

Nöronların işlevlerini yerine getirebilmelerinde ve nöroplastisitede oldukça önemli rollere sahip olan nörotrofik faktör ailesinin en fazla çalışılmış üyelerinden BDNF, yapılan birçok çalışmada bipolar bozukluğu olan hastalarda manik ve depresif episodlarda, kontrollere kıyasla düşük olarak tespit edilmişken [144-146], nörotrofik faktör ailesinin diğer üyelerinden GDNF (Glial Derived Neurotrophic Factor) ve Nörotrofin-3 manik ve depresif episodlarda artmış olarak bulunmuştur [12, 147]. Bu çalışmaların dikkat çeken noktası; nörotrofik faktör düzeylerinde, hastalığın yalnızca akut evrelerinde (depresif ve manik dönemler) anlamlı farklılıklar izleniyorken, ötimik hastalarda kontrollerle karşılaştırıldığında herhangi bir değişiklik

gözlenmiyor olmasıdır. Nörotrofin-4'ün bipolar bozukluk ile ilişkisi henüz araştırılma aşamasındadır Artmış oksidatif stresin bipolar bozukluğun patofizyolojisinde oynadığı role ve nörotrofin-4'ün dopaminerjik nöronları oksidatif strese karşı koruduğuna dair her geçen gün artan kanıtlar [148] araştırmacıları nörotrofin 4 ile bipolar bozukluk arasındaki ilişkiyi incelemeye yöneltmiştir. Bu alanda Walz ve ark. tarafından 2009 yılında yapılan ve şimdiye kadar yapılan nadir çalışmalardan biri olan çalışmada bipolar hastalığın tüm evrelerinde (ötimi, depresyon, mani) kontrollerle karşılaştırıldığında artmış nörotrofin-4/5 seviyeleri tespit edilmiştir [13]. Bir diğer çalışmada ise Otsuki ve ark. nörotrofin-4/5'e ait mRNA düzeylerini real time PCR yöntemi ile araştırmışlar ve bipolar hastalar ile kontroller arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır [149]. Biz de, ötimik bipolar hastalarla sağlıklı kontroller arasında serum nörotrofin-4 düzeyi açısından anlamlı bir fark tespit etmedik. Bu durum, diğer nörotrofik faktörler için de olduğu gibi hastaların ötimik evrede olmalarıyla ilişkili olabilir. Bu bakımdan nörotrofin-4 düzeylerinin hastaların diğer evrelerinde de araştırıldığı daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Bunun yanında nörotrofin-4 düzeylerinin oksidatif stres parametreleri ile olan ilişkisi henüz yeterince açığa kavuşmamıştır Yaptığımız çalışmada ötimik bipolar hastalarda artmış MDA, NO, azalmış SOD düzeyleri tespit edilmiş, fakat bu değerler ile nörotrofin-4 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Ayrıca çalışmamızın bir diğer önemli bulgusu, bipolar bozukluğu olan hastaların hastalık süreleri uzadıkça nörotrofin-4 düzeylerinin artmış olmasıdır. Tüm bu sonuçlar, bizi nörotrofin-4 düzeylerindeki muhtemel değişikliklerin, serbest radikal harabiyetinden çok hastalığın semptomatolojisiyle ilintili olabileceğini düşündürmektedir.

Bipolar bozuklukta olduğu gibi şizofreni ile nörotrofik faktörler arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar mevcuttur. Bersani ve ark. serum NGF (Neuronal Growth Factor) düzeylerini şizofreni hastalarında kontrollere göre düşük bulmuşlardır [150]. Şizofreni hastalarında yapılan çalışmalarda, artmış ve azalmış serum BDNF düzeyleri ve ayrıca kontrollerle karşılaştırıldığında düşük nörotrofin-3 seviyeleri ile karşılaşmak mümkündür [151-154]. Taylor ve ark. 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada in vitro olarak glutamatla indüklenmiş toksisiteye cevap olarak artmış nörotrofin-4/5 sekresyonu tespit etmişlerdir [155]. Bu yüzden nörotrofin-4'ün şizofreni patofizyolojisinde yer

alabileceği düşünülebilir. Fakat yapılan kaynak taramalarında şizofreni hastalarında nörotrofin-4 düzeyi ile ilgili çalışmalara henüz rastlanmamıştır. Bu sebeple bizim çalışmamız bu alanda ilk olmaya adaydır. Yaptığımız çalışmada remisyondaki şizofreni hastalarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında benzer nörotrofin-4 düzeyleri tespit edilmiştir. Ayrıca oksidatif stres belirteçleri ve hastalık süreleri ile nörotrofin-4 arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Bu çalışma nörotrofin-4'ün şizofreni patofizyolojisindeki rolünü aydınlatmak için atılan ilk adım olabilir. Şizofreninin farklı evrelerinin veya ilaç tedavilerinin nörotrofin-4 düzeyine etkilerinin araştırılacağı ileri çalışmalar bu konuya ışık tutabilir. Ayrıca genel olarak nörotrofinlerin kan-beyin bariyerini geçtiği bilinse de periferik nörotrofin-4 ölçümlerinin beyin-omurilik sıvısındaki düzeylerini ne ölçüde yansıttığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu anlamda beyin-omurilik sıvısında yapılacak ölçümler daha sağlıklı sonuçlar verebilir.

Folik asit ve vitamin B12 düzeylerinin azalması ile gerçekleşen bozulmuş tek-karbon metabolizmasının önemli sonuçlarından biri, vasküler ve nöral gelişim açısından yüksek oranda toksik olan homosistein seviyelerinin yükselmesidir [156]. Hiperhomosisteinemi, ROT oluşturmak üzere homosisteinin otooksidasyonu [157], artmış lipid peroksidasyonu [158], glutatyon peroksidaz [159] üretiminin azalması ve bunun yanında NMDA reseptörlerinin stimülasyonu [160] gibi bir dizi mekanizma ile oksidatif strese yol açabilir. Yapılan pek çok çalışmada homosistein düzeyleri şizofreni hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur [9, 156, 161-164]. Fakat bununla uyuşmayan sonuçlar da mevcuttur [165]. Kale ve ark. yaptığı çalışmada tedavi edilmemiş şizofreni hastalarında folik asit ve vit B12 düzeyleri, kontrollerle karşılaştırıldığında düşük olarak tespit edilmişken [156], Haidemenos ve ark. çalışmalarında şizofreni hastaları ile kontroller arasında her iki vitamin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulmamışlardır [161]. Munjewerf ve ark. ise şizofreni hastalarında düşük plazma folik asit seviyeleri tespit ederken, vit B12 seviyeleri açısından kontrol grubu ile anlamlı bir fark gösterememişlerdir [165]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada yüksek maternal homosisteinemi düzeylerinin şizofreni için bir risk faktörü olabileceği rapor edilmiştir [166]. Yine Picker ve Coyle'nin yaptıkları bir çalışmada da düşük maternal folat ve yüksek homosistein

seviyelerinin şizofreni riskini artırabileceği iddia edilmiştir [167]. Özellikle üçüncü trimesterde annelerde tespit edilen yüksek homosistein düzeylerinin fetüsün beyin yapısı ve fonksiyonunun gelişimini etkileyebileceği, plasental damarlanmada yol açabileceği hasar nedeniyle fetüse oksijen dağılımını engelleyerek şizofreni riskini artırabileceği ileri sürülmüştür [166]. Yapılan çalışmalarda yüksek homosistein düzeylerinin glutatyon peroksidaz aktivitesi ile negatif korele olduğu [168], yüksek homosistein düzeylerinin şizofrenideki oksidatif stres ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Yüksek homosistein seviyelerine yüksek S-adenozil-homosistein düzeylerinin eşlik etmekte olup, yüksek S-adenozil-homosistein düzeylerinin de DNA hipometilasyonu ve değişmiş gen ekspresyonu ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [169]. Değişmiş gen ekspresyonunun da şizofreni ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [170]. S-adenozil-homosistein ve analogları; dopamin, epinefrin ve norepinefrin gibi monoamin transmitterlerin yıkımındaki ilk basamağı katalizleyen enzim olan Katekol-O-metiltransferaz'ın(COMT) yarışmasız bir inhibitördür. COMT allelinin daha aktif olması şizofreni ile ilişkilendirildiğinden yüksek homosistein düzeyleri, COMT üzerine olan indirekt etkileri nedeniyle şizofreni patofizyolojisinde rol oynayabilir [171]. Şizofreni ile kıyaslandığında Bipolar bozuklukta homosistein, vitamin B12 ve folik asit çalışmaları daha az sayıda olup esas olarak bipolar bozuklukta bilişsel bozukluklarla homosistein düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Osher ve ark. 2004 yılında hiperhomosisteinemisi olan bipolar hastalarda daha yüksek oranda fonksiyonel bozulma tespit etmişlerdir [172]. Yine yapılan diğer çalışmalarda da. homosistein yüksekliği ile bipolar bozuklukta bilişsel bozukluk ilişkilendirilmiştir [8, 173]. Osher ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada ise yüksek homosistein seviyeleri bazı nörofizyolojik testlerdeki kötü performans ile ilişkilendirilmişlerdir [174]. Bizim yaptığımız çalışmada, hem şizofreni hem de bipolar bozukluk hastaları kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında, homosistein, vitamin B12 ve folik asit değerleri bakımından anlamlı bir fark göstermemişlerdir. Bu sonuç şimdye kadar yapılmış çalışmalarla çelişki içinde görünmektedir. Bunun sebebi araştırmamızın en büyük sınırlılıklarından olan, çalışmaya alınan grupların yaş, sigara ve alkol alışkanlıkları, çevresel faktörler, vitamin B12 ve folik asit içeren ilaç kullanımları ve diyet alışkanlıkları yönünden standardize

edilememiş olması olabilir. Bahsedilen faktörlerin standardize edildiği çalışmalar daha aydınlatıcı olacaktır.

Sonuç olarak hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta, oksidan ve antioksidan sistemlerde meydana gelen değişikliklerin, bu hastalıkların patogeneğinde oksidatif stresin önemli rolleri olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada hastalık süreleri ile oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişki saptanamadığından, artan hastalık süresiyle doğru orantılı olarak ilerleyen bir oksidatif harabiyet yerine, oksidatif sürecin olası çevresel, diyetsel ve terapötik değişkenlerden etkilenmiş olabileceği düşünüldü. Çalışmamızın bir diğer önemli sonucu ise, ilk defa olarak nörotrofin-4 değerlerinin hem şizofreni hem de bipolar bozukluk hastalarında değerlendirilmesi ve nörotrofin-4 değerleri ile oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişkinin tespit edilmemiş olmasıdır. Bu bağlamda çalışmamızın sonucu şizofreni ve bipolar bozukluk patogeneğinde oksidatif stresin rolünü araştıran çalışmalara ve potansiyel terapötik yaklaşımlara katkı sağlayabilir.

VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, CBÜTF Psikiyatri polikliniğinde duygudurum bozuklukları biriminde takip edilen bipolar bozukluk tanısı olan 50 ötimik hasta ve psikoz biriminde takip edilen remisyonda 50 şizofreni hastası ile herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan, 50 sağlıklı kontrol vakasında; bu hastalıkların patogenezinde yer aldığı ileri sürülen ve oksidan-antioksidan dengesinin önemli elemanlarından olan, total GSH, SOD gibi antioksidan savunma enzimleri, bir reaktif nitrojen türü olan NO, lipid peroksidasyonu son ürünü olan malondialdehid (MDA), dopaminerjik nöronları oksidatif stres hasarından koruduğu ileri sürülen nörotrofin-4 ve nörotoksik bir aminoasit olan homosistein düzeylerini inceleyerek, oksidatif stresin şizofreni ve bipolar bozukluğun patofizyolojisindeki rolünün aydınlatılması amaçlanmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir

1. Gruplar arasında cinsiyet ve hastalık süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p= 0.974$), yaş özellikleri bakımından anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p= 0.000$).
2. Şizofreni grubunda GSH düzeyi, hem bipolar hem de kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulunmuş (sırasıyla $p= 0.000$, $p= 0.000$), bipolar ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0.877$).
3. MDA düzeyi; şizofreni ve kontrol grupları arasında benzer bulunurken, bipolar hastalarda anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p= 0.000$).
4. Hem şizofreni hem de bipolar grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; NO düzeyleri yüksek (sırasıyla $p= 0.0.000$, $p= 0.001$), SOD düzeyleri ise düşük olarak tespit edilmiştir (sırasıyla $p= 0.000$, $p= 0.004$).
5. Üç grup arasında NT-4, homosistein, vit B12 ve folik asit parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p= 0.385$, $p= 0.793$, $p= 0.153$, $p= 0.234$).
6. Şizofreni grubunda hastalık süresi biyokimyasal parametreler üzerine herhangi bir etki göstermezken, bipolar bozukluk grubunda artan hastalık süresi ile NT-4 seviyelerinin de arttığı tespit edilmiştir ($p= 0.042$).

7. Her iki hastalık grubunda da ek tıbbi hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.
8. Her iki hastalıkta da, NT-4'ün, oksidatif stres belirteçleri ile ilişkisi incelendiğinde, bu parametreler arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta, oksidan ve antioksidan sistemlerde meydana gelen değişikliklerin, bu hastalıkların patogeneğinde oksidatif stresin önemli rolleri olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada hastalık süreleri ile oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişki saptanamadığından, artan hastalık süresiyle doğru orantılı olarak ilerleyen bir oksidatif harabiyet yerine, oksidatif sürecin olası çevresel, diyetsel ve terapötik değişkenlerden etkilenmiş olabileceği düşünüldü. Çalışmamızın bir diğer önemli sonucu ise, ilk defa olarak nörotrofin-4 değerlerinin hem şizofreni hem de bipolar bozukluk hastalarında değerlendirilmesi ve nörotrofin-4 değerleri ile oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişkinin tespit edilmemiş olmasıdır. Bu bağlamda çalışmamızın sonucu şizofreni ve bipolar bozukluk patogeneğinde oksidatif stresin rolünü araştıran çalışmalara ve potansiyel terapötik yaklaşımlara katkı sağlayabilir

VII. ÖZET

ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR BOZUKLUĞU OLAN HASTALARDA OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ, NÖROTROFİN-4 VE HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİNİN ROLLERİ

Amaç: Bu çalışmada, bipolar bozukluk ve şizofreni hastaları ile sağlıklı kontrollerde; oksidan-antioksidan dengesinin önemli elemanlarından olan, total GSH, SOD, NO ve MDA, dopaminerjik nöronları oksidatif stres hasarından koruduğu ileri sürülen nörotrofin-4 ve nörotoksik bir aminoasit olan homosistein düzeylerini inceleyerek, oksidatif stresin şizofreni ve bipolar bozukluğun patofizyolojisindeki rolünü aydınlatmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmaya, Ocak 2010 – Ağustos 2011 tarihleri arasında CBÜTF Psikiyatri polikliniğinde duygudurum bozuklukları biriminde takip edilen bipolar bozukluk tanısı olan 50 ötimik hasta, psikoz biriminde takip edilen remisyonda 50 şizofreni hastası ile herhangi bir psikiyatrik tanısı olmayan, sağlıklı kontroller dahil edildi. Periferik venöz kandan elde edilen serum örneklerinde SOD, NT-4, homosistein, vit B12 ve folik asit, plazma örneklerinde MDA ve tam kanda GSH düzeyleri ticari kitler ile, serum NO düzeyi ise Griess yöntemi ile tayin edildi. İstatistiksel analizde SPSS 15.0 programı kullanıldı.

Bulgular: Gruplar arasında cinsiyet ve hastalık süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, yaş özellikleri bakımından anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Şizofreni hastalarında azalmış glutatyon ve SOD düzeyleri ve artmış NO düzeyi saptanırken, bipolar hastalarda artmış MDA ve NO düzeyleri ile azalmış SOD düzeyi izlenmiştir. NT-4, homosistein, vit B12 ve folik asit, üç grup arasında anlamlı bir fark yaratmamıştır. Şizofrende, hastalık süresi biyokimyasal parametreler üzerine herhangi bir etki göstermezken, bipolar bozuklukta hastalık süresi ile NT-4 seviyelerinin doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Her iki hastalık grubunda da ek tıbbi hastalık varlığının biyokimyasal parametreler üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı saptanırken, NT-4'ün, oksidatif stres belirteçleri ile ilişkisi incelendiğinde, bu parametreler arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Tartışma: Hem Şizofreni hem de bipolar bozuklukta, oksidan ve antioksidan sistemlerde meydana gelen değişikliklerin, bu hastalıkların patogeneğinde oksidatif stresin önemli rolleri olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada hastalık süreleri ile oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişki saptanamadığından, artan hastalık süresiyle doğru orantılı olarak ilerleyen bir oksidatif harabiyet yerine, oksidatif sürecin olası çevresel, diyetsel ve terapötik değişkenlerden etkilenmiş olabileceği düşünöldü. Çalışmamızın bir diğer önemli sonucu ise, ilk defa olarak nörotrofin-4 değerlerinin hem Şizofreni hem de bipolar bozukluk hastalarında değerlendirilmesi ve nörotrofin-4 değerleri ile oksidatif stres parametreleri arasında herhangi bir ilişkinin tespit edilmemiş olmasıdır. Bu bağlamda çalışmamızın sonucu Şizofreni ve bipolar bozukluk patogeneğinde oksidatif stresin rolünü araştıran çalışmalara ve potansiyel terapötik yaklaşımlara katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Şizofreni, bipolar bozukluk, oksidatif stres, nörotrofin-4

VIII. SUMMARY

THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS MARKERS, NEUROTROPHIN 4 AND HOMOCYSTEINE LEVELS IN PATIENTS WITH BIPOLAR DISORDER AND SCHIZOPHRENIA

Aim: In this study, we evaluated the levels of total GSH, SOD, NO and MDA, which are the major components of oxidant - antioxidant systems, and levels of neurotrophin 4 (NT-4), which has a suggested protective role in the neurons against an oxidative stress, and finally, levels of homocysteine, a neurotoxic aminoacid, in patients with schizophrenia and bipolar disorders and in healthy controls, in order to enlighten the roles of these molecules in the above mentioned disease pathogenesis.

Materials - Methods: Between January 2010 and August 2011, 50 euthymic patients with a bipolar disorder and 50 schizophrenic patients who were in remission were recruited from Celal Bayar University, Medical Faculty, Department of Pschiatry. 50 healthy subjects who did not have any psychiatric disorders were chosen as the control group. In peripheral venous blood samples collected from all the subjects, serum SOD, NT-4, homocysteine, vit B12 and folic acid levels, plasma MDA levels and whole blood GSH levels were measured by commercial kits. Serum NO levels were measured by the Griess method. SPSS 15.0 was used for the statistical analysis.

Results: There was no statistical difference in gender and disease duration between the groups, but the mean age was statistically different between the patient and control groups. In schizophrenic patients, while glutathione and SOD levels were increased and NO levels were decreased, in bipolar patients there were increased levels of MDA and NO and decreased SOD levels compared to the controls. There were no statistical difference between the three groups in NT-4, homocysteine, vit B12 and folic acid levels. Although the disease duration had no effect on biochemical parameters in schiozphrenia, it was directly proportional with the NT-4 levels in bipolar group. In both of the disease groups, there was no significant effect of having an additional disease status on biochemical parameters and there was no relation between NT-4 and oxidative stress.

Discussion: Observed changes in the oxidant-antioxidant systems in both schizophrenia and bipolar disorders indicate that the oxidative stress may play a role in their pathogenesis. Due to a lack of a relationship between disease duration and oxidative stress parameters, we postulated that during disease process; environmental, dietary and therapeutic interventions probably may have an affect on the oxidative patterns. Our study is the first which evaluates the NT-4 levels in both schizophrenia and bipolar disorders, and which reveals no relation between NT-4 levels and oxidative stress parameters. At this point, our study may contribute to the new studies about schizophrenia and bipolar disorder investigating the oxidative stress parameters in pathogenesis and therapeutic approaches.

KAYNAKLAR

1. Raffa M, Mechri A, Othman LB, Fendri C, Gaha L, Kerkeni A. Decreased glutathione levels and antioxidant enzyme activities in untreated and treated schizophrenic patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33:1178-1183.
2. Yavuz R. Şizofreni. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi No:62 2008:49-58.
3. Farmer A, Elkin A, McGuffin P. The genetics of bipolar affective disorder. *Curr Opin Psychiatry* 2007; 20:8-12.
4. Barnett JH, Smoller JW. The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience* 2009; 164:331-343.
5. Andrezza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord* 2008; 111:135-144.
6. Gümüştaş MK. Oksidatif ve Nitrozatif Stresin Psikiyatrik Bozukluklarla İlişkisi. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Etkinlikleri Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi No:62 2008:329-340.
7. Çakır S. Şizofreni ve Kognitif Bozukluklar. *Klinik Psikiyatri* 2008; 11:9-16.
8. Dias VV, Brissos S, Cardoso C, Andrezza AC, Kapczinski F. Serum homocysteine levels and cognitive functioning in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord* 2009; 113:285-290.
9. Ma YY, Shek CC, Wong MC, Yip KC, Ng RM, Nguyen DG, Poon TK. Homocysteine level in schizophrenia patients. *Aust N Z J Psychiatry* 2009; 43:760-765.
10. Petronijevic ND, Radonjic NV, Ivkovic MD, Marinkovic D, Piperski VD, Duricic BM, Paunovic VR. Plasma homocysteine levels in young male patients in the exacerbation and remission phase of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32:1921-1926.

11. Cuncha ABM. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neuroscience Letters* 2006; 398:211-215.
12. Rosa AR, Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, Cunha AB, Quevedo J, Santin A, Gottfried C, Goncalves CA, Vieta E et al. Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunocontent during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder. *Neurosci Lett* 2006; 407:146-150.
13. Walz JC, Magalhaes PV, Giglio LM, Cunha AB, Stertz L, Fries GR, Andreazza AC, Kapczinski F. Increased serum neurotrophin-4/5 levels in bipolar disorder. *J Psychiatr Res* 2009; 43:721-723.
14. Mueser KT, McGurk SR. Schizophrenia. *Lancet* 2004; 363:2063-2072.
15. S. Kültür LM. *Psikiyatri Temel Kitabı*. Ankara: Hekimler Yayın Birliği; 1997.
16. Yüksel N. *Ruhsal Hastalıklar*. Ankara: Çizgi Tıp Yayınevi; 2001.
17. Doğan O. *Şizofreni*. İstanbul: Okyanus Yayınları; 1998.
18. H. I. Kaplan BJS. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. Baltimore: Williams&Wilkins; 1989.
19. Noll R. *The Encyclopedia of Schizophrenia and Other Psychotic Disorders*. New York: Infobase Publishing; 2007.
20. H.I. Kaplan BJS. *Synopsis of Psychiatry*. Baltimore: Williams&Wilkins; 1998.
21. Öztürk MO. *Ruh Sağlığı ve Bozuklukları*. Ankara: Hekimler Yayın Birliği; 1994.
22. D.W. Black NCA. *Synopsis of Psychiatry*. Washington: American Psychiatric Press; 1996.
23. Akiskal Hagop S. JLL-I, Norma Sartorius. *Bipolar Disorder*. Chichester: John Wiley&Sons Ltd; 2002.
24. Öztürk MO. *Ruh Sağlığı ve Bozuklukları*. Ankara: Ruh Sağlığı ve Bozuklukları; 2004.
25. Amerikan Psikiyatri Birliği. *Psikiyatride Hastalıkların Tanımlanması ve Sınıflandırılması El kitabı, Yeniden Gözden Geçirilmiş Dördüncü Baskı (DSM-IV-TR)*. Ankara: Hekimler Yayın Birliği; 2001.
26. H. Kaplan BS. *Klinik Psikiyatri* 2004.

27. Bebbington P, Ramana R. The epidemiology of bipolar affective disorder. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 1995; 30:279-292.
28. Vahip S. Bipolar Depresyon. *Klinik Psikiyatri* 2004; Ek1:41-44.
29. H. Kaplan BS, J. Grebb. *Synopsis of Psychiatry*. New York; 1994.
30. Sevilay Özcan EA. Bipolar bozukluğun genetiği. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2004; 5:163-178.
31. Craddock N, Jones I. Molecular genetics of bipolar disorder. *Br J Psychiatry* 2001; 178:S128-133.
32. Kocabıyık A. Bipolar bozuklukta duygu dışavurumu ile relaps ilişkisi. *Uzmanlık Tezi*; 2001.
33. Çubukçuoğlu Z. Bipolar Bozuklukta Nörobilişsel Testlerin Özgüllüğü ve Dutarlılığı Üzerine Karşılaştırmalı Bir Çalışma. *Uzmanlık Tezi*. Manisa; 2011.
34. Işık E. *Depresyon ve Bipolar Bozukluklar: Görsel Sanatlar Yayınevi*; 2003.
35. Michael Lieberman ADM. *Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach: Lippincott Williams & Wilkins; Third, North American Edition edition* 2008.
36. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160:1-40.
37. Tsaluchidu S, Cocchi M, Tonello L, Puri BK. Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders. *BMC Psychiatry* 2008; 8:S5.
38. Selek S. Erişkin Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Hastalarında Oksidatif Metabolizmanın Değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*. Gaziantep; 2007.
39. Gawryluk JW, Wang JF, Andrezza AC, Shao L, Young LT. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011; 14:123-130.
40. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8:1865-1879.
41. Kunz M, Gama CS, Andrezza AC, Salvador M, Cereser KM, Gomes FA, Belmonte-de-Abreu PS, Berk M, Kapczinski F. Elevated serum

- superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32:1677-1681.
42. Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Canatan H, Tezcan AE, Cinkilinc N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem Funct* 2002; 20:171-175.
 43. Bulut M. İki Uçlu Bozukluk Hastalarında Elektrokonvulzif ve İlaç Tedavileri Esnasında Oksidatif Parametrelerdeki Değişiklikleri. Uzmanlık Tezi. Gaziantep; 2009.
 44. A. Z. Reznick CEC, M. L. Hu, Y. J. Suzuki, S. Khwaja, A. Safadi. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J Biochem* 1992; 286:607-611.
 45. Bitanihirwe BK, Woo TU. Oxidative stress in schizophrenia: an integrated approach. *Neurosci Biobehav Rev* 2011; 35:878-893.
 46. Yumru M. İkiuçlu Bozuklukta Total Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri. Uzmanlık Tezi. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
 47. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39:44-84.
 48. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med* 2002; 32:1102-1115.
 49. Namık Delibaş RÖ. Serbest Radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 1995; 2:11-17.
 50. Ceballos L, Triver, J.M., Nicole, A. . Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J Clin Chem* 1992; 36:66-70.
 51. Zahide Çavdar MYE, Memduh Bülbül, Gül Güner, Semra Koçtürk. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İle Eritrositlerde Toplam ve İndirgenmiş Glutasyon Miktarının Tayini. *Turkish Journal of Biochemistry* 2006; 31:187-193.
 52. <http://ipi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/selenium/gsh.html>

53. Atmaca G. Nitrik Oksit, Nitrik Oksit Sentaz ve Sarımsak. Kocatepe Tıp Dergisi 2001; 2:217-223.
54. Yusuf Türköz EÖ. Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rollerini. Journal of Turgut Özal Medical Center 1997, 4(4).
55. Rafikov R, Fonseca FV, Kumar S, Pardo D, Darragh C, Elms S, Fulton D, Black SM: eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity. J Endocrinol 2011; 210:271-284.
56. Bhavagan NV. Medical Biochemistry: Academic Press; 2001.
57. Savaş HA. İkiüçlü Bozukluk Hastalarında Ötimik Evrede Artmış Ksantin Oksidaz ve Malondialdehid Düzeyleri. Klinik Psikiyatri 2005; 8:180-185.
58. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Vet Fak Derg 2004; 15:91-96.
59. Bilazer AC. Mekonyum Boyalı Yenidoğanlarda Kordon Kanı MDA Konsantrasyonları ve Perinatal Döneme Ait Faktörlerle ilişkisi. Uzmanlık Tezi. İstanbul; 2006.
60. Şimşek F. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipid Peroksidasyonu. Türkiye Klinikleri J Pediatri 1999; 8:42-47.
61. Yao JK, Keshavan MS. Antioxidants, redox signaling, and pathophysiology in schizophrenia: an integrative view. Antioxid Redox Signal 2011; 15:2011-2035.
62. Sönmez MB. Şizofreni ve şizoaffektif bozukluk akut alevlenmesi olan hastalarda risperidon ile ziprasidonun kardiyak ekstrapiramidal ve metabolik yan etkilerinin karşılaştırması. Uzmanlık Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı; 2007.
63. Tezcan E, Atmaca, M., Kuloglu, M., Ustundag, B. Free radicals in patients with posttraumatic stress disorder. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2003, 253:89-91.
64. Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Dean OM, Giorlando F, Maes M, Yucel M, Gama CS, Dodd S, Dean B et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. Neurosci Biobehav Rev 2011; 35:804-817.

65. Erol Göka SG, Çiğdem Aydemir, Sabahat Aksaray, Esra Süer Yalçın, Cebraill Kısa. Bipolar Bozukluk Manik Epizotta BDNF Düzeyleri ve Tedavi ile Değişimi. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2009; 19:8-13.
66. Nekrassova O, Lawrence, S.L., Compton, R.G.. Analytic determination of homocysteine: a review. Talanta 2003; 60:1085-1095.
67. Finkelstein JD, Martin JJ. Homocysteine. Int J Biochem Cell Biol 2000; 32:385-389.
68. Dikmen M. Homosistein metabolizması ve hastalıklarla ilişkisi. Türkiye Klinikleri 2004; 24:645-652.
69. Troen AMP, 46. The central nervous system in animal models of hiperhomocysteinemia. Neuropsychopharmacol and Biol Psychiatry 2005; 29:1141-1151.
70. Medina M, Urdiales JL, Amores-Sanchez MI. Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions. Eur J Biochem 2001; 268:3871-3882.
71. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. Clin Chem 2000; 46:1277-1283.
72. Varela-Moreiras G. Nutritional regulation of homocysteine: effects of drugs. Biomed Pharmacother 2001; 55:448-453.
73. Mayer EL, Jacobsen, D.W., Robinson, K. . Homocysteine and coronary atherosclerosis. J Am Coll Cardiol 1996; 27:517-527.
74. Dikmen M. Homosistein Metabolizması ve Hastalıklarla İlişkisi. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2004; 24:645-652.
75. Shi Q, Savage, J.E., Hufeisen, S.J., Rauser, L., Grajkowska, E., Ernsberger, P.. Lhomocysteine sulfinic acid and other acidic homocysteine derivatives are potent and selective metabotropic glutamate receptor agonists. J Pharmacol Exp Ther 2003; 305:131-142.
76. Demirkıran MK. Homosistein ve serebral vasküler hastalıklar. Kocatepe Tıp Dergisi 2003; 1:8-13.
77. Kocabalkan F, Baykal, Y., Bozoğlu, E. . Yaşlılarda kardiyovasküler risk faktörü olarak homosistein. Geriatri 2000; 3:69-73.

78. Wang H, Tan, H., Yang, F.. Mechanisms in homocysteine induced vascular disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2005; 2:25-31.
79. Temel İ, Özerol, E.. Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *İnönü Üniversitesi Dergisi* 2002; 9:149-157.
80. Andersson A, Hutlberg B, Lindgren A. Redox status of plasma homocysteine and other plasma thiols in stroke patients. *Atherosclerosis* 2000; 151:535-539.
81. Faraci FM, Lentz, S.R. . Hyperhomocysteinemia, oxidative stres ve cerebral vascular disease. *Stroke* 2004; 35:345-347.
82. Sachdev PS. Homocysteine and brain atrophy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29:1152-1161.
83. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354:407-413.
84. Sachdev P. Homocysteine, cerebrovascular disease and brain atrophy. *J Neurol Sci* 2004; 226:25-29.
85. Bisschops RHC, Graaf, Y., Mali, W., Grond, J. . Elevated levels of plazma homocysteine are the associated with neurotoxicity. *Atherosclerosis* 2004; 174:87-92.
86. Rosenquist TH, Schneider AM, Monogham DT. N-methyl-D-aspartate receptor agonists modulate homocysteine-induced developmental abnormalities. *FASEB J* 1999; 13:1523-1531.
87. Mattson MP, Shea TB. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 2003; 26:137-146.
88. Zieminska E, Matyja, E., Kozłowska, H., Stafiej, A., Lazarewicz, J.W. . Exitotoxic neuronal injury in acute homocysteine neurotoxicity: Role of calcium and mitochondrial alterations. *Neurochem Int* 2006; 48:491-497.
89. Lipton SA, Kim WK, Choi YB, Kumar S, D'Emilia DM, Rayudu PV, Arnelle DR, Stamler JS. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94:5923-5928.

90. Savas HA, Herken H, Yurekli M, Uz E, Tutkun H, Zoroglu SS, Ozen ME, Cengiz B, Akyol O. Possible role of nitric oxide and adrenomedullin in bipolar affective disorder. *Neuropsychobiology* 2002; 45:57-61.
91. Dadheech G, Mishra S, Gautam S, Sharma P. Evaluation of antioxidant deficit in schizophrenia. *Indian J Psychiatry* 2008; 50:16-20.
92. Singh OP, Chakraborty I, Dasgupta A, Datta S. A comparative study of oxidative stress and interrelationship of important antioxidants in haloperidol and olanzapine treated patients suffering from schizophrenia. *Indian J Psychiatry* 2008; 50:171-176.
93. Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, Wagh UV, Debsikdar VB, Mahadik SP. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Res* 2003; 121:109-122.
94. Zhang XY, Tan YL, Cao LY, Wu GY, Xu Q, Shen Y, Zhou DF. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophr Res* 2006; 81:291-300.
95. Srivastava N, Barthwal MK, Dalal PK, Agarwal AK, Nag D, Srimal RC, Seth PK, Dikshit M. Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 158:140-145.
96. Dakhale G, Khanzode S, Saoji A, Khobragade L, Turankar A. Oxidative damage and schizophrenia: the potential benefit by atypical antipsychotics. *Neuropsychobiology* 2004; 49:205-209.
97. Zhang M, Zhao Z, He L, Wan C. A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. *Sci China Life Sci* 2010; 53:112-124.
98. 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.

99. 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.
100. Reddy R, Sahebarao MP, Mukherjee S, Murthy JN. Enzymes of the antioxidant defense system in chronic schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 1991; 30:409-412.
101. Zhang XY, Zhou DF, Cao LY, Zhang PY, Wu GY, Shen YC. The effect of risperidone treatment on superoxide dismutase in schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23:128-131.
102. Mukerjee S, Mahadik SP, Scheffer R, Correnti EE, Kelkar H. Impaired antioxidant defense at the onset of psychosis. *Schizophr Res* 1996; 19:19-26.
103. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG, van Kammen DP. Effects of haloperidol on antioxidant defense system enzymes in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 1998; 32:385-391.
104. Padurariu M, Ciobica A, Dobrin I, Stefanescu C. Evaluation of antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation in schizophrenic patients treated with typical and atypical antipsychotics. *Neurosci Lett* 2010; 479:317-320.
105. Dietrich-Muszalska A, Olas B, Glowacki R, Bald E. Oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and thiols from patients with schizophrenia. *Neuropsychobiology* 2009; 59:1-7.
106. Yao JK, Leonard S, Reddy R. Altered glutathione redox state in schizophrenia. *Dis Markers* 2006; 22:83-93.
107. Do KQ, Trabesinger AH, Kirsten-Kruger M, Lauer CJ, Dydak U, Hell D, Holsboer F, Boesiger P, Cuenod M. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci* 2000; 12:3721-3728.
108. Terpstra M, Vaughan TJ, Ugurbil K, Lim KO, Schulz SC, Gruetter R. Validation of glutathione quantitation from STEAM spectra against edited 1H NMR spectroscopy at 4T: application to schizophrenia. *MAGMA* 2005; 18:276-282.

109. Matsuzawa D, Obata T, Shirayama Y, Nonaka H, Kanazawa Y, Yoshitome E, Takanashi J, Matsuda T, Shimizu E, Ikehira H et al. Negative correlation between brain glutathione level and negative symptoms in schizophrenia: a 3T 1H-MRS study. *PLoS One* 2008; 3:e1944.
110. Wood SJ, Yucel M, Pantelis C, Berk M. Neurobiology of schizophrenia spectrum disorders: the role of oxidative stress. *Ann Acad Med Singapore* 2009; 38:396-396.
111. McCreddie RG, MacDonald E, Wiles D, Campbell G, Paterson JR. The Nithsdale Schizophrenia Surveys. XIV: Plasma lipid peroxide and serum vitamin E levels in patients with and without tardive dyskinesia, and in normal subjects. *Br J Psychiatry* 1995; 167:610-617.
112. Mahadik SP, Mukherjee S, Scheffer R, Correnti EE, Mahadik JS. Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. *Biol Psychiatry* 1998; 43:674-679.
113. Johansson C, Jackson DM, Svensson L. Nitric oxide synthase inhibition blocks phencyclidine-induced behavioural effects on prepulse inhibition and locomotor activity in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 1997; 131:167-173.
114. Klamer D, Engel JA, Svensson L. The nitric oxide synthase inhibitor, L-NAME, block phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 156:182-186.
115. Wass C, Svensson L, Fejgin K, Palsson E, Archer T, Engel JA, Klamer D. Nitric oxide synthase inhibition attenuates phencyclidine-induced disruption of cognitive flexibility. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 89:352-359.
116. Baba H, Suzuki T, Arai H, Emson PC. Expression of nNOS and soluble guanylate cyclase in schizophrenic brain. *Neuroreport* 2004; 15:677-680.
117. Yao JK, Leonard S, Reddy RD. Increased nitric oxide radicals in postmortem brain from patients with schizophrenia. *Schizophr Bull* 2004; 30:923-934.

118. Xu B, Wratten N, Charych EI, Buyske S, Firestein BL, Brzustowicz LM. Increased expression in dorsolateral prefrontal cortex of CAPON in schizophrenia and bipolar disorder. *PLoS Med* 2005; 2:e263.
119. Zoroglu SS, Herken H, Yurekli M, Uz E, Tutkun H, Savas HA, Bagci C, Ozen ME, Cengiz B, Cakmak EA et al. The possible pathophysiological role of plasma nitric oxide and adrenomedullin in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 2002; 36:309-315.
120. Suzuki E, Nakaki T, Nakamura M, Miyaoka H. Plasma nitrate levels in deficit versus non-deficit forms of schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci* 2003; 28:288-292.
121. Yilmaz N, Herken H, Cicek HK, Celik A, Yurekli M, Akyol O. Increased levels of nitric oxide, cortisol and adrenomedullin in patients with chronic schizophrenia. *Med Princ Pract* 2007; 16:137-141.
122. Taneli F, Pirildar S, Akdeniz F, Uyanik BS, Ari Z. Serum nitric oxide metabolite levels and the effect of antipsychotic therapy in schizophrenia. *Arch Med Res* 2004; 35:401-405.
123. Lee BH, Kim YK. Reduced plasma nitric oxide metabolites before and after antipsychotic treatment in patients with schizophrenia compared to controls. *Schizophr Res* 2008; 104:36-43.
124. Nakano Y, Yoshimura R, Nakano H, Ikenouchi-Sugita A, Hori H, Umene-Nakano W, Ueda N, Nakamura J. Association between plasma nitric oxide metabolites levels and negative symptoms of schizophrenia: a pilot study. *Hum Psychopharmacol* 2010; 25:139-144.
125. Tang W, Huang K, Tang R, Zhou G, Fang C, Zhang J, Du L, Feng G, He L, Shi Y. Evidence for association between the 5' flank of the NOS1 gene and schizophrenia in the Chinese population. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11:1063-1071.
126. Cui H, Nishiguchi N, Yanagi M, Fukutake M, Mouri K, Kitamura N, Hashimoto T, Shirakawa O, Hishimoto A. A putative cis-acting polymorphism in the NOS1 gene is associated with schizophrenia and NOS1 immunoreactivity in the postmortem brain. *Schizophr Res* 2010; 121:172-178.

127. Okumura T, Okochi T, Kishi T, Ikeda M, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Tsunoka T, Ujike H et al. No association between polymorphisms of neuronal oxide synthase 1 gene (NOS1) and schizophrenia in a Japanese population. *Neuromolecular Med* 2009; 11:123-127.
128. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 2006; 97:1634-1658.
129. Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V, Jr., da Silva Vargas R, Kapczinski F, Portela LV, Souza DO, Salvador M et al. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett* 2007; 421:33-36.
130. Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin P, Cunha AB, Cereser KM, Santin A, Gottfried C et al. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res* 2007; 41:523-529.
131. Haluk A. Savaş HSG, Ahmet Gürel, Salih Selek, Esen Savaş, Esra Koçoğlu, Murat Eren Özen, Hasan Herken, Ömer Akyol. İkiuçlu Bozukluk Hastalarında Ötimik evrede artmış Ksantin Oksidaz ve Malondialdehid Düzeyleri. *Klinik Psikiyatri* 2005; 8:180-185.
132. Mahadik SP, Evans D, Lal H. Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25:463-493.
133. Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11:851-876.
134. Berk M, Ng F, Dean O, Dodd S, Bush AI. Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29:346-351.
135. Gegerlioglu 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.

136. Savas HA, Gergerlioglu HS, Armutcu F, Herken H, Yilmaz HR, Kocoglu E, Selek S, Tutkun H, Zoroglu SS, Akyol O. Elevated serum nitric oxide and superoxide dismutase in euthymic bipolar patients: impact of past episodes. *World J Biol Psychiatry* 2006; 7:51-55.
137. Abdalla DS, Monteiro HP, Oliveira JA, Bechara EJ. Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in schizophrenic and manic-depressive patients. *Clin Chem* 1986; 32:805-807.
138. Andreazza AC, Kapczinski F, Kauer-Sant'Anna M, Walz JC, Bond DJ, Goncalves CA, Young LT, Yatham LN. 3-Nitrotyrosine and glutathione antioxidant system in patients in the early and late stages of bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2009 34:263-271.
139. Cui J, Shao L, Young LT, Wang JF. Role of glutathione in neuroprotective effects of mood stabilizing drugs lithium and valproate. *Neuroscience* 2007; 144:1447-1453.
140. Berk M, Copolov DL, Dean O, Lu K, Jeavons S, Schapkaitz I, Anderson-Hunt M, Bush AI. N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder--a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Biol Psychiatry* 2008; 64:468-475.
141. Yanik M, Vural H, Tutkun H, Zoroglu SS, Savas HA, Herken H, Kocyigit 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.
142. 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.
143. Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int Clin Psychopharmacol* 2004; 19:89-95.
144. Cunha AB, Frey BN, Andreazza AC, Goi JD, Rosa AR, Goncalves CA, Santin A, Kapczinski F. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neurosci Lett* 2006; 398:215-219.
145. Machado-Vieira R, Dietrich MO, Leke R, Cereser VH, Zanatto V, Kapczinski F, Souza DO, Portela LV, Gentil V. Decreased plasma

- brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. *Biol Psychiatry* 2007; 61:142-144.
146. Fernandes BS, Gama CS, Kauer-Sant'Anna M, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Kapczinski F. Serum brain-derived neurotrophic factor in bipolar and unipolar depression: a potential adjunctive tool for differential diagnosis. *J Psychiatr Res* 2009; 43:1200-1204.
 147. Walz JC, Andreazza AC, Frey BN, Cacilhas AA, Cereser KM, Cunha AB, Weyne F, Stertz L, Santin A, Goncalves CA et al. Serum neurotrophin-3 is increased during manic and depressive episodes in bipolar disorder. *Neurosci Lett* 2007; 415:87-89.
 148. Lingor P, Unsicker K, Krieglstein K. GDNF and NT-4 protect midbrain dopaminergic neurons from toxic damage by iron and nitric oxide. *Exp Neurol* 2000; 163:55-62.
 149. Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Fujimoto M, Matsubara T, Funato H, Watanabe Y. Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *J Psychiatr Res* 2008; 42:1145-1153.
 150. Bersani G, Iannitelli A, Maselli P, Pancheri P, Aloe L, Angelucci F, Alleva E. Low nerve growth factor plasma levels in schizophrenic patients: a preliminary study. *Schizophr Res* 1999; 37:201-203.
 151. Chen da C, Wang J, Wang B, Yang SC, Zhang CX, Zheng YL, Li YL, Wang N, Yang KB, Xiu MH et al. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in drug-naive first-episode schizophrenia: relationship to clinical phenotypes. *Psychopharmacology (Berl)* 2009; 207:375-380.
 152. Rizos EN, Papadopoulou A, Laskos E, Michalopoulou PG, Kastania A, Vasilopoulos D, Katsafouros K, Lykouras L. Reduced serum BDNF levels in patients with chronic schizophrenic disorder in relapse, who were treated with typical or atypical antipsychotics. *World J Biol Psychiatry* 2010; 11:251-255.
 153. Reis HJ, Nicolato R, Barbosa IG, Teixeira do Prado PH, Romano-Silva MA, Teixeira AL. Increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in chronic institutionalized patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 2008; 439:157-159.

154. Vargas HE, Gama CS, Andreazza AC, Medeiros D, Stertz L, Fries G, Palha J, Cereser KM, Berk M, Kapczinski F et al. Decreased serum neurotrophin 3 in chronically medicated schizophrenic males. *Neurosci Lett* 2008; 440:197-201.
155. Taylor S, Srinivasan B, Wordinger RJ, Roque RS. Glutamate stimulates neurotrophin expression in cultured Muller cells. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; 111:189-197.
156. Kale A, Naphade N, Sapkale S, Kamaraju M, Pillai A, Joshi S, Mahadik S. Reduced folic acid, vitamin B12 and docosahexaenoic acid and increased homocysteine and cortisol in never-medicated schizophrenia patients: implications for altered one-carbon metabolism. *Psychiatry Res* 2010; 175:47-53.
157. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1987; 262:10098-10103.
158. Jones BG, Rose FA, Tudball N. Lipid peroxidation and homocysteine induced toxicity. *Atherosclerosis* 1994; 105:165-170.
159. Upchurch GR, Jr., Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Jr., Loscalzo J. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272:17012-17017.
160. Muntjewerff JW, Kahn RS, Blom HJ, den Heijer M. Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. *Mol Psychiatry* 2006, 11(2):143-149.
161. Haidemenos A, Kontis D, Gazi A, Kallai E, Allin M, Lucia B. Plasma homocysteine, folate and B12 in chronic schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31:1289-1296.
162. Adler Nevo G, Meged S, Sela BA, Hanoch-Levi A, Hershko R, Weizman A. Homocysteine levels in adolescent schizophrenia patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006; 16:588-591.
163. Kim TH, Moon SW. Serum homocysteine and folate levels in korean schizophrenic patients. *Psychiatry Investig* 2011; 8:134-140.

164. Levine J, Sela BA, Osher Y, Belmaker RH. High homocysteine serum levels in young male schizophrenia and bipolar patients and in an animal model. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29:1181-1191.
165. Muntjewerff JW, van der Put N, Eskes T, Ellenbroek B, Steegers E, Blom H, Zitman F. Homocysteine metabolism and B-vitamins in schizophrenic patients: low plasma folate as a possible independent risk factor for schizophrenia. *Psychiatry Res* 2003; 121:1-9.
166. Brown AS, Bottiglieri T, Schaefer CA, Quesenberry CP, Jr., Liu L, Bresnahan M, Susser ES. Elevated prenatal homocysteine levels as a risk factor for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2007; 64:31-39.
167. Picker JD, Coyle JT. Do maternal folate and homocysteine levels play a role in neurodevelopmental processes that increase risk for schizophrenia? *Harv Rev Psychiatry* 2005; 13:197-205.
168. Pasca SP, Nemes B, Vlase L, Gagyi CE, Dronca E, Miu AC, Dronca M. High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism. *Life Sci* 2006; 78:2244-2248.
169. James SJ, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Caudill MA. Elevation in S-adenosylhomocysteine and DNA hypomethylation: potential epigenetic mechanism for homocysteine-related pathology. *J Nutr* 2002; 132:2361S-2366S.
170. Tsankova N, Renthal W, Kumar A, Nestler EJ. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8:355-367.
171. Applebaum J, Shimon H, Sela BA, Belmaker RH, Levine J. Homocysteine levels in newly admitted schizophrenic patients. *J Psychiatr Res* 2004; 38:413-416.
172. Osher Y, Sela BA, Levine J, Belmaker RH. Elevated homocysteine levels in euthymic bipolar disorder patients showing functional deterioration. *Bipolar Disord* 2004; 6:82-86.
173. Dittmann S, Seemuller F, Schwarz MJ, Kleindienst N, Stampfer R, Zach J, Born C, Bernhard B, Fast K, Grunze H et al. Association of cognitive deficits with elevated homocysteine levels in euthymic

bipolar patients and its impact on psychosocial functioning: preliminary results. *Bipolar Disord* 2007; 9:63-70.

174. Osher Y, Bersudsky Y, Silver H, Sela BA, Belmaker RH. Neuropsychological correlates of homocysteine levels in euthymic bipolar patients. *J Affect Disord* 2008; 105:229-233.