



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

LİTYUMUN BEYİN DOKUSUNDA MİTOKONDRI KOMPLEKS 1, 2, 3 VE ATP-SENTAZ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Arzu KARAUSTAĞLU

Samsun
Ocak - 2017



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

LİTYUMUN BEYİN DOKUSUNDA MİTOKONDİRİ KOMPLEKS 1, 2, 3 VE ATP-SENTAZ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Arzu KARAUSTAOĞLU

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL

Samsun
Ocak - 2017

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Arzu KARAUSTAOĞLU tarafından Yrd.Doç.Dr. Özgür Korhan TUNÇEL Danışmanlığında hazırlanan Lityumun Beyin Dokusunda Mitokondri Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-Sentaz Üzerine Etkisi başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20 /01 /2017 tarihinde yapılan sınav ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Ramazan AMANVERMEZ
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ



Üye : Yrd.Doç.Dr. Özgür K. TUNÇEL
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ



Üye : Yrd.Doç.Dr. Murat USTA
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ



ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

20 / 01 /2017

Prof.Dr. AHMET UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinde ve araştırma aşamasında bilgi ve becerisi ile bana destek olan, değerli hocam ve tez danışmanım sayın Yrd.Doç.Dr. Özgür Korhan Tunçel'e teşekkür ederim. Tezimin başlangıcından bitimine kadar olan sürede bana verdiği destek ve sağladığı mükemmel çalışma ortamı için Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ramazan Amanvermez'e müteşekkirim.

İlminden faydalanabilme fırsatını yakaladığım, sevgi ve şefkatini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam sayın Doç.Dr. Bahattin Avcı'ya, verdiği destekten dolayı Doç.Dr. Birşen Bilgici'ye ve istatistiksel alanda yardımlarıyla destek olan Uzm.Dr. Ebru Tunçel'e çok teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemi sağlayan, sevgi, emek ve destekleriyle hayatımın her alanında olduğu gibi eğitim sürecimde de her zaman yanımda olan sevgili aileme minnetarım.

Tezimin yazım aşamasında tecrübesini aktaran ve yardımlarıyla bana destek olan Arş. Göv. Hakan Balcı'ya, bu süreçte birlikte çalıştığım değerli arkadaşım Taner İlker Gümrükçüoğlu'na ve tüm yardımları, güler yüzleri ve de destekleri ile yanımda olan, birlikte çalışmaktan zevk aldığım değerli Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanları Kadriye Bardak, Fatma Yiğit, Neslihan Orgen, Fulnur Onar, Orhan Erol'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, PYO.TIP.1901.15.016 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

LİTYUMUN BEYİN DOKUSUNDA MİTOKONDİRİ KOMPLEKS 1, 2, 3 VE ATP-SENTAZ ÜZERİNE ETKİSİ

Amaç: Bipolar hastalığın patofizyolojisinde mitokondriyal disfonksiyon varlığı öne sürülmekte. BD için günümüzdeki tedaviler arasında lityumu da içeren birçok atipik antipsikotikler ve antikonvülzan bulunmaktadır. Lityum, beyin hücrelerinde mitokondriyal elektron transport zincirine etki ederek terapötik özelliklere sahip olabilir. Bu durum lityumun beyinde elektron transport zinciri üzerinden etki göstererek tedavi edici özelliğe sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada, lityumun beyin sağ frontal korteks dokusunda mitokondria kompleksi 1, 2, 3 ve ATP-sentaz üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada, 30 erişkin albino wistar sıçan kullanıldı. Deneysel çalışmada ratlar iki gruba ayrıldı. Grup 1 (n=20, kontrol grubu, 1 ml salin solüsyonu intraperitoneal olarak uygulandı). Grup 2 (n=20, lityum grubu, 0,5 ml 100 mg/kg lityum verilen). 30 gün boyunca salin solüsyonu ve lityum intraperitoneal olarak uygulandı. Deney sonunda ratlar dekapate edildi ve beyin sağ prefrontal korteksleri SET buffer (250 Mm sukroz, 2 mM etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), 10 Mm tris-baz pH 7.4) içine alındı. Devamında homojenizasyon işlemi yapıldı ve homojenatlar biyokimyasal analizler için alındı. Ticari olarak sağlanan kitler kullanılarak mitokondri kompleksi 1, 2, 3 ve ATP-sentaz aktivitesi ve aynı tüplerden Lowry metodu kullanılarak protein miktarı ölçüldü. Sonuçlar ($\Delta A/dk$)/(gprotein/dl) olarak sunuldu.

Bulgular: Yapılan çalışma sonucunda kontrol ve lityum grupları arasında kompleks 1, 2 ve ATP-sentaz aktiviteleri bakımından değişiklik görülmedi. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, lityum grubunun kompleks 3 aktivitesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Sonuçlar lityum tedavisinin, elektron taşıma zincirindeki kompleks 3'ün aktivitesini arttırdığını göstermektedir. Ancak, bu konunun aydınlanması için daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği de bir gerçektir.

Anahtar Kelimeler: Bipolar bozukluk; lityum; mitokondri; prefrontal korteks

Arzu KARAUSTAĞLU, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak-2017

ABSTRACT

THE EFFECT of LITHIUM on MITOCHONDRIA COMPLEX 1, 2, 3 and ATP-SYNTASE in BRAIN TISSUE

Aim: Mitochondrial dysfunction has been suggested in the pathophysiology of bipolar disorder. Current treatments for BD include lithium, several anticonvulsants and atypical antipsychotics. Lithium may have therapeutic properties by acting through mitochondria electron transport chain in the brain cells. For this, present study was aimed to investigate the effect of lithium on mitochondria complex 1, 2, 3 ve ATP-synthase in the brain right frontal cortex tissue.

Material and method: In the present study, we used 30 adult albino wistar rats. For experimental study, rats were divided into 2 groups. Group 1 (n=10, control group, 1 ml saline solution was applied through intraperitoneally). Group 2 (n=20, lithium group, 0,5 ml 100 mg/kg lithium was given to rats). Saline solution and lithium for 30 days were applied intraperitoneally at 08-10 pm every day. At the end of the experiment, the rats were decapitated and right prefrontal cortex of brain were taken into SET buffer (250 mM sucrose, 2 mM ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), 10 mM tris-base pH 7.4). Then, homogenization was done and homogenates were taken for biochemical analyzes. Mitochondria complex 1, 2, 3 and ATP-synthase were measured by using commercially available kits and protein amount was measured by usig lowry method from the same tubes. Results were expressed as $(\Delta A/dk)/(gprotein/dl)$.

Results: There was no change in complex 1, 2 and ATP-synthase between the control and lithium groups. However, complex 3 activity was measured higher in lithium group compared to control.

Conclusion: The results show that lithium treatment is increasing the activity of complex 3 in the electron transport chain. However, it is also a fact that more detailed studies must be done for the enlightenment of this subject.

Keywords: Bipolar disorder; lithium; mitochondria; prefrontal cortex

Arzu KARAUŞTAOĞLU, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, January-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

5HT1A	: 5-Hidroksitriptamin 1A
ADP	: Adenozin difosfat
AKT-1	: serin/treonin protein kinaz
ATP	: Adenozin trifosfat
C1	: Kompleks 1
C2	: Kompleks 2
C3	: Kompleks 3
C5	: ATP-sentaz
Ca⁺²	: Kalsiyum iyonu
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CGCs	: Serebellar granül hücre
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CNS	: Merkezi sinir sistemi
CO₂	: Karbondioksit
CREB	: cAMP yanıt elementi bağlayıcı proteini
Cu⁺²	: Bakır iyonu
DCPIP	: Diklorofenolindofenol
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EC50	: İlacın maksimum etkisinin yarısını oluşturan konsantrasyon
ERK	: Mitojen aktive protein kinaz
ETC	: Elektron transport sistemi
FAD	: Flavin adenin dinükleotit
FADH₂	: Flavin adenin dinükleotit+2H
FDA	: Food and Drug Administration
Fe-S	: Femir-Sülfür
FMN	: Flavin mononükleotit
GSK3	: Glikojen Sentaz Kinaz 3
H₂O	: Su molekülü
I-2	: İnhibitör-1
IL-1b	: İnterlökin-1β
IL-6	: İnterlökin-6
IMP	: İnozitol Monofosfat

K⁺	: Potasyum iyonu
KCN	: Potasyum siyanür
LiAl(Si₂O₆)	: Lityum alüminyum silikat (spodümen)
LiCl	: Lityum klorür
LiCO₃	: Lityum karboksit
MDD	: Majör depresif bozukluk
MEK	: Mitojen aktive protein kinaz kinaz
MPP⁺	: 1-metil-4-fenilpiridinyum
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
Na/K	: Sodyum/Potasyum
NADH-Q	: Nikotinamid adenin dinükleotit -koenzim Q
NDUFS7	: NADH dehidrogenaz [ubikinon] demir-sülfür protein 7
NF-κB	: Nükleer faktör-kappa B
NLPR3	: Nod benzeri reseptör protein 3
NMDA	: N-metil-D-aspartat
O₂⁻	: Süperoksit radikali
O₂	: Oksijen molekülü
PI3K	: Fosfoinozitol-3-Kinaz
PP-1	: Protein fosfataz-1
PP2A	: Protein fosfataz 2A
QH₂	: Ubikinol
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
RSK	: Ribozomal S6 kinaz
SCZ	: Şizofreni
SSS	: Santral sinir sistemi
TCA	: Siklik asit siklusu
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
TrkB	: Tropomiyosin reseptör kinaz B
ΔA	: Delta absorbans (absorbasdaki değişim)

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Lityum	2
2.1.1. Lityumun Tarihçesi	2
2.1.2. Lityumun Yapısı	4
2.1.3. Lityumun Kullanım Alanları	5
2.1.4. Lityumun Etki Mekanizması.....	6
2.2. Mitokondri.....	10
2.2.1. Mitokondrinin Tarihçesi	11
2.2.2. Mitokondrinin Yapısı	12
2.2.3. Mitokondriyal DNA	13
2.2.4. Mitokondride Solunum Zinciri ve Oksidatif Fosforilasyon	15
2.2.5. Mitokondri ve Psikiyatrik Hastalıklar	17
3. MATERYAL VE METOT	22
3.1. MATERYAL.....	22
3.1.1. Deney Hayvanları	22
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler.....	22
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	22
3.2. METOT	23
3.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar.....	23
3.2.2. Doku Homojenizasyonu	23
3.2.3. Kompleks 1'in Ölçümü	24
3.2.4. Kompleks 2'nin Ölçümü	24
3.2.5. Kompleks 3'ün Ölçümü	25
3.2.6. ATP-Sentaz Ölçümü.....	26
3.2.7. Protein Miktarı Tayini	27
3.2.8. İstatistiksel Değerlendirme	28
4. BULGULAR	30

4.1. Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz'ın Ölçümü Sonuçları.....	30
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	53



1. GİRİŞ

Lityum elementi August Arfvedson tarafından keşfedilmiştir (Kamienski ve ark., 2004). Lityum periyodik cetvelde 1A grubunda yer alır ve molekül ağırlığı en düşük element olma özelliğine sahiptir (Schou ve ark., 1954). Lityumun psikiyatride kullanımı dikkat çekmektedir. Bununla ilgili ilk çalışmalar Cade tarafından yapılmış ve devamında birçok araştırmacının çalışmaları sonucunda lityum bipolar bozukluk (BD) başta olmak üzere psikiyatrik hastalıklarda geniş kullanım alanı bulmuştur (Cade, 1949).

Günümüzde hala lityumun etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Berridge ve ark., 1989). Yine de yapılan çalışmalar sonucu lityum ile ilgili birçok mekanizma tanımlanmaktadır (Jope, 1999). Bunlardan birkaçı fosfoinozitol-3-kinaz aktivasyonu (PI3K) (Lochhead ve ark., 2001; Tong ve ark., 2002), serin/treonin protein kinaz B (Akt-1) aktivasyonu (Chalecka-Franaszek ve Chuang, 1999), inositol monofosfataz (IMP) (Williams ve ark., 2002), glikojen sentaz kinaz 3 (GSK-3) (Young, 2009), mitojen aktive protein kinaz kinaz/mitojen aktive protein kinaz (MEK/ERK) yolağıdır (Pardo ve ark., 2003).

Lityum ile mitokondri arasında ilişki olduğunu düşündüren birçok çalışma bulunmaktadır. Hücre için gerekli olan enerji yüksek oranda mitokondri iç zarına yerleşik olan elektron transport zinciri (ETC) ile üretilmektedir ve hücrelerdeki en büyük reaktif oksijen türleri (ROS) kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıdır (Fridovich, 1978). Oluşan ROS üretiminin artması veya antioksidan sistemin zayıflığı sonucunda oksidatif stres oluşmaktadır (Serafini ve Del Rio, 2004). Birçok hastalık gibi bipolar bozukluğun patofizyolojisinde de oksidatif stresin yer aldığı düşünülmektedir (Andreazza ve ark., 2010). Bipolar bozukluğa sahip hastalarda lityum ile tedavide olumlu sonuçlar alındığı gösterilmiştir (Saygılı ve Bayraktar, 1988). BD ve mitokondri arasında belirtilen ilişki, lityumun etki mekanizmasının beyinde elektron transport zinciri üzerine etki ederek tedavi edici etkisini gösterebileceğini düşündürmektedir. Bu sebeple çalışmada lityumun sağ prefrontal kortekste kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz üzerine etkisininin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Lityum

2.1.1. Lityumun Tarihçesi

Lityum elementi 1817 yılında August Arfvedson tarafından keşfedilmiştir.

August Arfvedson, İsveç'in Utö adasından getirilen petalit cevherinin analizi üzerine yaptığı çalışmalarda mineralin önemli bir kısmını tanımlayamadığını fark etmiş ve bu bileşiğin farklı bir kimyasal özelliğe sahip olduğunu görmüştür. Lityum, adını Yunanca'da taş anlamına gelen "lithos" kelimesinden almaktadır. Bu ismin verilme sebebi ise lityumun bir mineral kaynağında keşfedilmiş olmasıdır (Kamienski ve ark., 2004).

1855 yılına kadar lityumun metal olarak sentezi gerçekleştirilememiştir. Daha sonrasında Robert Bunsen ve Augustus Matthienson lityum klorürün (LiCl) elektrolizi sonucu lityum metalini elde edebilmişlerdir. Lityumun yüksek miktarlarda üretimi ise ancak 1900'lü yıllarda Güney Dakota'daki Etta ocağından spodümen (LiAl(Si₂O₆)) mineralinin çıkarılması ile başlamıştır. 1960'lı yıllardan sonra ise lityum seramik, cam, metalürji, eczacılık, yağ ve pil sektöründe yaygın kullanım alanı bulunmuştur (Fishwick, 1974).

Lityum, sağlık alanında ilk kez 1800'lü yılların ortalarında A. Lipowitz ve Alexander Ure tarafından kullanılmıştır. Lityum çözeltilerinin ürik asit kristallerini çözme yeteneği keşfedilmiş ve böylece lityumun mesanenin ürik asit taşlarının tedavisi ve gut hastalarında ürik asit çökelti tedavisi için kullanımı başlamıştır (El-Mallakh ve ark., 1999; Jefferson ve Greist, 2007). Daha sonraki dönemlerde ise lityum tuzları, romatoid artrit ve renal taş tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Bromürlerin sedatif etkisinin yaygın olarak kullanıldığı dönemlerde yapılan çalışmalarda lityumun molekül ağırlığının düşük olması sebebiyle lityum bromür tuzunun daha fazla bromür içerdiği ve bu sebeple sedatif etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonraki yıllarda kalp ve böbrek yetmezliği olan hastalarda sodyum klorürün (NaCl) yerine LiCl sıklıkla kullanılmaya başlanmış, ancak ani ölümlerin izlenmesi sebebiyle 1949 yılında Amerika'da kullanımı yasaklanmıştır (Corcoran ve ark., 1949). John Cade, yaptığı çalışmada lityum karboksit (LiCO₃) ile tedavi ettiği 10 manik hastanın 8'inde iyileşme gözlemlemiştir. Cade, ilacı ilk olarak kendi üzerinde denemiştir. Daha sonrasında 6 şizofren, 10 manik ve 3 melankolik hasta üzerinde kullanmış ve ilacın etkilerini incelemiştir. Çalışmalarının sonunda ise psikiyatri tarihinde bir dönüm noktası niteliği

taşıyan “Psikotik Eksitasyon Tedavisinde Lityum Tuzları” başlıklı makalesi Avustralya Tıp Dergisi’nde yayınlanmıştır. Cade’in çalışmaları sonucunda manik hastalar üzerinde lityumun etkisinin dramatik olduğu fakat şizofren ve melankolik hastalarda tedavi sonrası belirgin bir düzelme olmadığı görülmüştür ve böylece Cade lityumun mani üzerine özgül bir etkisi olduğunu ve bu ruhsal hastalığın tedavisinde kullanılabileceğini belirtmiştir (Cade, 1949).

Noack ve Tautner (1951), ilk defa lityumun hastalığın yenilenmesini önleyebildiğini ve uzun dönem koruyucu etkilere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Glesinger tarafından da lityumun güvenilir ve etkin olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır. Psikotik eksitasyonlu 104 hasta üzerinde yaptığı bir çalışma sonucunda iki hastada böbrek fonksiyon bozukluğuna bağlı albuminüri geliştiğini ve bir hastanın öldüğünü rapor etmiştir (Glessinger, 1954). Sonrasında lityumun antimanik etkiye sahip olduğu plasebo kontrollü bir protokol ile manik hastalar üzerinde denemesi ile gösterilmiştir (Schou ve ark., 1954).

1960’lı yıllarda özellikle Avrupa’da lityumla ilgili çalışmalar hız kazanmaya başlamıştır. Hartigan (1963) ve Baastrup’un (1964) yaptığı çalışmalar oldukça önemlidir. Bu çalışmalar hastalarda hem maninin hem de depresyonun lityum tedavisi ile önlenebildiğini bildirilmiştir. Bu gelişmelerin devamında Baastrup ve Schou (1967) birlikte uzun dönem lityum kullanımı ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Yaptıkları bir çalışmada son iki yılda ikiden fazla manik atak geçiren 88 hastayı değerlendirmeye almış ve bu hastaları 6,5 yıl boyunca takip altında tutmuşlardır. Çalışma sonucunda hem manik hem de depresif dönemde lityumun etkili olduğu ve etkisinin zamanla kaybolmadığı, unipolar ve bipolar hastalarda eşit etkinlikte olduğu ve hastalığın yinelemesinin ilaç tedavisinin bitirilmesinden hemen sonra ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Baastrup ve Schou’nun yer aldığı bir grup araştırmacı randomize, plasebo kontrollü, çift kör bir çalışmayı 85 hasta üzerinde yapmışlar ve plasebo grubunda bulunan 39 hastanın 21’inde hastalığın tekrarladığını fakat lityum grubunda bulunan 45 hastanın hiçbirinde hastalığın yeniden oluşmadığını bildirmişlerdir (Baastrup ve ark., 1970).

Lityumun bipolar hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanımını 1970’li yıllarda başlamıştır. Mogens Schou ve Poul Christian Baastrup’un lityum üzerinde yaptığı çalışmalar ve başka plasebo kontrollü çalışmalar sonucunda 1970 yılında FDA (U.S. Food and Drug Administration), lityumun Amerika Birleşik Devletleri’nde akut manide, 1974 yılında ise sürdürüm tedavisinde kullanımına onay vermiştir. Sonraki yıllarda lityumun psikiyatride kullanımı ile ilgili olarak çok sayıda çalışma yapılmış ve lityumun çeşitli hastalıklarda kullanımı ile ilgili binlerce makale yayınlanmıştır (Amidsen ve ark., 1968).

2.1.2. Lityumun Yapısı

Lityum periyodik tabloda 1A grubunda yer almaktadır. Atom numarası 3 olup, atom ağırlığı 6.941 g/mol’dür. Lityum en düşük yoğunluğa sahip metaldir. Yeryüzündeki ortalama konsantrasyonu yaklaşık olarak % 0,006 oranındadır ve tabiattaki ana kaynakları killer, mineraller ve tuzlu yer altı sularıdır (Sailer, 2000).

Lityum tek değerli bir katyondur ve bazı fizikokimyasal özellikleri ile sodyum ve potasyumun fizokimyasal özellikleri benzerlik gösterir. Bazı yönlerden ise toprak alkali metaller olan magnezyum ve kalsiyum ile benzerlikler gösterir. Biyolojik dokularda eser miktarlarda bulunan diğer metallerle karşılaştırıldığında lityum canlı organizmalarda çok iyi tolere edilebilmektedir. Bu durumun sebebi lityumun sodyum, potasyum, magnezyum ve kalsiyum ile benzer özelliklerinin olmasıdır. Bu nedenle, lityumun canlı bir organizmadaki diğer katyonların işlevlerini değiştirmesi ya da onların yerine geçmesi beklenir (Pandey ve Davis, 1980).

Tablo 1. Lityumun fiziksel özellikleri
(Ober, 2001'den uyarlanmıştır.)

Yoğunluğu : 0.535 g/ml
Erime noktası : 180. 54 °C (453.69 K)
Kaynama Noktası : 1342 °C (1615K)
Molar Hacmi : 13.02 ml/mol
Isı İletkenliği (300K) : 0.85 Wcm ⁻¹ K ⁻¹
Özgül Isı : 3.582 Jg ⁻¹ K ⁻¹
Buharlaşma Entalpisi : 147 kJmol ⁻¹
Atomlaşma Entalpisi: 159 kJmol ⁻¹

Tablo 2. Lityumun kimyasal özellikleri
(Ober, 2001'den uyarlanmıştır.)

Elektronik Konfigürasyonu : [He]. 2s1
Kabuk Yapısı : 2.1
Elektron İlgisi : 59.6 kJ/mol ⁻¹
Elektronegatiflik : 0.98 (Pauling birimi)
Atomik Yarıçapı : 145 pm
I. iyonlaşma Enerjisi : 520.2 kJ/mol
II. iyonlaşma Enerjisi : 7298.1 kJ/mol

2.1.3. Lityumun Kullanım Alanları

Lityum günümüzde tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır ve bipolar bozuklukta en etkin ilaç olmayı sürdürmektedir. Bipolar bozukluğun koruyucu tedavisinde lityumun yeri oldukça önemlidir. Lityumun %79 oranında hastalığın tekrarlamasını önlediği çift kör plasebo kontrollü yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Lityum kullanımında atakların sıklığının, sürelerinin ve şiddetinin azalmış olduğu kanıtlanmıştır. İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda bu oranın %50-60'lara düştüğü bildirilmiştir (Uluşahin, 2000). Bu durumda dikkati çeken lityuma yanıtı etkileyen faktörler olmuştur. Karma mani, ataklar, hızlı siklus arasında işlevselliğin bozuk oluşunun, eşlik eden madde kullanımının, atak görüntüsünün depresyon-mani-ötimi şeklinde oluşunun ve kişilik bozukluklarının lityuma yanıt verme oranını düşürdüğü rapor edilmiştir (Öztürk, 1997; Sadock ve Sadock, 2000; Uluşahin, 2000).

Lityum psikiyatrik hastalıklar dışında da yaygın olarak kullanılabilir. Lityumun, amiyotrofik lateral sklerozda ilerlemenin geciktirilmesi amacıyla, kemik iliğinde granülosit yapımını uyarması sebebiyle nötropenik hastalarda (kansere veya aplastik anemi, immünyüpresifler ile indüklenen nötropeni), tiroit kanserlerinde

uygulanan radyoaktif iyot tedavisine ek tedavi olarak, anormal antidiüretik hormon üretiminin varlığında, kronik veya epizodik küme baş ağrılarının tedavisinde ve genital herpes enfeksiyonlarında kullanımı bildirilmiştir (Jefferson ve Greist, 2007).

Lityum psikotrop ilaçlar içerisinde tiroid işlevlerini en çok etkileyen ajan olarak kabul görmektedir. İlk kez 1971 yılında lityuma bağlı hipotiroidizm gerçekleştiği belirtilmiştir (Deodhar ve ark., 1998). Daha sonraki yıllarda lityum ile tiroid işlevi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar giderek artmış, klinik ve deneysel olarak lityuma bağlı tiroid bozuklukları detaylı olarak incelenmiştir. Lityuma bağlı en sık gelişen durumlar; guatr, klinik ve subklinik hipotiroidizm, nadiren hipertiroididir (Kleiner ve ark., 1999; Saygılı ve Bayraktar, 1988; Shimizu ve ark., 1997). Lityumun uzun süre kullanımının tiroid işlevleri üzerine istenmeyen etkilerin artmasına sebep olduğu bilinmektedir. Uzun süreli lityum kullananlarda %3,8-51 arasında değişen oranlarda selim, diffuz, toksik olmayan guatr belirlenmiştir (Deodhar ve ark., 1998; Perrild ve ark., 1990; Sadock ve Sadock, 2000).

Lityumun yaygın kabul gören kullanımları; bipolar I bozukluk (manik atak ve koruyucu tedavisinde), bipolar I bozukluk (depresif atak), bipolar II bozukluk, siklotimik bozukluk, yineleyici majör depresif bozukluk, akut depresyon, şizoaffektif bozukluktur (Saygılı ve Bayraktar, 1988; Vahip, 1997; Yüksel, 1998).

Yararlı olduğu düşünülen durumlar; duygulanım belirtileri bulunan şizofrenik bozukluk, impulsif agresif davranışla giden durumlar, döngüsel özellik gösteren paranoid bozukluktur (Saygılı ve Bayraktar, 1988; Vahip, 1997; Yüksel, 1998).

Denenebilecek durumlar; duygulanım belirtileri bulunmayan şizofreni, alkol ve madde kullanım bozuklukları, obsesif-kompulsif bozukluk, posttravmatik stres bozukluğu, premenstrual disforik bozukluk, yeme bozuklukları, kişilik bozuklukları, dürtü kontrol bozuklukları, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, periyodik katatoni, tardif diskinezidir (Saygılı ve Bayraktar, 1988; Vahip, 1997; Yüksel, 1998).

2.1.4. Lityumun Etki Mekanizması

Günümüzde lityum ile ilgili yapılan çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Fakat hala lityumun etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Berridge ve ark., 1989).

Lityumun önerilen etki mekanizmalarından biri Akt ve GSK-3 yolağı üzerine etkisidir. Akt, çeşitli genlerin transkripsiyonu, glikoz metabolizması, hücre proliferasyonu, apoptoz, anjiyogenez ve daha birçok fizyolojik olayda yer almaktadır. Ancak Akt, PI3K tarafından fosforile edilerek katalitik olarak aktive olmaktadır

(Beaulieu, 2012; Emamian, 2012). Aktive olan Akt, uyarılmamış hücrede defosforile formu aktif olan GSK-3'ü fosforile eder. Böylece Akt, aktivasyonu sonucunda GSK-3'ü inaktive etmektedir (Cross ve ark., 1995; Fang ve ark., 2000).

İnhibitor G proteini ile kenetli halde bulunan reseptörler ve tropomiyosin reseptör kinaz B (TrkB) reseptörlerinin stimülasyonu sonucu PI3K/Akt sinyal yolağı aktive olmaktadır (Johnson-Farley ve ark., 2006). Reseptör stimülasyonu fosfoinositol yolağını kullanarak PI3K aracılı Akt fosforilasyonu ve aktivasyonuna yol açmaktadır, böylece aktive olan Akt kinaz aktivitesiyle GSK-3'ü N-terminal serin rezidüsü üzerinden fosforilleyerek inaktive etmektedir. İnhibitor G proteini ile kenetli reseptörlerden biri olan 5-hidroksitriptamin1A (5HT1A) reseptörlerinin stimülasyonunun da PI3K/Akt üzerinden GSK-3 inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Jope ve Roh, 2006; Hsiung ve ark., 2003).

Dopamin reseptörlerinin Akt/ GSK-3 yolağı üzerindeki etkisinde β -arrestin isimli yapısal bir proteinin rol aldığı belirlenmiştir (Beaulieu ve ark., 2009). D2 reseptörlerin aktivasyonu β -arrestinlerin toplanmasına neden olur böylece β -arrestin-Akt-PP2A kompleksi oluşur. GSK-3 bu komplekse β -arrestin üzerinden bağlanmakta ve Akt-PP2A etkileşimini güçlendirmektedir. Kompleksteki protein fosfataz 2A (PP2A) Akt'i defosforile ederek inhibe eder. Bu şekilde Akt'ın GSK-3 üzerindeki baskılayıcı etkisi yok olmakta ve GSK-3 aktivitesinde artış meydana gelmektedir (Beaulieu ve ark., 2004; Klewe ve ark., 2008). Lityumun direkt etkisi ile β -arrestin-Akt-PP2A kompleksinin ayrışmasını sağladığı böylelikle Akt'nin inhibisyonunu engellediği ve dolayısıyla GSK-3 aktivitesini azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Valvezan ve Klein, 2012).



Şekil 1. GSK-3'ün lityum tarafından önlenmesi. Lityum, yapısal olarak aktive olan GSK-3 aktivitesini birden fazla mekanizma ile olumsuz şekilde düzenler. Rekabetçi bir magnezyum inhibitörü olan lityum, GSK-3'ün ATP-magnezyum bağımlı katalitik aktivitesini doğrudan inhibe eder. GSK-3'ün aktivitesi ayrıca belirli bir serin kalıntısındaki fosforilasyon ile azaltılır. Lityum dolaylı olarak GSK-3'ün bu serin fosforilasyonunu Akt'in PI3-kinaz aracılı fosforilasyon / aktivasyonu, PI3-kinaz aracılı PKC aktivasyonu ve PKA'nın cAMP'ye bağlı aktivasyon yoluyla artırabilir. Lityum aynı zamanda Akt'ı defosforize ve inaktive eden β -arrestin-2-PP2A-Akt kompleksini bozarak GSK-3'ün serin fosforilasyonunu artırabilir. Buna ek olarak, serin kalıntılarında GSK-3'ü defosforile eden PP-1 üzerindeki inhibitör-2'nin (I-2) önleyici etkisini kısıtlayarak lityumun GSK-3'ün doğrudan inhibisyonu, GSK-3 aktivitesini daha da düşürür. Sağ oklarla çizgiler uyarıcı bağlantıları temsil eder; Yassı uçları olan hatlar önleyici bağlantıları temsil eder. Kesik çizgiler, lityum muamelesinin bir sonucu olarak etkinliğin azaldığı yolları temsil eder (Chiu ve Chuang, 2010'dan uyarlanmıştır).

Lityumdan etkilenen ikinci sinyal yolağı MEK/ERK yolağıdır. ERK, nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) yolu gibi çeşitli efektör sistemleri ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) yanıt elementi bağlayan proteini (CREB) aktive eder ve GSK-3'ü inhibe eden ribozomal S6 kinaz (RSK)'ı düzenler (Chang ve ark., 2003; Steelman ve ark., 2004). Nöroprotektif etkileri ile uyumlu, uzun süreli fakat akut lityum tedavisi, glutamat uyarılmış MEK aktivitesindeki artışları güçlendirir ve protein fosfataz 1 (PP-1)'i inhibe ederek ve aynı zamanda MEK/ERK aktivitesini destekleyerek CREB'in glutamat tarafından uyarılmış defosforilasyonunu baskıladığı düşünülmektedir. Lityumun MEK/ERK yolağı üzerine etkisinin hücre tipine spesifik olabileceği gösterildiği gibi lityumun sinir hücrelerinin farklı tiplerinde bu yolak üzerinde ters etkisi olduğu bildirilmiştir (Pardo ve ark., 2003).

Terapötik konsantrasyonlarda, lityum inositol fosfat metabolizmasına katılan inositol polifosfat 1-fosfataz (IPPaz) ve inositol monofosfataz (IMPaz) gibi çeşitli fosfoinositol fosfatazların güçlü inhibitörüdür (Berridge ve ark., 1989; Gould ve ark., 2004; Quiroz ve ark., 2004; Sherman ve ark., 1986). Buna göre, lityum inositol fosfolipidlerinin yeniden sentezi için inositolün geri dönüşümünü engeller. Lityumun inositol fosfat metabolizması üzerindeki bu inhibitör aktivitesi inositol tükenmesine yol açmaktadır. İnositol tükenme metabolizması aracılığıyla, lityumun duyuşal nöronlarda duyuşal büyüme konilerinin yıkılmasını koni alanını artırmak amacıyla engellediği belirtilmiştir (Williams ve ark., 2002).

Lityum bağımsız olarak hem GSK-3'ü hem de IMPaz'ı inhibe eder. İlginç bir şekilde düşük dozlarda lityum, otofajiyi indükleyen IMPaz'ı inhibe ederken (Sarkar ve ark., 2005) aksine, otofajiyi baskılayan GSK-3'ü daha yüksek dozlarda inhibe eder. Bununla birlikte, otofajinin indüksiyonu lityumun potansiyel mekanizması olarak düşünülür ve lityumun nöroprotektif etkilerine katkıda bulunduğu varsayılır (Stambolic ve ark., 1996).

Lityum, terapötik konsantrasyonlarda huntingtin ve α -sinükleinin mutant formları (Sarkar ve ark., 2005) gibi bilinen otofaji substratların klirensini kolaylaştırır ve prion ile enfekte hücrelerde proteaz dirençli prion proteininin klirensini indükler (Heiseke ve ark., 2009).

Lityumun glutamata bağı eksitotoksisiteye karşı nöroprotektif etkileri, çeşitli hücreşel ve hayvan modellerinde kapsamlı olarak incelenmiştir (Chuang ve ark., 2002; Chuang, 2004; 2005; Chuang ve Priller, 2006; Rowe ve Chuang, 2004; Rowe ve ark., 2007). Lityumun glutamata bağı eksitotoksisitesine N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aracılık ettiği bulunmuştur ve rat serebellar granül hücre (CGCs), serebral kortikal ve hippocampal nöronları içeren merkezi sinir sistemi (CNS) nöronları kültüründe özellikle NMDA-reseptör aracılıklı kalsiyum akışının inhibe edilmesi yoluyla kronik lityum tedavisi tarafından kuvvetli şekilde azaltılmaktadır. Terapötik olarak ilgili lityum konsantrasyonlarında ($EC_{50} \approx 1$ mM) meydana gelen bu uzun süreli nöroprotektif etki zamana bağımlıdır ve maksimum etki için 6-7 günlük ön tedavi gerekmektedir (Hashimoto ve ark., 2002).

İnsan lenfosit hücrelerinin 72 saat boyunca guanilat siklaz enziminin güçlü bir inhibitörü olan lityum ile etkileşimi sonucunda Na/K pompa sayısını belirgin bir şekilde artmış olduğu ve lityum lenfositlerinde siklik guanozin monofosfatın (cGMP) birikmesini önlediği gözlenmiştir (Jenkins ve ark., 1991; Schubert ve ark., 1991).

Lityumun mitokondri üzerinde etkisi olduğunu düşündüren çalışmalar da bulunmaktadır. Mitokondri ROS'un önemli bir endojen kaynağıdır (Turrens ve Boveris, 1980; Turrens ve ark., 1982; Turrens, 2003). Genel olarak, kompleks 1 ve 3'ün süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)'nin major kaynağı olduğu ve kompleks 1'in beyinde ROS'un primer kaynağı olduğu düşünülmektedir. (Barja ve Herrero, 1998; Genova ve ark., 2001; Kushnareva ve ark., 2002). Organizma içerisinde serbest radikallerin oluşum hızı ile yok edilme hızı denge içerisinde. Bu radikallerin oluşum hızında artma veya yok edilme hızında azalma bu dengenin bozulmasına sebep olmakta ve "oksidatif stres" olarak adlandırılmaktadır (Serafini ve Del Rio, 2004). Oksidatif ve nitrosatif stresin artışının mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkili olduğu (Andreazza ve ark., 2013) ve oksidatif stresin duygu durum patofizyolojisine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Erkan ve ark., 2004; Sarandol ve ark., 2007). Daha önceki BD'nin post mortem çalışmalarında kompleks 1 aktivitesinde (Andreazza ve ark., 2010), ve komplekslerin subünit proteinlerinde (Konradi ve ark. 2004; Sun ve ark., 2006) azalma olduğu belirtilmiştir. Ek olarak BD'nin erken evrelerinde oksidatif stresin arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Berk ve ark., 2013; de Sousa ve ark., 2014). Bu doğrultuda yapılan çalışmalar, lityumun sıçan serebral kortikal hücrelerinde oksidatif stresi azalttığı (Shao ve ark., 2005), kompleks 1 inhibitörü rotenona karşı koyduğu ve amfetamin ile indüklenen ETC bozulmasına karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (Valvassori ve ark., 2010). Ayrıca, lityumun kemirgenlerin beyinlerinde ETC aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir (McQuillin ve ark., 2007; Toker ve ark., 2014).

2.2. Mitokondri

Mitokondriler hücre solunumunun gerçekleştiği ve enerjinin kimyasal enerji formunda depo edildiği yerlerdir. Mitokondrilerde karbonhidrat, protein ve yağ moleküllerinin yükseltgenmesi ile elde edilen enerji, hücrelerin kullanabileceği kimyasal enerji formu olan adenosin trifosfat (ATP)'a dönüştürülmektedir. Hücrenin enerji ihtiyacı ile hücre içindeki mitokondri miktarları doğru orantılıdır. Mitokondriler genel olarak düzgün bir şekilde sitoplazmanın her tarafından dağılmışlardır. Belirli hücrelerde ise yerleri sabit olabilir, örneğin çoğu bez hücrelerinin bazal bölgesinde

bulunurlar. Mitoz bölünme sırasında iğ ipliklerinin çevresinde yer alır, gerekli enerjiyi sağlarlar ve bölünme sonucunda hemen hemen eşit sayıda yavru hücrelere dağılırlar (Ünal, 2012).

Bir hücrede birkaç yüz mitokondri bulunabildiği gibi birkaç bin mitokondri de bulunabilmektedir. Mitokondrilerin şekil, sayı ve yerleşim yerleri hücre türüne veya dokunun işlevine bağlı olarak farklılıklar gösterir. Mitokondrilerin büyüklükleri birkaç yüz mikron çapında olabilirken, bir mikron çapında ipliksi görünümde de olabilirler. Genel olarak metabolik açıdan aktif bir dokunun hücrelerinin hacminin büyük bir kısmı mitokondrilere ayrılmıştır (Guyton, 1976; Leonard ve Schapira, 2000; Nelson ve Cox, 2005).

2.2.1 Mitokondrinin Tarihçesi

Mitokondri 1850 yılında Kolliker tarafından ilk defa görülmüş ancak sistematik olarak tanımlanması ilk olarak 1894'de Altmann tarafından yapılmıştır. Hücre içerisinde granüler ve ipliksi yapılar şeklinde görülen bu organel Benda (1898) tarafından "ipliksi granül" anlamına gelen mitokondrion, "çoğul: mitochondria" olarak ifade edilmiştir. Mitokondri (mitochondrion) kelimesi Yunanca iplik (mitos) ve granül (chondrion) kelimelerinden türetilmiştir. Altman tarafından 1890 yılında bioblast tanımı, yaygın oluşumun sitoplazmik yapısı ve elementer organizma olarak işleyişi belirlenmiştir. 1912 ve 1922 yılları arasında hücre solunumunun tanınmaya başlanmış ve sonrasında Keilin 1925 yılında sitokrom sistemin hücresel yapılarla ilişkili olduğunu göstermiştir.

Mitokondriyi hücre fraksiyonu ile izole etmek için ilk girişim 1934 yılında Bensley ve Hoerr tarafından yapılmıştır. 1940 ile 1946 yılları arasında izole mitokondri üzerinde ilk olarak morfolojik ve biyokimyasal incelemeler korelasyonlu olarak yapılmıştır. 1946 Hogeboom, mitokondride süksinoksidaz ve sitokromoksidazın lokalizasyonu göstermiştir ve 1948'de morfolojik olarak iyi korunmuş mitokondri izolasyonu yapılmıştır. 1948 ve 1951 yılları arasında mitokondrinin siklik asit süklusu ve oksidatif fosforilasyon enzimlerini bulundurduğu belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda mitokondrinin şişmesi ve konsantrasyonu üzerine ilk çalışmalar yapılmıştır. 1953 yılında Sjöstrand tarafından mitokondrinin ilk yüksek çözünürlüklü elektron mikrografileri oluşturulmuştur.

Oksidatif fosforilasyonun kimyasal hipotezi ise Slater tarafından 1953 yılında kurulmuştur. 1952 ve 1955 yıllarında solunum zincirinin bağlantı bölgelerinin lokalizasyonu belirlenmiştir. Aynı yıllarda arasında mitokondriyal elektron transport çalışmaları için hızlı ve hassas fiziksel yöntemlere giriş ve solunum zincirinin metabolik ve kinetik durumunun araştırması yapılmıştır. 1953-1956 yılları arasında oksidatif fosforilasyonun kısmi reaksiyonları belirlenmiştir. Oksidatif fosforilasyon ve solunum zinciri çalışmaları için sığır kalbi mitokondrisinin kullanılması, solunum zincirinin redoks taşıyıcısı olarak metalloflavoproteinler, non-hem demir ve ubikinonun katılımının gösterilmesi, elektron transport komplekslerinin karakterizasyonu ve izolasyonu hakkındaki çalışmalar 1956 ile 1960 yılları arasında yapılmıştır. 1959 ve 1961 yılları arasında ise oksidatif fosforilasyonun tersine çevrimi gösterilmiştir. 1960 yılında mitokondriyal ATP-sentaz'ın izolasyonu ve bağlanma faktörü (F1) olarak işlevi gösterilmiştir. Oksidatif fosforilasyonun kemiozmatik hipotezi 1961 yılında Mitchell tarafından kurulmuştur. 1961-1963 yılları arasında fosforilasyon sisteminin katılımı olmadan solunum zincirinde enerji bağlantısı gösterilmiştir. Sonrasında Ca^{+2} ve diğer iki değerlikli katyonların enerji bağımlı alınımı belirlenmiştir. Fernandez-Moran 1962 yılında mitokondriyal membranda çıkıntılı subünitleri keşfetmiştir. Moore ve Pressman ise 1964'de K^{+} iyonofor olarak valinomycinin etkisini keşfetmişlerdir. 1965 yılında Paul Boyer tarafından oksidatif fosforilasyonun konformasyonel hipotezi kurulmuştur. Mitchell 1966 yılında oksidatif ve fotosentetik fosforilasyonun genel mekanizması olarak kemiosmotik hipotezi geliştirmiştir. Devamında mitokondriyal anyon translokatorleri keşfedilmiştir. İlerleyen yıllarda ise bağlanma faktörlerinin izolasyonu ve karakterizasyonu, ATP-sentaz kompleksinin yeniden oluşumu gösterilmiştir. 1973-1979 yıllarında ise elektron transport bağımlı proton pompalarının kanıtları bulunmuştur (Ernster ve Schatz., 1981).

2.2.2 Mitokondrinin Yapısı

Her mitokondrinin fosfolipid yapılı iki zarı vardır. Katlı olmayan dış zar organeli tümüyle sarar. İç zar, krista adı verilen içe doğru katlanmalarla çok geniş bir yüzeyin oluşmasını sağlar. İç zarın çevrelediği alan matriks olup, bu alan enerji-veren metabolizmada rolü olan enzim ve kimyasal ara ürünlerin çok yoğun bulunduğu sıvı ortamdır (Nelson ve Cox, 2005).

Dış zar, mitokondriyal fonksiyonları koordine eden ve mitokondri homeostazisini sağlayan zardır. İç zar ile kıyaslandığında daha az seçici geçirgendir. Dış zar, 30-35 kilo dalton (kd)'luk delik şeklindeki proteinler olan voltaj-bağımlı anyon seçici kanal proteinleri ve çok sayıda mitokondriyal porin içerdiğinden küçük moleküller ve iyonlar için oldukça geçirgendir. Voltaj-bağımlı anyon seçici kanal proteinleri dış mitokondriyal zarda en yaygın olan proteindir ve genellikle klor, fosfat, adenin nükleotitleri ve organik anyonlar gibi anyon türlerinin dış zarı geçerek akışının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. İç zarın daha kontrollü bir geçirgenliğe sahip olmasını sağlayan özellikle kardiyolipindir (Berg ve ark., 2014).

İç zar, yüzey alanını büyük miktarda artıran kristalardan oluşur. Oksidatif fosforilasyonda görevli mitokondriyal kompleksleri üzerinde bulundurur ve elektron transport işlemi bu zar üzerinde gerçekleşir. Bunun yanı sıra iç zar ATP, ADP, fosfat, piruvat, malat ve sitrat gibi özel maddeler için taşıma sistemi bulundurur (Berg ve ark., 2014).

Matriks ise sitrik asit siklusu (TCA) ve yağ asitlerinin β -oksidasyonunda görev yapan enzimler ile mitokondriyal deoksiribonükleik asiti (mtDNA) bulundurmaktadır. Mitokondri matriksinde TCA ve yağ asitlerinin yükseltgenmesi tepkimelerinin birçoğu gerçekleşiyor olsa da oksidatif fosforilasyon iç mitokondriyal zarda yer almaktadır (Berg ve ark., 2014).

Mitokondrileri organizma için önemli kılan tek neden solunuma bağımlılık değildir. Mitokondri, birçok katabolik ve anabolik reaksiyonu barındırması, demir-sülfür metabolizmasında birleştirici olması, hem biyosentezinde yer alması, yağ asitlerinin β -oksidasyonunu ve TCA'yı içermesi nedeni ile hücre için esastır. Bunun yanı sıra mtDNA bulundurmasıyla elektron taşıma zincirinde görevli bir takım proteinlerin sentezini gerçekleştirebilmektedir. Ama yine de mitokondrinin ihtiyacı olan birçok protein nükleer genom tarafından kodlanır ve translayon sonrası transport ile mitokondriye transfer edilir (Burbulla ve ark., 2010).

2.2.3. Mitokondriyal DNA

İnsan mtDNA'sı sirküler ve çift sarmallı bir yapıya sahiptir ve 16569 baz çifti içerir. Diğer organellerden farklı olarak; mitokondrilerin kendi DNA'sını içeriyor olması, kendi DNA'sını replike, transkripte ve translate edebilmesi nedeniyle farklı bir organizmadan hücrenin bir organeli olarak geliştiği düşünülmektedir (Anderson ve ark., 1981; Clayton, 1992). mtDNA 16,6 kilobaz (kb)'lık genoma sahiptir ve 37 gen

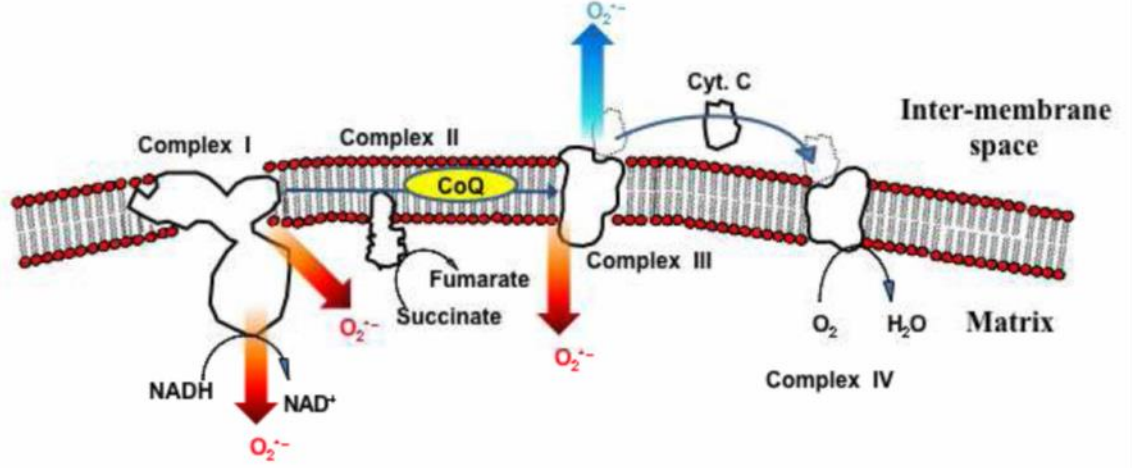
içermektedir. Bu genlerin 2'si ribozomal ribonükleik asit (RNA)'den ve 22'si transfer RNA'dan sorumludur. Diğer genlerin 7'si elektron transport zincir kompleks 1, 1'i kompleks 3, 3'ü kompleks 4, 2'si kompleks 5 (ATP-sentaz) fonksiyonlarında yer almaktadır (Wallace, 2005).

Mitokondriyal DNA, nükleer DNA'dan 10 kat fazla mutasyona uğrar. Sebebi ise mitokondriyal genomun, nükleer DNA genlerinden 5–10 katı hızla kendini yenilemesi ve böylece her replikasyonda 16,6 kb'lık genomda 2–3 “mismatch” mutasyon şansı olmasından kaynaklanmaktadır. mtDNA histon içermediği için kimyasal etmenlerden oldukça etkilenmektedir. İlave olarak aerobik metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikalleri, süperoksit, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen ürünleri de mtDNA'da hasara sebep olmaktadır ve mtDNA efektif bir tamir sistemine sahip olmadığı için oluşan hasar kalıcı olmaktadır (Johns, 1995).

Memelilerde mtDNA'nın bir sonraki kuşağa anne tarafından aktarılmasının sebebi, fertilizasyon sırasında spermin hareketini sağlamak amacıyla kuyruk bölgesinde bulunan mitokondrinin ve dolayısıyla mtDNA'nın oosit içerisine girememesinden kaynaklanmaktadır. Her biri 2–10 DNA içermektedir ve hücrelerde farklı sayıda mitokondri olduğu göz önüne alınırsa, bir hücrede binlerce mtDNA; hem mutant hemde normal (wild tip) yapıda mtDNA saptanabilir ve bu olaya “heteroplazmi” denir. Heteroplazmi, letal mutasyonların oluşmasını önleyen önemli bir mekanizmadır. Hücrenin ya tamamen normal ya da tamamen mutant mtDNA içermesi durumuna ise homoplazmi denilmektedir. Kardeş hücreye geçen mtDNA'nın yapısını belirleyen şey replikatif ayırım sırasındaki mutant ve normal moleküllerin taşıma oranıdır ve mtDNA mendeliyan kalıtım ile yönetilir. Seleksiyon, hücresel ve moleküler düzeyde olabildiği gibi organizmanın kendisi tarafından da yapılabilir. Mutant mtDNA oranı delesyona uğramış fenotipin belirlenmesinde önemlidir ve aynı zamanda bu oran kişiler, hatta dokular ve organ sistemleri arasında da farklılık gösterebilmektedir (Chinnery ve Turnbull, 1997; Egger ve Wilson, 1983; Johns, 1995; Shoffner, 1996).

2.2.4. Mitokondride Solunum Zinciri ve Oksidatif Fosforilasyon

Mitokondri iç zarında oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal matrikste gerçekleşen TCA tepkimelerinin birlikteliğiyle aerobik hücrelerin gereksinimi olan ATP' nin çoğunluğu sentezlenmektedir (Berg ve ark., 2014).



Şekil 2. Elektron Transport Zinciri (Matsuzaki ve ark., 2009'dan alınmıştır.)

Hüresel metabolik enerji mitokondriyal solunum zinciri ile iç membrandaki beş protein-lipid enzim kompleksi tarafından sağlanır. Bu kompleksler; kompleks 1 (Nikotinamid adenin dinükleotit (NADH): ubikinon oksidoredüktaz), kompleks 2 (süksinat: ubikinon oksidoredüktaz), kompleks 3 (ubikinol: ferrositokrom c oksidoredüktaz), kompleks 4 (ferrositokrom c: oksijen oksidoredüktaz veya sitokrom c oksidaz) ve kompleks 5 (ATP-sentaz)'dir. Elektron transport zinciri ile protonlar matriksten inter-membranal boşluğa pompalanır ve bu şekilde enerji ATP şeklinde depolanır (Clay ve ark., 2011).

Solunumsal oksidasyondan oluşan enerjinin büyük bir bölümü mitokondriden sağlandığı için mitokondri hücrenin “enerji üretim merkezi” olarak adlandırılmıştır. Mitokondrilerde yer alan ve solunumu yüksek-enerjili ara madde olan ATP'nin üretilmesini sağlayan sisteme oksidatif fosforilasyon adı verilmektedir (Murray ve ark., 1996).

Oksidatif fosforilasyon ile ATP sentezi, mitokondri iç zarı boyunca yer alan bir proton gradienti sayesinde elektronların nikotinamid adenin dinükleotit+hidrojen (NADH)'den flavin adenin dinükleotit+2H (FADH₂)'e veya moleküler oksijen (O₂)'e akışı ile sağlanmaktadır. Üç adet asimetrik şekilde bulunan trans-zar kompleksler boyunca gerçekleşen elektron akışı sonrası protonlar mitokondriyal matriks dışına pompalanmakta ve bir zar potansiyeli oluşmaktadır. Protonların ATP-sentaz (FOF1-

ATPaz şeklinde de adlandırılabilir) adı verilen ATP sentezleyen kompleksdeki kanal boyunca matrikse geri dönüşü ile ATP sentezlenmektedir (Berg ve ark., 2014).

Kinonlar, demir-kükürt kompleksleri, flavinler, sitokromların hem grupları ve bakır iyonları mitokondri zarında bulunan solunum topluluğundaki elektron taşıyıcılarıdır. Öncelikle elektronlar NADH'tan, dört kompleksten birincisi olan kompleks 1'in prostetik bir grubu olan flavin mononükleotit (FMN)'e aktarılır. Kompleks 1, Fe-S merkezleri de içermektedir. Elektronlar, ubikinol (QH₂)'de ortaya çıkar. QH₂ ubikinon (Q)'un indirgenmiş bir formudur. Kompleks 2'nin bir bileşeni ise elektronları FADH₂'den QH₂'nin oluşumu için Q'ya ileten TCA enzimi olan süksinat dehidrogenazdır. Oldukça hareketli olan bu hidrofobik taşıyıcı elektronlarını, kompleks 3'e aktarır. Kompleks 3, sitokrom b ve c1 ve Fe-S merkezi içeren bir komplekstir. Bu kompleks, hidrofilik bir periferik zar proteini olan sitokrom c'yi indirger. Sitokrom c, elektronları kompleks 4'e aktaran hareketli bir elektron taşıyıcısıdır. Kompleks 4, sitokrom a ve a₃ ile iki bakır iyonu içermektedir. Bu kompleksdeki bir hem iyonu ve bir bakır iyonu, elektronları son alıcı olan O₂'e aktarır ve böylelikle H₂O oluşmaktadır (Nelson ve Cox, 2005).

Kompleks 1, 3 ve 4 boyunca elektronların akışı sonucu olarak protonlar, mitokondri iç zarının matriks yüzünden sitoplazmik tarafa doğru taşınmaktadır. Proton itici kuvvet bir pH gradienti (matriks yüzü bazik) oluşmasına sebep olur ve bir zar potansiyeli (matriks yüzü negatif) meydana gelir. ATP-sentaz ile matriks yüzü boyunca protonların geriye akımı sonucu ATP sentezlenmektedir. ATP-sentaz, iki dönen bileşen ve bileşen olmak üzere iki işlevsel birimden oluşan bir moleküler motordur. γ alt biriminin dönmesi, enzimden ATP salınımı ve ATP sentezi ile sonuçlanan β alt birimde yapısal değişiklikler oluşturur. Bu hareket için gerekli olan kuvvet proton akışı tarafından sağlanır (Berg ve ark., 2014).

Kompleks 1'den kompleks 3 ve kompleks 4'e iki elektronun akışı, sırasıyla 1, 1 ve 0,5 molekül ATP sentezlemek için yeterli gradienti oluşturmaktadır. Böylece mitokondriyal matrikste bir molekül NADH yükseltgenmesi ile 2,5 molekül ATP elde edilir ve bir molekül FADH₂ yükseltgenmesi ile de 1,5 molekül ATP elde edilir. Bunun sebebi ise burada elektronların zincire QH₂'den yani ilk proton pompasından sonra girmeleridir. Mitokondri, mitokondri iç zarı boyunca molekülleri hareket ettirmek için gerekli taşıyıcıları bulundurur. Sitoplazmik NADH'ın elektronları, FAD'den FADH₂ oluşturmak üzere gliserol fosfat mekiği tarafından veya mitokondriyal NADH

oluşturmak üzere malat-aspartat mekiği ile mitokondriye aktarılır. Mitokondriyal matriks içerisine adenozin difosfatın (ADP) girişi, zar potansiyeli tarafından yönetilen bir taşıyıcı olan ATP-ADP translokaz tarafından gerçekleştirilen ATP çıkışı ile sağlanmaktadır (Berg ve ark., 2014).

Bir glukoz, tam olarak karbondioksit (CO₂) ve suya (H₂O) yükselttiğinde yaklaşık olarak 30 molekül ATP elde edilmiş olur. Normalde, elektron taşınımı fosforilasyona sıkıca eşlenmiştir. NADH ve FADH₂, ancak ADP, ATP'ye eş zamanlı fosforillendiği zaman yükseltgenirler. (Berg ve ark., 2014).

2.2.5. Mitokondri ve Psikiyatrik Hastalıklar

Mitokondriyal hastalıklar, enerji aktarımından sorumlu mitokondriyal enzim eksiklikleri ile seyreden, özellikle enerji gereksiniminin arttığı durumlarda aerobik metabolizmanın yetersizliği ile karakterize multisistemik hastalıklar grubudur (Chinnery ve Turnbull, 1997; Shoffner, 1996).

Mitokondriyal disfonksiyon; diabetes mellitus, Leigh's sendromu, Friedrich ataksisi, kardimyopati, Parkinson, Alzheimer, Huntington sendromu, bipolar bozukluk ve şizofreni gibi birçok hastalık etyopatolojisinde rol oynamaktadır (Di Donato, 2000; Wallace, 1999; Van den Heuvel ve Smeitink, 2001). Örneğin, alzheimer ve parkinson hastalarının beyin dokularında kompleks 1 ve kompleks 4 aktivasyonunda kayda değer azalma gözlenmiş (Mutisya ve ark., 1994; Schapira ve ark., 1989), miyoklonik epilepsi ve leber hastalığında mitokondriyal nokta mutasyonları, morfolojik değişiklikler, genomda delesyon ve depleksyonlar görülmüştür (Beal, 1995; Tritschle ve ark., 1994).

Son 20 yıldır hem psikotik atak, duygu durum, anksiyete ve kişilik bozukluklarının mitokondriyal hastalıkların klinik bulgularının bir parçası olabileceğine hem de psikiyatrik bozuklukların mitokondriyal fonksiyonun bir komplikasyonunu temsil edebileceğine dair artan kanıtlar bulunmaktadır (Iwamoto ve ark., 2005).

Özellikle BD (Konradi ve ark., 2004), majör depresif bozukluk (MDD) ve bir dizi duygulanım bozuklukları gibi psikiyatrik durumlar ile mitokondriyal disfonksiyonun ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (Gardner ve Boles, 2011). Bu ilişki mitokondriyal hastalıklı bireylerde psikiyatrik semptomların görüldüğünü ortaya koyan raporlarla güçlendirilmektedir. Nitekim mitokondriyal hastalığı olan 19 olguda, BD, MDD, psikoz, anksiyete bozuklukları ve kişilik değişiklikleri gibi psikiyatrik komplikasyonlar bildirilirken (Fattal ve ark., 2006), psikiyatrik bozukluklar ise mitokondriyal sitopatili hastalarda belgelenmiştir (Scaglia, 2010).

Mitokondriyal elektron tansport zincirinin BD, depresyon ve şizofreni (SCZ)'yi içeren nöropsikiyatrik bozuklukların patogeneğinde önemli bir faktör olabileceği ve mitokondriyal hastalığın, mitokondriyal elektron tansport zincirinde hasarda ve biyokimyasal kaskadlarda bir bozukluktan kaynaklanabileceği iddia edilmektedir (Fattal ve ark., 2006; Prabakaran ve ark., 2004). Mitokondriyal fonksiyondaki belirgin değişikliklerin apoptozis, mitokondriyal yapı abnormalitesi, ATP üretiminde azalma, solunum zinciri disfonksiyonunu da içeren kronik stres ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Alesci ve ark., 2006). Genel olarak mitokondriyal disfonksiyonun apoptoz veya ROS oluşumu yoluyla nörodejenerasyona katkıda bulunduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, mitokondride oluşan stres de inflamatuvar süreçleri indükleyebilmektedir. Oksitlenmiş mtDNA ve bozulmuş mitokondriden salınan faktörler, bağışıklık ve inflamatuvar süreçleri aktive eden pro-inflamatuvar mediyatörler gibi hareket etmektedir. (Escames ve ark., 2012). Okside olmuş mtDNA'nın hem intrasellüler (Shimada ve ark., 2012) hem de sistemik (Zhang ve ark., 2010) pro-inflamatuvar yolları aktive ettiği belirtilmiştir. Mitokondriyal stres ve oluşan oksidatif stresin inflamasyona katılan genlerin ekspresyonunu etkinleştiren pro-inflamatuvar moleküllerin salınmasını içeren doğrudan bir mekanizma aracılığı ile sistemik inflamasyona yol açabileceği düşünülmektedir (Scaini ve ark., 2016).

Bipolar bozukluğu anlamak için yapılan çalışmalarda da bu hastalığın moleküler, sellüler ve davranışsal mekanizmaların duyarlı genler, çevresel stressörler ve biyokimyasal mekanizmalarla karşılıklı etkileşimi sonucu ortaya çıktığını göstermektedir (Berk ve ark., 2011). Bu etkileşim etkisini inflamasyonu, oksidatif stres hasarını, mitokondriyal ve endoplazmik retikulum disfonksiyonunu, apoptozis ve nöroenez yolunun hasarlanmasını (Brown ve ark., 2014; Frey ve ark., 2006a,b; Gigante ve ark., 2011; Kato ve Kato, 2000; Konradi ve ark., 2004) ve multiple nöral disregülasyonu artırarak göstermektedir (Bielau ve ark., 2007; Kishi ve ark., 2013; Pinsonneault ve ark., 2011; Rajkowska, 2002).

BD'de özellikle mitokondrideki ROS'un üretiminin fazla olması sonucu mitokondrinin değişikliklere karşı savunmasız olabileceği ileri sürülmektedir (Kim ve ark., 2015; Scola ve ark., 2013). Özellikle, kompleks 1'de elektronların transferi ile ilgili olan subünitlerin protein seviyelerinde ve mRNA'daki azalmanın BD'ye spesifik bir bulgu olabileceği düşünülmektedir. (Iwamoto ve ark., 2005; Konradi ve ark., 2012; Scola ve ark., 2012). Örneğin kompleks 1 içinde elektron transferi ile ilgili demir-kükürt

kümesi içeren alt-birim NADH dehidrogenaz (ubiquinon) demir-sülfür protein 7 (NDUFS7) postmortem BD hastalarında düşük bulunmuştur (Iwamoto ve ark., 2005; Scola ve ark., 2013; Sun ve ark., 2006) ve bu duruma mitokondriyal ROS'un büyük çoğunluğunun üretimine neden olan kompleks 1 disfonksiyonunun sebep olduğu düşünülmektedir (Andreazza ve ark., 2010, 2013). Kompleks 1 içerisindeki elektron transfer sürecinin verimliliğinin azalması, süperoksit anyonu oluşturmak için moleküler oksijenle tepkimeye giren elektronların sızıntısının artmasıyla sonuçlanabilecek önemli etkilere sahip olduğu varsayılmıştır (Halliwell ve Gutteridge, 2007). BD hastalarının beyin ve çevresinde protein, lipid ve DNA'ya karşı oksidatif hasarın artması bu bulguları destekler niteliktedir. (Andreazza ve ark., 2010, 2013; Clay ve ark., 2011).

Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalar mitokondri tarafından üretilen ROS'un inflamatuvar sistemin güçlü bir etkinleştiricisi olduğunu ileri sürmektedir (Lopez-Armada ve ark., 2013). Örneğin, kompleks 1 inhibe olduğunda mitokondriyal ROS'un üretimindeki artışın NF-kB and interlökin-1b (IL-1b) gibi inflamatuvar faktörlerin daha yüksek seviyelerde olmasına neden olduğu belirtilmiştir (Li ve ark., 2003). Bu bulgular BD için önemli etkilerdir ve BD hastalarının beyin ve çevresinde inflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin artmış olduğu gösterilmiştir (Dean ve ark., 2013; Kauer Sant'Anna ve ark., 2009; Kim ve ark., 2007; Leboyer ve ark., 2012; Munkholm ve ark., 2013; O'Brien ve ark., 2006; Rao ve ark., 2010). Daha spesifik olarak, BD hastalarında çevresel örnekleri inceleyen çalışmalarda interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α)'nın arttığı rapor edilmiştir ve merkezi sinir sistemini inceleyen çalışmalar, interlökin-1 (IL-1) yolağında yer alan sitokinler ve reseptörlerde artış bildirilmiştir (Dean ve ark., 2013; Rao ve ark., 2010; Soderlund ve ark., 2011).

İnflamatuvar sistemin aktivasyonu ve mitokondriyal disfonksiyon arasındaki bu potansiyel bağlantı nod benzeri reseptör pirin alanı içeren 3 (NLRP3) inflamazom aracılığı ile olabilir (Kim ve ark., 2015). Mitokondriye bağlı ROS'un üretiminin artmasının, nörotrasmisyonda değişikliklere ve sitokinlerin aktivasyonuna neden olan inflamazom oluşumuna, kaspaz-1'in ve NLRP3'ün aktivasyonuna sebep olduğu düşünülmektedir (Sigitova ve ark., 2016). BD hastaların ham mitokondriyal fraksiyonunda NLRP3 yüksek seviyede olduğunu bulunmuş ve bunun sebebinin bu hastalarda kompleks 1 disfonksiyonunun bir sonucu olarak inflamazomun artmış aktivasyonu olduğu düşünülmektedir (Kim ve ark., 2016).

ROS ve mitokondri hasarı arasındaki ilişkideki bir diğer görüş ise psikiyatrik hastalıklarda artmış ROS'un mitokondri hasarına yol açtığıdır. BD veya SCZ hastalarının post mortem beyin çalışmalarında, periferik örneklerde artmış protein karbonilasyonu, nitrasyon, sistein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu ve DNA/RNA oksidasyonunu gösteren çalışmalarla birlikte SCZ ve BD'de artmış oksidatif stress sıklıkla rapor edilmektedir (Andreazza ve ark., 2007, 2008, 2009; 2010; 2013; Brown ve ark., 2014; Cui ve ark., 2007; Gawryluk ve ark., 2011; Kim ve Andreazza, 2012; Kim ve ark., 2014; Moylan ve ark., 2014; Ng ve ark., 2008; Savas ve ark., 2006; Wang ve ark., 2009). Artmış oksidatif stresin mitokondriyal proteinlerin hasarına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Morris ve Maes, 2014). Örneğin, mitokondriyal ROS hasarı, mtDNA'da değişiklikler üretebilir (Halliwell ve Gutteridge, 2007). Bununla uyumlu olarak, BD ve SCZ hastalarında mitokondriyal hastalığı olanların semptomları göstermediğinde, beyin görüntüleme teknikleriyle ölçülen azalmış metabolizma, mitokondriyal proteinlerin gen ekspresyonundaki (Iwamoto ve ark., 2005; Karry ve ark., 2004; Sun ve ark., 2006) ve mtDNA polimorfizmindeki (Kenney ve ark., 2014; Mamdani ve ark., 2014; Sequeira ve ark., 2015; Vawter ve ark., 2006) değişiklikler bu hastalıkların patofizyolojisinde mitokondriyal değişikliklerin potansiyel varlığını destekler niteliktedir (Frey ve ark., 2007; Kato ve ark., 1993; Maurer ve ark., 2001).

Mitokondri ve bipolar hastalık arasındaki ilişkiye dair bir diğer görüş ise bu ilişkide kalsiyumun etkili olduğu yönündedir. Mitokondri, sitoplazmadan kalsiyum iyonlarını (Ca^{+2}) alma ve matrikste biriktirme yeteneğine sahiptir. Ca^{+2} nöronal sinyalizasyonun ve biyoenerjistiklerin önemli fizyolojik modülatörü olarak hizmet vermektedir (Duchen, 2000; Ravagnan ve ark., 2002). İntrasellüler kalsiyum sinaptik transmission, nöronal plastisite ve sağkalım ve nörotoksisiteyi içeren birçok nöronal fonksiyonu düzenlemektedir (Berridge ve ark., 2000; Fišar ve Hroudová, 2010). Sitolitik Ca^{+2} alınımı ve salınımı temel mitokondriyal fonksiyonlara dahildir ve hücrel Ca^{+2} sinyallerinin kontrolünde yer almaktadır. Mitokondriyal matriksteki kalsiyum-fosfat kompleksi serbest Ca^{+2} 'ları korumakta ve sitozoldeki kalsiyum bağımlı süreçleri regüle etmektedir. Matrikste aşırı Ca^{+2} bulunması, oksidatif fosforilasyonun inhibisyonu, TCA'nın inhibisyonu, ATP sentezinin azalması, ROS üretiminin artması, sitozoldeki apoptojenik faktör ve kalsiyumun salınımına sebep olan mitokondriyal membran geçirgenliğinin artışına neden olmaktadır (Fišar ve ark., 2016; Nicholls, 2009). BD'nin kalsiyum ve mitokondri hipotezi, nükleer gen mutasyonlarının neden

olduğu mtDNA polimorfizmleri/mutasyonlar veya mtRNA delesyonları ve Ca^{+2} mitokondriyal disregülasyonuna neden olabilmektedir ve BD semptomlarına yol açabileceği varsayılmaktadır (Kato ve Kato, 2000; Kato, 2008). Ayrıca, elektron mikroskop çalışmaları bipolar bozuklukta beyindeki mitokondriyal büyüklükte ve dağılımda olan değişiklikleri göstermişlerdir. Bu değişikliklerin enerji açıklarıyla bağlantılı olabileceği ve bu nedenle bipolar bozukluğu olan hastalarda hücre esnekliğinde, dirençte ve sağkalımda değişiklikler oluşabileceği düşünölmektedir (Cataldo ve ark., 2010).

Bu bilgilerden yola çıkarak, uzun yıllardır BD tedavisinde kullanılan lityum tedavi edici etkisini beyinde elektron transport zinciri üzerinde gösteriyor olabilir. Bu yüzden bu çalışmada lityumun beyin sağ prefrontal kortekste kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentazın üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Yapılan hayvan deneyinde her biri 200-250 gram olan total 30 yetişkin erkek albino wistar rat kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Santrifüj cihazı (Jouan C4i, Cat no: 11177560)

Dondurucu (-80 °C) (NUAIRE Ultra-Low Freezer, Model no: Nu-6420E)

Spektrofotometre cihazı (SHIMADZU, UV-160A)

Sonikatör (METU electromechanical, Serial No. 30607, Germany)

Mikropipet

Benmari (Kotterman, Sertifika no: M14-11-19187)

Vorteks (Mindaus, VM3)

Magnetik karıştırıcı (IKA® RCT IKAMAG)

pH Metre (Mettler Toledo MP220)

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sucrose (Sigma; CAS Number 57-50-1)

EDTA (Carlo Erba Reagenti; CAS Number 6381-92-6)

Trizma Base (Merck; CAS Number 77-86-1)

Albumin Standard (Sigma; CAS Number 9048-46-8)

CuSO₄.5H₂O (Merck; CAS Number 7758-99-8)

Na-K tartarat (Merck; CAS Number 6381-59-5)

NaOH (Sigma; CAS Number 1310-73-2)

Folin Reagent (Sigma; F9252)

Na₂CO₃ (Merck; CAS Number 497-19-8)

3.2. Metot

3.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar

B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04-24 nolu etik kurul onayı alınarak “Lityumun Beyin Dokusunda Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-Sentaz Üzerine Etkisi” isimli tez çalışmasını gerçekleştirebilmek için Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Müdürlüğü’nden (DEHAM) her biri 200-250 gram olan total 30 yetişkin erkek albino wistar rat temin edildi ve hayvan deneyinde kullanıldı. Ratların buldukları ortam ticari olarak elde edilmiş rat pelletleriyle (Bil-Yem Co, Ankara, Turkey) ve içme suyu olarak distile su ile istedikleri zaman beslenebilecekleri şekilde ayarlandı. Deney ortamında aydınlatma 12 saat gündüz ve 12 saat gece olarak programlandı ve sıcaklık 22 ± 1 °C olarak sabitlendi. Deneye katılacak ratlar 1. Grup (n=10, kontrol grubu) ve 2. grup (n=20, lityum grubu) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. 1. Gruba (n=10, kontrol grubu) 1 ml intraperitoneal salin solüsyonu verildi. 2. gruba (n=20, lityum grubu) salin solüsyonunda çözülmüş şekilde 0,5 ml, 100 mg/kg, lityum intraperitoneal yoldan verildi. Tüm ratlara yukarıdaki prosedür 30 gün boyunca sabah 8-10 arasında uygulandı. Deneyin son gününde ratlara sabah 8-10 arasında, 5cc ketamin HCl (50mg/ml) ile anestezi uygulaması yapıldı. Salin ile reperfüzyonu takiben bütün ratlar dekapite edildi ve beyin dokusunda sağ prefrontal korteks biyokimyasal analizler için alındı. Çalışma gününe kadar -80 °C’de (NUAIRE Ultra-Low Freezer Model no: Nu-6420E) saklandı.

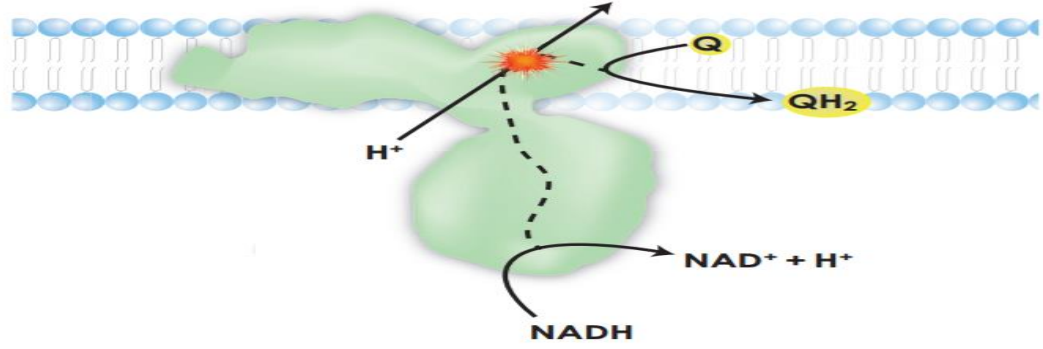
3.2.2. Doku Homojenizasyonu

Alınan sağ prefrontal korteks likid nitrojen ile homojenize edildi ve SET buffer (250 Mm sukroz, 2 mM etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), 10 Mm tris-baz pH 7.4) içine konuldu, -80 °C’de (NUAIRE Ultra-Low Freezer Model no: Nu-6420E) saklandı. Çalışma günü homojenatlar +4 °C’ de 220 V’da on dakika sonikasyon yapıldı (METU electromechanical, Serial No. 30607, Germany). Son olarak 3000 g’ de +4 °C, 5 dakika santrifüj (Jouan C4i Cat no: 11177560) işlemi yapıldı. Süpernatant kısmı biyokimyasal analizler için ayrıldı.

3.2.3. Kompleks 1 Ölçümü:

Kompleks 1 ölçümü Cayman's Mitocheck® complex I Activity Assay Kit, (Cayman CHEMICAL Batch: 0485111) kullanılarak yapıldı.

Test prensibi: NADH oksidasyon hızı, 340 nm absorbandsa bir azalma olarak ölçülür ve bu azalma kompleks 1'in aktivitesi ile orantılıdır.



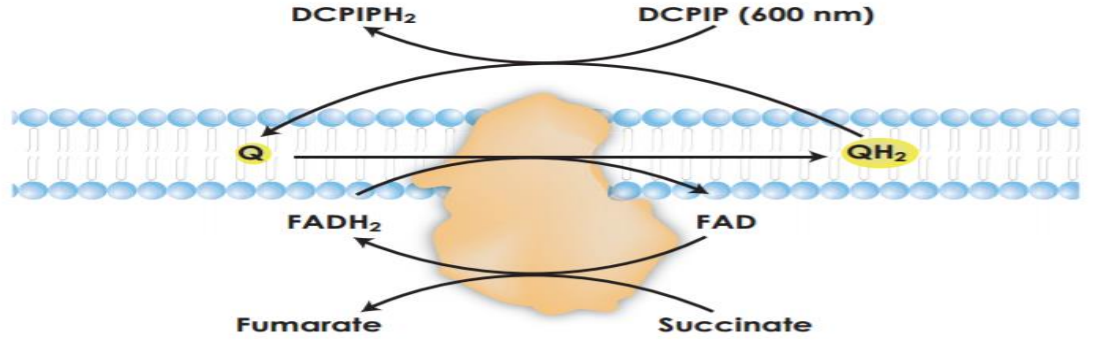
Şekil 3. Cayman's Mitocheck® kompleks 1 aktivite test kiti ile ölçülen kompleks 1 tarafından katalizlenen reaksiyon. (Cayman CHEMICAL Batch: 0485111'dan alınmıştır).

Test prosedürüne göre, A ve B olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp A içerisine 4,550 µl complex-1 activity assay buffer, 100 µl; 100 mM KCN, 250 µl FF-BSA assay reagent, 100 µl bovine heart mitochondria assay buffer konuldu. Tüp B içerisine 3,125 µl complex-1 activity assay buffer, 150 µl NADH assay reagent, 100 µl ubiquinone assay reagent konduldu. Her bir kuyucuğa 50 µl tüp A karışımı, 20 µl ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve lityum grubu), 30 µl tüp B karışımı ilave edildi ve 25 °C'de 340 nm'de 15 dakika boyunca her 30 saniyede UV spektrometrede (SHIMADZU, UV-160A) ölçümler yapıldı. Dakikadaki absorbands değışimi ($\Delta A/dk$) hesaplandı.

3.2.4. Kompleks 2 Ölçümü:

Kompleks 2 ölçümü Cayman's Mitocheck® complex II Activity Assay Kit (Cayman CHEMICAL Batch: 0485112) kullanılarak yapıldı.

Test prensibi: Kompleks 2 süksinatı okside eder, elektronlar bir ubikinon analoguna ve daha sonra da oksitlendiğinde 340 nm'de absorbe olan diklorofenolindofenol (DCPIP)'e iletilir. DCPIP'in absorbandsı indirgenme ile azalır. Kompleks 2'nin aktivitesi 600 nm absorbandsdaki bu azalma ile ölçülür.



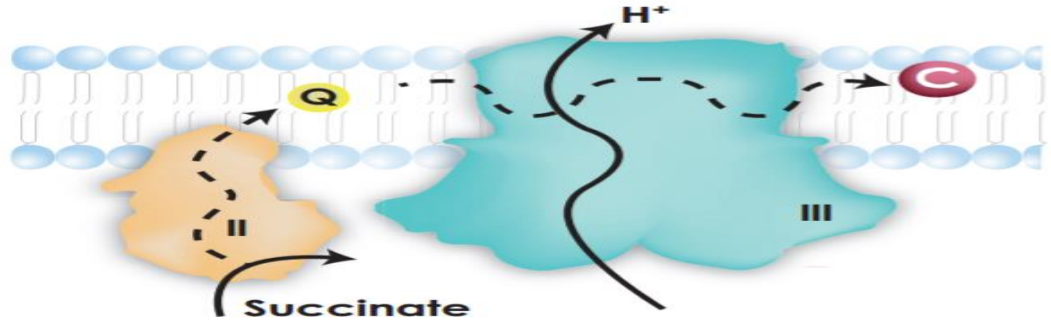
Şekil 4. Cayman's Mitocheck® kompleks 2 aktivite test kiti ile ölçülen kompleks 2 tarafından katalizlenen reaksiyon. (Cayman CHEMICAL Batch: 0485112'dan alınmıştır).

Test prosedürüne göre, A ve B olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp A içerisine 4,780 µl complex-2 activity assay buffer, 100 µl bovine heart mitochondria assay buffer, 10 µl; 1 mM rotenone, 100 µl; 100 mM KCN, 10 µl; 10 Mm antimycin A konuldu. Tüp B içerisine 2,435 µl complex-2 activity assay buffer, 40 µl succinate assay reagent, 100 µl ubiquinone assay reagent, 800 µl DCPIP assay reagent konuldu. Her bir kuyucuğa 50 µl tüp A karışımı, 20 µl ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve lityum grubu), 30 ml tüp B karışımı ilave edildi ve 25 °C' de 600 nm'de 15 dakika boyunca her 30 saniyede UV spektrometrede (SHIMADZU, UV-160A) ölçümler yapıldı. Dakikadaki absorbans değişimi ($\Delta A/dk$) hesaplandı.

3.2.5. Kompleks 3 Ölçümü

Kompleks 3 ölçümü Cayman's Mitocheck® complex II/III Activity Assay Kit (Cayman CHEMICAL Batch: 485113) kullanılarak yapıldı.

Test prensibi: Bu kit kompleks 3 tarafından katalize olan sitokrom c'nin indirgenmesini ölçer. Bu ölçümün doğruluğu için QH₂ oluşumu için gerekli olan süksinat ko-enzim Q oksidoredüktaz (kompleks 2) eşleştirilmiştir.



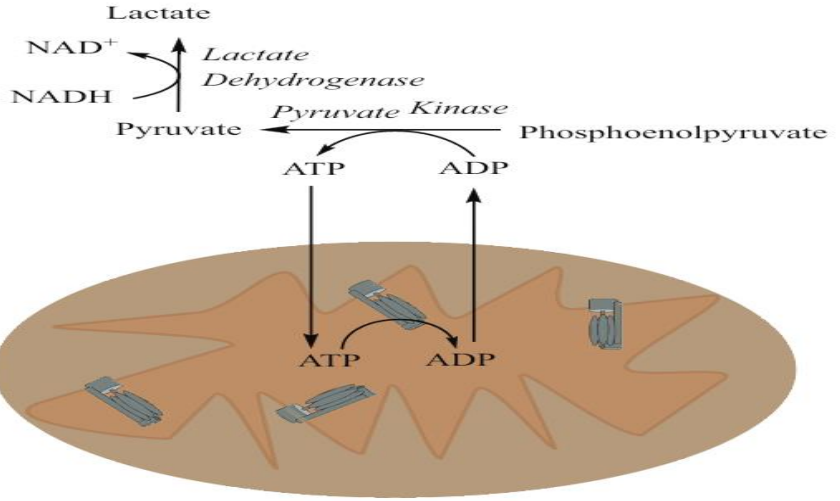
Şekil 5. Cayman's Mitocheck® kompleks 2/3 aktivite test kiti ile ölçülen kompleks 2 ve kompleks 3 ün birleştirilmiş reaksiyonu. (Cayman CHEMICAL Batch: 485113'dan alınmıştır).

Test prosedürüne göre, A ve B olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp A içerisine 4,790 µl complex-2/3 activity assay buffer, 100 µl bovine heart mitochondria assay buffer, 10 µl; 1 mM rotenone, 100 µl; 100 mM KCN konuldu. Tüp B içerisine 3,035 µl complex-2/3 activity assay buffer, 40 µl succinate assay reagent, 300 µl cytochrome c assay reagent konuldu. Her bir kuyucuğa 50 µl tüp A karışımı, 20 µl ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve lityum grubu), 30 µl tüp B karışımı ilave edildi ve 25 °C'de 550 nm'de 15 dakika boyunca her 30 saniyede UV spektrometrede (SHIMADZU, UV-160A) ölçümler yapıldı. Dakikadaki absorbans değişimi ($\Delta A/dk$) hesaplandı.

3.2.6. ATP-Sentaz Ölçümü

ATP-Sentaz ölçümü Cayman's Mitocheck® complex V Activity Assay Kit (Cayman CHEMICAL Batch: 0485114) kullanılarak yapıldı.

Test prensibi: Test yapılmadan önce mitokondri izolasyonu yapılmıştır. Bu test, ATP-sentaz ile ATP'yi ADP'e dönüştürür. ADP sonra pürivat kinaz tarafından kullanılır, pürivat kinaz fosfoenolpürivatın pürivata dönüştülmesini sağlar ve bu duruma ATP üretimi eşlik eder. Laktat dehidrogenaz ve NADH varlığında pürivat laktata, NADH ise NAD⁺'ya indirgenir. NADH oksidasyon hızı 340 nm'de gözlemlenebilir.



Şekil 6. Cayman's Mitocheck® ATP-sentaz aktivite testinin reaksiyon şeması. (Cayman CHEMICAL Batch: 0485114'dan alınmıştır).

Mitokondri İzolasyonu:

Mitokondri izolasyonu, Mitochondria Isolation Kit for Tissue Abcam (ab110169/MS851) kullanılarak yapılmıştır. Mitokondri izolasyonu için homojenatlar +4 °C'de 1.000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar alınıp, pelletler atıldı. Süpernatantlar yeni tüplere transfer edildi ve bütün tüpler 500 µl izolasyon buffer ile dolduruldu. Tüpler +4 °C' de 12.000 g'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar atılıp, pelletler toplandı. Bütün pelletlere 250 µl izolasyon buffer ilave edildi ve +4 °C'de 12.000 g'de 15 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj işlemi sonrası pelletler toplandı ve tekrar 4 °C' de 12.000'g de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar uzaklaştırılıp, pelletler toplandı ve üzerlerine 250 µl izolasyon buffer ilave edildi.

ATP-sentaz ölçüm kiti prosedürüne göre, A ve B olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp A içerisine 4,890 µl ATP-Sentaz activity assay buffer, 100 µl bovine heart mitochondria assay buffer, 10 µl; 1 mM rotenone konuldu. Tüp B içerisine 3,175 µl ATP-Sentaz activity assay buffer, 100 µl complex-V ATP reagent, 100 ml ATP-Sentaz NADH reagent konuldu. Her bir kuyucuğa 50 µl tüp A karışımı, 20 µl ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve lityum grubu), 30 ml tüp B karışımı ilave edildi ve 25 °C'de 340 nm'de 15 dakika boyunca her 30 saniyede UV spektrometrede (SHIMADZU, UV-160A) ölçüm yapıldı. Dakikadaki absrbans değişimi ($\Delta A/dk$) hesaplandı.

3.2.7. Protein Miktarı Tayini

Protein miktarı tayini için Lowry yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde alkali ortamda bakır iyonu (Cu^{+2}) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve Cu^{+1} 'e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan tirozin, triptofan ve sistein aminoasitleri folin reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 550 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür (Lowry ve ark., 1951).

Reaktiflerin Hazırlanışı:

1-Solusyon A : %2 Na_2CO_3 :

2 gram Na_2CO_3 tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon joje içerisinde 100 ml'ye tamamlandı

2- Solusyon B: %1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$:

1 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon joje içerisinde 100 ml'ye tamamlandı.

3- Solusyon C : %2 Na-K tartarat:

2,6596 gram 4 sulu Na-K tartarattan tartılıp bir miktar distile su ile çözüldükten sonra balon jojede 100 ml'ye tamamlandı.

4- Complex Forming Reagent:

Solusyon A, B, C 'den 100:1:1 oranında karıştırılarak hazırlandı.

5- 2N NaOH:

8 gram NaOH tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon joje içerisinde 100 ml'ye tamamlandı.

6- 1N Folin Reagent:

2N folin reagent stoğundan 50 ml alınıp distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

7- Albumin Standartı: 4 mg/ml

%30'luk sığır serum albumin ana stoğundan 0,067 ml alınıp 50 ml'ye tamamlandı ve elde edilen 4 mg/ml albuminden dilüsyon yöntemi ile standartlar hazırlandı.

Örneklerden ve standartlardan 0,1 mL alınarak tüplere konuldu. Kör tüpüne ise 0,1 mL saf su koyuldu. Tüm tüplere 0,1 ml; 2N NaOH eklendi. Tüpler 100 °C' de su banyosunda 10 dakika bekletildi ve daha sonrasında su banyosundan alınarak oda ısısına gelmesi beklendi. O da ısısına gelen tüplere 1ml complex forming reagent (100:1:1 oranında %2 Na_2CO_3 ; %1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; %2 Na-K tartarat) eklendi ve oda

ısısında 10 dakika bekletildi. Tüplere 0,1 ml folin reagent ilave edilip tüpler karıştırıldı ve oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra absorbanlar 550 nm'de köre karşı okundu. Sonuçlar g/dl olarak verildi.

Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz aktivitesi ölçüm sonuçları ($\Delta A/dk$) /($gprotein/dl$) şeklinde verilmiştir.

3.2.8. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler SPSS 15.0 bilgisayar paket programına aktarılarak, istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk Normal Dağılıma Uygunluk Testi ile değerlendirildi. Bu değerlendirilme sonrasında kompleks 2 (C2) ve ATP-sentaz (C5) in normal dağılıma uyduğu, kompleks 1 (C1) ve kompleks 3 (C3)'ün normal dağılıma uymadığı saptandı. Logaritmik dönüşüm sonrası C1 ve C3 değerlerinin de normal dağılıma uyduğu saptandı. Bu nedenle ölçümle belirtilen C1, C2, C3 ve C5 değerleri açısından gruplar (kontrol ve lityum) arasında istatistiksel fark olup olmadığı parametrik bir test olan Bağımsız Gruplarda t testi (Student t testi) ile saptandı. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Merkezi ölçütler aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz Ölçüm Sonuçları

Tablo 3. İstatiksel değerlendirme

	Gruplar	Ortalama Değer	Standart Sapma	P	p
C1 ($\Delta A/dk$) /(gprotein/dl)	Kontrol	8,088	4,5873	0,674	>0,05
	Lityum	8,759	4,8843		
C2 ($\Delta A/dk$) /(gprotein/dl)	Kontrol	8,866	5,5344	0,365	>0,05
	Lityum	6,272	2,9822		
C3 ($\Delta A/dk$) /(gprotein/dl)	Kontrol	11,215	2,6847	0,001	<0,01
	Lityum	17,089	6,8249		
C5 ($\Delta A/dk$) /(gprotein/dl)	Kontrol	40,923	10,5224	0,373	>0,05
	Lityum	37,204	14,4800		

Kontrol ve lityum gruplarının C1, C2 ve C5 değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Bununla birlikte lityum grubunun C3 değeri ortalaması ($17,089 \pm 6,8249$) kontrol grubunun C3 değeri ortalamasından ($11,215 \pm 2,6847$) istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$). (Tablo 3)

5. TARTIŞMA

Bu güne kadar lityumun beyinde mitokondri üzerine etkisini araştıran çok az çalışma bulunmaktadır ve bu konu hala tam olarak aydınlatılamamıştır (Manji ve ark., 2011;Scola ve ark., 2013) Ayrıca farklı dokularda farklı yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir (Andreazza ve ark., 2010; Corena-McLeod ve ark., 2013; Maurer ve ark., 2009; Rafael ve ark., 2015; Tan ve ark., 2012; Valvassori ve ark., 2010). Bu konunun aydınlanmasına yönelik yaptığımız çalışmada lityumun ratlarda beyin sağ prefrontal kortekste C1, C2 ve C5 üzerine etkisi olmadığını bununla birlikte C3 aktivitesini artırdığını tespit ettik.

Bipolar hastalığın ortaya çıkışı ve mitokondriyal bozukluklar arasındaki ilişkiye dair bulguların artması, araştırmacıları lityumun tedavi edici etkisinin mitokondrideki elektron transport zincirinde bu bozuklukları düzelterek gösterme ihtimali üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir. Lityumun, kompleks 1 üzerinde selektif inhibisyon özelliği olan 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP⁺) ve rotenonun etkisini engellendiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (King ve ark., 2001; King ve Jope 2005; Lai ve ark., 2006). Bununla birlikte biz çalışmamızda lityum kullanılan grupta kompleks 1 aktivitesinde herhangi bir değişiklik bulamadık. Yapılan bu çalışmalar insan nöroblastoma SH-SY5Y hücre kültüründe gerçekleştirilmiştir (King ve ark., 2001; King ve Jope 2005; Lai ve ark., 2006). Lityumun MPP⁺ etkisini engellediğini gösteren çalışmada 0, 5, 10 ve 20 mM lityum kullanılırken (King ve ark., 2001), rotenonun etkisinin engellediğini gösteren çalışmaların birinde 20 mM lityum (King ve Jope 2005), bir diğer çalışmada 1 mM lityum (Lai ve ark., 2006) kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmalar ile bizim çalışmamız arasında ki fark, çalışmaların hücre kültüründe gerçekleştirilmiş olmasıdır. Ayrıca kullanılan lityum dozları her bir çalışmada ve bizim çalışmamızda farklıdır. Kullanılan ilaç dozlarının etkisini gösteren başka bir çalışmada ise post mortem prefrontal korteksler lityum ile muamele edilmiş ve sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 1 mM lityum kullanıldığında kompleks 1+3 aktivasyonun önemli ölçüde artmış olduğu ve 5-7 mM lityum kullanımında ise az da olsa 1+3 aktivitesinde azalma olduğu rapor edilmiştir (Maurer ve ark., 2009). Lityumun mitokondri üzerine etkisini araştırmada bir diğer yaklaşım ise kandaki lökosit mitokondri aktivasyonunu değerlendirmek olmuştur. Çünkü periferik hücrelerdeki mitokondriyal ETC'nin diğer dokularda benzer aktivitede olduğu (Chretien ve ark., 1994) ve lökosit ETC aktivitesinin nörolojik bozukluklarda beyin aktivitesinin bir

işareti olarak yaygın olarak kullanılmakta olduğu (Ghiasi ve ark., 2012) bildirilmektedir. Bu nedenle lökositlerde gözlemlenen ETC değerlerinin, beyindeki ETC aktivitesini yansıtmaya ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmüştür. 25 BD hastasına 6 hafta boyunca 450 mg/gün LiCO₃ ile tedavi edilmesinin ETC kompleks 1'in aktivasyonunu yaklaşık olarak % 65 oranında artırdığı ve bu artışın plazma lityum seviyeleri ile pozitif korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte bu tedavi sonucunda lityumun diğer ETC komplekslerinin (kompleks 2, 3 ve 4) aktivasyonunu değiştirmediği rapor edilmiştir (Rafael ve ark., 2015). Bu çalışmanın lökosit mitokondride gerçekleşiyor olması ve tedavi için kullanılan lityum dozlarının farklılığı, sonuçlarımızın farklı oluşuna sebep olabilir.

Lityumun kompleks 1 aktivasyona artırdığına yönelik çalışmalar bulunmasına rağmen bizim çalışmamıza paralel şekilde lityumun kompleks 1 üzerine etkisinin olmadığını ileri süren çalışmalarda mevcuttur. (Andreazza ve ark., 2010, Tan ve ark., 2012) Andreazza ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan ilk çalışmada her birinde 15'er örnek bulunan BD, MDD, SCZ hastasının post mortem prefrontal korteks dokusu kullanılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BD grubunda kompleks 1 aktivitesinde ve NDUSF7 seviyesinde dikkate değer şekilde azalma olduğu rapor edilmiştir. Yapılan ileri analizde lityumun kullanan ve kullanmayan hastalar karşılaştırıldığında kompleks 1 aktiviteleri ve NDUSF7 ekspresyonların açısından fark olmadığı görülmüştür. İkinci çalışmada ise erkek Sprague-Dawley rat kullanılmış ve 21 gün boyunca yemlerine %0.24 (w/w) oranında lityum ilave edilerek beslenmiş ve deneye başladıktan 8 gün sonra günde 2 defa olmak üzere 2 mg/kg d-AMPH intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Ratların prefrontal kortekleri üzerinde yapılan bu çalışma sonucunda lityumla yapılan kronik tedavinin kompleks 1'in bazal aktivitesi veya d-AMPH tarafından artırılmış kompleks 1'in aktivitesi üzerinde herhangi bir etki oluşturmadığı gözlenmiştir (Tan ve ark., 2012).

Kompleks 2 ile yapılan çok az çalışmada da lityumun kompleks 2 üzerine etkisi konusunda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Ratlara 14 gün boyunca d-AMPH uygulanarak yapılan bir çalışmada lityumun prefrontal korteks, hipokampus ve striatum üzerine etkisi değerlendirilmiştir. d-AMP tarafından oluşturulan kompleks 2 aktivitesinde ki azalmaya sonradan verilen lityumun herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı çalışmada lityumun önceden verilmesinin ise beyin özellikle prefrontal korteks ve striatum bölgesinde kompleks 2'nin azalmasını

engellediği belirtilmiştir. Bu bulgulardan yola çıkarak lityumun beyinde farklı bölgelerinde farklı etki gösterebileceği düşünülmüştür. (Valvassori ve ark., 2010). Başka bir çalışmada ise kompleks 2 üzerine lityumun etkisinin esas olarak doz bağımlı olduğu lityumun 1 mM dozlarında aktivitede herhangi bir değişiklik gözlenmezken 5 mM doz uygulanmasında aktivitenin %220 arttığı bulunmuştur. Daha yüksek lityum konsantrasyonlarında ise kompleks 2 aktivitesinde azalma tespit edilmiştir (Maurer ve ark., 2009). Bununla birlikte bu konunun aydınlanması için daha ileri çalışmalar yapılmasının gerekliliği açıktır.

Bizim çalışmamızdan elde edilen en önemli veri, lityum kullanımı sonrası kompleks 3 aktivitesinde belirgin artışın gözlenmiş olmasıdır. Kompleks 3 veya bc-1 kompleks, koenzim Q'nun oksidasyonu aracılığı ile sitokrom c' nin indirgenmesinin katalizi ve 4 protonun intermembrandan mitokondriyal matrikse eş zamanlı olarak pompalanması ile ilişkilidir (Nelson ve Cox, 2005). Kompleks 3'ün yapısında bulunan UQCRC1 ekspresyonundaki azalmalar depresyon hastalarının post mortem PFC beyin dokusunda gösterilmiştir (Seo ve ark., 2010). Bu bulgu BD ve diğer duygudurum bozukluklarında kompleks 3'ün etkisi konusunda daha ayrıntılı araştırmalar için yol gösterici olabilir. En son yapılan bir çalışmada 4 adet erkek Sprague-Dawley rat kullanılmış, 28 gün boyunca 22 mg/kg lityum intraperitoneal olarak verilmiştir ve lityumun kompleks 3'deki UQCRC1 fosforilasyonunun arttığı gözlenmiştir (Corena-McLeod ve ark., 2013). BD ve patofizyolojisine dair çalışmalarda üzerinde durulan bir diğer konu ise artmış oksidatif stresin BD nin çıkışında etkili olduğu yönündedir. Post mortem beyinde veya periferik kan örneklerinde yapılmış çalışmalarda BD hastalarında artmış oksidatif stres bildirilmiştir (Andreazza ve ark., 2008, 2010; Machado-Vieira ve ark., 2007). Oksidatif stresin ana kaynağının elektron transport sisteminin olduğu düşünülmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2007; Adam-Vizi ve Starkov, 2010) ve kompleks 3'ün de Q siklusuda oluşan ubisemiquinonun oto-fosforilasyonuyla major olarak $O_2^{\cdot-}$ üretmektedir (Sun ve Trumpower, 2003). Bipolar disorder ve oksidatif stres arasındaki ilişki kompleks 3 aktivitesinde meydana gelen değişikliğe bağlı olabilir ve lityum tedavi edici etkisini bu kompleksin aktivitesini artırarak gösteriyor olabilir.

BD hastalarında yapılan mikroarray ve real-time PCR çalışmalarında (Iwamoto ve ark., 2004) ve post mortem hipokampusta yapılan çalışmalarda (Konradi ve ark., 2004) ATP-sentazın altbirimlerini kodlayan birçok mRNA'nın ekspresyonunun azaldığı rapor edilmiştir. Sun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2006), BD hastalarının

postmortem prefrontal korteksinde ATP-sentazın alt ünitelerini (ATP5C1, ATP5J ve ATP5G3) kodlayan 3 genin azaltılarak düzenlendiği gösterilmiştir. Ek olarak disfonksiyonel mitokondrinin ATP üretimi açısından daha az verimli, ROS'un üretimi açısından daha çok verimli olduğu ve bu durumun BD'de görülen oksidatif dengesizliğin önemli bir kaynağı olduğu düşünülmektedir (Andreazza ve ark., 2007, 2010; Frey ve ark., 2006a,b; Machado-Vieira ve ark., 2007; Savas ve ark., 2006). Literatürdeki birçok kanıt da BD hastalarında ROS ile oluşturulan hasarı ortaya koyarak bu yöne işaret etmektedir (Scani ve ark., 2016). Bununla birlikte BD'da ATP seviyeleri konusunda tam bir fikir birliği de bulunmamaktadır ve değişiklik olmadığına dair çalışmalarda bulunmamaktadır (Deicken ve ark., 1995; Hamakawa ve ark., 2004; Kato ve ark., 1993). Lityumun ATP-sentaz üzerinde etkisi konusunda çok az çalışma bulunmaktadır. Literatür taramasında tek bir çalışmaya rastlanmıştır. Yapılan bu çalışmada lityum ile tedavi sonrası mitokondriyal fonksiyonla ilgili olarak, ATP6V1A ve ATP6V1B2 içeren proteinlerin fosforile oldukları gözlemlenmiştir (Corena-McLeod ve ark., 2013). Bizim yaptığımız çalışmada ise lityum ile tedavi sonrasında rat sağ prefrontal kortekste ATP-sentaz aktivitesinde herhangi bir değişiklik tespit etmedik.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak biz bu çalışmada lityumun beyin dokusunda sağ prefrontal kortekste kompleks 3 aktivitesini yükselttiğini ve kompleks 1, 2, ve ATP-sentaz üzerine etkisi bulunmadığını tespit ettik. Bununla birlikte ileride yapılacak çalışmaların ölçüm tekniği olarak daha ileri ölçüm tekniklerinin kullanılarak insanlarda periferik kandaki hücrelerde yapılması ve bu bulguların doğrulanması gerektiği de açıktır.



KAYNAKLAR

- Adam-Vizi V, Starkov AA. Calcium and mitochondrial reactive oxygen species generation: how to read the facts. *J Alzheimers Dis* 2010;20(2):413-426
- Alesci S, Manoli I, Michopoulos VJ, Brouwers FM, Le H, Gold PW, Blackman MR, Rennert OM, Su YA, Chrousos GP. Development of a human mitochondria-focused cDNA microarray (hMitChip) and validation in skeletal muscle cells: implications for pharmaco-and mitogenomics. *Pharmacogenomics* 2006;6(5):333-342
- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, Bruijn MHL, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981;290(5806):457-465
- Andreazza AC, Frey BN, Erdtmann B, Salvador M, Rombaldi F, Santin A, Goncalves CA, Kapczinski F. DNA damage in bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2007;153;27-32
- Andreazza 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
- 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;34:263-27
- Andreazza AC, Shao L, Wang JF, Young LT. Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2010;67:360-368
- Andreazza AC, Wang JF, Salmasi F, Shao L, Young LT. Specific subcellular changes in oxidative stress in prefrontal cortex from patients with bipolar disorder. *J Neurochem* 2013;127:552-561
- Amidsen A, Jensen SE, Olsen T, Schou M. Development of goiter during lithium treatment. *Ugeskr-Laeger* 1968;130(37):1515-1518
- Baastrop PC. The use of lithium in manic-depressive psychosis. *Compr Psychiatry* 1964;5(6):396-408

- Baastrup PC, Schou M. Lithium as a prophylactic agent: Its effect against recurrent depressions and manic-depressive psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 1967;16(2):72-162
- Baastrup PC, Poulsen JC, Schou M, Thomsen K, Amdisen A. Prophylactic lithium: Double-blind discontinuation in manicdepressive disorders. *Lancet* 1970;2(7668):30-326
- Barja G, Herrero A. Localization at complex I and mechanism of the higherfree radical production of brain nonsynaptic mitochondria in the short-lived rat than in the longevous pigeon. *J Bioenerg Biomembr* 1998;30:235–243
- Beal MF. Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol* 1995;38(3):357-366
- Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Dean OM, Giorlando F, Maes M, Yucel M, Gama CS, Dodd S, Dean B, Magalhaes PV, Amminger P, McGorry P, Malhi GS. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev* 2011;35(3):804–817
- Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1:11–21
- Beaulieu JM, Sotnikova TD, Yao WD, Kpckeritz L, Woodgett JR, Gainetdinov RR, Caron MG. Lithium antagonizes dopamindependent behaviors mediated by Akt/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101(14):5099–5104
- Beaulieu JM, Gainetdinov RR, Caron MG. Akt/GSK3 Signaling in the Action of Psychotropic Drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* DOI:10.1146/annurev.pharmtox
- Bielau H, Steiner J, Mawrin C, Trubner K, Brisch R, Meyer-Lotz G, Brodhun M, Dobrowolny H, Baumann B, Gos T, Bernstein HG, Bogerts B. Dysregulation of GABAergic neurotransmission in mood disorders: apostmortem study. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1096:157–169
- Beaulieu JM. A role for Akt and glycogen synthase kinase-3 as integrators of dopamine and serotonin neurotransmission in mental health. *J Psychiatry Neurosci* 2012;37(1):7-16

- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biyokimya (çeviri)*'de. 7. Baskı Ankara, Palme Yayınları. 2014;1-1050
- Berk M, Dodd S, Berk L. Treatment of bipolar depression. *Med J Aust* 2013;198(3):139
- Berridge MJ, Downes CP, Hanley MR. Neural and developmental actions of lithium: a unifying hypothesis. *Cell* 1989;59(3):411–419
- Brown NC, Andreazza AC, Young LT. An updated meta-analysis of oxidative stress markers in bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2014;218(1-2):61–68
- Burbulla LF, Krebiehl G, Kru R. Balance is the challenge -- The impact of mitochondrial dynamics in Parkinson's disease. *Eur J Clin Invest* 2010;40(11):1048-1060
- Cade JFJ. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. *Med J of Australia* 1949;2:349-352
- Cataldo AM, McPhie DL, Lange NT, Punzell S, Elmiligy S, Ye NZ, Froimowitz MP, Hassinger LC, Menesale EB, Sargent LW. Abnormalities in mitochondrial structure in cells from patients with bipolar disorder. *Am J Pathol* 2010;177:575–585
- Chalecka-Franaszek E, Chuang DM. Lithium activates the serine/threonine kinase Akt-1 and suppresses glutamate-induced inhibition of Akt-1 activity in neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:8745–8750
- Chang F, Steelman LS, Shelton JG, Lee JT, Navolanic PM, Blalock WL, Franklin R, McCubrey JA. Regulation of cell cycle progression and apoptosis by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway. *Int J Oncol* 2003;22(3):469–480
- Chinnery PF, Turnbull DM. Mitochondrial medicine. *QJMed* 1997;90(11):657-667
- Chretien D, Rustin P, Bourgeron T, Rötig A, Saudubray JM, Munnich A. Reference charts for respiratory chain activities in human tissues. *Clin Chim Acta* 1994;228(1):53-70
- Chuang DM, Chen RW, Chalecka-Franaszek E, Ren M, Hashimoto R, Senatorov V, Kanai H, Hough C, Hiroi T, Leeds P. Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. *Bipolar Disord* 2002;4(2):129–136
- Chuang DM. Neuroprotective and neurotrophic actions of the mood stabilizer lithium: can it be used to treat neurodegenerative diseases? *Crit Rev Neurobiol* 2004;16(1-2):83–90

- Chuang DM. The antiapoptotic actions of mood stabilizers: molecular mechanisms and therapeutic potentials. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1053:195–204
- Chuang DM, Priller J. *Lithium in Neuropsychiatry: The Comprehensive Guide*. Informa Health Care; Abingdon, Oxfordshire, United Kingdom, 2006;381-397
- Chiu CT and Chuang DM. Molecular actions and therapeutic potential of lithium in preclinical and clinical studies of CNS disorders. *Pharmacol Ther* 2010;128(2):281–304
- Clay HB, Sullivan S, Konradi C. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci* 2011;29(3):311–324
- Clayton DA. Structure and function of the mitochondrial genome. *J Inherit Metab Dis* 1992;15(4):439-47
- Corcoran AC, Taylor RD, Page IH. Lithium poisoning from the use of salt substitutes. *J Am Med Assoc* 1949;139(11):685-688
- Corena-McLeod M, Walss-Bass C, Oliveros A, Gordillo Villegas A, Ceballos C, Charlesworth CM, Madden B, Linser PJ, Van Ekeris L, Smith K, Richelson E. New model of action for mood stabilizers: phosphoproteome from rat pre-frontal cortex synaptoneurosomal preparations. DOI: 10.1371/journal.pone.0052147
- Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 1995;378(6559):785–789
- 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
- de Sousa RT, Machado-Vieira R, Zarate CA Jr, Manji HK. Targeting mitochondrially mediated plasticity to develop improved therapeutics for bipolar disorder. *Expert Opin Ther Targets* 2014;18:1131–1147
- Dean B, Gibbons AS, Tawadros N, Brooks L, Everall IP, Scarr E.. Different changes in cortical tumor necrosis factor- α -related pathways in schizophrenia and mood disorders. *Mol Psychiatry* 2013;18:767-773
- Deicken RF, Weiner MW, Fein G. Decreased temporal lobe phosphomonoesters in bipolar disorder. *J Affect Disord* 1995;33:195-9
- Deodhar SD, Sing B, Pathak MC, Sharan P, Kulhara P. Thyroid functions in lithium-treated psychiatric patients. *Biol Trace Elem Res* 1998;67(2):151-163

- Di Donato S. Disorders related to mitochondrial membranes: Pathology of the respiratory chain and neurodegeneration. *J Inher Metab Dis* 2000;23(3):247-263
- Duchen MR. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *J Physiol* 2000;529(1):57-68
- Egger J, Wilson J. Mitochondrial inheritance in a mitochondrial mediated disease. *N Eng J Med* 1983;309(3):142-146
- El-Mallakh RS, Jefferson JW. Prethymoleptic use of lithium. *Am J Psychiatry* 1999;156(1):129
- Emamian ES. AKT/GSK3 signaling pathway and schizophrenia. *Front Mol Neurosci* 2012;5(33):1-12
- Erkan OM, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int Clinl Psychopharmacol* 2004;19:89-95
- Ernster L and Schatz G. Mitochondria: A Historical Review. *J Cell Biol* 1981;91(3-2):227-255
- Escames G, Lopez LC, Garcia JA, Garcia-Corzo L, Ortiz F, Acuna-Castroviejo D. Mitochondrial DNA and inflammatory diseases. *Hum Genet* 2012;131(2):161-173
- Fang X, Yu SX, Lu Y, Bast Jr RC, Woodgett JR, Mills GB. Phosphorylation and inactivation of glycogen synthase kinase 3 by protein kinase A. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(22):11960-11965
- Fattal O, Budur K, Vaughan AJ, Franco K. Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. *Psychosomatics* 2006;47(1):1-7
- Fišar Z, Hroudová J. Intracellular signalling pathways and mood disorders. *Folia Biol (Praha)* 2010;56:135-148
- Fišar Z, Hroudová J, Singh N, Kopřivová A, Macečková D. Effect of simvastatin, coenzyme Q10, resveratrol, acetylcysteine and acetylcarnitine on mitochondrial respiration. *Folia Biol (Praha)* 2016;62:53-66
- Fishwick J.H. Applications of Lithium in Ceramics. 1rd Ed, Boston, Cahners Publishing 1974;4-190
- Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 1978;201(4359):875-80

- Frey BN, Martins MR, Petronilho FC, Dal-Pizzol F, Quevedo J, Kapczinski F. Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as a model of mania. *Bipolar Disord* 2006a;8(3):275–280
- Frey BN, Valvassori SS, Reus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Changes in antioxidant defense enzymes after d-amphetamine exposure: implications as an animal model of mania. *Neurochem Res* 2006b;31(5):699–703
- Frey BN, Stanley JA, Nery FG, Monkul ES, Nicoletti MA, Chen HH, Hatch JP, Caetano SC, Ortiz O, Kapczinski F, Soares JC. Abnormal cellular energy and phospholipid metabolism in the left dorsolateral prefrontal cortex of medication-free individuals with bipolar disorder: an in vivo 1H MRS study. *Bipolar Disord* 2007;9(1):119-127
- Gardner A, Boles RG. Beyond the serotonin hypothesis: mitochondria, inflammation and neurodegeneration in major depression and affective spectrum disorders. *PNP and BP journal* 2011;35(3):730–743
- Gawryluk JW, Wang JF, Andreazza 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
- Genova ML, Ventura B, Giuliano G, Bovina C, Formiggini G, Parenti Castelli G, Lenaz G. The site of production of superoxide radical in mitochondrial Complex I is not a bound ubiquinone but presumably iron-sulfur cluster N2. *FEBS Lett* 2001;505:364–368
- Ghiasi P, Hosseinkhani S, Noori A, Nafissi S, Khajeh K. Mitochondrial complex I deficiency and ATP/ADP ratio in lymphocytes of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurol Res* 2012;34:297–303
- Gigante AD, Andreazza AC, Lafer B, Yatham LN, Beasley CL, Young, LT. Decreased mRNA expression of uncoupling protein 2, a mitochondrial proton transporter, in post-mortem prefrontal cortex from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Neurosci Lett* 2011;505:47–51
- Glessinger B. Evaluation of lithium in treatment of psychotic excitement. *Med J of Aust* 1954;41(18):277-283

- Gould TD, Quiroz JA, Singh J, Zarate CA, Manji HK. Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers. *Mol Psychiatry* 2004;9(8):734–755
- Guyton AC. *Textbook of Physiology* WB. Saunders Company-Phl, 5 th. 1976;34(1)
- Halliwell B, Gutteridge JM.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4 ed.Clarendon Press, Oxford. 2007
- Hartigan GP. The use of lithium salts in affective disorders. *Brit J Psychiatry* 1963;109:810-814
- Hamakawa H, Murashita J, Yamada N. Reduced intracellular pH in the basal ganglia and whole brain measured by ³¹P-MRS in bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* 2004;58:82-8
- Hashimoto R, Hough C, Nakazawa T, Yamamoto T, Chuang DM. Lithium protection against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons: involvement of NMDA receptor inhibition possibly by decreasing NR2B tyrosine phosphorylation. *J Neurochem* 2002;80(4):589–597
- Heiseke A, Aguib Y, Riemer C, Baier M, Schatzl HM. Lithium induces clearance of protease resistant prion protein in prion-infected cells by induction of autophagy. *J Neurochem* 2009;109(1):25–34
- Hsiung SC, Adlersberg M, Arango V, Mann JJ, Tamir H, Liu KP. Attenuated 5-HT_{1A} receptor signaling in brains of suicide victims: involvement of adenylyl cyclase, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt and mitogen-activated protein kinase. *J Neurochem* 2003;87(1):182–194
- Iwamoto K, Kakiuchi C, Bundo M, et al. Molecular characterization of bipolar disorder by comparing gene expression profiles of postmortem brains of major mental disorders. *Mol Psychiatry* 2004;9:406-16
- Iwamoto K, Bundo M, Kato T. Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large scale DNA microarray analysis. *Hum Mol Genet* 2005;14(2):241–253
- Jefferson JW, Greist JH. Lithium. *Kaplan and Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry*, 8. Ed. Sadock BJ, Sadock VA. Philadelphia, PA, ABD, 2007;2839-2850

- Jenkins RJ, Aronson JK, Brearley CJ. Increases in Na/K pump numbers in isolated human lymphocytes exposed to lithium in vitro. Reversal by myo-inositol and by inhibitors of protein kinase C and the Na/H antiport. *Biochim Biophys Acta* 1991;1092(2):138–144
- Johns DR. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Mitochondrial DNA and disease. *N Eng J Med* 1995;333(10):638-644
- Johnson-Farley NN, Traykina T, Cowen DS. Cumulative activation of akt and consequent inhibition of glycogen synthase kinase-2 by brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 in cultured hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;316(6):1062-1069
- Jope RS. Anti-bipolar therapy: Mechanism of action of lithium. *Mol Psychiatry* 1999;4(2):117–28
- Jope RS, Roh MS. Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions. *Curr Drug Targets* 2006;7(11):1421–1434
- Kamienski CW, McDonald DP, Stark MW, Papcun JR. Lithium and lithium compounds. *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. DOI:10.1002/0471238961.2004.04.016
- Karry R, Klein E, Ben Shachar D. Mitochondrial complex I subunits expression is altered in schizophrenia: a postmortem study. *Biol Psychiatry* 2004;55:676-684
- Kato T, Takahashi S, Shioiri T, Inubushi T. Alterations in brain phosphorous metabolism in bipolar disorder detected by in vivo ³¹P and ⁷Li magnetic resonance spectroscopy. *J Affect Disord* 1993;27:53-59
- Kato T, Kato N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *BipolarDisord* 2000;2:180–190
- Kato T. Role of mitochondrial DNA in calcium signalling abnormality in bipolar disorder. *Cell Calcium* 2008;44:92-102
- Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT, Yatham LN. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009;12:447-458
- Kenney MC, Chwa M, Atilano SR, Falatoonzadeh P, Ramirez C, Malik D, Tarek M, Caceres-del-Carpio J, Nesburn AB, Boyer DS, Kuppermann BD, Vawter M, Jazwinski SM, Miceli M, Wallace DC, Udar N. Inherited mitochondrial DNA

- variants can affect complement, inflammation and apoptosis pathways: insights into mitochondrial-nuclear interactions. *Hum Mol Genet* 2014;23:3537-3551
- Kim YK, Jung HG, Myint AM, Kim H, Park SH. Imbalance between proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2007;104:91-95
- Kim HK, Andreazza AC. The relationship between oxidative stress and post-translational modification of the dopamine transporter in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother* 2012;12:849-859
- Kim HK, Andreazza AC, Yeung PY, Isaacs-Trepanier C, Young LT. Oxidation and nitration in dopaminergic areas of the prefrontal cortex from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci* 2014;39:276-285
- Kim HK, Chen W, Andreazza AC. The Potential Role of the NLRP3 Inflammasome as a Link between Mitochondrial Complex I Dysfunction and Inflammation in Bipolar Disorder. *Neural Plast* 2015;40:813–816
- Kim HK, Andreazza AC, Elmi N, Chen W, Young LT. Nod-like receptor pyrin containing 3 (NLRP3) in the post-mortem frontal cortex from patients with bipolar disorder: A potential mediator between mitochondria and immune-activation. *J Psychiatr Res* 2016;72:43-50
- King TD, Bijur GN, Jope RS. Caspase-3 activation induced by inhibition of mitochondrial complex I is facilitated by glycogen synthase kinase-3beta and attenuated by lithium. *Brain Res* 2001;919(1):106-114
- King TD, Jope RS. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 protects cells from intrinsic but not extrinsic oxidative stress. *Neuroreport* 2005;16(6):597-601
- Kishi T, Yoshimura R, Fukuo Y, Okochi T, Matsunaga S, Umene-Nakano W, Nakamura J, Serretti A, Correll CU, Kane JM, Iwata N. The serotonin1A receptor gene confer susceptibility to mood disorders: results from an extended meta-analysis of patients with major depression and bipolar disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2013;263(2):105–118
- Kleiner J, Altshuler L, Hendrick V, Hershman JM. Lithium-induced subclinical hypothyroidism: review of the literature and guidelines for treatment. *J Clin Psychiatry* 1999;60(4):294-255

- Klewe IV, Nielsen SM, Tarpo L, Urizar E, Dipace C, Javitch JA, Gether U, Egebjerg J, Christensen KV. Recruitment of β -arrestin2 to the dopamine D2 receptor: insights into anti-psychotic and antiparkinsonian drug receptor signaling. *Neuropharmacology* 2008;54(8):1215–1222
- Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, Walsh J, Benes FM, Heckers S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61:300–308
- Konradi C, Sullivan SE, Clay HB. Mitochondria, oligodendrocytes and inflammation in bipolar disorder: evidence from transcriptome studies points to intriguing parallels with multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2012;45:37-47
- Kushnareva Y, Murphy AN, Andreyev A. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state. *Biochem J* 2002;368;545–553
- Lai JS, Zhao C, Warsh JJ, Li PP. Cytoprotection by lithium and valproate varies between cell types and cellular stresses. *Eur J Pharmacol* 2006;539(1-2):18-26
- Leboyer M, Soreca I, Scott J, Frye M, Henry C, Tamouza R, Kupfer DJ. Can bipolar disorder be viewed as a multi-system inflammatory disease? *J Affect Disord* 2012;141:1-10
- Leonard JV, Schapira AHV. Mitochondrial respiratory chain disorders I: Mitochondrial DNA defects. *The Lancet* 2000;355(9200):299-304
- Li N, Ragheb K, Lawler G, Sturgis J, Rajwa B, Melendez JA, Robinson JP. Mitochondrial complex I inhibitor rotenone induces apoptosis through enhancing mitochondrial reactive oxygen species production. *J Biol Chem* 2003;278:8516-8525
- Lochhead PA, Coghlan M, Rice SQ, Sutherland C. Inhibition of GSK-3 selectively reduces glucose-6-phosphatase and phosphatase and phospho enolpyruvate carboxykinase gene expression. *Diabetes* 2001;50(5):937–946
- Lopez-Armada MJ, Riveiro-Naveira RR, Vaamonde-García C, Valcarcel-Ares MN. Mitochondrial dysfunction and the inflammatory response. *Mitochondrion* 2013;13:106-118
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1951;193:265-275

- Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V Jr, da Silva Vargas R, Kapczinski F, Portela LV, Souza DO, Salvador M, Gentil V. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett* 2007;421(1):33-36
- Manji HK, Henter ID, Zarate Jr. Bipolar disorder: a neurobiological synthesis. *Curr Topics Behav Neurosci* 2011;5:331–340
- Mamdani F, Rollins B, Morgan L, Sequeira PA, Vawter MP. The somatic common deletion in mitochondrial DNA is decreased in schizophrenia. *Schizophr Res* 2014;159:370-375
- Matsuzaki S, Szweda PA, Szweda LI, Humphries KM. Regulated production of free radicals by the mitochondrial electron transport chain: Cardiac ischemic preconditioning. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61(14):1324–1331
- Maurer I, Zierz S, Moller H. Evidence for a mitochondrial oxidative phosphorylation defect in brains from patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 2001;48:125-136
- Maurer IC, Schippel P, Volz H-P. Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. *Bipolar Disord* 2009;11:515–522
- McQuillin A1, Rizig M, Gurling HM. A microarray gene expression study of the molecular pharmacology of lithium carbonate on mouse brain mRNA to understand the neurobiology of mood stabilization and treatment of bipolar affective disorder. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17(8):605-17
- Morris G, Maes M. Mitochondrial dysfunctions in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome explained by activated immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress pathways. *Metab Brain Dis* 2014;29:19-36
- Moylan S, Berk M, Dean OM, Samuni Y, Williams LJ, O'Neil, Hayley AC, Pasco, JA, Anderson G, Jacka FN, Maes M. Oxidative & nitrosative stress in depression: why so much stress? *Neurosci Biobehav Rev* 2014;45:46-62
- Munkholm K, Braüner JV, Kessing LV, Vinberg M. Cytokines in bipolar disorder vs. healthy control subjects: a systematic review and meta-analysis. *J Psychiatr Res* 2013;47: 1119-1133

- Murray KM, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası (çeviri)'de. 24.Baskı İstanbul, Barış Kitapevi, 1996;1-899
- Mutisya EM, Bowling AC, Beal MF. Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1994;63(6):2179-2184
- Nelson D, Cox M. Ökaryot hücrelerin başlıca yapısal özellikleri. Kılıç N. Editör, Lehninger Biyokimyanın İlkeleri (çeviri)'de, 3. Baskı, Ankara, Palme Yayınları, 2005;29-42
- 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
- Nicholls DG. Mitochondrial calcium function and dysfunction in the central nervous system. *Biochim Biophys Acta* 2009;1787:1416–1424
- Noack CH, Tautner EM. The lithium treatment of manical psychosis. *Med J of Aust* 1951;2(7):219-222
- O'Brien SM, Scully P, Scott LV, Dinan TG. Cytokine profiles in bipolar affective disorder: focus on acutely ill patients. *J Affect Disord* 2006;90:263-267
- Ober JA. metals and minerals lithium. In *Minerals Yearbook* 2001;1:471-476
- Öztürk O. Ruh sağlığı ve Bozuklukları. Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1997;7:471-472
- Pandey GN, Davis J.M. Bilogy of the lithium ion. *Adv Exp Med Biol* 1980;127:15-59
- Pardo R, Andreolotti AG, Ramos B, Picatoste F, Claro E. Opposed effects of lithium on the MEK-ERK pathway in neural cells: inhibition in astrocytes and stimulation in neurons by GSK3 independent mechanisms. *J Neurochem* 2003;87(2):417–426
- Perrild H, Hegedus L, Baastrup PC, Kayser L, Kastberg S. Thyroid function and ultrasonically determined thyroid size in patients receiving long-term lithium treatment. *Am J Psychiatry* 1990;147(11):1518-1521
- Pinsonneault JK, Han DD, Burdick KE, Katagi M, Bertolino A, Malhotra AK, Gu HH, Sadee W. Dopamine transporter gene variant affecting expression in human brain is associated with bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2011;36(8):1644–1655

- Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, Huffaker SJ, Huang JT, Griffin JL, Wayland M, Freeman T, Dudbridge F, Lilley KS, Karp NA, Hester S, Tkachev D, Mimmack ML, Yolken RH, Webster MJ, Torrey EF, Bahn S. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol Psychiatry* 2004;9(7):684–687
- Quiroz JA, Gould TD, Manji HK. Molecular effects of lithium. *Mol Interv* 2004;4(5):259–272
- Rafael T, de Sousa & Emilio L, Streck & Marcus V, Zanetti & Gabriela K, Ferreira & Breno S, Diniz & Andre R, Brunoni & Geraldo F, Busatto & Wagner F. Lithium increases leukocyte mitochondrial complex I activity in bipolar disorder during depressive episodes. *Psychopharmacology* 2015; 232:245–250
- Rajkowska G. Cell pathology in mood disorders. *Semin Clin Neuropsychiatry* 2002;7(4):281–292
- Rao JS, Harry GJ, Rapoport SI, Kim HW. Increased excitotoxicity and neuroinflammatory markers in postmortem frontal cortex from bipolar disorder patients. *Mol Psychiatry* 2010;15:384-392
- Ravagnan L, Roumier T, Kroemer G. Mitochondria, the killer organelles and their weapons. *J Cell Physiol* 2002;192:131–137
- Rowe MK, Chuang DM. Lithium neuroprotection: molecular mechanisms and clinical implications. *Expert Rev Mol Med* 2004;6(21):1–18
- Rowe MK, Wiest C, Chuang DM. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31(6):920–931
- Sadock BJ, Sadock VA. *Comprehensive Textbook of Psychiatry. Volume 2, 7th Ed., Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins* 2000;1338–1377
- Sailer M. Lithium takes charge. *Industrial Minerals* 2000;37
- Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Vatansever E, Kirli S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative system. *Hum Psychopharmacol* 2007;22:67-73
- Sarkar S, Floto RA, Berger Z, Imarisio S, Cordenier A, Pasco M, Cook LJ, Rubinsztein DC. Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J Cell Biol* 2005;170(7):1101–1111
- Saygılı R, Bayraktar E. *Lityum Ansiklopedisi. 1.Baskı, İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1988;1-555*

- Savas HA, Gergerlioglu HS, Armutcu F, Herken H, Yilmaz HR, Kocoglu, 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
- Scaglia F. The role of mitochondrial dysfunction in psychiatric disease. *Dev Disabil Res Rev* 2010;16(2):136–143
- Scaini G, Rezin GT, Carvalho AF, Streck EL, Berk M, Quevedo J. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: Evidence, pathophysiology and translational implications. *Neurosci Biobehav Rev* DOI:10.1016/j.neubiorev
- Schapira AHV, Cooper JM, Dexter D, Jenner P, Clark JB, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet* 1989;1(8649):1269
- Schou M, Juel-Nielsen N, Strömgen E, Voldby H. The treatment of manic psychoses by the administration of lithium salts. *J Neur Lond* 1954;17(4):250-260
- Schubert T, Stoll L, Muller WE. Therapeutic contractions of lithium and carbamazepine inhibit cGMP accumulation in human lymphocytes. A clinical model for a possible common mechanism of action? *Psychopharmacology (Berl)* 1991;104(1):45–50
- Scola G, Kim HK, Young LT, Andreazza AC. A fresh look at complex I in microarray data: clues to understanding disease-specific mitochondrial alterations in bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2012;73(2):4-5
- Scola G, Kim HK, Young LT, Andreazza AC. A fresh look at complex I in microarray data: clues to understanding disease-specific mitochondrial alterations in bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2013;73:4–5
- Seo AY, Joseph AM, Dutta D, Hwang JC, Aris JP. New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J Cell Sci* 2010;123:2533–2542
- Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep* 2004;9(3):145-152
- Sequeira A, Rollins B, Magnan C, Van Oven M, Baldi P, Myers RM, Barchas JD, Schatzberg AF, Watson SJ, Akil H, Bunney WE, Vawter MP. Mitochondrial mutations in subjects with psychiatric disorders. *PLoS One* 10, DOI: 10.1371/journal.pone.0127280

- Shao L, Young LT, Wang JF. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biol Psychiatry* 2005;58:879–884
- Sherman WR, Gish BG, Honchar MP, Munsell LY. Effects of lithium on phosphoinositide metabolism in vivo. *Fed Proc* 1986;45(11):2639–2646
- Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S, Ramanujan VK, Wolf AJ, Vergnes L, Ojcius DM, Rentsendorj A, Vargas M, Guerrero C, Wang Y, Fitzgerald KA, Underhill DM, Town T, Arditi M. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity* 2012;36(3):401–414
- Shimizu M, Hirokawa M, Manabe T, Shimozuma K, Sonoo H, Harada T. Lithium associated autoimmune thyroiditis. *J Clin Pathol* 1997;50(2):172-174
- Shoffner JM. Maternal inheritance and the evaluation of oxidative phosphorylation diseases. *Lancet* 1996;348(9037):1283-1288
- Sigitova E, Fišar Z, Hroudová J, Cikánková T, Raboch J. *Psychiatry Clin Neurosci* DOI: 10.1111/pcn.12476
- Soderlund J, Olsson SK, Samuelsson M, Walther-Jallow L, Johansson C, Erhardt S, Landen M, Engberg G. Elevation of cerebrospinal fluid interleukin-1 β in bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2011;36:114-118
- Stambolic V, Ruel L, Woodgett JR. Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 activity and mimics wingless signalling in intact cells. *Curr Biol* 1996;6(12):1664–1668
- Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG, Franklin RA, Bertrand FE, McCubrey JA. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia* 2004;18(2):189–218
- Sun J, Trumpower BL. Superoxide anion generation by the cytochrome bc1 complex. *Arch Biochem Biophys* 2003;419(2):198-206
- Sun X, Wang JF, Tseng M, Young LT. Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2006;31:189–196
- Tan H, Young LT, Shao L, Che Y, Honer WG, Wang JF. Mood stabilizer lithium inhibits amphetamine-increased 4-hydroxynonenal-protein adducts in rat frontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012;15(9):1275-85

- Toker L, Bersudsky Y, Plaschkes I, Chalifa-Caspi V, Berry GT, Buccafusca R, Moechars D, Belmaker RH, Agam G. Inositol-related gene knockouts mimic lithium's effect on mitochondrial function. *Neuropsychopharmacology* 2014;39:319–328
- Tong H, Imahashi K, Steenbergen C, Murphy E. Phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 β during preconditioning through a phosphatidylinositol-3-kinase-dependent pathway is cardioprotective. *Circ Res* 2002;90(4):377–9
- Tritschler HJ, Packer L, Medori R. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neuro degeneration. *Biochem Mol Biol Int* 1994;34(1):169-181
- Turrens JF, Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J* 1980;191:421–427
- Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys* 1982;217:401–410
- Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003;552:335–344
- Uluşahin A. Koruyucu sağaltımda öngörücü değişikliklere sahip miyiz? *Psikiyatri Psikoloji Psikofarmakoloji Dergisi*, 2000;8(2):23-4
- Ünal M. Enerji dönüşümü yapan organeller. *Hücre Biyolojisi'nde*, 1. Baskı, İstanbul, Marmara Üniversitesi Yayınevi, 2012;205-224
- Valvassori SS, Rezin GT, Ferreira CL, Moretti M, Goncalves CL, Cardoso MR, Streck EL, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of mood stabilizers on mitochondrial respiratory chain activity in brain of rats treated with d-amphetamine. *J Psychiatr Res* 2010;44:903–909
- Valvezan AJ, Klein PS. GSK-3 and Wnt signaling in neurogenesis and bipolar disorder. *Front Mol Neurosci* 2012;30:5:1
- Vahip I. İki uçlu duygudurum bozukluğunda lityum sağaltımına uyum. *Türk Psikiyatri Dergisi* 1997;8(3):190
- Van den Heuvel L, Smeitink J. The oxidative phosphorylation (OXPHOS) system: nuclear genes and human genetic diseases. *Bioessays* 2001;23(6):518–525
- Vawter MP, Tomita H, Meng F, Bolstad B, Li J, Evans S, Choudary P, Atz M., Shao L, Neal C, Walsh DM, Burmeister M, Speed T, Myers R, Jones EG, Watson SJ, Akil H, Bunney WE. Mitochondrial-related gene expression changes are

- sensitive to agonial-pH state: implications for brain disorders. *Mol Psychiatry* 2006;11(615):663-679
- Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999;283(5407):1482–1488
- Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005;39:359–407
- Wang JF, Shao L, Sun X, Young LT. Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disord* 2009;11:523-529
- Williams RS, Cheng L, Mudge AW, Harwood AJ. A common mechanism of action for three mood stabilizing drugs. *Nature* 2002;417(6886):292–295
- Young W. Review of lithium effects on brain and blood. *Cell transplantation* 2009;18(9):951-75
- Yüksel N. *Psikofarmakoloji*, 1.Baskı, Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998:179
- Zhang Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature* 2010;464(7285):104–107

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Arzu KARAUSTAĞLU

Doğum Yeri : Zonguldak

Doğum Tarihi : 05/10/1988

Medeni Hali : Bekar

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) : Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi (2002 – 2006)
Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi–Kimya Bölümü
(2007 – 2012)

E-posta : arzukaraustaoglu@hotmail.com