



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU

**Samsun
Ekim – 2017**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU

**Danışman
Doç. Dr. Birşen Bilgici**

**Samsun
Ekim - 2017**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU tarafından Doç. Dr. Birşen BİLGİCİ Danışmanlığında hazırlanan Olanzapinin Beyin Dokusundaki Mitokondri Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-Sentaz Üzerine Etkisi başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20/10/2017 tarihinde yapılan sınav ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ramazan AMANVERMEZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Birşen BİLGİCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

ONAY

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

.... / /

Prof. Dr. AHMET UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle tezimin her aşamasında yanımda olan hoşgörü, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen yol gösteren, destek olan saygıdeğer ve kıymetli tez danışman hocam sayın Doç. Dr. Birşen Bilgici'ye sonsuz teşekkür ederim.

İlaveten, tez konusunun belirlenmesi aşamasından itibaren, tez bitirme aşamasına kadar bana deneyim ve becerisi ile destek olan değerli hocam Doç. Dr. Özgür Korhan Tunçel'e; çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarından dolayı Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ramazan Amanvermez'e ve Doç. Dr. Bahattin Avcı'ya teşekkür ederim.

Yüksek lisans boyunca beraber çalıştığımız değerli arkadaşım Arzu Karaustaoğlu'na ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına da teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca hep yanımda olan ve eksikliğini hissettirmeyen, onlarsız bir hayat düşünemediğim ve her zaman eğitimin önemini vurgulayan babam Prof. Dr. İsmail E. Gümrükçüoğlu'na, annem Uzm. Ecz. Hülya Gümrükçüoğlu'na, ablam Pelin Altun'a ve ağabeyim Özgür Altun'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu araştırma projesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından PYO.TIP.1901.15.016 proje numarasıyla desteklenmiştir.

ÖZET

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

Amaç: Olanzapin, atipik antipsikotik olarak adlandırılan tıbbi ilaç grubuna dahildir. Olanzapinin primer antimanik ve antipsikotik etkisi muhtemelen beynin özellikle mezolimbik yolağındaki dopamin D2 ve serotonin 5HT_{2A} reseptörlerinin bloke edilmesiyle düzenlenir. Bununla birlikte, bipolar bozukluk ve şizofrenili hastalarda, enerji metabolizması bozukluğu veya mitokondriyanın bozulması bozukluklarda sık görülmektedir. Olanzapinin beynin mitokondrial reseptöründe terapötik potansiyele sahip olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle, bu çalışma, olanzapinin mitokondriyal kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz üzerindeki etkilerini, sıçanların beyin sağ frontal korteks dokusunda incelemeyi amaçlamıştır.

Materyal ve Metot: Yaptığımız çalışmada, 30 adet erişkin wistar-albino rat kullanıldı. Deneysel olarak ratlar kontrol grubu ve olanzapin grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. 30 gün boyunca olanzapin ve salin solüsyonu intraperitoneal olarak uygulandı. Deney sonunda ratlar dekapate edildi. Beyin sağ prefrontal korteksleri SET buffer (250 mM sukroz, 2 mM EDTA, 10 mM tris-baz pH 7.4) içine alındı. Homojenizasyon işlemi biyokimya laboratuvarında yapıldı. Homojenatlar biyokimyasal analizler için alındı. Kitler kullanılarak mitokondri kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz aktivitesi ve aynı zamanda Lowry metodu kullanılarak protein miktarı ölçüldü.

Bulgular: İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, kontrol ve olanzapin grupları arasında kompleks 1, 2, 3, ve ATP-sentaz aktivitelerinde herhangi bir değişiklik görülmedi.

Sonuç: Sonuç olarak, olanzapin tedavisinin, sıçanların beyin dokularındaki elektron taşıma zincirinin kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz aktivitesinde herhangi bir değişime yol açmadığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Atipik antipsikotik; Elektron transport zinciri; Mitokondri; Olanzapin.

Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ekim-2017

ABSTRACT

THE EFFECT OF OLANZAPINE ON MITOCHONDRIA COMPLEXES 1, 2, 3 AND ATP-SYNTASE IN BRAIN TISSUE

Aim: Olanzapine belongs to the group of medicinal drugs called atypical antipsychotics. The primer antimanic and antipsychotic effect of olanzapine are likely regulated by the blockade of dopamine D2 and serotonin 5HT_{2A} receptors particularly in the mesolimbic pathway in the brain. In addition, a disturbance of energy metabolism or disfunction of mitochondria in patients with bipolar disorder and schizophrenia are observed frequently in these disorders. It is exactly unknown whether olanzapine may have therapeutic potential on mitochondrial respiration in the brain cells. For this reason, the present study aims at examining the effects of olanzapine on mitochondrial complex 1, 2, 3 and ATP-synthase in the brain right frontal cortex tissues of rats.

Material and Method: In our study, 30 adult wistar-albino rats were used. Experimentally, rats were divided into two groups: control and olanzapine groups. Olanzapine and isotonic saline solution were administered intraperitoneally for 30 days. At the end of the experiment, the rats were decapitated. Brain right prefrontal cortices were taken into SET buffer (250 mM sukroz, 2 mM EDTA, 10 mM tris-base pH 7.4). Homogenization was then carried out in biochemistry laboratory. Supernatant fraction from homogenate containing mitochondria parts were taken for biochemical analyzes. Mitochondria complex 1, 2, 3 and ATP-synthase were measured by using kits and protein amount was measured by using Lowry method.

Results: According to statistical analyse results, no statistical alteration was observed for studied parameters complexes 1, 2, 3 and ATP-synthase activities between the control and olanzapine groups.

Conclusion: The present results show that olanzapine treatment does not lead to any changes in complexes 1, 2, 3 and ATP-synthase activity of the electron transport chain in brain tissues of rats.

Keywords: Atypical antipsychotics, Electron transport chain; Mitochondria; Olanzapine.

Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, October-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

3D: Üç boyutlu

ADP: Adenozin difosfat

ATP: Adenozin trifosfat

Å: Ångström

BPRS: Brief Psychiatric Rating Scale-Kısa Psikiyatrik Değerlendirme Ölçeği

CuSO₄·5H₂O: Bakır(II) sülfat pentahidrat

D2: Dopamin reseptörü Tip 2

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı

DCPIP: Diklorofenolindofenol

EDTA: Etilendiamin tetra asetik asit

EPS: Ekstrapiramidal sendrom

ETZ: Elektron transport zinciri

FAD: Flavin adenin dinükleotit

FDA: U.S. Food and Drug Administration Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FMN: Flavinmononükleotit

ICD: International Classification of Diseases Uluslararası Hastalık Sınıflandırması

İmm: İç mitokondriyal membran

İM: İntramusküler

kDA: Kilodalton

KoQ: Koenzim Q

K1: Kompleks 1

K2: Kompleks 2

K3: Kompleks 3

K4: Kompleks 4

K5: ATP sentaz

mtDNA: Mitokondriyal genom

Na₂CO₃: Sodyum karbonat

Na-K: Sodyum-potasyum

NaOH: Sodyum hidroksit

SANS: Scale for the Assessment of Positive Symptoms-Pozitif Belirtileri
Değerlendirme Ölçeği

SAPS: Scale for the Assessment of Positive Symptoms-Pozitif Belirtileri
Değerlendirme Ölçeği



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mitokondri ve Oksidatif Fosforilasyon.....	2
2.1.1. Mitokondri	2
2.1.2. Oksidatif Fosforilasyon.....	3
2.1.3.NADH-koenzim Q redüktaz veya NADH dehidrogenaz (Kompleks I)	5
2.1.4. Süksinat-KoenzimQ Redüktaz (Kompleks II).....	7
2.1.5. Ubikinol-Sitokrom c Redüktaz veya bc1 Kompleks (Kompleks III)	8
2.1.6. Sitokrom Oksidaz (Kompleks IV)	10
2.1.7. ATP-Sentaz, ATPaz (Kompleks V).....	11
2.2. Antipsikotik İlaçlar	13
2.2.1. Antipsikotik İlaçların Tanımı ve Önemi	13
2.2.2. Antipsikotik İlaçların Sınıflandırılması	13
2.3. Tipik Antipsikotik İlaçlar.....	14
2.4. Atipik Antipsikotik İlaçlar	14
2.4.1. Atipik Antipsikotik İlaçların Etki Mekanizmaları ve Sınıflandırılması	15
2.5. Olanzapin	15
2.5.1. Olanzapinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	15
2.5.2. Olanzapinin Klinik Kullanımı	16
2.5.3. Olanzapinin Şizofreni Tedavisinde Kullanımı	16
2.5.4. Olanzapinin Günlük Kullanım Dozu	17
2.5.5. Olanzapinin Diğer İlaçlarla Etkileşimi	18
2.5.6. Olanzapinin Yan Etkileri	18
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Deney Hayvanları	19
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler.....	19

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	20
3.1.4. Kullanılan Kitler	20
3.2. Metot	21
3.2.1. Çalışma Popülasyonunun Özellikleri	21
3.2.2. Olanzapin Solüsyonunun Hazırlanması	21
3.2.3. Olanzapin Uygulaması	21
3.2.4. Deneyin Sonlandırılması ve Numune Alımı	22
3.3. Biyokimyasal Analizler	22
3.3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar	22
3.3.2. Doku Homojenizasyonu	23
3.3.3. NADH-koenzim Q redüktaz veya NADH dehidrogenaz (K 1)	24
3.3.4. Süksinat-KoenzimQ Redüktaz (K 2) Ölçümü	25
3.3.5. Ubikinol-Sitokrom c Redüktaz veya bc1 Kompleks (K 3)	26
3.3.6. ATP-Sentaz (Kompleks 5) Ölçümü.....	27
3.3.7. Protein Miktarı Tayini	28
3.4. Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz'ın Ölçüm Sonuçları.....	31
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	45

1. GİRİŞ

Olanzapin, bir klozapin türevi olarak ilk başta 1982 yılında üretilmiştir. O tarih itibariyle onaylanmış olan üçüncü atipik antipsikotik ilaç olarak tarihe geçmiştir. Olanzapin, şizofreni ve bipolar bozuklukta güçlü ve etkili olan atipik antipsikotik bir ilaçtır (Yüksel, 2003). Şizofreni hastalığının pozitif belirtilerinde olanzapin de haloperidol ile aynı etkiye ulaşırken, negatif belirtiler üzerinde ise etkileri daha da başarılıdır. Ekstrapiramidal belirtilere asla neden olmazlar. Olanzapin, şizofreni tedavisindeki seçilecek olan ilk ilaç durumundadır. Çünkü şizofreni tedavisi antipsikotik ilaç esastır. Fakat bilim insanları, psikofarmakolojik tedavilerle başka tedavilerin birlikte daha faydalı olduğunu düşünmektedirler (Evren, 1998).

Olanzapin, şizofrenide pozitif ve negatif semptomların ilk seçenek tedavisinde, relapsların tedavisinde, tipik antipsikotik ilaçlarla yan etki görülen hastaların yeniden stabilizasyonunda, relapsların önlenmesi için uzun dönem idame tedavisinde tercih edilir (Gülseren ve Erol, 2000).

Olanzapin, limbik bölgelerdeki A10 nöronlarındaki D2'yi bloke etmektedir. Ayrıca olanzapin serotonin (5-hidroksitriptamin veya 5-HT) 2A reseptörlerini de bloke etmektedir, bu yüzden olanzapinin bulunduğu atipik antipsikotik ilaçlara serotonin-dopamin antagonistler olarak da adlandırılabilir (Koroğlu ve Güleç, 2007). Olanzapinin terapötik etki ile reseptör etkisi ilişkileri şu şekilde açıklanabilir; mezolimbik yolda D2 reseptör blokajı ile pozitif semptomları azaltırlar, mezokardial yolda dopamin salınımının artışı ve 5HT-2A reseptör blokajı ile negatif semptomları azaltırlar. Diğer reseptörlere bağlanma özellikleri, şizofrenideki kognitif, agresif ve depresif semptomları tedavi etmedeki etkinliklerine katkıda bulunuyor olabilir (Gülseren ve Erol, 2000).

Şizofreni ve bipolar bozukluk ile mitokondri arasındaki ilişkinin, olanzapin etki mekanizmasının beyindeki elektron transport zinciri yüzeyine tesir ederek iyileştirici etkisini gösterebileceğini düşünmekteyiz. Bu yüzden, çalışmamızda alınan sağ prefrontal kortekste olanzapinin kompleks 1(K1), 2(K2), 3(K3), ve 5 (ATP-sentaz) üzerine ne tür bir etki yapacağı araştırılarak hedeflendi.

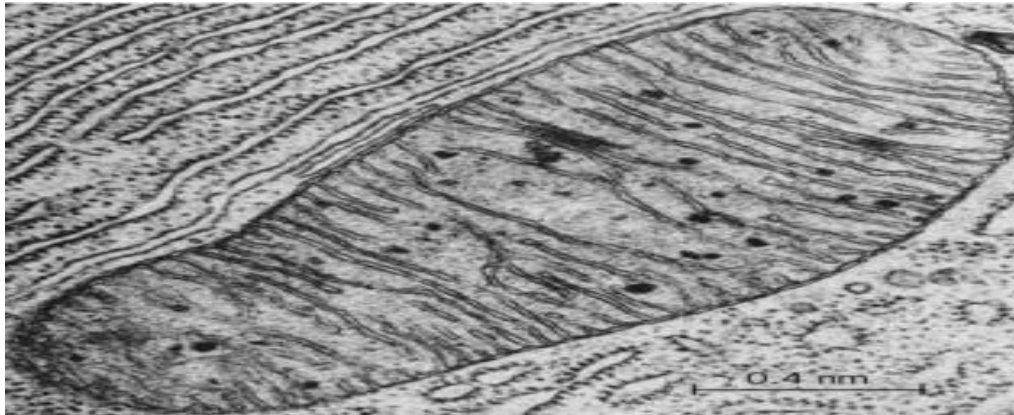
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mitokondri ve Oksidatif Fosforilasyon

2.1.1. Mitokondri

Mitokondri, bütün ökaryot hücrelerin sitoplazması içerisinde 0.5-1µm çapında çubuk şekilli ya da yuvarlak şekilli olarak bulunan organellerdir. İlk olarak 19. yüzyılın sonlarında keşfedildiklerinde, ışık mikroskobunda tanecikler (condria) ve filamentler (mitos) gibi göründükleri için Latince mitochondria ismini almışlardır. Mitokondri izolasyon teknikleri 1940'ların sonlarında geliştirilmiş olup, mitokondri organelinin 3D yapısı, ilk olarak 1950'li yıllarında elektron mikroskopisi kullanılarak gösterilmiştir (Palade, 1952; Sjostrand, 1953).

Mitokondri, iki ayrı membran sistemine sahiptir. Bunlar; dış membran ve iç membrandır. İç membran; geniş bir yapıya sahip olmakla birlikte, sıkı bir şekilde katlanmış ve üzerinde çıkıntı şeklinde bulunan "krista" olarak adlandırılan yapılar bulunmaktadır. Bu yapılar, ilk defa elektron tomografisi ve elektron mikroskopisi ile görüntülenmiş ve membrana paralel olarak düzenlenmiş kıvrımlar şeklindedirler. İki membran arasında kalan boşluğa membranlar arası boşluk ve iç membranın kapladığı yoğun sıvıya matriks denir. Dış membran fazlasıyla geçirgendir. Bu geçirgenlik porin denilen transmembran protein kanallar sayesinde olmaktadır. Dış membran 10 kDa'dan küçük molekülleri ve iyonları bu sayede geçirebilmektedir. İç membran ise sadece özellikli protein taşıyıcıları aracılığıyla ADP ve uzun zincirli yağ asitleri gibi moleküllere karşı geçirgendir.



Şekil 1. Mitokondrinin Elektron Mikroskop Görüntüsü (Electronic resources [online]. Available from:<http://encyclopedia2.thefreedictionary.com/Mitochondria>. [Accessed February, 2016])

Mitokondri iç membranı, oksidatif fosforilasyon ile ilgili enzimleri bulundurduğundan dolayı, mitokondriler “hücrelerin enerji ocakları” olarak betimlenirler. Kristaların sayısı ve morfolojisi hücrenin enerji gereksinimine göre düzenlenmektedir. Sıkı bir şekilde katlanmış ve geniş bir yapıya sahip olan krista lamelleri kas ve nöronlarda da geniş bir yüzeyi de doldurabilmektedirler (Scheffler, 1999). Elektron mikroskop analizlerinde, mitokondri iç membranı ve dış membranın temas ettiği “benekli bölgeler” olduğu tayin edilmiştir. Son yapılan çalışmalara göre bu bölgeler, proteinlerin transportunda önemli görev alabileceği düşünülmektedir (Perkins ve ark., 1997).

Matriks içerisinde, sitrik asit döngüsü ve yağ asidi oksidasyonu ile ilgili reaksiyonların çoğu gerçekleşir. Bunun yanı sıra, mitokondriyal genom (mtDNA), mitokondriyal ribozomlar ve mitokondriyal gen ekspresyonu ile ilgili gerekli enzimler matriks içerisinde yer almaktadır.

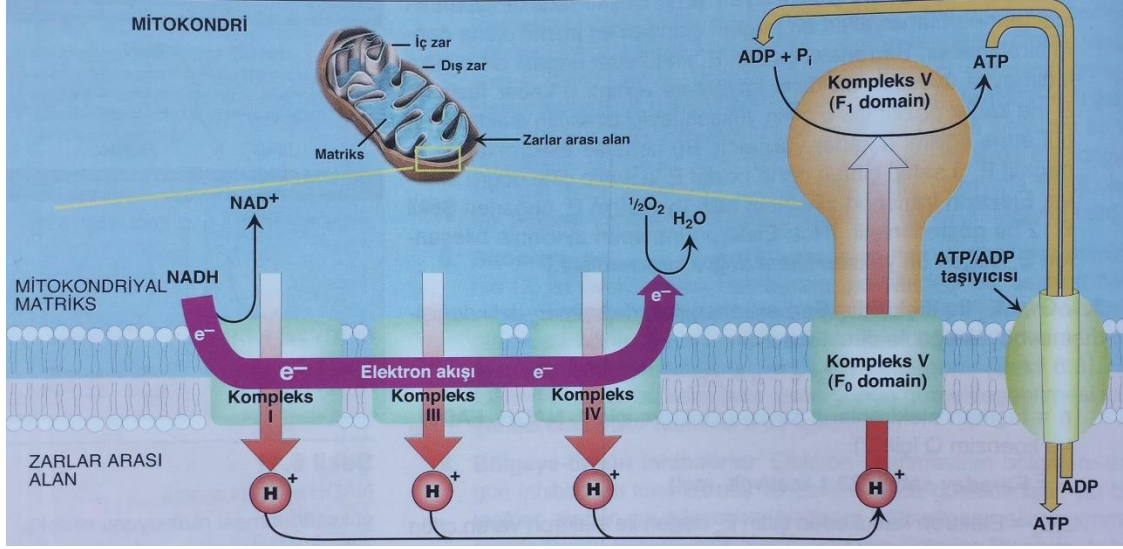
Mitokondrilerin hücrelerde dağılımlarının gelişigüzel olmadığı ve enerji ihtiyaçlarını en kısa zamanda karşılayabilecek şekilde pozisyonlarını aldıkları kabul edilmektedir. Bununla birlikte mitokondriler dinamik organellerdir ve yalnızca hücredeki pozisyonları değil, aynı zamanda fizyon ve füzyon reaksiyonları ile şekilleri, büyüklükleri ve sayıları değişebilmektedir (Scheffler, 1999).

2.1.2. Oksidatif Fosforilasyon

Oksidatif fosforilasyon, aerobik organizmalar için mitokondri iç membranında gerçekleşen bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda ATP üretilen, hücrenin temel enerji kaynağıdır. Elektronların NADH veya FADH₂' den koparılarak oksijene iletilmesi anında gerçekleşen bir dizi reaksiyon sonucunda ATP üretilir.

Glikoliz, yağ asidi oksidasyonu ve sitrik asit döngüsünde üretilen NADH ve FADH₂ yüksek transfer enerjisi içeren bir çift elektron taşıdıklarından ötürü, yüksek enerjili moleküllerdir. Bu moleküller, elektronlarını moleküler oksijene verdiklerinde ATP üretiminde kullanılacak olan serbest enerji açığa çıkar. NADH'nin oksidasyonundan 2.5 ATP, FADH₂'nin oksidasyonundan ise 1.5 ATP enerji üretimi gerçekleşir (Nelson ve Cox, 2008).

Elektronlar, NADH veya FAD-bağlı dehidrogenazlardan oksijene KoQ ve sitokrom c denilen iki mobil taşıyıcılar aracılığıyla iletilir.



Şekil 2. Elektron transport zinciri protonların taşınmasıyla eşleştirilmiş olarak gösterilmiştir (Harvey ve, Ferrier, 2014)

NADH'nin iki elektronu solunum zincirine kompleks I, NADH-koenzim Q redüktaz (NADH dehidrogenaz) vasıtasıyla girer. Prostetik grup olan flavin mononükleotit (FMN), elektronların kompleks I'deki ilk alıcılarıdır. Elektronları alarak FMNH₂'ye indirgenirler. Ubikinon molekülü (UQ) olarak da adlandırılan Koenzim Q, ilk elektronu alır almaz semikinon ara ürününe indirgenir. Semikinonun bir elektron alıp indirgenmesiyle ubikinol (QH₂) oluşur. Ubikinol, ubikinonun indirgenmiş formudur.

Ubikinol (QH₂), elektronlarını kompleks III'e aktarır. Kompleks III, bir hem grubu içeren suda çözünür bir proteindir. Hem grubu, demir atomu indirgenmiş Fe²⁺ ile okside olmuş Fe³⁺ formu arasında elektron transportu boyunca değişir. Dördüncü olarak elektronlar kompleks IV'e iletilir ve son elektron alıcısı olan bu kompleks moleküler oksijenin suya indirgenmesini katalizler.

Elektron transportu anında kullanılabilir enerji şekli ATP sentezlenmesi için kemiosmotik hipotez olarak adlandırılan bir çiftleşme gerçekleşir (Mitchell, 1961). Elektronlar kompleks I, kompleks III ve kompleks IV tarafından protonlar membranlar arası alana salınırlar. Membranlar arası alanda proton konsantrasyonunun artması nedeniyle elektrokimyasal gradient oluşur. Protonların geri akışı solunum zincirinin son elemanı olan kompleks V aracılığıyla gerçekleştirilirken, gradient enerjisi ATP enerjisine dönüştürülür.

Elektronların eşleşerek iç mitokondriyal membran boyunca bir proton gradienti oluşmasına neden olması elektron transportunun en önemli noktasıdır. Membranlar

arası gradient ayrıca seçilmiş metabolitlerin iç membran boyunca geçişi için de kullanılır.

Elektronların, elektron transport zinciri boyunca taşınması enerjetik açıdan tercih edilir, çünkü NADH güçlü bir elektron vericisi, moleküler oksijen ise doymaz bir elektron alıcısıdır. Bununla beraber elektronları NADH'dan oksijene iletilmesi direkt ATP sentezi ile sonuçlanmaz.

Kemiosmotik hipotez, elektronların, elektron transport zinciri ile taşınması sonucu üretilen serbest enerjinin ADP+P_i' den ATP oluşumunda nasıl kullanıldığını açıklar.

Elektron taşınmasında, ADP fosforilasyonu, protonların (H⁺) matriksten kompleks 1, 3, ve 4 üzerinden iç mitokondriyel membranı geçerek, membranlar arası bölgeye aktarılmasıyla (pompalanması) eşleştirilmiştir. Mitokondri iç zarı süresince ortaya çıkan bu yöntem, elektriksel bir gradiyent (membranın dış bölümünde iç yüzeyinden daha fazla pozitif yük bulunacak şekilde) ve bir pH gradiyenti (membranın dışının pH'sı içine oranla daha düşüktür) yaratır. Bu proton gradiyentinin ürettiği enerji ATP sentezi sağlamak için yeterlidir. Böylece, proton gradiyenti oksidasyonu fosforilasyona eşleştiren ortak araç olarak görev yapar.

2.1.3. NADH-koenzim Q redüktaz veya NADH dehidrogenaz (Kompleks I)

Kompleks I; solunum zincirinin en karmaşık ve aynı zamanda en az anlaşılan çoklu-alt birimli enzim kompleksidir (Brandt,1997; Galkin ve ark., 1999).

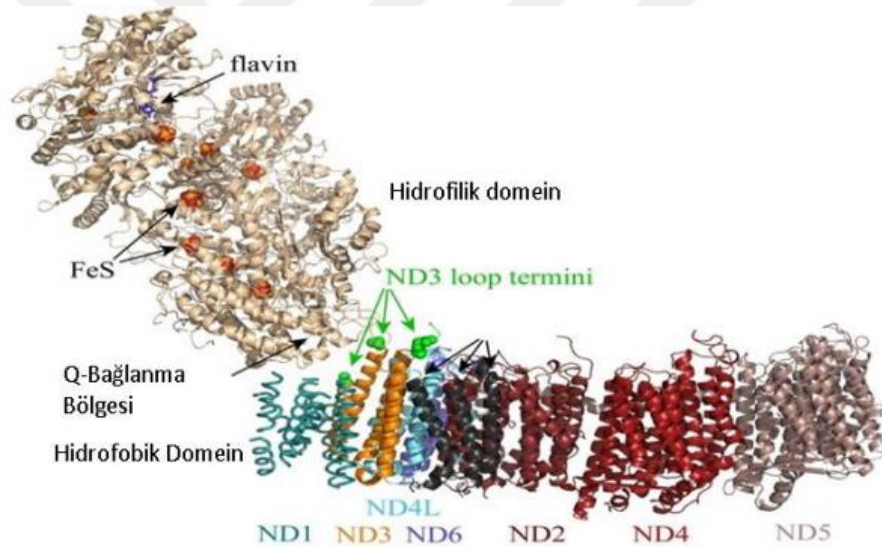
Memeli kompleks I enzimi, en az 43 farklı alt birimden oluşur (Walker ve ark., 1995). Kompleks I, EPR spektroskopisine göre bir FMN prostetik grubu ve 6-8 arası Fe-S merkezi içermektedir (Ohnishi, 1998; Friedrich ve ark., 2000). Kompleks I, mtDNA tarafından kodlanmış olan 7 hidrofobik alt birim ve 34 nükleer DNA kökenli alt birim içermektedir (Walker, 1992; Arizmendi ve ark., 1992). Kompleks I'in ölçülmüş moleküler kütlesi 900 kDa'dan daha da büyüktür.

Kompleks I, uzun kolu iç mitokondriyal membrana gömülü halde, kısa kolu matrikse doğru uzanmış olarak bulunan "L" harfi şekline benzeyen bir yapıya sahiptir. Membran domeininin moleküler kütlesi 370 kDa, matriks domeininin moleküler kütlesi ise 520 kDa'dır. Membran domeini ile matriks domeini arasındaki daralan boğaz şekline benzeyen yapıya "stalk" adı verilir.

Kısa kol, FMN kofaktörü ve en az 4 Fe-S merkezi bulundururken fonksiyonel olarak NADH dehidrogenaz enzimi gibi çalışır. NADH substratının enzime bağlanma bölgesi, enzimin matrikse bakan alt bölgesinde yer almaktadır.

Stalk, matriks tarafındaki NADH bağlanma bölgesi ile membran domeinindeki ubikinon; bağlanma bölgesi olarak adlandırılan bölge arasındaki adeta bağlantı bölgesi oluşturmasıyla elektron transportunun bir parçası olmaktadır. 30 Å çapındaki stalk, mitokondrial matriks içerisindeki diğer elektron alıcılarının elektronları yakalamasını önlemekle birlikte elektron transportunun izole olması için yeterli alan sağlamaktadır.

Uzun kol, mitokondriyal iç membrana batmış halde ve ubikinon hidrogenaz şeklinde görev yapar. Kompleks I'in uzun kolu, mtDNA tarafından kodlanan ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 ve ND6 olarak adlandırılan yedi hidrofobik alt birim içermektedir (Sazanov ve ark., 2000).



Şekil 3. Kompleks I ve Alt Birimleri (Robert 2012, 23)

Kompleks I'in çok fazla Q-bağlanma bölgesi içerdiği ve NADH oksidasyonu süresince en az 3 değişik ubisemikinon türü ile bağlantı içerisinde olduğu bilinmektedir (Vinogradov ve ark., 1995; Ohnishi ve ark., 1998). Ubikinon indirgenmesinin kompleks I'in hidrofobik kolunda ve hidrofobik – hidrofilik domeinlerin ara yüzünde gerçekleştiği düşünülmektedir (Yano ve ark., 2000). Kompleks I, periferal kısım ve membran kısım olmak üzere çift taraflı bir yapıya sahiptir. Periferal kısmı; suda çözünür ve prostetik grup içerir. Membran tarafı; elektron transportu ve proton pompalanması üzerinde bir kontrol çerçevesi oluşturur ve bununla

birlikte kinon için bağlanma bölgesi içerir. Bu konuyla ilgili farklı teoriler mevcut olmasına rağmen, Brandt'ın "redoks kapılı ligand iletim mekanizması modeli" diğerleri arasında öne çıkmaktadır (Brandt, 1997).

Kompleks I'in en fazla kullanılan inhibitörü rotenondur. Rotenon, demir kükürt merkezlerinden ubikinona elektron iletilmesini engellemektedir (Doull ve ark., 2010).

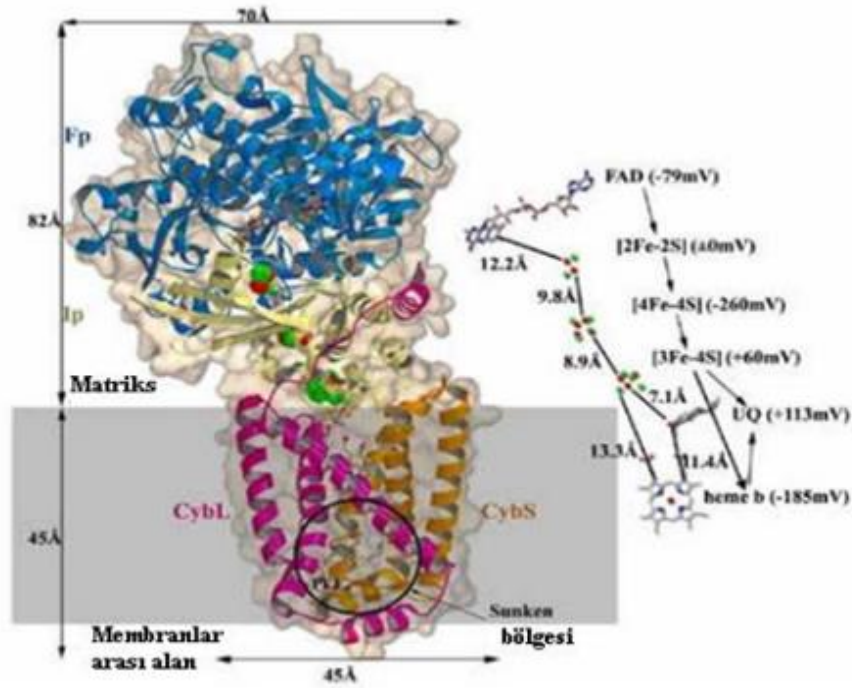
2.1.4. Süksinat-KoenzimQ Redüktaz (Kompleks II)

Kompleks II'de, süksinatın fumarata oksidasyonu esnasında elektronlar bu kompleks tarafından ubikinona iletilir. Kompleks II, krebs çevrimi aracılığıyla solunum zincirini direkt birbirine bağlamaktadır.

Kompleks II, solunum zincirinin en basit kompleksidir. Çünkü, sadece 4 peptitten oluşmaktadır. İki geniş peptit, kompleksin periferal kısmını oluştururken, krebs çevriminde süksinat dehidrogenaz aktivitesi gösterir. Bu peptitler, "çapa protein" denilen iki integral protein aracılığıyla membrana tutunurlar. Kofaktörler ve metal iyonları, kompleks II'nin diğer elemanlarıdır. Bir FAD, Fp alt biriminde 70 kDa'luk en büyük peptide kovalent bağlanır (Johnson ve ark., 1985).

Fe-S merkezinden çıkmış olan elektronlar, b-tip sitokrom ve ubikinon bağlanma bölgesi içeren 2 adet çapa proteininden oluşmuş olan membran alt birimine aktarılır. Hem b-tipi sitokrom hem de ubikinon çapa proteinlerine tutunmuş olarak bulunurlar (Scheffler, 1999).

FADH₂'den koenzim Q'ya elektron transfer etmekte görevli kompleks II ve diğer enzimler proton pompası değildir. Çünkü serbest enerji değişimleri çok az olmaktadır. Sonuç olarak; FADH₂'nin oksidasyonundaki ATP eldesi, NADH oksidasyonuna göre daha azdır.

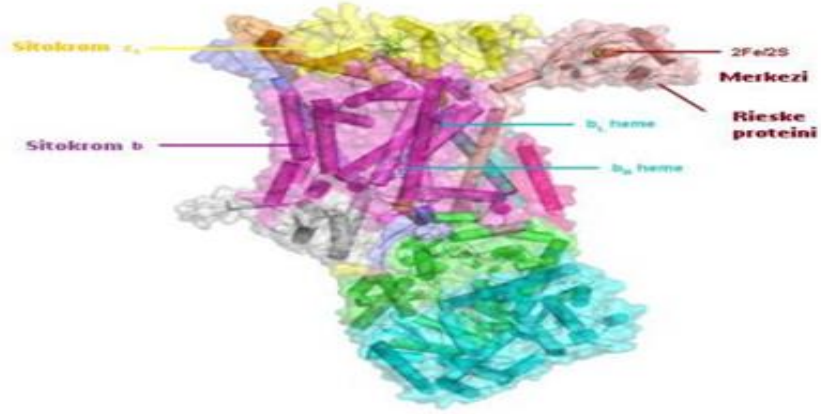


Şekil 4. Kompleks II (Sun ve ark., 2005)

2.1.5. Ubikinol-Sitokrom c Redüktaz veya bc1 Kompleks (Kompleks III)

Kompleks III'ün, fonksiyonu, ubikinolden sitokrom c'ye elektron transferini katalizlemek ve bununla birlikte membranlar arası boşluğa proton pompalamaktır. Bu kompleks, sitokrom b ve c1 olarak adlandırılan iki çeşit sitokrom ve "Rieske protein" denilen Fe-S proteini içermektedir.

Kompleks III, kristalizasyon çalışmalarında; mitokondriyal membrana dikey olarak bulunmakla birlikte, her 13 tanesinin 8 tanesi sitokrom b'ye ait olan transmembran monomerlerinden oluşur. Kompleks III, çekirdek proteinlerinden meydana gelmektedir ve bu isim proteinlerin fonksiyonlarından daha çok yapısal durumları için söylenmiştir. Membranın dış tarafında Rieske protein, Fe-S merkezi ve sitokrom c1 bulunmaktadır (Şekil 5). Kompleks III'ün boşluklu ve cepli yapısı, ubikinon ve antimycin A (AA), myxothiazol gibi inhibitörler için bağlanma bölgesi içermektedir.



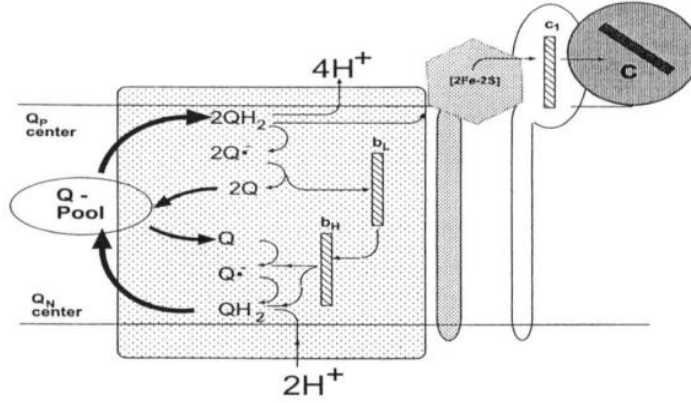
Şekil 5. Kompleks III'ün Yapısı (Electronic resources [online]. Available from:http://en.wikipedia.org/wiki/File:Cytochrome_bc1_complex.png[Accessed February 2016].)

İlk olarak Mitchell tarafından önerilmiş olan ubikinolün oksidasyonu için “Q-siklusu” mekanizması daha sonraları Trumpower tarafından genişletilmiştir (Mitchell, 1975; Trumpower, 1990).

İlk başta ubikinol iki elektronundan birini Fe-S kümesine aktarır. Sonra bu elektron öncelikle sitokrom c1 ve elektronu kompleksten dışarı çıkaracak olan sitokrom c'ye iletilir. Bu bir elektronun transferi, ubikinol'ü semikinon formuna dönüştürür. İki spesifik sitokrom b'nin hem formları olan sitokrom b_L ve b_H, semikinon ile reaksiyona girer. Semikinon elektronunu sitokrom b_L'ye transfer ederken, sitokrom b_H indirgenir. İkinci semikinon molekülü ise ubikinole indirgenir (Şekil 6). Bu olay, iki elektron taşıyıcısı ubikinol'ün bir elektron taşıyıcısı Fe-S kümesi ile reaksiyona girmesini sağlar.

Bu çevrimde kompleks III, ubikinon için 2 reaksiyon merkezine sahiptir. Bunlar; Q_N, diğer bir adıyla kinon indirgenme merkezi olarak adlandırılır. İç mitokondriyal membranın (imm) matriks tarafında yer alır. İmm elektronların kinon havuzundan döngüsel olarak yarılanmasından ve matriksten protonların alınmasından sorumludur. Bu reaksiyon AA, funiculosin ve hydroquinoline-N-oxides inhibitörleri ile inhibe edilmektedir. Q_P merkezi elektronları iki yolak ile kabul edilir. Bunlardan ilki geri dönüşüm için yarım döngü şeklinde olmakla birlikte, ikincisi ise demir-kükürt merkezi ve sitokrom c1-sitokrom c dönüşümü için yarı transfer yoludur. Q_P merkezi, imm'nin dış yüzünde ve protonların membranlar arası boşluğa salındığı yerdedir. Q_P, 2-

hydroxy-1,4-benzoquinone türevleri, musidin, stigmatellins, MOA-stilbene, myxothiazol gibi çeşitli maddeler aracılığıyla inhibe edilebilir.



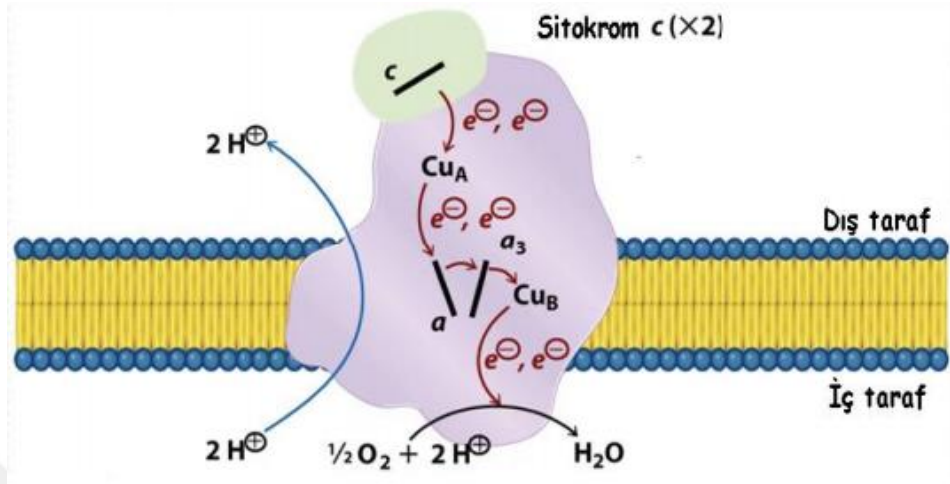
Şekil 6. Q-siklus ve Kompleks III'ten Elektron Akışının Şematik Gösterimi (Scheffler IE (1999))

2.1.6. Sitokrom Oksidaz (Kompleks IV)

Kompleks IV, solunum zincirinin ilk belirlenen kompleksidir (Iwata ve ark., 1995). 13 alt birimden oluşan memeli kompleks IV'ü, hem grubu; a ve a₃ ve iki bakır merkezi; Cu_A ve Cu_B içermektedir (Yoshikawa ve ark., 1998). Alt birim I; hem a ve hem a₃ prostetik gruplarını bağlar ve ayrıca Cu_B redoks merkezini oluşturmaktadır. Alt birim II, Cu_A merkezini bağlar. Alt birim III'ün proton pompalanması ve metal merkezleri aracılığıyla elektron transportunun modülasyonu olayları ile birlikte yakından ilgili olduğu düşünülmektedir ve bundan dolayı alt birim I-III'ün, enzimin fonksiyonel çekirdeğini meydana getirdiği düşünülmektedir. Diğer alt birimlerin ise enzim kompleksinin düzenleyici fonksiyonları ya da montajı ile ilgili olabileceği varsayılmaktadır.

İlk başta sitokrom c elektronlarını hem a'ya verir. Daha sonra elektronlar sırasıyla hem a₃-Cu_B merkezine iletilir ve bu arada bir reaksiyon sonucunda O₂, iki molekül suya indirgenir. O₂, termodinamik olarak reaktiftir, ancak kinetik olarak stabil durumdadır. Bundan dolayı, suyun indirgenmesi reaksiyonu sırasında bir katalizöre ihtiyaç duyulur. O₂, aktive duruma geldiğinde tehlikeli hale gelir. Bunun nedeni oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu süperoksit radikali (O₂⁻) oluşabilmesidir. Güvenli bir O₂ indirgenmesi olabilmesi için katalizörün kısmi indirgeyiciler salgılamaması gerekmektedir. Kompleks IV, aslında hem a₃-Cu_B merkezleri arasında demir ve bakır iyonlarını bağlar. Bu yolla, elektron ve proton hızlı bir şekilde kısmi

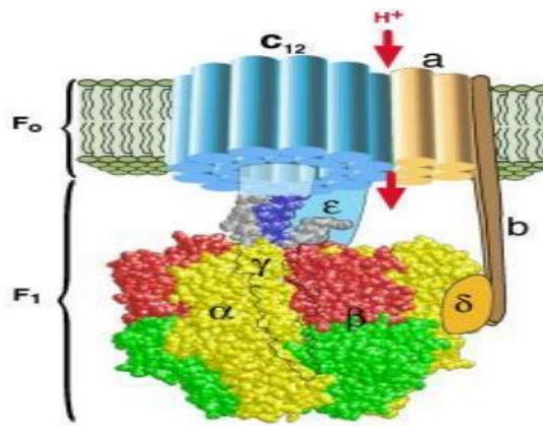
olarak indirgenmiş oksijen türlerine, daha onlar salınmadan aktarılmış olur. Bu yolla ilgili olası mekanizma Şekil 7’ de özetlenmiştir.



Şekil 7. Kompleks IV’ün Yapısı ve O₂’nin Suya İndirgenmesi (Horton ve ark.,2006)

2.1.7. ATP-Sentaz, ATPaz (Kompleks V)

Kompleks V, solunum zincirinde fiziksel olarak diğer komplekslerden ayrılabilen ve proton gradient sayesinde ATP’nin sentezlenmesini sağlayabilen bir enzim kompleksidir. ATP sentaz, moleküler ağırlığı 550 kDa olan ve 16 proteinden oluşan çoklu alt birimli bir enzim kompleksidir (Buchanan ve Walker, 1996). F₀ ve F₁ diye adlandırılan iki ana domeinden oluşur. F₁ domeini; ADP ve inorganik fosfattan ATP sentezler. F₀ domeini; imm’ye batmış bir şekilde bulunur ve bir proton kanalı içerir (Şekil 8).



Şekil 8. Kompleks V (Wang ve Oster (1998)

F₀ domeini, 9 farklı protein içermektedir. Bunlardan 3 tanesi a, b ve c diye adlandırılırken, aynı zamanda proton-translokasyonunu sağlayan hidrofobik çekirdeği de oluşturmaktadırlar. Alt birim a, çoklu transmembran bölgeleri şeklindedir ve bu F₁ kısmının bağlanmasıyla alakalı değildir. Alt birim b, bir dimer olarak kabul edilebilir ve F₀ 'ın dış kısmında yer alır. Alt birim c ise çoklu kopyalar içerir; tek bir a alt birimi ve membrana proton akışı için bir kanal oluşturan 9-12 c alt birimi içerir.

F₁ domeininin yapısı, ilk olarak 1994 yılında 2.8 Å çözünürlükle ortaya konulmuştur (Abrahams ve ark., 1994). α ve β alt birimleri $\alpha_3\beta_3$ hegzamerini oluştururlar. β altbirimi hariç diğerleri homolog halindedirler. β alt birimi katalitik bölge içermesiyle diğer alt birimlerden farklıdır. $\alpha_3\beta_3$ hegzameri, γ ve ϵ a alt birimleri içeren bir sap kısmıyla hidrofobik F₀ kısmına bağlıdır. Özellikle, “stator-rotor modeline” göre c, γ ve ϵ alt birimleri, merkezi bir “rotor” oluştururlar. Daha sonra bu rotor, $\alpha_3\beta_3$ hegzameri ve γ ve ϵ a alt birimlerinden oluşan “stator” adı verilen çark yapısı içerisinde döner (Elston ve ark., 1998).

ATPaz'ın F₁ domeininin dönme hareketi, γ alt birimine bağlı floresans aktin filamenti ile çalışan spektaküler deneyler ile direkt olarak incelenmiştir. ATP varlığında filament saat yönünün tersi yönde dönmektedir (Noji ve ark., 1997). Bu moleküler motor içerisinde proton akışı, a ve c alt birimleri arasında bir dönme momenti oluşturur. Bu dönme momenti, γ - ϵ sapları sayesinde F₁'e transfer edilir ve bu da ATP'nin salınması için kullanılır.

Bu modelde; 3 katalitik β alt birimleri doğal olarak tipiktir aynı zamanda fonksiyonel olarak eşdeğer değildirler. Herhangi bir enerji girişi olmadığında β alt birimlerinin bir katalitik tarafı, 3. tarafı boş iken, ADP ve Pi tarafından işgal edilirler ve ikinci tarafı bir ATP tarafından tutulur.

Proton akışı vasıtasıyla enerji girişi, rotasyona neden olmaktadır ve bundan dolayı konformasyonel değişiklikler meydana gelir. Böylece ATP bir taraftan salınırken ADP + Pi diğer tarafta tutulur, bunun sonucunda yeni substratlar enzime giriş yapabilmektedir. β alt biriminin bu 3 konformasyonel durumu: “open” (O), “loose” (L) and “tight” (T) olarak ifade edilir. Mekanizma kısaca; proton gradientinin direkt olarak ATP sentezlenmesi şeklinde değil de onun enzimden salınması şekline dayanmaktadır. Oligomycin, ATPaz için en yaygın olarak kullanılan inhibitördür.

ATP sentaz enzim kompleksi (kompleks 5) elektron transport zinciri tarafından yaratılmış olan proton gradiyentinin enerjisini kullanarak ATP sentezler. Kemiosmotik hipotez, protonların mitokondri iç zarının sitozolik tarafına transfer edildikten sonra kompleks 5'in membranı aşan bölümündeki kanaldan geçerek (F_0) tekrar matrikse geri döndüğünü; F_0 yapısının dönüş yapmasını, aynı zamanda da pH farkını ve elektriksel farkı ortadan kaldırdığını ifade eder. F_0 yapısının dönüş yapması ekstramembranöz F_1 bölgesinin konformasyonel değişikliğe uğrayarak $ADP+P_i'$ yi bağlayıp ADP 'yi ATP 'ye fosforilleyerek ATP açığa çıkmasına neden olur.

2.2. Antipsikotik İlaçlar

2.2.1. Antipsikotik İlaçların Tanımı ve Önemi

Psikiyatri; ruhsal kaynaklı sorunlarımıza karşı baş etmede tıbbi bir kurum ve bilim disiplini olarak tanımlanmaktadır (Koroğlu ve ark., 2007). Antipsikotikler, başta şizofreni olmak üzere psikiyatride büyük bir öneme sahiptir. Antipsikotikler ayrıca psikozların tedavisinde de kullanılan ilaçlardır.

Psikoz, duygusal yanıtları, düşünme yetisini, iletişim kurma, anımsama, gerçeği değerlendirme, yorumlama ve uygun davranmayı önemli ölçüde bozmakta olan, normal yaşamın gerekliliklerini yerine getirmeyi engelleyen klinik durumları tanımlar.

Aktif dönemde psikotik olgular, işte, okulda, evde ve günlük uğraşılarda kendilerinden beklenen sorumlulukları yerine getiremezler ve bundan dolayı verimlilikleri azalır (Yüksel, 2003).

Her ilaçta olduğu gibi antipsikotik ilaçların da özellikle etkin oldukları hedef semptomlar vardır. Bunlar; ajitasyon, saldırganlık, düşmanlık, varsanılar, akut sanrılar, uykusuzluk, anoreksi, öz bakımın kötü olması, negativizm, bazen geri çekilme ve yalnızlığı içermektedir (Brunton ve ark., 2009). İlk olarak 1950'li yılların başlarında klorpromazinin keşfedilmesinden sonra ortaya çıkan antipsikotik ilaçlar, psikotik hastalıkların tedavisinde devrim niteliğindedir.

2.2.2. Antipsikotik İlaçların Sınıflandırılması

Antipsikotik ilaçlara diğer bir adı da nöroleptik ilaçlardır. Nöroleptik sözcüğü, Yunanca neuron ve lepsi kelimesinin birleşiminden meydana gelmiştir (Ceylan ve Çetin, 2009).

Aynı zamanda nörolojik yan etkilere sebep olduklarından dolayı nöroleptik sözcüğü kullanılmıştır (Yüksel, 2003). Ancak 1990'lı yılların sonlarından itibaren giderek daha sık kullanılmaya başlanmasıyla, bu ilaçları kullanmakta olan hastaların nöroleptiklere has semptom gözlenmeye başlayınca nöroleptik ifadesi kullanımı bırakılarak, onun yerine antipsikotik terimi kullanılmıştır (Ceylan ve Çetin, 2009).

1950'li yıllarda klorpromazinin keşfiyle başlayan antipsikotik ilaçlara eski nesil, konvansiyonel, birinci kuşak veya tipik antipsikotikler, 1960 yılında klozapinin keşfiyle başlayan antipsikotik ilaçlara ise yeni nesil, ikinci kuşak veya atipik antipsikotik ilaçlar denilmiştir.

2.3. Tipik Antipsikotik İlaçlar

1950 yılında ilk olarak sentezlenen tipik antipsikotik ilaç bir antihistaminik olan klorpromazindir. 1952 yılında ise Delay ve Deniker tarafından ilk kez bir antipsikotik olarak kullanılmıştır. Klorpromazinin olumlu etkilerinin görülmesi sonucunda klinik kullanımının hızlı bir şekilde artması araştırmacıların akıl hastalıklarına bakış açısını değiştirmiş ve bunun üzerine yeni araştırmaları haliyle hızlandırmıştır (Yüksel, 2003).

1959 yılında Jassen tarafından haloperidolün bulmasıyla yeni bir adıma gelinmiş ve ardından birçok antipsikotik ilaç sentezlenmiştir (Yazıcı ve Yazıcı, 2001).

Tipik antipsikotik ilaçlar pek çok psikiyatrik bozukluğun tedavisinde kullanılırlar. Antipsikotik ilaçların kullanıldığı psikiyatrik bozukluklar; şizofreni ve şizoaffektif bozukluğun akut psikotik atağında, şizofreni form bozuklukta, kısa psikotik bozuklukta, manik atak tedavisinde, psikotik özellikli majör depresyonda, sanrılı bozuklukta, Borderline kişilik bozukluğunda, madde kullanımına bağlı psikotik bozuklukta, deliryum ve demans tedavisinde, dürtü denetimi bozukluğunda, tik bozukluğu ve Tourette sendromu olarak sıralanırlar (Yüksel, 2003).

2.4. Atipik Antipsikotik İlaçlar

Klozapinin 1960 yılında tedaviye girmesinin ardından atipik antipsikotik kavramı gelişmeye başlamıştır. Fakat 1974 yılında Finlandiya'da gerçekleşen klozapin ilacının en tehlikeli yan etkisi agranülositoz (kandaki akyuvar sayısının azalması) sonucu 8 hastanın ölmesi sonucunda bir anda atipik antipsikotik ilaçlar ikinci plana itilmiş ve tipik antipsikotikler bir süre daha kullanılmaya devam etmişlerdir. Ancak,

1980 yılının ortalarından itibaren klozapin tekrar kullanılmaya başlanmıştır. Çünkü, tedaviye dirençli olgularda yaşanan çaresizlik ve tipik antipsikotik ilaçların oluşturduğu çok sayıda yan etki buna neden olmuştur.

Daha sonra yeni antipsikotikler üzerinde araştırmalar yapılmaya ve 1990 yıllı başlarında klinik ortamda giderek daha fazla kullanılmaya başlanmış ve bu ilaçları kullanmakta olan hastalarda artık nöroleptiklere has semptomlar gözlenemez duruma gelince nöroleptik terimi kullanımı bırakılarak, onun yerine antipsikotik terimi kullanılmıştır. (Yüksel, 2003).

2.4.1. Atipik Antipsikotik İlaçların Etki Mekanizmaları ve Sınıflandırılması

Atipik antipsikotik ilaçlar, kimyasal yapı olarak benzerliğine göre çok sayıda reseptörlerle etkileşime girenler ve kimyasal yapı olarak 5HT₂ reseptörleri için baskın bir seçiciliğe sahip olan ilaçlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Çok sayıda reseptörlerle etkileşime girenler, daha doğrusu klozapine benzeyen ilaçlara örnek olarak; olanzapin, zetopin, ketiapin gösterilir.

Kimyasal yapı olarak 5HT₂ reseptörleri için baskın bir seçiciliğe sahip olan ilaçlara yani klozapine benzemeyen ilaçlara örnek olarak; risperidon, ziprasidon, sertindol, amisulpirid verilebilir (Yüksel, 2003; Ceylan ve Çetin, 2009).

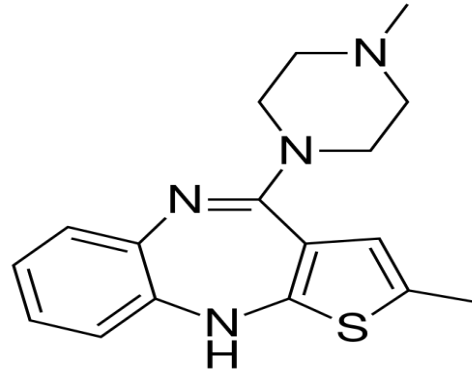
Atipik antipsikotik ilaçları; klozapin, olanzapin, sülpirid, amisülpirid, risperidon, melperon, ziprasidon, ketiyapin, zotepin, loksapin, ritanserin, sertindol, remoksiprid, rakloprid, amperozid, savoksepin ve aripiprazol olarak sıralayabiliriz (Yüksel, 2003 ve Köroğlu ve ark., 2007).

2.5. Olanzapin

2.5.1. Olanzapinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Olanzapinin kaba formülü C₁₇H₂₀N₄S şeklindedir. Olanzapinin molekül ağırlığı 312.439 g/mol olmakla birlikte, IUPAC adı ise 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno(2.3-b)(1.5) benzodiazepin'dir.

Suda çözünmez fakat metanol ve etanol de çözünür. Erime noktası 195 °C dir.



Şekil 9. Olanzapinin kimyasal yapısı

2.5.2. Olanzapinin Klinik Kullanımı

Olanzapin, bir klozapin türevi olarak ilk başta 1982 yılında üretilmiştir. O tarih itibariyle Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmış olan üçüncü atipik antipsikotik ilaç olarak tarihe geçmiştir. Olanzapin, şizofreni ve bipolar bozuklukta etkili olan atipik antipsikotik bir ilaçtır. Ayrıca demans hastalığında ortaya çıkan psikotik belirtilerin giderilmesinde, otizm hastalığında Tourette sendromununun tedavisinde ve anoreksiya nevroza hastalarına kilo alımı sağlanması için etkili olduğu belirtilmiş olan atipik antipsikotik bir atipik antipsikotik ilaçtır (Yüksel, 2003).

2.5.3. Olanzapinin Şizofreni Tedavisinde Kullanımı

Şizofreni kelime anlamı olarak; Yunanca iki kelimenin birleşiminden oluşmaktadır. Bunlar, "şizo" ayırık ya da bölünmüş ve "frenos" akıl kavramına gelmekte olan bu iki kelimenin birleşiminden oluşur. Duyuş, düşünüş ve aynı zamanda davranışlardaki mühim bozuklukların farkına varıldığı, hasta olan kişinin sosyal ilişkilerden, sosyallikten ve hakikatlerden kendini uzaklaştırarak hayatı kendi kendine ya da kendi kabuğunda yaşamakta olan, bu olayların çoğunlukla ergenlik çağıyla birlikte başlayabilen bir psikişik hastalık olarak tanımlanır (Koroğlu ve ark., 2007).

Başka bir tanıma göre de şizofreni; hastanın rutin algılama, idrak etme ve yorumlama biçimlerine yabancılık çekerek, hastanın kendisine has bir içine kapanıklık dünyasına çekildiği psikişik hastalıktır. Bireyi, kendi etrafı ve ortamıyla mühim bir uyum içerisinde olamama ve arbede yaşayabilmesine kadar sürükleyebilen bir bozukluktur şizofreni. Şizofreni, epey büyük bir yelpaze dahilinde yer bulan psikişik **semptom** içermesinden dolayı psikiyatri biliminin dikkat çeken konu başlıklarından biridir ve önemini hala korumaktadır (Yüksel, 2003).

Şizofreni hastalığı, her yerde görülebilen bir ruhsal bozukluktur. Şizofrenide görülen belirtileri pozitif ve negatif şeklinde olmak üzere iki alt gruba ayıran yaklaşım yavaş yavaş yaygın bir şekilde kabul görmeye başlamaktadır. Sözü edilen belirti gruplarını tanımlamaya yardımcı çok sayıda değerlendirme ölçeği geliştirilmiştir. İçlerinde en yaygın olarak kullanılan olan Andreasen tarafından geliştirilen ölçekler; Scale for the Assessment of Negatif Symptoms-Negatif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği ve Scale for the Assessment of Positive Symptoms-Pozitif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği'dir. Hastalara şizofreni tanısı koymaya yardımcı olan oldukça değişik tanımlama ve tanı ölçütü türetilmiştir.

Klinik uygulamada günümüzde yaygın bir biçimde kullanılan International Classification of Diseases Uluslararası Hastalık Sınıflandırması (ICD) ve Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı (DSM) şizofreni için önerilen tanı ölçütlerindedir (Yüksel, 2003).

Antipsikotik ilaçların 1950 yılının başlarında tedavi edilmeye başlanmasıyla birlikte şizofreni tedavileri büsbütün değişmeye başlamıştır. Şizofreni hastalığının pozitif belirtilerinde antipsikotik ilaçlar da haloperidol ile aynı etkiye ulaşırken, negatif belirtiler üzerinde ise etkileri daha da başarılıdır. Ekstrapramidal belirtilere neden olmazlar. Antipsikotik ilaçlar, şizofreniyle tedavideki seçilecek olan ilk ilaçlar durumundadır. Çünkü şizofreni tedavisi antipsikotik ilaç esastır. Fakat bilim insanları, psikofarmakolojik tedavilerle başka tedavilerin birlikte daha faydalı olduğunu düşünmektedirler.

2.5.4. Olanzapinin Günlük Kullanım Dozu

Olanzapinin kullanım dozu 10-30 mg/gün'dür. Kullanım şekilleri olarak tablet, ampül ve ağızda hızlı bir şekilde eriyen tablet formlarında bulunmaktadır (Köroğlu, 2007). Olanzapinin günde 1 kez alınabilmesi ve bunun yemekten önce veya sonra alınmasına bakılmaması nedeniyle kullanım rahatlığı sağlamaktadır (Nemeroff, 1997).

Genel olarak yapılan klinik çalışmalar 10-20 mg/gün olanzapinin tedavi edici doz olduğunu belirtmiştir. Günlük 15 mg olanzapin dozunun, şizofreninin negatif bulgularında günlük 10 mg doza göre daha etkili olduğu şeklinde bir eğilim vardır (Evren, 1997; Nemeroff, 1997).

Olanzapinin yaşlılar, kadınlar ve sigara kullanmayan hastalarda başlangıç dozu olarak günlük 5-10 mg civarında olmalıdır. Karaciğer hastalığı olan kişiler kullanırken dikkat etmelidir. Uykuya neden olmaktadır (Nemeroff, 1997). Olanzapinin 300 mg'ı aşan dozlarında herhangi bir şekilde tıbbi problem oluşturmadığı yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Fulton ve Goa, 1997; Weiden, 1997).

2.5.5. Olanzapinin Diğer İlaçlarla Etkileşimi

Olanzapinin; karbamazepin ve fluvoksamin ile birlikte kullanıldığında klirensi azalır. Aktif kömür ile birlikte biyoyararlanım azalır, klomipramin ile kullanıldığında nöbet bildirilmiştir. Haloperidol ile kullanıldığında haloperidol düzeyinde artış gözlenirken, lityum ile birlikte kullanıldığında ise herhangi bir etkileşme gösterilmemesine rağmen antipsikotik ilaçlarla olası etkileşmeler olanzapin içinde geçerli olmaktadır ve nörotoksisite açısından dikkatli olunması gereklilik gösterir (Yüksel, 2003).

2.5.6. Olanzapinin Yan Etkileri

Olanzapinin sık görülmekte olan yan etkileri; geçici sedasyon, ortostatik hipotansiyon, buna bağlı metabolik bozukluklar, ağız kuruluğu, kabızlık, diyabettir. Olanzapin kullanımı sırasında hastalarda yapılan bir çalışmada ilk yıl kilo artışı gözlenmiştir (Yüksel, 2003; Köroğlu ve ark., 2007).

Bir yıldan sonra kilo artışı yavaşlamıştır ve hızlı kilo artışı gözlenmez. Kilo artışı tedavi uyumunu olumsuz etkiler. Çünkü hastaların çoğunluğu için en rahatsız edici yan etkidir. Bunun için diyet uygulanmalı veya topiramet benzeri ilaçlarının kullanımıyla kilo artışı engellenmeye çalışılması gerekmektedir. Aşırı kilo bazı hastalıklara neden olduğu bilinmektedir. Tip 2 diyabet, hiperlipidemi, koroner kalp hastalığı, yüksek tansiyon, inme, solunum bozuklukları, safra kesesi hastalıkları, uyku apnesi, osteoartrit ve bazı kanser türlerinin riskini artırır. Olanzapin kullanan hastalarda hiperglisemi olma riskinin yaklaşık 5 kat arttığı yapılan deneylerde gösterilmiştir. Bundan dolayı diyabet öyküsü ya da diyabet riski olan hastaların olanzapin tercih etmemesi daha uygundur (Köroğlu ve ark., 2007).

3.MATERYAL ve METOT

3.1.Materyal

3.1.1.Deney Hayvanları

Çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DEHAM) yaşları 3-5 ay arasında değişen, 200-250 gram ağırlığındaki 30 adet erkek Wistar-Albino cinsi ratlar üzerinde gerçekleştirildi.

3.1.2.Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Spektrometre (SHIMADZU, UV-160 A)

Otomatik Pipet (Eppendorf, Research plus)

Otomatik Pipet (Trasferpette)

Otomatik pipet (Pipet4u Performance)

Hassas terazi (CHYO JL-180)

Manyetik karıştırıcı (IKAMAG RH Janke ve Kunkel)

pH metre (METTLER TOLEDO MP 220)

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

Vorteks (Mindaus, VM3)

Sıvı azot tankı (International Cryogenics, Inc. IC 20D Storage Dewor)

Sonikasyon (METU electromechanical, Serial No: 30607, Germany)

Santrifüj (MSE CENTAUR 2)

Santrifüj (Sigma 3K30)

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

Su banyosu (KÖTTERMANN S.N: 584440, ECRI: BAD14429001)



Şekil 10. SHIMADZU, UV-160A

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sodyum Karbonat	(Na_2CO_3 , MA: 84,01 g/mol, Art:6223, Merck)
Bakırsülfat.5 hidrat	($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, MA: 249,68 g/mol, Art:2787, Merck)
Potasyum sodyum tartarat	($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$, MA: 282,23 g/mol, Art:8085, Merck)
Folin reagent	(2 Normal, F-9252, Lot:013K3692, Sigma)
Sodyum Hidroksit	(NaOH , MA: 40 gr/mol, B639062 016, Merck)
Albumin	(%99'luk, A9647, Sigma: CAS number:9048-46-8)
Trizma Base	(Merck: CAS Number:77-86-1)

3.1.4. Kullanılan Kitler

Complex I Activity Assay Kit	(Cayman	CHEMICAL	Batch:
0485111)			
Complex II Activity Assay Kit	(Cayman	CHEMICAL	Batch:
0485112)			
Complex II/III Activity Assay Kit	(Cayman	CHEMICAL	Batch:
0485113)			
Complex V Activity Kit	(Cayman	CHEMICAL	Batch:
0485114)			

3.2. Metot

3.2.1. Çalışma Popülasyonunun Özellikleri

Çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, DEHAM'da yaşları 3-5 ay arasında değişen, 200-250 gram ağırlığındaki cinsleri Wistar-Albino olan, 30 adet erkek rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar standart kafeslerde, odun talaşı zeminde ve standart rat yemi ve su sistemi ile beslenecek şekilde deney ortamına yerleştirildi. Ratlara 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamını sağlayacak şekilde aydınlatma sağlandı ve ortam ısısı $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'ye sabitlendi.

Ratlar adaptasyon sürecinden sonra kontrol grubunda 10 adet ve olanzapin grubunda 20 adet olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol ve olanzapin uygulanan grup olarak belirlendi. Kontrol grubuna izotonik salin solüsyonu uygulandı, olanzapin grubuna ise hazırlanmış olan olanzapin 30 gün boyunca her sabah saat 10:00'da uygulandı. Olanzapin uygulanacak gruptaki hayvanlara, distile su içinde çözülerek hazırlanan olanzapin solüsyonu, rat başına 0,5 ml olacak şekilde intraperitoneal yolu ile verildi. Çalışma 30 gün boyunca sürdü.

3.2.2. Olanzapin Solüsyonunun Hazırlanması

Olanzapin solüsyonu her rat için 2 mg/kg olacak şekilde hazırlandı. Olanzapin toz haline getirildi. Her sabah saat 10:00'da her rat için 0,5 ml olacak şekilde intra peritoneal yoluyla verildi.

3.2.3. Olanzapin Uygulanması

Bu çalışma OMÜ, DEHAM'da yetiştirilen wistar albino ratlar üzerinde gerçekleştirildi. Kontrol ve Olanzapin grubu olmak üzere iki grup halde ayrılan ratlar beşerli kafesler halinde kendi aralarında standart kafeslerde, odun talaşı zeminde ve standart rat yemi ve su sistemi ile beslenecek şekilde deney ortamına yerleştirildi. Ratlara 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamını sağlayacak şekilde aydınlatma sağlandı ve ortam ısısı $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'ye sabitlendi.

Kontrol grubuna izotonik, olanzapin grubuna ise hazırlanmış olan olanzapin solüsyonu 30 gün boyunca her sabah saat 10:00'da uygulandı. Olanzapin uygulanacak gruptaki hayvanlara, distile su içinde çözülerek hazırlanan olanzapin solüsyonu, rat başına 0,5 ml olacak şekilde intraperitoneal yolu ile verildi. Çalışma 30 gün boyunca sürdü.



Şekil 11. İntraperitoneal olanzapin uygulanması

3.2.4. Deneyin Sonlandırılması ve Numune Alımı

- Ratlar 30 gün boyunca takip edildi ve 30. günün sonunda çalışma sonlandırıldı. Her iki gruptaki ratlar ameliyattan 12 saat önce aç bırakıldı.
- Anestezi için tüm ratlara, 0,5 cc ketamin periton içine uygulandı.
- Alınan beyin dokuları sıvı nitrojen ile dondurularak manuel olarak ezildi. Eppendorf tüplerinde bulunan, önceden hazırlanmış 1 ml PBS tamponu (pH7.4, 10 mM) içine konularak tamamen homojenize olana kadar 1-2 dk sonikasyon yapıldı.
- Serum, plazma ve dokular çalışma gününe kadar -80°C'ye kaldırıldı.
- Çalışma günü, -80°C'de saklanan numuneler, çözülene kadar oda ısısında bekletildi, santrifüj edildi ve yeterli miktarda süpernatant çalışma eppendorflarına ayrıldı.
- Doku örnekleri mitokondri izolasyonu yapıldıktan sonra kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz düzeyleri ölçüldü.
- Doku örneklerinin protein miktarı Lowry metodu ile tespit edildi. Sonuçlar mg protein başına verildi.

3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. Deney Ortamının Hazırlanışı ve Uygulanması

Üniversitemizin B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04-24 numaralı etik kurul izni alındıktan sonra “Olanzapinin Beyin Dokusunda Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-Sentaz Üzerine Etkisi” isimli tez çalışmamı yerine getirebilmek için DEHAM'dan her birinin

ağırlığı 200-250 gram civarında, cinsleri Wistar-Albino olan, 30 adet erkek rat tedarik edildi. Temin edilen bu ratlar hayvan deneyi için kullanıldı.

Ratların habitatları ticari yollardan oluşturulan rat pelletleri (Bil-Yem Co, Ankara, Turkey) ve yine ratlara distile edilmiş su sayesinde ratların kendi istedikleri gibi beslenebilecekleri bir yaşam ortamı aynı biçimde hazırlandı. Çalışma ortamının aydınlatılması 12 saat gündüz ve gece olacak şekilde hazırlandı. Deney ortamı ısı 22±1 °C olacak şekilde ayarlandı. Hayvan deneyi başlangıcında ve hayvan deneyi sonunda ratlar tartıldı.

Deneye katılacak ratlar gruplandırıldı. Ratlar, kontrol grubu (1. Grup) ve Olanzapin uygulanacak grup (2. Grup) olmak üzere ikiye ayrıldı; 1. Grup, n=10 ve 2. Grup, n=20. 1. Gruba, 0,5 ml intraperitoneal olarak izotonik salin solüsyonu verildi. 2. Gruba, salin solüsyonu içerisinde çözülmüş bir halde 0,5 ml olanzapin (2mg/kg) intraperitoneal yoldan uygulandı. Bu işlemler 30 gün boyunca sabah 09-11 saatleri diliminde 1. Grup ve 2. Grup ratlara uygulandı. Ratlar deney bitiminden önceki gece aç bırakıldı ve sadece su verildi.

Deney sonunda ratlara 09-11 saatleri diliminde, 5cc ketamin HCl (50mg/ml) ile anestezi uygulandı. Salin ile reperfüzyonun ardından bütün ratlar dekapite edildi. Beyin dokusundaki sağ prefrontal korteks biyokimyasal analizler yapılmak üzere alındı. Dokular çalışma günü biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 °C'de (NUAIRE Ultra-Low Freezer Model No: Nu-6420E) muhafaza edildi.

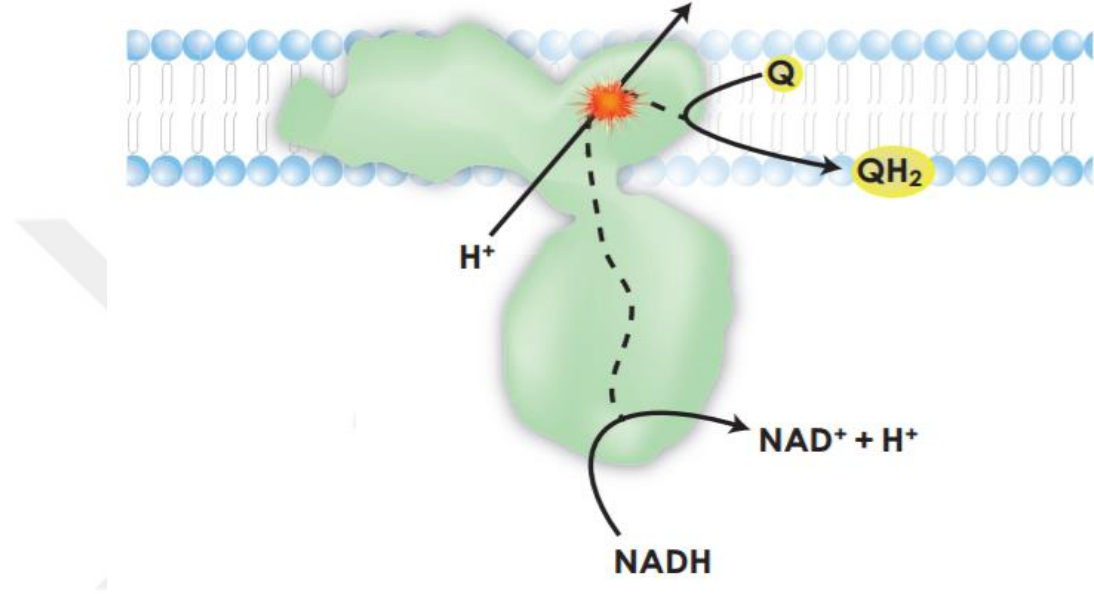
3.3.2. Doku Homojenizasyonu

Ratlar sakrifiye edildiğinde alınan sağ prefrontal korteks doku numunesi, likid nitrojen kullanılarak homojenizasyon yapıldı ve ardından SET buffer (250 mM sukroz, 2 mM EDTA, 10 mM tris-baz pH 7.4) içine konularak -80 °C'de muhafaza edildi. Homojenatlar, çalışma günü geldiğinde +4 °C'de ve 220 V'da 10-15 dakika boyunca sonikasyon (METU electromechanical, Serial No. 30607, Germany) gerçekleştirildi. Santrifüj işlemi, 3000 G ve +4 °C'de 5 dakika boyunca (Jouan C4i Cat no: 11177560) gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizlerin yapılması için süpernatant kısım alındı.

3.3.3. NADH-koenzim Q redüktaz veya NADH dehidrogenaz(Kompleks 1)

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

Test ilkesi: 340 nm absorbandsda, NADH oksidasyon hızında bir azalma olarak ölçülür. Gerçekleşen bu azalma NADH dehidrogenaz' ın aktivitesi ile orantılıdır.



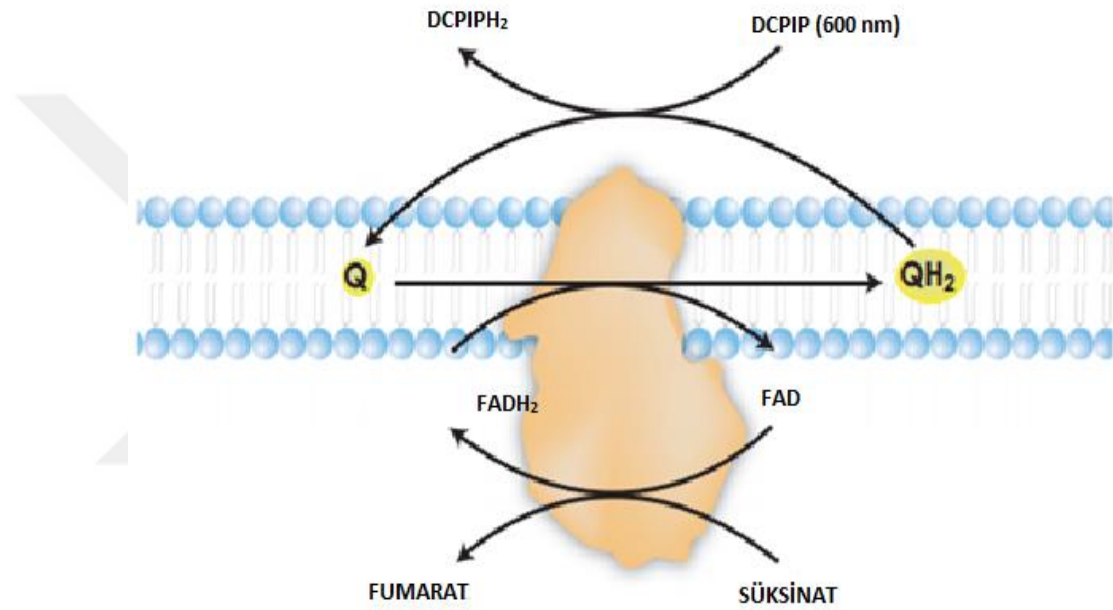
Şekil 12. Test kitine göre Kompleks 1 tarafından katalizlenen reaksiyon(Cayman CHEMICAL Batch: 0485111)

Test yöntemine göre, 2 tüp hazırlandı. Tüp 1'in içine sırasıyla 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 ilave edildi. Tüp 2'in içine sırasıyla 3,125 µl complex-1 activity assay buffer, 150 µl NADH assay reagent, 100 µl ubiquinone assay reagent ilave edildi. Kuyucukların her birine sırasıya 50 µl tüp 1 karışımı, 20 µl homojenat süpernatant (1.Grup ve 2. Grup), 30 µl tüp 2 karışımı konuldu. Ölçümler, 340 nm ve 25 °C'de bir UV spektrometrede (SHIMADZU, UV-160A) her 30 saniyede bir 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. Ölçümler kaydedildi. Yapılan ölçüm, dakikada gerçekleşen absorbands değişimi $\Delta A/dk$ olacak şekilde hesaplandı.

3.3.4. Süksinat-KoenzimQ Redüktaz (Kompleks 2) Ölçümü:

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

Test ilkesi: Süksinat Kompleks 2 tarafından okside edilir, elektronlar bir ubikinon analoguna, daha sonradan oksitlendiğinde 340 nm'de absorbe olan diklorofenolindofenol (DCPIP)'e aktarılır. İndirgenen DCPIP'in absorpsansı azalır. 600 nm'de absorpsanstaki bu azalma Kompleks 2'nin aktivitesi olarak ölçülür.



Şekil 13. Kompleks 2 aktivite test kitindeki katalizlenen reaksiyon (Cayman CHEMICAL Batch: 0485112)

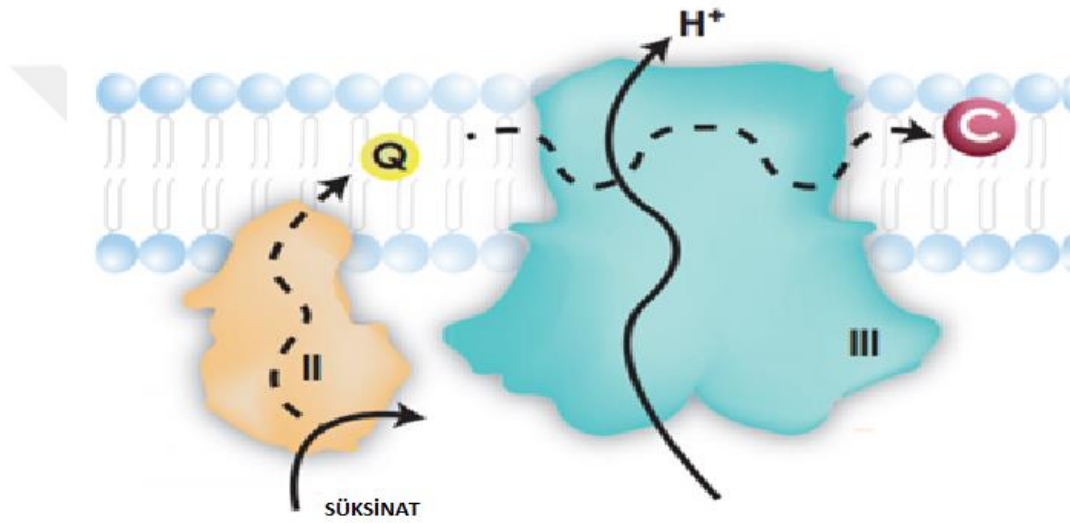
Test yöntemine göre, Tüp 1 ve Tüp 2 olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp 1' in içine sırasıyla 4,780 µl complex-2 activity assay buffer, 100 µl bovine heart mitochondria assay buffer, 10 µl; 1 mM rotenone, 100 µl; 100 mM KCN, 10 µl; 10 Mm antimycin A ilave edildi. Tüp 2' in içine sırasıyla 2,435 µl complex-2 activity assay buffer, 40 µl succinate assay reagent, 100 µl ubiquinone assay reagent, 800 µl DCPIP assay reagent ilave edildi. Kuyucukların her birine sırasıyla 50 µl tüp 1 karışımı, 20 µl ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve olanzapin grubu), 30 ml tüp 2 karışımı kondu. Ölçümler, 600 nm ve 25 °C' de UV spektrometrede her 30 saniyede bir 15

dakika boyunca gerçekleştirildi. Ölçümler kaydedildi. Yapılan ölçüm, dakikada gerçekleşen absorbands değişimi $\Delta A/dk$ olacak şekilde hesaplandı.

3.3.5. Ubikinol-Sitokrom c Redüktaz veya bc1 Kompleks (Kompleks 3)

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

Test ilkesi: Bu kit kompleks 3 aracılığıyla katalize olan sitokrom c' nin indirgenmesinin ölçüm metoduna dayanır. Bu ölçümün doğruluğu için, QH2 oluşumu için gerekli olan süksinat-koenzim Q redüktaz (kompleks 2) eşleştirilmiştir.



Şekil 14. Kompleks 2/3 aktivite test kitindeki reaksiyon (Cayman CHEMICAL Batch: 485113)

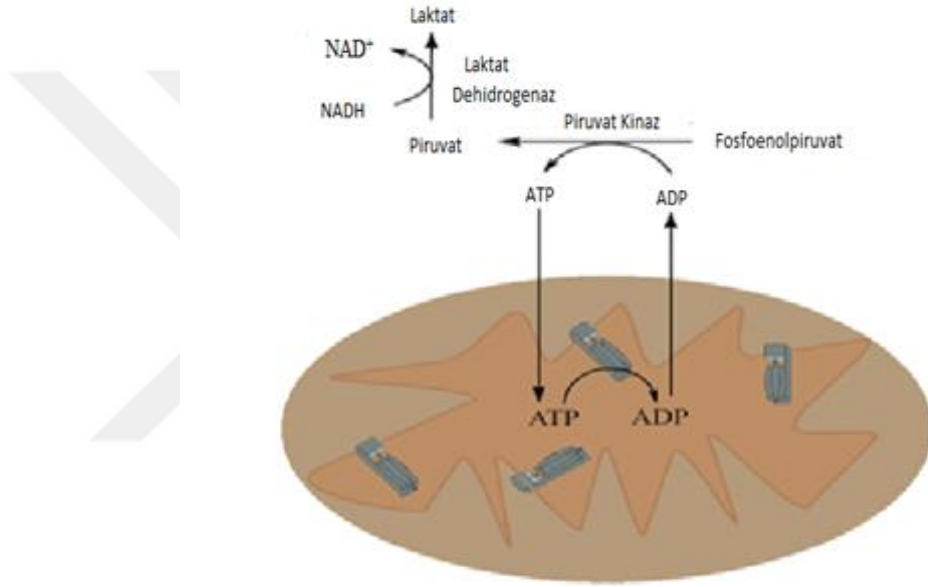
Test yöntemine göre, Tüp 1 ve Tüp 2 olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp 1'in içine sırasıyla 4,790 μ l complex-2/3 activity assay buffer, 100 μ l bovine heart mitochondria assay buffer, 10 μ l; 1 mM rotenone, 100 μ l; 100 mM KCN ilave edildi.

Tüp 2'in içine sırasıyla 3,035 μ l complex-2/3 activity assay buffer, 40 μ l succinate assay reagent, 300 μ l cytochrome c assay reagent ilave edildi. Kuyucukların her birine 50 μ l tüp 1 karışımı, 20 μ l ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve olanzapin grubu), 30 μ l tüp 2 karışımı konuldu. Ölçümler, 550 nm ve 25 °C'de UV spektrometrede her 30 saniyede bir 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. Ölçümler kaydedildi. Yapılan ölçüm, dakikada gerçekleşen absorbands değişimi $\Delta A/dk$ olacak şekilde hesaplandı.

3.3.6. ATP-Sentaz (Kompleks 5) Ölçümü

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

Test ilkesi: Teste başlamadan önce mitokondri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu test, ATP-sentaz ile ATP'yi ADP'ye dönüştürür. ADP daha sonra pürivat kinaz tarafından kullanılırken, pürivat kinaz fosfoenol pürivat'ın pürivat'a dönüştürülmesinde görev alır ve bu duruma ATP üretimi eşlik eder. Laktat dehidrogenaz ve NADH varlığında pürivat laktat'a, NADH ise NAD⁺'ya indirgenir. NADH oksidasyon hızı, 340 nm'de gözlemlenebilir.



Şekil 15. ATP-sentaz aktivite testindeki reaksiyon (Cayman CHEMICAL Batch: 0485114)

Mitokondri İzolasyonu:

Mitokondri izolasyonu, Mitochondria Isolation Kit for Tissue Abcam (ab110169/MS851) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mitokondri izolasyonu için homojenatlar +4 °C'de 1.000 g'de 10 dakika santrifüj uygulandı. Süpernatantlar alınarak, pelletler atıldı. Süpernatantlar yeni tüplere aktarıldı ve bütün tüplere 500 µl izolasyon buffer ilave edildi. Tüpler +4 °C' de 12.000 g'de 15 dakika santrifüj uygulandı ve süpernatantlar atılıp, pelletler alındı. Bütün pelletlere 250 µl izolasyon buffer eklendi ve +4 °C'de 12.000 g'de 15 dakika santrifüj işlemi uygulanmaya devam edildi. Santrifüj işlemi sonrası pelletler alındı ve tekrar 4 °C' de 12.000'g de 15 dakika boyunca santrifüj

uygulandı. Süpernatantlar uzaklaştırılıp, pelletler alındı ve üzerlerine 250 µl izolasyon buffer eklendi.

ATP-Sentaz ölçüm kiti yöntemine göre, Tüp 1 ve Tüp 2 olmak üzere 2 tüp hazırlandı. Tüp 1'in içine sırasıyla 4,890 µl ATP-Sentaz activity assay buffer, 100 µl bovine heart mitochondria assay buffer, 10 µl; 1 mM rotenone ilave edildi. Tüp 2'in içine sırasıyla 3,175 µl ATP-Sentaz activity assay buffer, 100 µl complex-V ATP reagent, 100 ml ATP-Sentaz NADH reagent ilave edildi. Kuyuculukların her birine 50 µl tüp 1 karışımı, 20 µl ratlardan alınan örnekler (kontrol grubu ve olanzapin grubu), 30 ml tüp 2 karışımı ilave edildi. Ölçümler, 340 nm ve 25 °C'de her 30 saniyede bir 15 dakika boyunca gerçekleştirildi. Yapılan ölçüm, dakikada gerçekleşen absorbans değişimi $\Delta A/dk$ olacak şekilde hesaplandı.

3.3.7. Protein Miktarı Tayini

Çalışmamızda protein miktarı tayini, Lowry ve arkadaşlarının metodu kullanılarak yapıldı. Bütün protein miktar tayin yöntemleri, proteini oluşturan aminoasitler arasındaki peptit bağlarının kopması ilkesine dayanmaktadır.

Aminoasitler arasındaki bulunan peptit bağlarının kopmasında kullanılan kimyasal maddelerin özellikleri, metodlar arasındaki farklılıkları oluşturmaktadır. Lowry ve arkadaşları protein miktarı ölçümünü biüret yöntemine dayandırmıştır.

Deneyin mantığı alkali ortamda proteinler, peptid bağları ve tirozin kalıntılarının bakır ile kompleks oluşturması temeline dayanır. Peptit bağı nitrojenlerinin bakır iyonları ile reaksiyonu, daha sonra aromatik aminoasitlerin bakır katalizli oksidasyonu vasıtasıyla, ortama konulan folin reaktifinin heteropolimolibden mavisine indirgenmesi şeklinde olur (Lowry ve ark.,1951).

Reaktif ve standartların hazırlanması:

1. Solüsyon A: Na_2CO_3 , %2 (w/v)

Na_2CO_3 'dan 2 gr tartılarak distile suda çözüldükten sonra balon jodede 100 ml'ye tamamlanmıştır.

2. Solüsyon B: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, %1 (w/v)

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 'dan 0,1 gr tartılarak distile suda çözüldükten sonra balon jodede 10 ml'ye tamamlanmıştır.

3. Solüsyon C: Na-K tartarat, %2 (w/v)

Na-K tartarat. $4H_2O$ 'dan 0,26 gr tartılarak distile suda çözüldükten sonra balon jodede 10 ml'ye tamamlanmıştır.

4. Complex Forming Reagent

Çalışma yapılmadan hemen önce hazırladığımız solüsyon A, B, C'den sırası ile 100:1:1 oranı göz önüne alınarak hazırlanmıştır.

5. NaOH: 2 N

NaOH'dan 4 gram tartılarak distile suda çözüldükten sonra balon jodede 50 ml'ye tamamlanmıştır.

6. Folin Reagent: 1 N

2 N olarak hazırlanmış olan Folin Reagent ana stoğundan 50 ml alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

7. Albumin standart: 2 mg/ml

Albumin'den 0,002 gr tartılıp 1 ml'ye tamamlayarak çözülmüştür. Bundan seri dilüsyonla standartlar hazırlandı.

Tablo 1. Protein miktarı tayini

	Numune	Standart	Kör
Süpernatant	100 µl	-	-
Standart	-	100 µl	-
Deiyonize su	-	-	100 µl
NaOH	100 µl	100 µl	100 µl

Örnekler 100 °C su banyosunda 10 dakika bekletildi ve oda ısısına gelene kadar dışarıda tutuldu.

Tablo 2. Protein miktarı tayini

Complex-Forming Reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Folin Reagent	100 µl	100 µl	100 µl

Daha sonra tüpler karıştırıldı. Oda ısısında 30-60 dakika bekletildikten sonra numunelerin spektrofotometrede 550 nm'de dalga boyunda absorbasları ölçüldü. Protein konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak istatistik programı SPSS yardımıyla oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve mg/ml olarak ifade edildi.

3.4. Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi

Araştırmada elde edilen veriler kodlandıktan sonra istatiksel değerlendirme için SPSS 15.0 bilgisayar programı uygulandı.

Verilerin tanımlayıcı özellikleri ortalama \pm standart sapma, medyan ve minimum-maksimum olarak ifade edildi. Normalik varsayımı için Shepiro Wilk testi yapıldı. Değerlendirme sonrasında kompleks 2 (K1), kompleks 3 (K3) ve ATP-sentaz'ın

normal dağılıma uyduğu fakat kompleks 1 (K1)'in normal dağılıma uymadığı tespit edildi. Logaritmik dönüşüm işlemi yapıldıktan sonra K1 değerlerinin de normal dağılıma uyduğu tespit edildi. Bu nedenle ölçümle belirtilen K1, K2, K3 ve ATP-sentaz değerleri açısından gruplar (kontrol ve olanzapin) arasında istatistiksel fark olup olmadığı parametrik bir test olan “Bağımsız Gruplarda t testi (Student t testi)” aracılığıyla da tespit edildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. Merkezi ölçütler aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak verildi.



4. BULGULAR

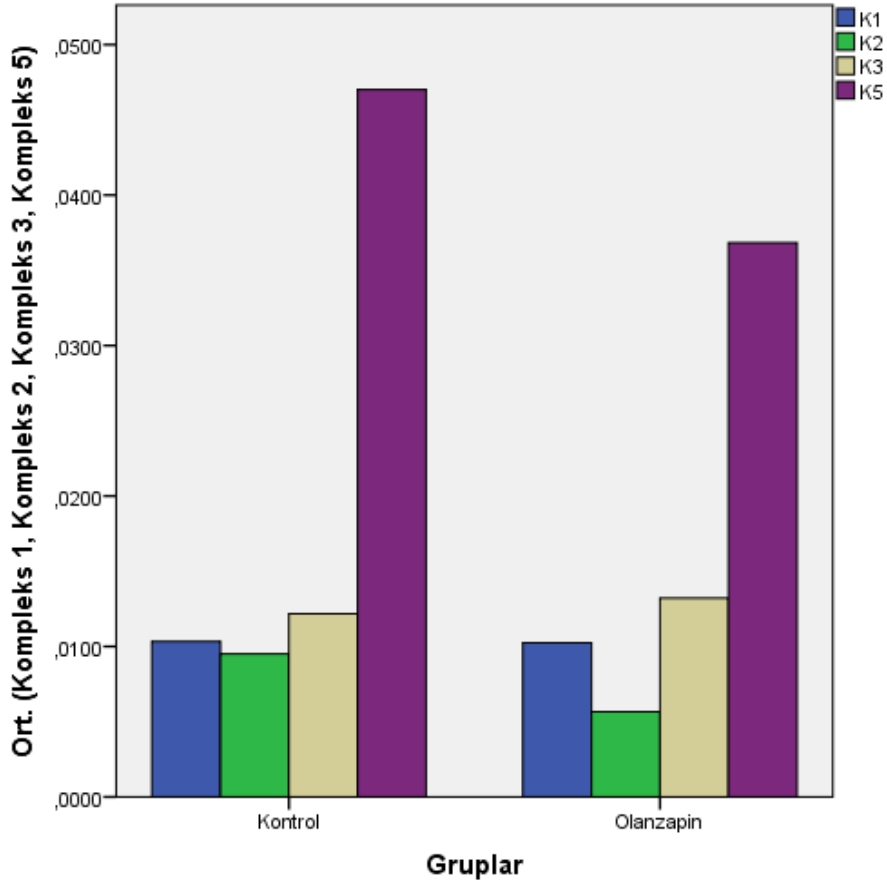
4.1. Kompleks 1, 2, 3 ve ATP-Sentaz Verileri

Çalışmamızda olanzapinin 2 mg/kg dozlarında prefrontal korteks Kompleks 1, 2,3,5 aktivitesi üzerinde bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Elde edilen veriler tablo 3’ de verilmiştir ve ayrıca şekil 16’da grafik olarak gösterilmiştir.

Tablo 3. Grupların tanımlayıcı istatistikleri

	Gruplar	Aritmatk Ort.±SD	P
Kompleks1 ($\Delta A/dk$)/(gprotein)	1. Grup (n=10)	8,693±4,544	0,147
	2. Grup (n=20)	10,588±5,735	
Kompleks 2 ($\Delta A/dk$)/(gprotein)	1. Grup (n=10)	8,803±3,880	0,497
	2. Grup (n=20)	6,438±3,185	
Kompleks 3 ($\Delta A/dk$)/(gprotein)	1. Grup (n=10)	11,033±2,628	0,556
	2. Grup (n=20)	13,004±3,492	
Kompleks 5 ($\Delta A/dk$)/(gprotein)	1. Grup (n=10)	40,867±10,807	0,775
	2. Grup (n=20)	39,010±10,537	

Yapmış olduğumuz çalışmada 1. Grup (kontrol grup) ve 2. Grup (olanzapin uygulanan grup) kompleks 1, 2, 3 ve ATP-sentaz değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmamıştır ($P> 0,05$).



Şekil 16. Kontrol ve olanzapin gruplarındaki kompleks 1, 2, 3 ve 5(ATP-sentaz) düzeyleri

5. TARTIŞMA

Tipik ve atipik antipsikotik ilaçların farklı klinik, biyokimyasal ve davranışsal profilleri olduğu gösterilmiştir. Metabolizmanın, özellikle mitokondriyadaki bozukluğunun oksidatif strese ve nöronal ölüme yol açtığı ve beyindeki birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı iyi tanımlanmıştır. Bu bağlamda, antipsikotik ilaçların farelerin beyindeki enerji metabolizması parametreleri üzerindeki in vitro etkilerini araştırdık.

Beyin metabolizmasında disfonksiyon şizofreni, depresyon ve bipolar bozukluk gibi nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkilidir(Prince ve ark., 1998; Kato ve Kato 2000; Albert ve ark., 2002). Bazı kanıtlar ayrıca, bu tür bozuklukların tedavisinde kullanılan ilaçların, özellikle de onu artırarak enerji metabolizmasını modüle etme olasılığına işaret etmektedir. Bu bağlamda, kısa bir süre önce, duygu durum düzenleyicilerinin, bir hayvan mani modelinde amfetamin tarafından neden olunan sitrat sentaz aktivitesi üzerinde inhibe edici etkiyi önlediğini ve tersine çevirdiğini bildirdik(Correa ve ark., 2007).

Bugüne kadar olanzapinin beyin dokusunda mitokondri üzerine etkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu konu tam olarak aydınlatılamamıştır (Gross ve ark., 1996; Whatley ve ark., 1996; Volz ve ark., 2000; Madrigal ve ark., 2001; Torres ve ark., 2004; Adam-Vizi V, 2005; Scaini ve ark., 2012). Olanzapinin wistar albino rat beyin sağ prefrontal korteks mitokondriyal K1, K2, K3 ve ATP sentaz üzerine etkisini olup olmadığını amaçladığımız bu çalışmanın sonuçlarına göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığını tespit ettik.

Bipolar ve şizofreni hastalığının ortaya çıkışı ve sonrasında mitokondriyal bozukluklarla ilişkili bulguların artması, bu konu hakkında çalışan araştırmacıları olanzapinin tedavi edici etkisini mitokondrideki elektron transport zincirindeki bozuklukları düzelterek gösterme olasılığı üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir.

Şizofreni, depresyon ve bipolar bozukluk gibi nöropsikiyatrik bozukluklar, beyin metabolizmasındaki işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (Albert ve ark., 2002; Prince ve ark., 1998).

Volz ve arkadaşları (2000), antipsikotik kullanmayan hastaların frontal loblarında ATP düzeylerinde azalma gözlemlemiştir (Volz ve ark., 2000). Ayrıca, literatürden elde edilen bilgilere göre şizofreni hastalarında ATP düzeyleri ile negatif

belirtilerin derecesi arasında ters korelasyon olabileceği ileri sürülmüştür (Volz ve ark., 1997). Beynin yüksek doymamış fosfolipid içeriği ve enerji ihtiyacı olan biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri, bu organı özellikle serbest radikal aracılı hasara duyarlı hale getirmektedir (Madriral ve ark., 2001; Gross ve ark., 1996). Mitokondriyal oksidatif fosforilasyon sisteminin ROS ürettiği ve esas olarak I ve III komplekslerinin bu hasara karşı savunmasız olduğu bilinmektedir. (Adam-Vizi V, 2005; Torres ve ark., 2004)

Bu bağlamda, çeşitli çalışmalara göre, antipsikotikler oksidatif strese neden olmaktadır (Jordan ve ark., 2002; Polydoro ve ark., 2004). Ayrıca oksidatif hasar, mitokondriyal disfonksiyonun sebebi veya sonucu olduğu rapor edilmiştir. (Madriral ve ark., 2001; Torres ve ark., 2004). Prince ve arkadaşlarının (1998) yapmış olduğu çalışmaya göre, olanzapin solunum zincir komplekslerinin aktivitelerini artırırken diğer yandan da kompleks IV etkinliğini inhibe ettiği gösterilmiştir (Prince ve ark., 1998). Scaini ve arkadaşları (2012) sıçan beyinlerinde yaptığı çalışmada da olanzapinin solunum zinciri kompleksleri I, II ve II-III'ün aktivitelerini arttırdığı ve kompleks IV aktivitesi olanzapin inhibe ettiği, kreatin kinaz (CK) aktivitesinin prefrontal korteks, serebellum, striatum, hipokampus ve arka kortekste etkilemediği gösterilmiştir (Scaini ve ark., 2012).

Yukarıdaki bahsedilen olanzapinin kompleks 1 aktivasyonuna yönelik çalışmalar olmasına karşılık bizim çalışmamıza benzer şekilde olanzapin kompleks 1 üzerine etkisinin olmadığını ileri süren çalışmalar da mevcuttur (Andreazza ve ark., 2010). Whatley ve arkadaşlarının (1996) yapmış olduğu çalışmada ise olanzapinin frontal kortekste NADH (kompleks I) aktivitesinde belirgin düşüş gösteren çalışmalarda gösterilmiştir (Whatley ve ark., 1996).

Kompleks 2 ile ilgili yapılan çok az çalışmada da olanzapinin kompleks 2 üzerine olan etkisinde tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Rat beyin dokusunda yapılan bir çalışmada kompleks 2 aktivitesinde hiç değişiklik olmadığı veya aktivitesinde azalma olduğu görülmüştür (Taurines ve ark., 2010; Barrientos ve ark., 1998). İnsan dokularında yapılan bir başka çalışmada ise olanzapinin kompleks 2 aktivasyonuna herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Maurer ve Moller, 1997). Bizim yaptığımız çalışmada da olanzapinin kompleks 2 üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiş olup yukarıdaki kompleks 2 ile ilgili çalışmalarla uyumludur.

Antipsikotikler ile literatüre göre, atipik antipsikotik olanzapin sadece serebellumda süksinat dehidrogenaz (SDH) 'yi inhibe ettiği rapor edilmiştir (Scaini ve ark., 2012).

Kompleks 3 ile ilgili frontal kortekste yapılan çok az çalışmada ise olanzapinin kompleks 3 üzerine aktivitesinde belirgin düşüş gözlenmiştir (Whatley ve ark., 1996). Bizim çalışmamızda ise olanzapinin kompleks 3 üzerine etkisinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Bipolar bozukluk ve şizofreninin patofizyolojisine dair yapılan çalışmalarda incelenen bir diğer konu ise artmış oksidatif stresin şizofreninin çıkışında etkili olduğu yönündedir. Post mortern beyinde ya da periferik kan örneklerinde yapılmış olan çalışmalarda şizofreni hastalarında oksidatif stres artmış olduğu bildirilmiştir. (Andreazza ve ark., 2008, 2010; Machado-Vieira ve ark., 2007). Oksidatif stresin başlıca temel kaynağı elektron transport sistemidir (Halliwell ve Gutteridge, 2007; Adam-Vizi ve Starkov, 2010).

Kompleks 5 üzerine olanzapinin etkisi Cohen ve arkadaşları (1997) tarafından çalışılmış ve herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (Cohen ve ark., 1997). Yapmış olduğumuz çalışmada olanzapinin ATP-sentaz üzerine olmadığı tespit edilmiş olup, yukarıdaki çalışma ile uyumludur.

Literatürde olanzapinin ATP-sentaz üzerinde etkisi konusunda çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bipolar ve şizofreni hastalarının bulunduğu bir PCR çalışmalarında (Iwamoto ve ark., 2004) ATP-sentazın alt birimlerini birden fazla mRNA'nın ekspresyonunun azalmış olduğu belirtilmiştir. Bipolar hastalarının postmodern prefrontal korteksinde ATP-sentazın alt ünitelerini kodlayan 3 azaltılarak düzenlendiği gösterilmiştir (Sun ve ark., 2006). Buna ek olarak da disfonksiyonel mitokondrinin ATP üretimi açısından daha az verimli, ROS'un üretimi açısından daha çok verimli olduğu ve bu durumun bipolar bozuklukta görülmekte olan oksidatif düzensizlikte önemli bir kaynak olabilebileceği düşünülmektedir (Andreazza ve ark., 2007, 2010; Machado-Vieira ve ark., 2007). Araştırmalardaki kanıtlara göre bipolar ve şizofreni hastalarında ROS ile oluşturulan hasarı ortaya koyarak bu yöne işaret etmektedir (Scaini ve ark., 2016). Bundan dolayı bipolar hastalık ve şizofrenide ATP seviyeleri konusunda tam olarak bir fikir birliği de bulunmamaktadır ve değişiklik olmadığına dair çalışmalarda bulunmamaktadır (Deicken ve ark., 1995; Hamakawa ve ark., 2004; Kato ve ark., 1993). Yapmış olduğumuz çalışmada olanzapin ile tedavi

sonrasında rat sağ prefrontal kortekste ATP-sentaz aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmadığı yönündedir.

Olanzapin, limbik bölgelerdeki A10 nöronlarındaki D2'yi bloke etmektedir. Ayrıca olanzapin serotonin (5-hidroksitriptamin veya 5-HT) 2A reseptörlerini de bloke etmektedir, bu yüzden olanzapinin bulunduğu atipik antipsikotik ilaçlara serotonin-dopamin antagonistler olarak da adlandırılabilir (Köroğlu ve Güleç, 2007). Olanzapinin terapötik etki ile reseptör etkisi ilişkileri şu şekilde açıklanabilir; mezolimbik yolakta D2 reseptör blokajı ile pozitif semptomları azaltırlar, mezokardial yolakta dopamin salınımının artışı ve 5HT-2A reseptör blokajı ile negatif semptomları azaltırlar. Diğer reseptörlere bağlanma özellikleri, şizofrenideki kognitif, agresif ve depresif semptomları tedavi etmedeki etkinliklerine katkıda bulunuyor olabilir (Gülseren ve Erol, 2000). Yapılan bu çalışma ile birlikte bu konunun aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır ve enerji metabolizmasının diğer önemli basamaklarını da araştırmak gerekir.

Scaini ve arkadaşlarının yapmış olduğu deneyde olanzapin (0.1, 0.5 ve 1.0 mg / ml) tampon içinde süspansiyon haline getirilmiş ve sıçan dokusu homojenatları içeren reaksiyon ortamına eklenmiştir. Kompleks I aktivitesi, prefrontal korteks ve striatumda olanzapinin 0.5 mg / ml ve daha yüksek konsantrasyonlarında artarken, 0.1 mg / ml konsantrasyonunda ise değişiklik gözlenmemiştir. Scaini ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada ayrıca olanzapin 0.5 ve 1.0 mg / ml konsantrasyonlarında, serebellum, striatum ve posterior kortekste kompleks II aktivitesini arttırırken, prefrontal korteks ve hipokampusta değişiklik olmadığı gözlenmiş; olanzapin 0,5 ve 1.0 mg / ml konsantrasyonlarında prefrontal korteks, striatum ve posterior kortekste II-III komplekslerinin aktivitesini arttırırken, 0.1 mg / ml konsantrasyonunda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Scaini ve ark., 2012).

Bu çalışmada olanzapinin etkisinin bulamamızın nedeni uygulanan dozların ve çalışılan beyin dokusu bölgelerinin farklılığı olabilir. Çünkü düşük miktarda uygulanan olanzapin dozu ve bunun yanı sıra olanzapinin etki mekanizmasının beynin mezolimbik bölgesinde olduğunu da varsayarsak yapmış olduğumuz çalışmada değişiklik görmememiz normaldir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada olanzapinin beyin dokusunun sağ prefrontal korteksinde kompleks 1, 2, 3 ve 5 (ATP-sentaz) üzerine etkisinin bulunmadığını tespit ettik. Yapmış olduğumuz bu çalışma ileride yapılacak olan çalışmaların, özellikle beyin mezolimbik bölge dokusu çalışılarak bu bulguların doğrulanması gerektiğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- Abrahams JP, Leslie AGW, Lutter R, Walker JE. Structure at 2.8 Å resolution of F1-ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 1994;370:621-628.
- Adam-Vizi V. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources. *Antioxid Redox Signal* 2005;7:1140–1149.
- 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
- Albert KA, Hemmings HC, Adamo AI et al. Evidence for decreased DARPP-32 in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2002;59:705–712.
- 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, 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, 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.
- Arizmendi JM, Runswick MJ, Skehel JM, Walker JE. NADH:ubiquinone oxidoreductase from bovine heart mitochondria. A fourth nuclear encoded subunit with a homologue encoded in chloroplast genomes. *FEBS Lett* 1992;301(3):237-242.
- Atmaca M, Kuloglu M, Tezcan E, Gecici O, Ustundag B. Weight gain, serum leptin and triglyceride levels in patients with schizophrenia on antipsychotic treatment with quetiapine, olanzapine and haloperidol. *Schizophr Res* 2003;60:99-100.
- Baldwin DS, Montgomery SA. First clinical experience with olanzapine (LY 170053): results of an open-label safety and dose-ranging study in patients with schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacology* 1995;10:239-44.

- Barrientos A, Marín C, Miro O, Casademont J, Gomez M, Nunes V et al. Biochemical and molecular effects of chronic haloperidol administration on brain and muscle mitochondria of rats. *J Neurosci Res* 1998;53:475–481.
- Beasley CM Jr, Tollefson GD, Tran PV. Efficacy of olanzapine: an overview of pivotal clinical trials. *Am J Psychiatry* 1997;58:7-12.
- Beasley CM, Hamilton SH, Crawford AM, Dellva MA, Tollefson GD, Tran PV, Blin O, Beuzen JN. Olanzapine versus haloperidol: acute phase results of the international double-blind olanzapine trial. *European Neuropsychopharmacology* 1997;7:125-137.
- Beasley CM Jr, Tollefson G, Tran P, Satterlee W, Sanger T, Hamilton S. Olanzapine versus placebo and haloperidol: acute phase results of the North American double-blind olanzapine trial. *Neuropsychopharmacology* 1996;14:111-123.
- Beasley CM Jr, Sanger T, Satterlee W, Tollefson G, Tran P, Hamilton S. Olanzapine versus placebo: results of a double-blind, fixed-dose olanzapine trial. *Psychopharmacology* 1996; 124:159-67.
- Biyosıt 2016. Kompleks. <http://www.biyolojisisitesi.net.png>, 2016.
- Brandt U. Proton-translocation by membrane-bound NADH:ubiquinoneoxidoreductase (complex I) through redox-gated ligand conduction *Biochim Biophys Acta* 1997;1318:79-91.
- Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman&Gilman The Pharmacological Basis of Treatment. Çeviri: Süzer Ö. Goodman&Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi. 2009;461-492.
- Buchanan SK, Walker JE. Large-scale chromatographic purification of F₁F₀-ATPase and complex I from bovine heart mitochondria. *Biochem J* 1996; 318:343- 349.
- By American Psychiatric Association *Dsm IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th Edition, USA, American Psychiatric Publisher 1994; 152.
- Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* 2000;29(3-4): 222-30.
- Callaghan JT, Bergstrom RF, Ptak LR, Beasley CM. Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clin Pharmacokinet* 1999;37:177–193.

- Casey DE. Clozapine: neuroleptic-induced EPS and tardive dyskinesia. *Psychopharmacology* 1989; 47-53.
- Ceylan ME, Çetin M. Araştırma ve Klinik Uygulamada Biyolojik Psikiyatri Şizofreni. 4. Baskı, İstanbul, İncekara Kağıt Matbaa. 2009; 907-1117.
- Cohen G, Farooqui R, Kesler N. Parkinson's disease: a new link between monoamine oxidase and mitochondrial electron flow. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:4890–4894.
- Correa C, Amboni G, Assis LC et al. Effects of lithium and valproate on hippocampus citrate synthase activity in an animal model of mania. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31:887–891.
- Deicken RF, Weiner MW, Fein G. Decreased temporal lobe phosphomonoesters in bipolar disorder. *J Affect Disord* 1995;33:195-9.
- Elston T, Wang H, Oster G. Energy transduction in ATP synthase. *Nature* 1998; 391:510-513.
- Enc2016. Mitochondria. <http://encyclopedia2.thefreedictionary.com/Mitochondria.png>, 2016.
- Evren EC. Olanzapin; yeni atipik antipsikotik. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 1998; 8:74-80.
- Friedrich T, Brors B, Hellwig P, Kintscher L, Rasmussen T, Scheide D, Schulte U, Mäntele W, Weiss H. Characterization of two novel redox groups in the respiratory NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I) *Biochim Biophys Acta* 2000;1459:305-309.
- Fulton B, Goa KL. Olanzapine. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the management of schizophrenia and related psychoses. *Drugs* 1997;53:281-98.
- Galkin AS, Grivennikova VG, Vinogradov AD. H⁺ /2estoichiometry in NADH-quinone reductase reactions catalyzed by bovine heart submitochondrial particles. *FEBS Lett* 1999;451:157-161.
- Grigorieff N. Three-dimensional structure of bovine NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) at 22 Å in ice *J Mol Biol* 1998;277:1033-1046.
- Gross WL, Bak MI, Ingwall JS et al. Nitric oxide inhibits creatine kinase and regulates rat heart contractile reserve. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:5604–5609.

- Gupte S, Wu ES, Hoechli L, Hoechli M, Jacobson K, Sowers AE, Hackenbrock CR. Relationship between lateral diffusion, collision frequency, and electron transfer of mitochondrial inner membrane oxidation-reduction components. *Proc Natl Acad Sci* 1984;81:2606-2610.
- Gülseren L, Erol A. Şizofrenide İlaç Sağaltımı. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2000; 10:213-227.
- 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.
- Harvey RA, Ferrier DR. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 5th edition, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi. 2014;73-77.
- Ian 2016. Kompleks. <http://www.ianlogan.co.uk/lhon/complex.htm.pdf>, 2016.
- Ingledeu WJ, Ohnishi T. An Analysis of some Thermodynamic Properties of Iron-Sulphur Centers in Site I of Mitochondria. *Biochem J* 1980;186:111-117.
- 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.
- Iwata S, Ostermeier C, Ludwig B, Michel H. Structure at 2.8 Å Resolution of Cytochrome c Oxidase from *Paracoccus Denitrificans*. *Nature* 1995;376:660-669.
- Johnson MK, Morningstar JE, Bennett DE, Ackrell BA, Kearney EB. Magnetic Circular Dichroism Studies of Succinate Dehydrogenase. *J Biol Chem* 1985;160:7368-7378.
- Jordan S, Koprivica V, Chen R, Tottori K, Kikuchi T, Altar CA. The antipsychotic aripiprazole is a potent, partial agonist at the human 5-HT1A receptor. *Eur J Pharmacol* 2002;441:137-140.
- Kato T, Kato N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2000;2:180-190. 1998;8:1-6.
- 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.
- Köroğlu E, Güleç C. *Psikiyatri Temel Kitabı*, 2. Baskı, Ankara, HYB Basım Yayın. 2007:184-654.

- Lenaz G, Genova ML. Mobility and function of coenzyme (ubiquinone) in the mitochondrial respiratory chain. *Biochim Biophys Acta* 2009;1787: 563–573.
- 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.
- Madrigal JL, Olivenza R, Moro MA et al. Glutathione depletion, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction are induced by chronic stress in rat brain. *Neuropsychopharmacology* 2001;24:420–429.
- Maranzana E, Barbero G, Falasca AI, Lenaz G, Genova ML. Mitochondrial respiratory supercomplex association limits production of reactive oxygen species from complex I. *Antioxid Redox Signal* 2013;1:19(13):1469-80.
- Maurer I, Moller HJ. Inhibition of complex I by neuroleptics in normal human brain cortex parallels the extrapyramidal toxicity of neuroleptics. *Mol Cell Biochem* 1997; 174:255–259.
- Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism *Nature* 1961;191:144-148.
- Mitchell P. The protonmotive Q cycle: a general formulation. *FEBS Lett* 1975;59:137-139.
- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fifth ed. W H Freeman and Company Newyork. Bioenergetic and Metabolism II, 2008;707-721.
- Nemeroff CB. Dosing the antipsychotic medication olanzapine. *Journal of Clinical Psychiatry* 1997;58:45-49.
- Noji H, Yasuda R, Yoshida M, Kinosita KJr. Direct observation of the rotation of F1-ATPase. *Nature* 1997;386: 299-302.
- Ohnishi T. Iron-sulfur clusters/semiquinones in Complex I” *Biochim. Biophys Acta* 1998;1364:186-206.
- Ohnishi T, Sled VD, Yano T, Yagi T, Burbaev DS, Vinogradov AD. Structure-function studies of iron-sulfur clusters and semiquinones in the NADHQ oxidoreductase segment of the respiratory chain. *Biochim Biophys Acta* 1998;1365:301-308.
- Palade G. The Fine Structure of Mitochondria. *Anat Rec* 1952;114: 427-451.

- Perkins G, Renken C, Martone ME, Young SJ, Ellisman M, Frey T. Electron Tomography of Neuronal Mitochondria: Three-Dimensional Structure and Organization of Cristae and Membrane Contacts. *J Struct Biol* 1997;119: 260-272.
- Polydoro M, Schröder N, Lima MN, Caldana F, Laranja DC, Bromberg E, Roesler R, Quevedo J, Moreira JC, Dal-Pizzol F. Haloperidol- and clozapine-induced oxidative stress in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004;78(4):751-6.
- Prince JA, Yassin MS, Orelund L. A histochemical demonstration of altered cytochrome oxidase activity in the rat brain by neuroleptics. *Eur Neuropsychopharmacol* 1998;8:1–6.
- Sazanov LA, Peak-Chew SY, Fearnley IM, Walker JE. Resolution of the Membrane Domain of Bovine Complex I into Subcomplexes: Implications for the Structural Organization of the Enzyme. *Biochemistry* 2000;39:7229-7235.
- 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.
- Scaini G, Rochi N, Morais MO, Maggi DD, De-Nês BT, Quevedo J, Streck EL. In vitro effect of ntipsychotics on brain energy metabolism parameters in the brain of rats *Acta Neuropsychiatr* 2012;25(1):18-26.
- Schägger H, Pfeiffer K, (2000). Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *EMBO J* 19(8): 1777-1783.
- Scheffler IE. Mitochondria. John Wiley and Sons Inc Publication Chapter 1999;5:141-238.
- Sjostrand FS. Electron Microscopy of Mitochondria and Cytoplasmic Double Membranes. *Nature* 1953;171:30-31.
- Sun F, Huo X, Zhai Y, Wang A, Xu J, Su D, Bartlam M, and Rao Z. Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II. *Cell* 2005; 121(7):1043-57.
- 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.

- Taurines R, Thome J, Duvigneau JC, Forbes-Robertson S, Yang L, Klampfl K et al. Expression analyses of the mitochondrial complex I 75-kDa subunit in early onset schizophrenia and autism spectrum disorder: increased levels as a potential biomarker for early onset schizophrenia. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2010; 19:441–448.
- Tollefson GD, Beasley CM Jr, Tran PV, Street JS, Krueger JA, Tamura RN, Graffeo KA, Thieme ME. Olanzapine versus haloperidol in the treatment of schizophrenia and schizoaffective and schizophreniform disorders: results of an international collaborative trial. *Am J Psychiatry* 1997; 154:457- 465.
- Torres RL, Torres ILS, Gamaro GD et al. Lipid peroxidation and total radical-trapping potential of the lungs of rats submitted to chronic and sub-chronic stress. *Braz J Med Biol Res* 2004;37:185–192.
- Trumpower BL. The protonmotive Q cycle. Energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc1 complex. *J Biol Chem* 1990;265:11409-11412.
- Vinogradov AD, Sled VD, Burbaev DS, Grivennikova VG, Moroz IA, Ohnishi T. Energy-dependent Complex I-associated ubisemiquinones in submitochondrial particels. *FEBS Lett* 1995;370:83-87.
- Volz HR, Riehemann S, Maurer I et al. Reduced phosphodiesterases and high-energy phosphates in the frontal lobe of schizophrenic patients: A (31)P chemical shift spectroscopic-imaging study. *Biol Psychiatry* 2000;47:954–961.
- Volz HP, Rzanny R, Rossger G et al. Decreased energy demanding processes in the frontal lobes of schizophrenics due to neuroleptics? A 31Pmagneto-resonance spectroscopic study. *Psychiatry Res* 1997;76:123–129.
- Walker JE, Skehel JM, Buchanan SK. Structural Analysis of NADH:Ubiquinone Oxidoreductase from Bovine Heart Mitochondria *Methods Enzymol* 1995;260:14-34.
- Walker JE. The NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I) of respiratory chain Q. *Rev Biophys* 1992;25:253-324.
- Wang H, Oster G. Energy transduction in the F1 motor of ATP synthase. *Nature* 1998;396(6708):279-82.

- Weiden PJ. Olanzapine: a new atypical antipsychotic. *J Pract Psychiatr&Behav H* 1997;49-53.
- Whatley SA, Curi D, Marchbanks RM. Mitochondrial involvement in schizophrenia and other functional psychoses. *Neurochem Res* 1996;21:995–1004.
- Wiki2016.Cytochrome_bc1_complex.http://en.wikipedia.org/wiki/File:Cytochrome_bc1_complex.png,2016.
- Yano T, Magnitsky S, Ohnishi T. Characterization of the complex I-associated ubiquinone species: toward the understanding of their functional roles in the electron/proton transfer reaction. *Biochim Biophys Acta* 2000;1459:299-304.
- Yazıcı AE, Yazıcı K. Atipik Antipsikotikler. *Mersin Üni. Tıp Fak. Dergisi* 2001;2:210-219.
- Yoshikawa S, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, Yamashita E, Inoue N, Yao M, Fei MJ, Libeu CP, Mizushima T, Yamaguchi H, Tomizaki T, Tsukihara T. Redox-Coupled Crystal Structural Changes in Bovine Heart Cytochrome c Oxidase. *Science* 1998;280:1723-1729.
- Yüksel N. *Psikofarmakoloji*, 2. Baskı, Ankara, Çizgi Tıp Yayınevi. 2003;1-154.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Taner İlker GÜMRÜKÇÜOĞLU

Doğum Yeri: Samsun

Doğum Tarihi: 02/03/1990

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce / Almanca

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Samsun Anadolu Lisesi / 2008

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü / 2012

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Bölümü / 2017

Çalıştığı Kurum / Kurumlar ve Yıl:

Gümrükçüoğlu Eczanesi / 2008 -

İş Sağlığı ve Güvenliği C Sınıfı Uzmanı / 2015 -

Türkiye Futbol Federasyonu C Klasman Hakemi / 2017 -

GSM: 0 506 735 45 23

E-posta: igumruk@gmail.com