



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

**BİPOLAR MANİMODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
OLANZAPİNİN PREFRONTAL KORTEKS VE
HİPOKAMPUSTA IGF-1 VE IGF-1R ÜZERİNE ETKİSİ**

Doktora Tezi

Eser ÇAKMAK

Danışman
Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL

SAMSUN
2023

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**



**BİPOLAR MANİ MODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
OLANZAPİNİN PREFRONTAL KORTEKS VE
HİPOKAMPUSTA IGF-1 VE IGF-1R ÜZERİNE ETKİSİ**

Doktora Tezi

Eser ÇAKMAK

Danışman

Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.21.025 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Eser ÇAKMAK tarafından, Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL danışmanlığında hazırlanan “BİPOLAR MANİ MODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OLANZAPİNİN PREFRONTAL KORTEKS VE HİPOKAMPUSTA IGF-1 VE IGF-1R ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 7.4.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Alper Arslan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Murat USTA Giresun Üniversitesi Biyokimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Cansel ÖZMEN Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyokimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

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

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

10 /03 / 2023
Eser ÇAKMAK

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : BİPOLAR MANİ MODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OLAN ZAPİNİN PREFRONTAL KORTEKS VE HİPOKAMPUSTA IGF-1 VE IGF-1R ÜZERİNE ETKİSİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 10.03.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 15

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

10 /03 / 2023
Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL

ÖZET

BİPOLAR MANİ MODELİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OLANZAPİNİN PREFRONTAL KORTEKS VE HİPOKAMPUSTA IGF-1 VE IGF-1R ÜZERİNE ETKİSİ

Eser ÇAKMAK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

Doktora, Nisan/2023

Danışman: Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL

Çalışmanın amacı, bipolar bozukluğun ortaya çıkışı ve olanzapin ile tedavisinde insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) ve reseptöründe (IGF-1R) meydana gelen değişiklikleri tespit etmektir.

48 yetişkin erkek albino wistar ratlardan kontrol grubuna (n=12) salin (0,5 ml), ketamin grubuna (n=12) ketamin (0,5 ml, 25 mg/kg), olanzapin grubuna (n=12) olanzapin (0,5 ml, 2 mg/kg), ketamin+olanzapin grubuna (n=12) ketamin (0,5 ml, 25 mg/kg) günde bir kez 14 gün boyunca intraperitoneal uygulanmıştır. Ketamin+olanzapin grubuna 8-14 günleri arasında ketamin uygulamasına ilaveten olanzapin (0,5 ml, 2 mg/kg) günde 1 kez uygulanmıştır. Prefrontal korteks ve hipokampusta hacim, IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeyi ölçümü yapılmıştır.

Prefrontal kortekste ketamin ile bipolar mani modeli oluşturulan grupta hacimde, IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immün boyama) azalma; olanzapin grubunda IGF-1 gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immün boyama) artış; ketamin+olanzapin grubunda IGF-1R gen ekspresyon, IGF-1 ve IGF-1R protein düzeylerinde (immün boyama) artış tespit ettik. Hipokampusta ketamin ile bipolar mani modeli oluşturulan grupta hacimde, IGF-1 gen ekspresyon ve protein düzeylerinde azalma; olanzapin grubunda hacimde ve IGF-1 protein düzeylerinde azalma, IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immün boyama) artış; ketamin+olanzapin grubunda hacimde, IGF-1 protein düzeyleri ve IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde azalma tespit ettik.

Bipolar bozukluğun altında yatan sebeplerden biri prefrontal korteks ve hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R düzeyindeki değişiklikler olabilir. Tedavide kullanılan olanzapin, prefrontal kortekste IGF-1 ve IGF-1R düzeylerini artırarak nöroprotektif bir etki, hipokampusta ise IGF-1 ve IGF-1R düzeylerinde azalmaya sebep olarak nörodejeneratif bir etki göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Olanzapin, IGF-1, IGF-1R, Prefrontal korteks, Hipokampus

ABSTRACT

THE EFFECT OF OLANZAPINE ON IGF-1 AND IGF-1R IN THE PREFRONTAL CORTEX AND HYPOCAMPUS IN RATS WITH A MODEL OF BIPOLAR MANIA

Eser ÇAKMAK

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Biochemistry

Ph.D., April/2023

Supervisor: Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL

The aim of the study is to determine the changes in insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and its receptor (IGF-1R) in the emergence of bipolar disorder and its treatment with olanzapine.

Of all 48 adult male albino wistar rats, the control group (n=12) saline (0.5 ml), ketamine group (n=12) ketamine (0.5 ml, 25 mg/kg), olanzapine group (n=12) olanzapine (0.5 ml, 2 mg/kg), ketamine+olanzapine group (n=12) ketamine (0.5 ml, 25 mg/kg) was administered intraperitoneally once a day for 14 days. In addition to ketamine administration, olanzapine (0.5 ml, 2 mg/kg) was administered once a day to ketamine+olanzapine group between 8-14 days. Volume, IGF-1 and IGF-1R gene expression and protein levels were measured in prefrontal cortex and hippocampus.

We detected that there was a decrease in volume of prefrontal cortex, IGF-1R gene expression and protein levels (immune staining) in the group in which bipolar mania model was created with ketamine; an increase in IGF-1 gene expression and protein levels (immune staining) in the olanzapine group; an increase in IGF-1R gene expression, IGF-1 and IGF-1R protein levels (immune staining) in the ketamine+olanzapine group in the prefrontal cortex. We detected that there was a decrease in volume of hippocampus, IGF-1 gene expression and protein levels in the group in which bipolar mania model was created with ketamine; a decrease in volume and IGF-1 protein levels, increase in IGF-1R gene expression and protein levels (immune staining) in the olanzapine group; a decrease in volume, IGF-1 protein levels and IGF-1R gene expression and protein levels in the ketamine+olanzapine group in the hippocampus.

We detected that there was a decrease in volume of prefrontal cortex, IGF-1R gene expression and protein levels (immune staining) in the group in which bipolar mania model was created with ketamine; an increase in IGF-1 gene expression and protein levels (immune staining) in the olanzapine group; an increase in IGF-1R gene expression, IGF-1 and IGF-1R protein levels (immune staining) in the ketamine+olanzapine group in the prefrontal cortex. We detected that there was a decrease in volume of hippocampus, IGF-1 gene expression and protein levels in the group in which bipolar mania model was created with ketamine; a decrease in volume and IGF-1 protein levels, increase in IGF-1R gene expression and protein levels (immune staining) in the olanzapine group; a decrease in volume, IGF-1 protein levels and IGF-1R gene expression and protein levels in the ketamine+olanzapine group in the hippocampus.

Keywords: Olanzapine, IGF-1, IGF-1R, Prefrontal cortex, Hippocampus

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile her daim yanımda olan, tez dönemi süresince her türlü desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam sürecinde özveriyle destek olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mehmet Emin ÖNGER ve ekibine teşekkür ederim.

Doktora eğitim-öğretim süreci boyunca bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarım Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Nermin KILIÇ'a, Sayın Prof. Dr. Birşen BİLGİCİ'ye, Sayın Prof. Dr. Bahattin AVCI'ya ve Sayın Doç Dr. Edem NUGLOZEH'e teşekkür ederim.

Tez sürecinde pozitif enerjisi ile desteklerini esirgemeyen Öğr. Gör. Eda Turgut UĞURTAY'a, asistan arkadaşlarıma ve bölümümüzün personellerine teşekkür ederim.

Bana sorumluluk bilincini aşılayan, disiplinli ve özverili olmayı öğreten her zaman yanımda olduğunu hissettiğim merhum babama ve merhume anneme, canım ablama, her daim yanımda olan çok sevdiğim hayat arkadaşım Kenan ÇAKMAK'a ve başarı öpücüklerini benden esirgemeyen, her şeyden çok sevdiğim biricik oğlum Emir Ateş'ime teşekkür ederim.

Eser ÇAKMAK

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	5
2.1. Bipolar Bozukluk	5
2.1.1. Epidemiyolojisi	6
2.1.2. Patofizyoloji	7
2.1.3. Sınıflandırma	8
2.1.4. Bipolar Bozukluğun Beyin Üzerine Etkileri	9
2.2. Ketamin	11
2.2.1. Ketaminin Farmakokinetik Özellikleri	11
2.2.2. Ketamin ve Bipolar Bozukluk	12
2.3. Olanzapin	13
2.3.1. Farmakolojik Özellikler	15
2.3.2. Etki mekanizması	15
2.3.3. Protein Bağlama	15
2.3.4. Terapötik Etkinlik	16
2.3.5. Sağlıkla İlgili Yaşam Kalitesi ve Farmakoekonomik Hususlar	16
2.3.6. Tolere Edilebilirlik	16
2.3.7. Olanzapinin Beyinde Yaptığı Değişiklikler	17
2.4. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)	19
2.4.1. IGF-1'in İsimleri ve Taksonomisi	19
2.4.2. Genomik Lokalizasyonu	19
2.4.3. Subselüler Lokalizasyonu	19
2.4.4. Fonksiyonları	20
2.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptörü (IGF-1R)	21
2.5.1. IGF-1R'nin İsimleri ve Taksonomisi	21
2.5.2. Genomik Lokalizasyonu	22
2.5.3. Subselüler Lokalizasyonu	22
2.5.4. Fonksiyonları	23
2.5.5. Enzim Sınıflaması	23
2.5.6. Katalitik Aktivite	24
2.6. IGF-1 ve IGF-1R Ekspresyonu	24
2.7. IGF-1/IGF-1R Sinyal Yolağı	25
2.8. IGF-1/IGF-1R'nin Biyolojik Fonksiyonları	26
2.8.1. Organ ve Vücut Büyümesi	26
2.8.2. Hücre Proliferasyonu	27
2.8.3. Hücre Sağkalımı	28
2.8.4. Hücre Migrasyonu	28
2.8.5. IGF-1'in Nörojenezdeki Rolü	28
3. MATERYAL VE METOT	32
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	32

3.2. Kullanılan Kimyasallar	33
3.3. Hayvan Deneyi.....	34
3.3.1. İlaçların Uygulanması	34
3.3.2. Açık Alan Testi	35
3.3.3. Perfüzyon ve Fiksasyon	36
3.4. Total RNA İzolasyonu	36
3.5. İzole Edilen RNA 'lardan cDNA Elde Edilmesi.....	38
3.5.1. cDNA Sentez Protokolü.....	39
3.6. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Ölçümü.....	39
3.7. Komparatif Ct Metodu ile Gen Ekspresyon Analizi.....	41
3.7.1. Relatif Kantitasyon	41
3.7.2. Komparatif Ct (Threshold Siklus) Metodu	42
3.8. Elektroforez	42
3.9. IGF-1 ve IGF-1R Protein Düzeylerinin ELISA Yöntemi İle Tespiti	43
3.9.1. Elisa Protokolü.....	44
3.10. Doku Örneklerinde Protein Miktarının Belirlenmesi	45
3.10.1. Reaktifler ve Hazırlanışları	45
3.10.2. Lowry Protokolü	46
3.11. Doku Takibi ve Histolojik Kesitlerin Alınması	46
3.12. Stereolojik Analizler	47
3.13. İmmünohistokimyasal Analizler	47
3.14. İstatiksel Analiz.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Açık Alan Testi Sonuçları	51
4.2. Kantitatif Real Time-PCR Sonuçları	51
4.3. ELISA İle Protein Düzeyi Sonuçları	62
4.4. Histolojik Stereoloji İnceleme Sonuçları	63
4.5. İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları	65
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ	76
KAYNAKÇA.....	76
EKLER	94
ÖZGEÇMİŞ.....	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

AKT	: AKT Serine/Threonine Kinase 1
AKT1	: AKT Serine/Threonine Kinase 1
BAD	: BCL2 Associated Agonist Of Cell Death
BB	: Bipolar Bozukluk
CB	: Serebellum
CYP	: Sitokrom P450
DA	: Dopamin
DMN	: Varsayılan Mod Ağı
DSM-5	: Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, Beşinci Baskı
eOBSC	: Embriyonik Koku Soğanı Kök Hücresi
EPS	: Ekstrapiramidal Semptom
GH	: Büyüme Hormonu
Grb2	: Growth Factor Receptor Bound Protein 2
GSK3b	: Glikojen Sentaz Kinaz 3b
HC	: Hipokampus
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGF-1R	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptörü
IRS1	: Insulin Receptor Substrate 1
IRS2	: Insulin Receptor Substrate 2
ITGAV	: Integrin Subunit Alpha V
ITGB3	: Integrin Subunit Beta 3
JAK	: Janus kinaz
KO	: Knockout
LRP2	: Lipoprotein (LDL)- Reseptörü ile İlişkili Protein 2
MAP3K5	: Mitojen-aktif Protein Kinaz Kinaz Kinaz 5
MAPK	: Mitojen-Aktive Protein Kinaz
mTOR	: Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NSC	: Nöral Kök Hücre
OB	: Olfaktör Bulbus
PCP	: Fensiklidin
PFC	: Prefrontal Korteks
PI3K	: Fosfoinositid-3 Kinaz
PKB	: Protein Kinaz B

SSS	: Merkezi sinir sistemi
STAT	: Sinyal Dönüştürücüsü ve Transkripsiyon Yolu Aktivatörü
SVZ	: Subventriküler Zon
TRS:	: Tedaviye Dirençli Şizofreni
Tyr	: Tirozin



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Olanzapinin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.2. IGF-1'in kromozomal lokalizasyonu.....	19
Şekil 2.3. IGF-1'in subselüler lokalizasyonu.....	20
Şekil 2.4. IGF-1R yapısı	21
Şekil 2.5. IGF-1R kromozomal lokalizasyon.....	22
Şekil 2.6. IGF-1R'nin subselüler lokalizasyonu	22
Şekil 2.7. IGF-1R katalitik aktivite reaksiyonu	24
Şekil 2.8. IGF-1 / IGF-1R sinyal kaskadı	26
Şekil 3.1. Açık alan testi	35
Şekil 3.2. Hayvan deneyi ile elde edilen rat beyin dokuları.....	36
Şekil 3.3. Doku numunelerinin homojenizasyonu	38
Şekil 3.4. İzole RNA'nın elektroforez görüntüsü	38
Şekil 3.5. Melting-curve grafiği.....	41
Şekil 3.6. Amplikonların elektroforez görüntüsü.....	43
Şekil 3.7. Yöntemin akış şeması özeti	49
Şekil 4.1. Prefrontal kortekste ketamin grubu REST analizi sonuçları.....	54
Şekil 4.2. Prefrontal kortekste olanzapin grubu REST analizi sonuçları	55
Şekil 4.3. Prefrontal kortekste ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları	56
Şekil 4.4. Hipokampusta ketamin grubu REST analizi sonuçları	57
Şekil 4.5. Hipokampusta olanzapin grubu REST analizi sonuçları	58
Şekil 4.6. Hipokampusta ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları	59
Şekil 4.7. Prefrontal korteks IGF-1 gen ekspresyon düzeyleri	59
Şekil 4.8. Prefrontal korteks IGF-1R gen ekspresyon düzeyleri.....	60
Şekil 4.9. Hipokampus IGF-1 gen ekspresyon düzeyleri.....	61
Şekil 4.10. Hipokampus IGF-1R gen ekspresyon düzeyleri.....	62
Şekil 4.11. Çalışma gruplarına ait prefrontal korteks bölgelerinin yüksek büyütmede temsili genel görüntüsü	64
Şekil 4.12. Çalışma gruplarına ait hipokampus bölgelerinin yüksek büyütmede temsili genel görüntüsü.....	65
Şekil 4.13. Prefrontal kortekste IGF-1 ve IGF-1R immunohistokimyasal boyama.....	66
Şekil 4.14. Hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R immunohistokimyasal boyama	66
Şekil 4.15. Prefrontal korteks gruplara ait IGF-1 immünohistokimyasal boyama görüntüleri	67
Şekil 4.16. Prefrontal korteks gruplara ait IGF-1R immünohistokimyasal boyama görüntüleri	67
Şekil 4.17. Hipokampusta gruplara ait IGF-1 immünohistokimyasal boyama görüntüleri ...	68
Şekil 4.18. Hipokampusta gruplara ait IGF-1R immünohistokimyasal boyama görüntüleri..	68

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. IGF-1'in isimleri ve taksonomisi.....	19
Tablo 2.2. IGF-1 gen özellikleri.....	19
Tablo 2.3. IGF-1R'nin isimleri ve taksonomisi	21
Tablo 2.4. IGF-1R gen özellikleri	22
Tablo 3.1. RNA izolasyon protokolü.....	37
Tablo 3.2. Reaksiyon miks.....	39
Tablo 3.3. Ters transkripsiyon PCR programı	39
Tablo 3.4. Primer dizileri	39
Tablo 3.5. Master mix hazırlığı.....	40
Tablo 3.6. qRT-PCR programı.....	40
Tablo 3.7. PBS solüsyon hazırlığı.....	43
Tablo 4.1. Açık alan testi sonuçları.....	51
Tablo 4.2. Prefrontal kortekste yapılan PCR çalışmalarından elde edilen Ct değerleri.....	51
Tablo 4.3. Hipokampusta yapılan PCR çalışmalarından elde edilen Ct değerleri	52
Tablo 4.4. Prefrontal kortekste ketamin grubu REST analizi sonuçları.....	53
Tablo 4.5. Prefrontal kortekste olanzapin grubu REST analizi sonuçları	54
Tablo 4.6. Prefrontal kortekste ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları.....	55
Tablo 4.7. Hipokampusta ketamin grubu REST analizi sonuçları.....	56
Tablo 4.8. Hipokampusta olanzapin grubu REST analizi sonuçları	57
Tablo 4.9. Hipokampusta ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları	58
Tablo 4.10. Prefrontal korteks ve hipokampusta ölçülen IGF-1 ve IGF-1R protein düzeyleri.	63
Tablo 4.11. Prefrontal korteks ve hipokampusun histolojik strereoloji inceleme sonuçları	63
Tablo 4.12. Prefrontal korteks ve hipokampus IGF-1 ve IGF-1R immunohistokimyasal analiz sonuçları	66

1. GİRİŞ

Bipolar bozukluk (BB), belli bir düzen olmaksızın yineleyen mani, hipomani, depresyon ya da karma görünümlü duygu durum dönemleri ile karakterize, kronik seyirli, mesleki, ailesel ve sosyal alanlarda işlevsellikte belirgin bozulmaya yol açan bir duygu durum bozukluğudur (Maj et al., 2002). % 4.8' e kadar küresel yaygınlığı olan BB, büyük nörolojik hastalıklara veya kansere göre yaşam kalitesini daha fazla düşüren bir hastalıktır (Merikangas et al., 2011). Bipolar bozukluğun ortaya çıkışında beynin hangi bölgelerinde hangi değişikliklerin etkili olduğu tam olarak anlaşılamamıştır.

Bipolar bozukluğun tedavisinde tarihsel olarak ilk olarak kullanılan ilaç lityum olmuştur. Yapılan çalışmalar ve klinik uygulamalarla günümüzde lityum başta olmak üzere diğer antipsikotik ve antiepileptik ilaçlar da tedavi protokolüne eklenmiştir. Sekonder (yeni jenerasyon) antipsikotiklerden biri olan olanzapin; FDA tarafından şizofreni ve BB mani tedavisinde onaylanması ve piyasaya sürülmesinden sonra başka psikiyatrik hastalıklarda da kullanım alanı bulan bir ilaçtır (Karamustafalıoğlu O, 2018). Kesin etki mekanizması bilinmemekle birlikte antipsikotik etkisinin serotonin ve dopamin reseptörlerinin antagonizmi vasıtasıyla olduğu düşünülmektedir.

Olanzapin; dopamin (D1, D2, D3, D4), serotonin (5HT-2A, 5HT-2C, 5HT3, 5HT6), muskarinik (M1, M5), histamin H1 ve alfa-1-adrenerjik (α 1) reseptörlere bağlanma ilgisi gösterir. Hem serotonin (5HT-2A) hemde dopamin (D2) reseptörlerine güçlü bağlanmakla beraber, 5HT-2A reseptörüne yaklaşık 3 kat daha fazla bağlanmaktadır (Ceylan ve Çetin, 2009). Olanzapin spesifik olarak 5-HT2 ve D2 reseptörleri başta olmak üzere M1, H1, 5-HT2c, 5-HT3, 5-HT6, α 1, α 2 ve D4 reseptörlerini de bloke etmektedir (Bhana et al., 2001). Mezolimbik yoldaki dopamin D2 reseptörleri üzerinde bir antagonist olarak çalışmakla birlikte dopaminin post-sinaptik reseptörde potansiyel bir etkiye sahip olmasını engellemektedir. D2 reseptörleri üzerindeki etki, halüsinasyonlar, sanrılar ve düzensiz konuşma, düşünce ve davranış dahil olmak üzere hastalardaki semptomlarda bir azalmaya yol açmaktadır. Olanzapin, antagonist olarak frontal korteksteki serotonin 5HT2A reseptörleri üzerinde benzer şekilde çalışmaktadır (Tollens vd., 2018). Bununla birlikte, ilacın serotonin reseptör blokajı dopamin reseptör blokajı etkisinden 8 kat daha güçlüdür (Kaplan ve Sadock, 2005).

Antipsikotik ilaçlara maruz kalmanın beyine etkisi hala belirsizliğini korumaktadır. Olanzapine kronik maruziyetin hipokampus hacim değişikliğine sebep olmadığı, ancak sıçanın dorsal ve ventral hipokampusunda dışa doğru şekil deformasyonları olduğu bildirilmiştir (Crum et al., 2016). Olanzapinin beyin üzerine etkilerinin inceleyen bir çalışmada olanzapinin hem akut hem de kronik dozunun, sensorimotor kortekste kan beyin perfüzyonunda azalmaya neden olurken, piriform korteks veya hipokampusta herhangi bir etki gözlenmediği tespit edilmiştir. Ayrıca, kronik maruziyetin korteks hacminde azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (Drazanova et al., 2019).

Buna ilaveten, son zamanlarda ilacın nöroprotektif özellik gösterdiğine dair çalışmalar dikkat çekmektedir. Olanzapinin glutamat maruziyetinden kaynaklı nörotoksisiteden embriyonik kortikal nöronları koruduğunu gösterilmiştir (Koprivica et al., 2011). Bunun yanında β -amyloid peptide(25-35) ile oluşturulan oksidatif stres kaynaklı nörotoksisiteden dolayı oluşan nöronal hücre ölümünde olanzapinin doza bağımlı bir azalma gösterdiği bulunmuştur (Yang and Lung, 2011). Ayrıca, olanzapin ile in vivo yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanlarına uygulanan kronik tedavinin, prefrontal kortikal piramidal hücre dendritlerinde 6-hidroksidopamin kaynaklı değişiklikleri tersine çevirdiğini bildirilmiştir (Wang and Deutch, 2008). Yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanları ile yapılan bir başka çalışmada ise fensiklidine maruziyet sonrası olanzapin ile prefrontal korteksin II/III katmanındaki asimetric omurga sinapslarına karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu gösterilmiştir (Elsworth et al., 2011). Bu bilgilerden yola çıkıldığında olanzapinin nöroprotektif etkisi bipolar bozukluğun tedavisinde etkili mekanizmalardan biri olabileceği ve bu etkiyi özellikle bipolar bozuklukta morfolojik değişikliklerin gözlemlendiği ileri sürülen prefrontal korteks ve hipokampus üzerinde gösteriyor olabileceği düşünülmektedir. Olanzapin muhtemel nöroprotektif etkisini hangi mekanizma ile gerçekleştirmektedir? Nöron gelişiminde etkisi olan İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 ve reseptörü etkili olabilir mi?

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), IGF ailesinin bir üyesidir. IGF-1 olgun proteini, insüline yapısal benzerliğe sahip 70 amino asitlik bir peptittir. IGF-1 peptidi, altı eksondan oluşan tek bir IGF-1 geni tarafından kodlanır. Esas olarak merkezi sinir sisteminde (CNS) özellikle korteks, hipokampus, serebellum ve hipotalamusta bulunan santral sinir sistemi hücre tipleri (Bach et al., 1991; Bondy and

Lee, 1993) ve karaciğer gibi periferik dokularda üretilir (Le Roith, 2003). IGF-1, hem dolaşımda hem de dokularda yüksek afiniteli IGF1 bağlayıcı proteinlere bağlanır ve bu bağlanma IGF-1 ve reseptörü arasındaki etkileşimleri düzenler, IGF-1'in yarı ömrünü uzatır. IGF-1'in biyolojik etkilerine, iki alfa ve iki beta zincirinden oluşan bir transmembran tirozin kinaz olan insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü (IGF-1R) aracılık eder. Heterotetramerik bir glikoprotein olan IGF-1R, yaşam boyunca hem nöral kök hücrelerde hem de tüm sinir hücrelerinde eksprese edilir (Baron-Van Evercooren et al., 1991; Popken et al., 2005). IGF-1'in nöronlarda ve astrositlerde IGF-1R'e bağlanarak IGF-1R aktivasyonuna yol açması, β -alt birimlerinde tirozin kinaz aktivitesi, otofosforilasyon ve downstream sinyallerin aktivasyonu ile sonuçlanır (LeRoith et al., 1995). IGF-1'in, afektif bozukluklarda bozulmuş nörojenez, miyelinizasyon, remiyelinizasyon, nöromodülasyon ve sinaptogeneze yardımcı olduğu kanıtlanmıştır (O'Kusky et al., 2000; Slavich and Irwin, 2014). Ayrıca farklılaşmış nöronlarda önemli bir anti-apoptotik sinyaldir (Chrysis et al., 2001; Hodge et al., 2007). Buna ek olarak, IGF-1 ekspresyonunun beyin boyutunu arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin embriyonik beyin gelişimi sırasında nestin ile başlatılan IGF-1 aşırı ekspresyonu ile geç gebelikten itibaren beyin ağırlığında %10-20 artış olduğu gösterilmiştir (Popken et al., 2004). IGF-1 yoksunu (null) mutant farelerde beyin ağırlığının %29-38 azaldığı bulunmuştur (Ye et al., 2002). IGF-1R delesyonu olan farelerde ise beyin ağırlıklarının 90 günlükken %40 azaldığı tespit edilmiştir (D'Ercole and Ye, 2008). IGF-1'in beyin gelişimi üzerindeki etkilerinin çoğunun geçici ve uzamsal olarak sınırlı olabileceğini hatırlamak akıllıca olmakla birlikte, bu önemli çalışmalar, IGF-1'in CNS gelişiminde önemli bir büyüme faktörü olarak güçlü etkilerini göstermektedir. Erken beyin gelişiminde IGF-1, otokrin, proliferatif ve prosurvival faktör olarak önemli rollere sahiptir (Fernandez and Torres-Aleman, 2012). Son zamanlarda IGF-1'in, pro-proliferatif ve anti-apoptotik etkileri yoluyla mezenkimal kök hücrelerin (MSC) nöronal soy hücrelerine differansiasyonunda önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Huat et al., 2014). Nöral kök hücrelerde, IGF-1 aynı zamanda artmış hücre proliferasyonu ve uzatılmış yaşam ömrü ile ilişkilidir (Supeno et al., 2013). IGF-1'in nöral kök hücrelerin nöronal veya glial hücre tiplerine proliferasyonu üzerinde önemli etkileri olduğu görülmektedir (Brooker et al., 2000; Supeno et al., 2013). IGF-1'in beyin gelişimi üzerindeki en çok çalışılan etkileri IGF-1'in nörojenez üzerindeki etkileridir. IGF1, belirli embriyonik aşamalarda aşırı eksprese edildiğinde nöron progenitörlerinin genişlemesinde derin

etkilere sahiptir (Popken vd., 2004). IGF-1 ayrıca GABAerjik ve glutamaterjik nöronların proliferasyonu ve migrasyonu ve ayrıca CNS'de nöronal sinaptogeneizde önemli rollere sahiptir (Oishi et al., 2009; Hurtado-Chong et al., 2009). Hayvan depresyon modeliyle yapılan bir çalışmada IGF-1'in bir N-metil-D-aspartat reseptöründen bağımsız olarak, IGF-1R ve protein sentezine bağımlı tarzda uzun süreli potansiyasyonu kalıcı olarak arttırdığı gösterilmiştir (Burgdorf et al., 2015). Olanzapinin IGF-1 üzerine etkisini inceleyen bildiğimiz kadarıyla bu güne kadar iki çalışma yapılmıştır. Bunlardan ilki, endotel hücresi/adipoz türevi stromal hücre ko-kültürü ile yapılan bir çalışmadır ve olanzapinin IGF-1 mRNA ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Xue et al., 2017). İkinci çalışmada ise cuprizona maruz kalan C57BL/6 farelerinde oluşan nöropatolojik değişiklikleri olanzapinin düzelttiği ve frontal korteksinde IGF-1 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Zhang et al., 2014). Ancak bu konuda yapılan çalışmalar hem sayı olarak hem de beynin farklı bölgelerinin incelenmesi açısından yetersizdir. Prefrontal korteksin yanısıra hipokampus gibi limbik sistemin önemli bölgelerinin incelenmesi gereklidir. Bu çalışma ile bipolar bozukluğun ortaya çıkışında prefrontal korteks ve hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R düzeyleri arasındaki ilişkiyi ve beynin bu bölgelerinde olanzapinin IGF-1 ve IGF-1R düzeyi üzerine etkisini incelemek amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bipolar Bozukluk

Bipolar bozukluk (BB), belli bir düzen olmaksızın yineleyen mani, hipomani, depresyon ya da karma görünümlü duygu durum dönemleri ile karakterize, kronik seyirli, mesleki, ailesel ve sosyal alanlarda işlevsellikte belirgin bozulmaya yol açan bir duygu durum bozukluğudur (Maj et al., 2002). Bilişsel belirtiler, özellikle değişen tepki süresi, sözel ve görsel bellek ve yürütücü işlev bozukluğu hastalarda oldukça yaygındır ve hastalarda yetersizliğe sebep olur (Cullen et al., 2016).

Bipolar bozukluklar geleneksel olarak ya psikoz spektrumunun bir parçası olarak (özellikle klasik manik-depresif psikoz kavramına karşılık gelen spektrumun en şiddetli ucunun bir parçası olarak) ya da bir duygudurum bozukluğu (duygusal bir bozukluk) potansiyel olarak tek kutuplu depresyondan bipolar bozukluğa uzanan bir süreç olarak olarak sınıflandırılmıştır (Goodwin and Jamison, 2007). Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, Beşinci Baskı (DSM-5) bipolar bozuklukları, bipolar I bozukluk, bipolar II bozukluk, siklotimi ve belirtilen alt tiplere uymayan atipik formlar olarak alt sınıflara ayırır. Bu alt sınıflandırma manik (veya hipomanik) ve depresif atakların ciddiyetine ve süresine bağlıdır. Manik ataklar sırasında hiperaktivite, artan benlik saygısı, azalmış uyku ihtiyacı, geniş ruh hali ve davranış ve psikotik belirtiler yaygındır. Depresif dönemlerde ise azalmış enerji, üzüntü hali, sosyal yoksunluk, hipersomnia ve düşük benlik saygısı temel özelliklerdir. Psikoz, depresif ataklar sırasında ortaya çıkabilir, ancak mani sırasında daha sık görülür. Hipomani daha hafif ve daha kısa bir mani şeklidir ve hipomani olan bireylerin nispeten sağlam bir yargısı vardır. Genellikle, akut duygudurum değişiklikleri bölümleri her iki kutuptaki semptomları (yani karışık semptomlar) içerebilir. Bipolar bozukluğu olan hastalar, tam remisyon elde edebilir ve bozukluğun gizli olduğu varsayılan semptomsuz dönemlere sahip olabilir. Bununla birlikte, birçok durumda, rezidüel ve eşik altı semptomlar yaygın bir şekilde devam eder ve özellikle ikinci, üçüncü ve sonraki ataklardan sonra fonksiyonel iyileşme zorlaşır. Tedavi, manik (veya hipomanik) ve depresif ataklardaki akut fazlar için farmakolojik ve farmakolojik olmayan tedavileri ve atak tekrarını önlemek için uzun süreli tedaviyi içerir (Vieta et al., 2018).

2.1.1. Epidemiolojisi

Bipolar bozukluklar küresel popülasyonun %1'ini etkiler. Tahmini yaşam boyu prevalansı bipolar I bozukluk için %0.6, bipolar II bozukluk için %0.4, bipolar bozuklukların eşik dışı belirtileri için %1.4 ve bipolar bozuklukların daha geniş bipolar spektrumu için %2.4'tür (Merikangas et al., 2011). Bazı çalışmalar daha yüksek oranlar önermiştir: örneğin; DSM-5 kriterlerine göre bipolar I bozukluk için 12 aylık global prevalans %1.5 ve yaşam boyu prevalansı %2.1 olarak bildirilmiştir (Blanco et al., 2017).

BB, büyük nörolojik hastalıklara veya kansere göre yaşam kalitesini daha fazla düşüren bir hastalıktır (Merikangas et al., 2011). Bipolar bozuklukların başlangıcı etnik köken, milliyet ve sosyoekonomik durumdan bağımsızdır. Bipolar I bozukluğun prevalansı erkek ve kadınlarda benzerdir, ancak bipolar II bozukluk kadınlarda daha yaygındır (Nivoli et al., 2011). BB, gençlik çağında başlar, ortalama başlangıç yaşı ~20'dir (Goodwin and Jamison, 2007). Tanı ve tedavi genellikle genç erişkinlikte başlar. Bununla birlikte, değişken veriler bildirilmiş olmasına rağmen, bazı çalışmalarda semptomların başlangıcından tanıya kadar 5 yıllık bir gecikme olduğu gösterilmiştir. Ayrıca komorbiditesi ve depresif başlangıçlı polaritesi olan hastalarda tanıya kadar geçen süre daha uzundur (Dagani et al., 2017). Daha da önemlisi, tedavi edilmeyen hastalığın süresi (yani, ilk epizod ile yeterli tedavi arasında) prognozu yönlendirir ve tedavi edilmeyen hastalığın daha uzun sürmesi, artan sayıda intihar girişimi ve daha uzun hastalık süresi ile ilişkilendirilmiştir (Altamura et al., 2010).

Küresel hastalık yüküne ilişkin tahminler, engelliliğin ilk 20 nedeninden 5'inin mental hastalıklardan kaynaklandığını göstermiştir. BB, depresyon, anksiyete bozuklukları, şizofreni ve distimiden sonra küresel hastalık yükünün 17. önde gelen nedenidir (Vigo et al., 2016). Yaşam boyu süren ve tekrarlayan bir hastalık olarak, BB sıklıkla işlevsel bozulmaya ve yaşam kalitesinin düşmesine yol açar (Oldis et al., 2016). BB, diğer ruh hali veya anksiyete bozukluklarına göre daha ciddi olabilen düşük yaşam kalitesi ile ilişkilidir (Michalak et al., 2008). Bu yük, bakım veren yükü ve depresyonun yaygın olduğu aile üyelerine kadar uzanır (Perlick et al., 2001). Ek olarak, bipolar bozukluklar ekonomik olarak aktif nüfusu etkilediğinden, doğrudan sağlık bakım maliyetleri ve engellilik maliyetleri açısından topluma yüksek maliyetler yüklenilmektedir (Gardner et al., 2006). Bipolar bozukluğu olan hastalarda işsizlik oranı genel popülasyona göre 4-10 kat daha fazla (Grande et al., 2013), boşanma ve

ayrılma oranı ise 3 kat daha yüksektir (Suppes et al., 2001). Bununla birlikte, bu hastalık dünya genelinde ciddi iş gücü kaybına da yol açmaktadır. Küresel olarak 1990 ile 2013 yılları arasında hastalığın prevalansında %49.1 oranında artış olduğu ve bu hastalıktan dolayı çalışamaz durumda geçen yıl sayısının 2013 yılında toplam 9.9 milyon yıl olduğu belirtilmektedir (Ferrari et al., 2016). Bipolar bozuklukların genellikle 20 yaş civarında ortaya çıkması, yaşa uygun eğitimsel, sosyal ve gelişimsel görevlerin yanı sıra benlik ve kimlik duygusunun gelişimine olumsuz etki göstermektedir (Inder et al., 2008). Akademik yetersizlik ve zayıf mesleki entegrasyon da erken yaşta ortaya çıkan hastalığın diğer olumsuz sonuçlarıdır (Grande et al., 2016).

2.1.2. Patofizyoloji

Bipolar bozuklukların patogenezi ve patofizyolojisi hakkındaki bilgiler moleküler teknolojilerdeki gelişmelerle birlikte hızla ilerlemiştir. Tarihsel olarak, duygudurum bozukluklarının, serotonerjik, noradrenerjik ve özellikle dopaminerjik yollar dahil olmak üzere monoamin nörotransmitter sistemlerindeki bir dengesizlikten kaynaklandığı düşünülüyordu. Ancak, bu sistemlerde tekil bir işlev bozukluğu tespit edilmemiştir. Kan ve idrardaki hormon düzeylerinin analizi ve nöroendokrin sistemlerin, özellikle hipotalamik-hipofiz-tiroid eksen ve hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenin değerlendirilmesi dahil, duygudurum bozukluklarında değişen endokrin işlevler geniş çapta incelenmiştir (Goodwin and Jamison, 2007).

Mevcut çalışmalar daha çok bipolar bozuklukta prefrontal korteks (PFC), hipokampus (HC), amigdala ve limbik sistemin diğer bölgeleri dahil beyin bölgelerindeki sinaptik ve nöral plastisitenin modülasyonuna odaklanmıştır (Grande et al., 2010; Grande et al., 2014). Gerçekten de, bipolar bozukluğu olan hastalardan alınan post-mortem prefrontal kortekste dendritik omurga kaybı bildirilmiştir (Konopaske et al., 2014). Buna ek olarak, nörogörüntüleme çalışmalarında sol pars opercularis, sol fusiform girus, sol rostral orta frontal korteks ve hipokampusta gri maddede kayıp olduğu bildirilmiştir (Cao et al., 2016; Hibar et al., 2018). Bipolar bozukluklarda beyinde meydana gelen bu değişikliklerin ortaya çıkış mekanizmasının incelendiği çalışmalarda mitokondriyal disfonksiyon, endoplazmik retikulum stresi, nöroinflamasyon, oksidasyon, apoptoz ve epigenetik değişiklikler gibi nöronal bağlantısallık üzerine etkisi olan hücresel ve moleküler değişiklikler incelenen konular arasındadır (Berk et al., 2011). Bununla birlikte, bu araştırma dizisinin hala erken

aşamalarında olduğu için, bu yolların işlev bozukluğunun bipolar bozukluğun gelişimine katkıda bulunup bulunmadığı tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır.

2.1.3. Sınıflandırma

2.1.3.1. Bipolar I Bozukluk

Bipolar I bozukluk, mani atakları ile karakterizedir (Angst and Marneros, 2001). Bipolar bozukluk I'in teşhisi için yalnızca mani öyküsü veya mani varlığı gerekir; majör depresyon atakları gerekli değildir. Aslında, bipolar I bozukluğu olan hastaların ~%5'inin yalnızca manik ataklar (unipolar mani) yaşadığı tahmin edilmektedir, ancak bu hastalardan bazıları yaşamın ilerleyen dönemlerinde majör depresyon atakları geliştirebilir ve subklinik depresyona sahip olabilir. Bipolar I bozukluğu olan hastalarda hipomanik semptomlar ortaya çıkabilir ve hasta için artan instabiliteyi temsil edebilir. Psikoz, bipolar I bozukluğu olan bireylerde de ortaya çıkabilir. Psikozun akut manik epizodu olan hastaların %75'inde meydana geldiği tahmin edilmektedir (Goodwin and Jamison, 2007). Yaklaşık 13 yıl süren uzun süreli bir takip çalışmasında, bipolar I bozukluğu olan hastaların takip haftalarının %47.3'ünde semptomatik olarak hasta oldukları bulunmuştur. Hastaların takip haftalarının %31.9'unda depresif belirtiler ve takip haftalarının %8.9'unda hastalarda manik veya hipomanik belirtiler saptanmıştır. Subsendromal semptomlar, sendrom ataklarından üç kat daha sık olduğu gözlemlenmiştir (Judd et al., 2002).

2.1.3.2. Bipolar II Bozukluk

Bipolar II bozukluk, en az bir hipomanik dönem ve bir majör depresif dönem ile karakterizedir. Belirtiler, madde veya ilaç kullanımına veya diğer psikiyatrik veya tıbbi durumlara bağlı olmamalıdır. Hastalığın seyri, genellikle önemli ve sıklıkla uzun süreli depresyon dönemleri ve periyodik hipomanik semptomlarla karakterizedir. Belki de bu depresyon yükünden dolayı, bipolar II bozukluğu olan hastalardaki genel işlevsel bozulma ve intihar riski derecesi, bipolar I bozukluğu olan hastalarla hemen hemen aynıdır (Merikangas et al., 2011).

Bipolar II bozukluğunun ayırıcı tanısı genellikle depresif özelliklerin baskın olması nedeniyle karmaşıktır. Birkaç boylamsal çalışma, bipolar II bozukluğunun, bireyin yaşamı boyunca devam eden istikrarlı bir tanı olduğunu ileri sürmüştür (Coryell et al., 1995; Vieta et al., 2008). Psikotik belirtiler bipolar II depresif epizodlar sırasında ortaya çıkabilmekte ve hastaların yaklaşık olarak %50'sinde bildirilmektedir

(Goodwin and Jamison, 2007). 13 yıllık uzun süreli bir takip çalışmasında, bipolar II bozukluğu olan hastalar, takip haftalarının %53.9'unda semptomatik olarak hastadır. Hastaların takip haftalarının %50.3'ünde depresyon semptomları ve takip haftalarının %1.3'ünde hipomani semptomları bildirilmiştir. Subsendromal belirtiler, majör depresif belirtilerden üç kat daha sık olduğu gözlemlenmiştir (Judd et al., 2003).

2.1.3.3. Siklotimi

Siklotimi, mizaçtan bipolar bozuklukların prodromuna kadar her şeyi tanımlayan tarihsel olarak önemli bir tanıdır. Siklotimi, hipomanik veya depresif atak kriterlerini karşılamayan hem hipomanik hem de depresif semptomlarla birlikte 2 yıldan uzun süren duygudurum bozukluğu olarak tanımlanır. Bazı araştırmalar, siklotimi teşhisi konan kişilerin $\geq$ %30'unun, ağırlıklı olarak bipolar II bozukluğu geliştirdiğini tahmin etmektedir (Hantouche et al., 1998).

2.1.3.4. Diğer tanımlanmış bipolar ve tanımlanmamış bipolar ve ilgili bozukluklar

Belirtilen diğer bipolar ve ilişkili bozukluklar, kısa süreli hipomanik ataklar (2-3 gün) ve majör depresif ataklar, yetersiz semptomlu hipomanik ataklar ve majör depresif ataklar, önceden majör depresif atak olmayan hipomanik ataklar ve kısa süreli siklotimidir (<2 yıl) (Vieta et al., 2018).

2.1.3.5. Maddeye bağlı ve ilaca bağlı bipolar ve ilgili bozukluklar

Bu kategori, herhangi bir madde, ilaç veya tıbbi durumun neden olduğu duygudurum bozukluğu ve mani gibi bipolar bozuklukların semptomlarını içerir (Vieta et al., 2018).

2.1.4. Bipolar Bozukluğun Beyin Üzerine Etkileri

Bipolar bozukluğun ortaya çıkışında beynin hangi bölgelerinde hangi değişikliklerin etkili olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Subkortikal yapıların hacimsel mega analizinde 1745 BB hastası ve 2613 sağlıklı kontrolle yapılan çalışmada, BB'nin artmış lateral ventriküler boyutu ve azalmış amigdala, hipokampus ve talamus hacimleri ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Hibar et al., 2016). Beyin yapısının kesitsel çalışmaları, yaşam boyunca BB'de beyin ve prefrontal lob hacminde azalma, globus pallidus ve lateral ventrikül hacminde artma göstermektedir (Arnone et al., 2009).

BB, deklaratif hafızadaki eksikliklerin eşlik ettiği bir psikiyatrik bozukluktur. (Altshuler et al., 2004; Bearden et al., 2006; Robinson et al., 2006; Van Gorp et al., 1999). Hipokampusun deklaratif hafızadaki önemli işlevi göz önüne alındığında (Eichenbaum, 2000), BB'deki yapısal veya işlevsel hipokampal anormallikler hafıza bozukluğunun bir nedeni olabilir. 1043 hastayı kapsayan 25 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde BB'de hipokampal hacimdeki azalma manyetik rezonans görüntüleme veya fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme yöntemi ile tespit edilmiştir (Otten and Meeter, 2015). Hipokampal hacmin araştırıldığı üç çalışmada katılımcılara ek olarak hafıza testi uygulanmıştır (Avery et al., 2013; Chepenik et al., 2012; Delaloye et al., 2009). Bu çalışmalardan ikisi, BB hastalarında hipokampal hacim ve hafıza performansları arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Avery et al., 2013; Chepenik et al., 2012) Bu bulgu, bipolar bozukluktaki hafıza performansının hipokampus hacmiyle ilişkili olduğunu ve daha küçük hacimlerin hafıza güçlüklerindeki artışla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. BB'de özellikle hipokampal fonksiyonun daha fazla araştırılması önerilmektedir (Otten and Meeter, 2015).

Bununla birlikte, bipolar bozukluğu olan hastalarda lateral ve medial prefrontal bölgelerde, insula ve fusiform girusta ve hipokampus ve talamus hacminde kortikal kalınlıkta ince fakat ölçülebilir azalmalar tespit edilmiştir (Hibar et al., 2016; Hibar et al., 2018; Pezzoli et al., 2018). Afektif ve bilişsel kontrol görevleri sırasında, hastalar amigdalada, insulada ve anterior singulat kortekste aşırı aktivasyon ve azalmış ventrolateral prefrontal kortikal fonksiyon gösterirler (Chen et al., 2011; Delvecchio et al., 2012). BB'de hastalar etkiyi işleyen subkortikal bölgeler arasında ve ventral PFC bölgelerinin ileri bağlantılarında ve PFC'den subkortikal ve posterior kortikal bölgelere azaltılmış düzenleyici girdide anormal bağlantı gösterirler (Birur et al., 2017; Vargas et al., 2013). Diğer çalışmalar, sensorimotor ağların ve dahili olarak oluşturulan biliş sırasında daha aktif hale gelen arka ve orta hat bölgelerinden oluşan varsayılan mod ağının (DMN) (Ongür et al., 2010; Calhoun et al., 2012; Khadka et al., 2013) anormal dinlenme durumu bağlantısını bildirmiştir (Raichle et al., 2001). Bu nedenle, bipolar bozukluğun ortaya çıkışı, (i) duygulanım işleme bölgeleri arasındaki hiperaktivasyon ve hiper bağlantı, (ii) bilişsel kontrolle ilgili PFC bölgelerinden gelen düzenleyici girdinin azalması ve (iii) DMN ve sensorimotor ağların bağlanabilirliğinin azalması ile ilişkili görünmektedir (Frangou, 2019).

2.2. Ketamin

(R,S)-Ketamin, iki optik enantiyomer (S)- ve (R)-ketamin'den oluşan molekül ağırlığı 237.73 olan fenilsikloheksilamin türevidir (Adams et al., 1978). Ketamin, 1970 yılında insan kullanımı için hızlı etkili i.v. anestezik ajan olarak ticari kullanılabilir hale gelmiştir. (Dundee et al., 1970). Ketamin, 1978 yılında piyasadan kaldırılan ana ilacın ciddi psikotomimetik/psikodisleptik yan etkilerini ve kötüye kullanım potansiyelini azaltmak amacıyla fensiklidinden (PCP) türetilmiştir (Mion and Villevieille, 2013). Bununla birlikte, ketamin hala dissosiyatif etkilere neden olmaktadır (Domino et al., 1965; Erdemir et al., 1970; Oye et al., 1992; Krystal et al., 1994; Bowdle et al., 1998; Newcomer et al., 1999; Lahti et al., 2001; Pomarol-Clotet et al., 2006) ve PCP'den daha az ölçüde olsa da kötüye kullanım potansiyeline sahiptir (Siegel, 1978; Reich and Silvay, 1989; Dalgarno and Shewan, 1996; Stewart, 2001; Morgan and Curran, 2012). Bu yan etkilere rağmen, ketaminin kısa yarı ömrü ve klinik olarak anlamlı solunum depresyonu olmaması nedeniyle anestezik ajan olarak arzu edilen bir ilaç olduğu kanıtlanmıştır (Clements et al., 1982; Gorlin et al., 2016). Ketamin yetişkinlerde, çocuklarda ve obstetrik hastalarda iyi karakterize edilmiş anestezik etkisinin yanı sıra analjezik (Weisman, 1971), antiinflamatuvar etkilere (Roytblat et al., 1998) ve antidepresan aktiviteye sahiptir (Berman et al., 2000; Zarate et al., 2006; Wolff and Winstock, 2006).

2.2.1. Ketaminin Farmakokinetik Özellikleri

Ketamin intravenöz, subkutan, intramüsküler, intranazal, oral ve dilaltı yoldan uygulanabilir (Mion, 2017). Ketaminin doruk plazma konsantrasyonları, intravenöz uygulamadan sonraki bir dakika, intramüsküler enjeksiyondan sonraki beş dakika ve intranazal uygulamadan sonraki on beş dakika içinde ortaya çıkmaktadır (Rathmell and Rosow 2015, Vlerick et al., 2020). Ketaminin biyoyararlanımı sadece %29'dur ve ağızdan veya dilaltı uygulamadan sonra 45 dakika içinde doruk plazma konsantrasyonları oluşur (Rolan et al., 2014). Ketaminin lipitlerde iyi çözünmesi kan-beyin bariyeri boyunca hızlı transferini ve dolayısıyla genellikle intravenöz uygulamadan sonra 45 ila 60 saniye içinde meydana gelen hızlı etki başlangıcını sağlar (Rathmell and Rosow, 2015; White and Eng, 2013). Beyinde ve diğer yüksek oranda perfüze olmuş dokularda biriken ketamin daha sonra yağ ve kas gibi daha az perfüze olmuş dokulara yeniden dağıtılır. Daha az perfüze dokulardan ketamin salınımı, ortaya çıktıktan sonra geç psikodinamik etkilere neden olur. Yüksek karaciğer klirens hızı,

iki ila üç saatlik nispeten kısa eliminasyon yarı süresi ile sonuçlanır. Sitokrom P450 enzimleri tarafından demetilasyon, norketaminin oluşumuna yol açar ve oluşan norketamin özellikle tekrarlanan intravenöz boluslar veya sürekli intravenöz infüzyon sonrası ketaminin uzun süreli etkilerine katkıda bulunur (Rathmell and Rosow, 2015; White and Eng, 2013; White et al. 1982).

2.2.2. Ketamin ve Bipolar Bozukluk

Önceki çalışmalarda, BB'da glutamat reseptörlerinin aktivitesinde değişiklikler olduğu (Kugaya and Sanacora, 2005; Maeng and Zarate, 2007) ve hipokampusta N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör alt birimlerinin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (McCullumsmith et al., 2007). Ketamin, bir glutamat iyonotropik reseptörü olan NMDA reseptörünün yarışmasız antagonistidir. Ketamin medial PFC'deki GABA salınımı yapan internöronlarda bulunan bir NMDA-R alt kümesini bloke ederek glutamat salınımını ve uzun vadeli bir güçlenmenin (LTP) indüklenmesini kolaylaştıran GABA salınımını azaltır (Li et al., 2010). Glutamat sinyalleme sinin bu dolaylı disinhibisyon hipotezi, ketaminin, inhibitör GABA internöronlarının seçici blokajı yoluyla kortikal uyarılabilirlikte hızlı artışlara neden olduğunu ve böylece medial PFC'de glutamat salınımını arttırdığını göstermektedir (Miller et al., 2016).

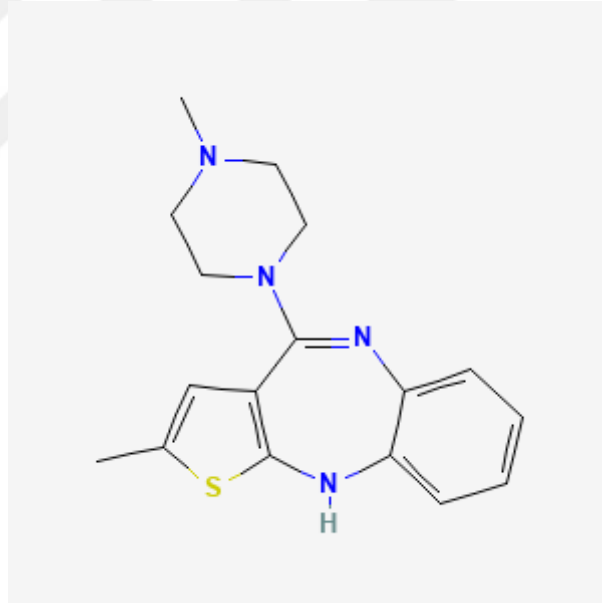
Birkaç klinik ve prelinik çalışma, glutamaterjik sistemin şiddetli duygudurum bozuklukları için yeni bir terapötik hedefi temsil edebileceğini düşündürmektedir (Coyle and Duman, 2003; Maeng and Zarate, 2007). Tıbbi literatür, glutamaterjik ve dopaminerjik nörodevre arasında dolaylı ancak işlevsel bir etkileşim olduğunu öne sürmektedir (RorickKehn et al., 2007), bu da sıçanlarda amfetamin kaynaklı hiperlokomosyonda ve insanlarda psikotomimetik etkilerde glutamaterjik mekanizmaların rol oynadığını öne sürer. Klinik öncesi çalışmalar, glutamaterjik sistemin modülasyonunun, özellikle limbik alanlarda, psikotik bozuklukları ve anksiyeteyi tedavi etmek için yeni bir terapötik mekanizma ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür (DD and Marek 2002; Swanson et al., 2005; Heresco-levy, 2005).

Hayvan modellerinin geliştirilmesi, BB'de yer alan hücre içi sistemleri incelemek için önemli bir araç olmuştur (Manji and Chen, 2002; Einat et al., 2003). Birçok model, bireysel bir mani veya depresyon dönemini taklit eden davranışları oluşturmaya çalışarak BB indüksiyonuna odaklanmıştır. Bu modeller kayda değer sayıdadır ve birçoğunun potansiyel antimanik veya antidepresan özelliklere sahip

ilaçları belirlemede tahminsel geçerliliği vardır (Duman and Monteggia, 2006; Einat and Manji, 2006). Ricke ve ark. (2011), refleks sempatik distrofi için ketamin tedavisi sırasında uzamış maninin indüklendiği bir vaka çalışması bildirmesi bu durumu desteklemektedir. Birlikte ele alındığında, bu çalışmalar glutamaterjik sistemin BB patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, ketamin tarafından indüklenen ve glutamaterjik sistem değişikliklerini taklit eden bir hayvan mani modeli, bu sistemi BB'de değerlendirmek için önemlidir.

2.3. Olanzapin

Olanzapin, 2. pozisyonda bir metil grubu ve 4. pozisyonda bir 4-metilpiperazin-1-il grubu içeren 10H-tieno[2,3-b][1,5]benzodiazepin olan bir benzodiazepindir (Şekil 2.1) (Lund and Perry, 2000). Lipofilik karakterde olan olanzapinin moleküler formülü $C_{17}H_{20}N_4S$ ve moleküler ağırlığı 312,44 g/mol'dür (Lund and Perry, 2000; Markowitz et al., 2006).



Şekil 2.1. Olanzapinin kimyasal yapısı (Pubchem, 2023)

Tienobenzodiazepin türevi olan olanzapin (Zyprexa®), şizofreni ve bipolar I bozukluğun oral tedavisinde etkinliği kanıtlanmış atipik bir antipsikotiktir (Bhana and Perry, 2001). Oral olanzapin, hem tek ajan tedavisi olarak hem de lityum veya valproat semisodyum ile kombinasyon halinde ek tedavi olarak bipolar maninin tedavisinde etkilidir. Akut atakların tedavisinde olanzapin plaseboda üstündür ve mani semptomlarını azaltmada ve remisyon sağlamada en az lityum, valproat semisodyum, haloperidol ve risperidon kadar etkilidir. Olanzapin, tedaviye yanıt verenlerde uzun

sürekli idame tedavisi sırasında nüksü geciktirmede veya önlemede de etkilidir ve şu anda bu endikasyon için onaylanmış tek atipik antipsikotiktir. Olanzapin genellikle iyi tolere edilir ve çoğu atipik ajandan daha yüksek kilo alımı insidansı ile ilişkili olmasına rağmen, düşük ekstrapiramidal semptom (EPS) insidansına sahiptir. Bu nedenle oral olanzapin, hem manik epizodların akut tedavisi için hem de bipolar I bozuklukla ilişkili manik, depresif veya karma ataklara dönüşmenin uzun süreli önlenmesi için faydalı bir birinci basamak veya yardımcı maddedir (McCormack and Wiseman, 2004).

Olanzapin, antipsikotik etkisinin yanı sıra antinausea ve antiemetik etkilere de sahiptir. Seçici bir monoaminerjik antagonist olarak olanzapin, serotoninerjik, dopaminerjik, muskarinik M1-5, histamin H1 ve alfa-1-adrenerjik reseptörlere yüksek affinite ile bağlanırken; gama-aminobütirik asit tip A, benzodiazepin ve beta-adrenerjik reseptörlere zayıf bağlanır. Bu ajanın antinausea ve antiemetik etkileri, serotonin için 5-HT₂ ve 5-HT₃ reseptörlerinin blokajına bağlı görünmektedir. Şizofrenideki kesin etki mekanizması bilinmemekle birlikte, olanzapinin antipsikotik aktivitesinin, EPS'yi en aza indirmeye yardımcı olan hızlı ligand-reseptör ayrışma kinetiği ile dopamin D₂ reseptörlerine üzerinden antagonistik etki göstererek aracılık ettiği öne sürülmüştür (Pubchem, 2023). Olanzapinin D₂ reseptörleri üzerinden etkisi halüsinasyonlarda, sanrılarda, dezorganize konuşma, düşünce ve davranışta azalma olarak bildirilmektedir. Öte yandan, serotonin 5HT_{2A} reseptörü üzerindeki etkisi, anhedoni, düz duygulanım, aloji, isteksizlik ve dikkat eksikliğinin başlamasını önlemektir (Thomas and Saadabadi, 2022). Spesifik etki mekanizmasına dayalı olarak, olanzapin, dopamin reseptörü izotiplerinin geri kalanıyla karşılaştırıldığında, dopamin D₂ reseptörüne daha yüksek bir afinite ile bağlanır. Bu özellik, ilacın yan etkilerini önemli ölçüde azaltır (Schatzberg and Nemeroff, 2017). Olanzapinin orijinal kullanımına yönelik klinik deneyler, yetişkinlerde şizofreni ve bipolar bozukluğun ve ergenlerde bipolar bozuklukla ilişkili akut manik veya karma atakların tedavisinde önemli etkinlik göstermiştir (Brunner et al., 2013). Olanzapinin dopamin ve serotonin reseptörleri üzerinden kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmayı azalttığı öne sürülmüştür. Bu etki için birkaç klinik çalışma yürütülmüş ve olanzapinin, bulantı ve kusmanın kontrolünde önemli bir artış sağlayabildiği gösterilmiştir (Chelkeba et al., 2017).

2.3.1. Farmakolojik Özellikler

Olanzapinin antimanik ve antipsikotik etkilerini ağırlıklı olarak dopamin D2 ve serotonin (5-hidroksitriptamin) 5-HT_{2A} reseptörlerine bağlanarak ve bu reseptörleri bloke ederek gösterdiğine inanılmaktadır (Bhana and Perry, 2001; Meltzer, 1996; Richelson, 1999). Olanzapinin uzun süreli uygulanması mezolimbik (A10) yoldaki dopaminerjik nöronları seçici olarak bloke ederken nigrostriatal (A9) yoldakileri bloke etmez (Stockton and Rasmussen, 1996). Bu durum, geleneksel antipsikotik ajanlarla görülenden daha düşük EPS insidansını açıklayabilir (Kinon and Lieberman, 1996). Olanzapin, 5-HT_{2A-C,3,6,7}, D₁₋₅, muskarinik M₁₋₅, histamin H₁ ve α ₁- ve α ₂-adrenerjik reseptörlere yüksek veya orta derecede afinite ile bağlanır ve ilacın bilinen klinik ve yan etkilerini bu mekanizmalarla gösterir (Kapur et al., 1998; Kapur and Seeman, 2001).

2.3.2. Etki mekanizması

Olanzapinin aktivitesi, beyindeki dopamin reseptörü D₁, D₂, D₃ ve D₄, serotonin reseptörleri 5HT_{2A}, 5HT_{2C}, 5HT₃ ve 5HT₆, alfa-1 adrenerjik reseptör, histamin reseptörü H₁ ve çoklu muskarinik reseptörler dahil olmak üzere multipl nöronal reseptörlerin antagonizması ile sağlanır (Chelkeba et al., 2017; Yang et al., 2017). Olanzapin geniş bir hedef profili sunar, ancak mezolimbik yoldaki dopamin D₂ reseptörüne karşı antagonistik etkisi, dopaminin post-sinaptik reseptörde potansiyel bir etkiye sahip olmasını engellediği için anahtardır. Olanzapinin dopamin D₂ reseptörlerine bağlanması kolayca ayrılabilir ve bu nedenle belirli bir derecede dopamin nörotransmisyonuna izin verir. Öte yandan olanzapin, frontal korteksteki serotonin 5HT_{2A} reseptörlerinde dopamin D₂ reseptörlerinde bildirilene benzer şekilde etki eder (Thomas and Saadabadi, 2022).

2.3.3. Protein Bağlama

Olanzapin büyük ölçüde plazma proteinlerine bağlanır ve bu nedenle uygulanan dozun yaklaşık %93'ü bağlanır. Bağlanma için ana proteinler albümin ve alfa-1 asit glikoproteindir (Thomas and Saadabadi, 2022). Olanzapin, 0.5-30 mg doz aralığında lineer farmakokinetik sergiler ve 8 gün boyunca günde bir kez 10 mg oral uygulamadan sonra elde edilen kararlı durum pik plazma seviyeleri 20 µg/L'dir. İlaç vücutta yaygın olarak dağıtılır. Olanzapin, sitokrom P450 (CYP) 1A2, CYP2D6 ve flavin mono-oksijenaz-3 sistemi tarafından hızlı ve kapsamlı bir şekilde metabolize

edilir ve yaklaşık 33 saatlik bir eliminasyon yarı ömrü ile esas olarak idrarla atılır (Bhana and Perry, 2001; Eli Lilly and Company, 2004; Callaghan et al., 1999). Olanzapinin klerensi, CYP1A2 (fluvoksamin) ve CYP2D6 (fluoksetin) inhibitörleri tarafından orta derecede azaltılır ve güçlü CYP1A2 indükleyicileri (karbamazepin, sigara) ile artar (Bhana and Perry, 2001; Callaghan et al., 1999).

2.3.4. Terapötik Etkinlik

Randomize, çift kör çalışmalarda, olanzapin plaseboda üstün olarak bipolar I bozuklukla ilişkili akut maninin tedavisinde en az lityum, valproat semisodyum, haloperidol veya risperidon kadar etkili gözükmeştir. Olanzapin, lityum veya valproat semisodyum ile mevcut tedaviye eklendiğinde akut bipolar maninin tedavisinde de plaseboda üstün olduğı bildirilmiştir. Yanıt verenlerde 12 aylık idame tedavisi sırasında olanzapin, nüksü geciktirmede ve nüksetme oranını afektif bir epizoda düşürmede plaseboda üstündür. Olanzapin, maniye nüksün önlenmesinde de lityumdan üstündür, ancak depresif bir döneme nüksetmeyi veya genel olarak nüksetmeyi önlemede değildir. Olanzapin, relaps süresi veya relaps oranı açısından valproat semisodyumdan farklı değildir (McCormack and Wiseman, 2004).

2.3.5. Sağlıkla İlgili Yaşam Kalitesi ve Farmakoekonomik Hususlar

Olanzapinin, hem akut hem de koruma tedavisi sırasında bipolar bozukluğu olan hastaların sağlıkla ilgili yaşam kalitesini hem başlangıç hem de plaseboya göre iyileştirdiğı bildirilmektedir. Hastalarda olanzapin tarafından yaşam kalitesindeki iyileşmeler, haloperidol ile olanlardan önemli ölçüde daha fazla ve valproat semisodyum ile eşit veya daha büyüktür (McCormack and Wiseman, 2004).

2.3.6. Tolere Edilebilirlik

Sınırlı farmakoekonomik veriler, olanzapinin maliyet etkinliğinin büyük ölçüde risperidon, lityum veya valproat semisodyumunkine benzer olduğunu göstermektedir. Olanzapin, hem akut hem de uzun süreli koruma tedavisi sırasında genellikle iyi tolere edilmiştir. Olanzapin ile plaseboya göre anlamlı derecede daha yüksek insidanslı yan etkiler, akut tedavi sırasında somnolans, ağız kuruluğı, baş dönmesi ve vücut ağırlığı artışı ve koruma tedavisi sırasında vücut ağırlığı artışı, yorgunluk ve akatizidir (McCormack and Wiseman, 2004).

2.3.7. Olanzapinin Beyinde Yaptığı Değişiklikler

Olanzapinin kesin etki mekanizması bilinmemekle beraber beyinde ne gibi değişikliklere sebep olduğu hala tartışmalı bir konudur. Antipsikotik ilaçların şizofrenide beyin morfolojisi üzerindeki etkisi, zaman içinde beyin değişikliklerinin yorumlanmasını zorlaştırabilir. Atipik antipsikotik ilaçların kesilmesinin hastalarda beyin hacmindeki değişime etkisini değerlendiren bir çalışmada kontrollere göre hastalarda zaman içinde serebral gri madde ve kaudat nükleus hacmindeki azalma gözlemlenmiştir. Antipsikotik ilacı (olanzapin) bırakan hastalarda nükleus akumbens ve putamen hacimlerinde azalma olduğu, antipsikotik tedavisine devam eden hastalarda ise artış olduğunu tespit edilmiştir. Şizofreni hastalarında kontrole kıyasla gri cevher hacminde azalma olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, tedavinin kesilmesinin atipik ilaçların etkilerini tersine çevirdiğini düşündürülebilir (Boonstra et al., 2011).

Şizofrenide en tutarlı şekilde rapor edilen beyin anormalliklerinden biri hipokampusun azalmış hacim ve şekil deformasyonudur. Bununla birlikte, kronik antipsikotik ilaçlara maruz kalmanın beyine etkisi hala belirsizliğini korumaktadır. Olanzapine kronik maruziyetin hipokampus hacim değişikliğine sebep olmadığı, ancak sıçanın dorsal ve ventral hipokampusunda dışa doğru şekil deformasyonları olduğu bildirilmiştir (Crum et al., 2016).

Şizofreninin dopamin (DA) hipotezi, zihinsel hastalığın, seçilmiş beyin bölgelerinde aşırı dopamin iletiminden kaynaklandığını öne sürer. Şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotik ilaçlar tarafından dopamin reseptörlerinin bloke edilmesi de dahil olmak üzere çok sayıda kanıt bu hipotezi desteklemektedir. Ancak, dopamin D2 reseptörü blokajı, antipsikotik ilaçların terapötik etkisinin bazı önemli yönlerini açıklayamaz. Yapılan bir çalışmada, antipsikotik ilaçların, epigenetik profillerini değiştirerek DA yolundaki genlerin transkripsiyonunu etkileyebileceği varsayılmıştır. Bu hipotezi test etmek için, yaygın olarak kullanılan bir atipik antipsikotik ilaç olan olanzapinin, sıçanların beyin ve karaciğerindeki DA nörotransmisyonundan gelen genlerin DNA metilasyon durumu üzerindeki etkisini incelenmiştir. İlk atak şizofreni, şizoaffektif veya şizofreniform bozukluğu olan 16 remisyona giren, stabil hasta ve 20 sağlıklı kontrol dahil edildiği bu çalışmada kronik olanzapin kullanımının gen metilasyonunu değiştirerek DA aktivitesini azaltabileceği bildirilmiştir (Melka et al., 2013).

14 paranoid tedaviye dirençli şizofreni (TRS) hastası ile yapılan çalışmada, tedaviye dirençli şizofrenide olanzapinin etkili olduğu ve olanzapine iyi yanıt veren

hastalarda EEG değişikliklerinin daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Frontal alanların farklı bölgeleri arasında ve frontal ve posterior alanlar arasında intrahemisferik korelasyon artarken, teta2'de interhemisferik korelasyonun azaldığı gösterilmiştir. Olazapinin, TRS'de etkili olduğunu, psikiyatrik semptomları iyileştirdiğini ve özellikle iyi yanıt verenlerde fonksiyonel bir yeniden yapılanmayı gösterebilecek her yarım küre içindeki farklı alanlar arasında aktivite senkronizasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Cerdán et al., 2005).

Yapılan bir çalışmada olanzapinin hem akut hem de kronik dozunun, sensorimotor kortekste kan beyin perfüzyonunda azalmaya neden olurken, piriform korteks veya hipokampusta herhangi bir etki gözlenmediğı tespit edilmiştir. Ayrıca, kronik maruziyetin korteks hacminde azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir. Olanzapinin kronik kullanımı vücut ağırlığı, yağ dokusu kütlesi ve leptin düzeyinde artışa yol açarak beklenen metabolik etkilerini doğruladığı bildirilmiştir (Drazanova et al., 2019).

Son zamanlarda ise olanzapinin nöroprotektif özellik gösterdiğine dair çalışmalar dikkat çekmektedir. Olanzapinin glutamat maruziyetinden kaynaklı nörotoksisiteden embriyonik kortikal nöronları koruduğunu gösterilmiştir (Koprivica et al., 2011). Bunun yanında β -amyloid peptide(25-35) ile oluşturulan oksidatif stres kaynaklı nörotoksisiteden dolayı oluşan nöronal hücre ölümünde olanzapinin doza bağımlı bir azalma gösterdiğini bulunmuştur (Yang and Lung, 2011). Ayrıca, olanzapin ile in vivo yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanlarına uygulanan kronik tedavinin, prefrontal kortikal piramidal hücre dendritlerinde 6-hidroksidopamin kaynaklı değişiklikleri tersine çevirdiğini bildirilmiştir (Wang and Deutch, 2008). Yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanları ile yapılan bir başka çalışmada ise fensiklidine maruziyet sonrası olanzapin ile prefrontal korteksin II/III katmanındaki asimetric omurga sinapslarına karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu gösterilmiştir (Elsworth et al., 2011). Olanzapinin, C57BL/6 farelerinin frontal korteksindeki kuprizon kaynaklı (demyelinizasyon) nöropatolojik değişiklikler üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada olanzapin ile tedavinin farelerde miyelin ve oligodendrosit kaybını etkili bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Nöroprotektif olduğu düşünölen insölin benzeri büyüme faktörü 1'in (IGF-1) kortikal ekspresyon seviyesi olanzapin ile arttığı bildirilmiştir (Zhang et al., 2014).

2.4. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)

2.4.1. IGF-1'in İsimleri ve Taksonomisi

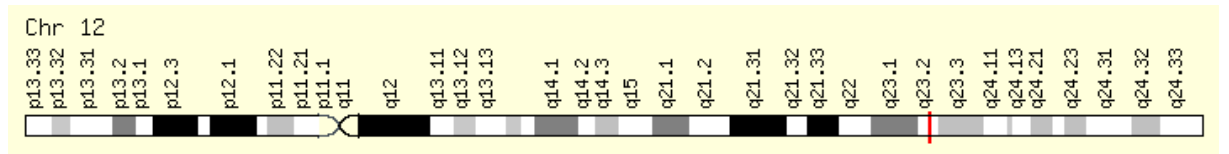
IGF-1, IGF ailesinin bir üyesidir. IGF-1 olgun proteini, insülinle yapısal benzerliğe sahip 70 amino asitlik bir peptittir. IGF-1 peptidi, altı eksondan oluşan tek bir IGF-1 geni tarafından kodlanır. Esas olarak merkezi sinir sisteminde (SSS) özellikle korteks, HC, serebellum (CB) ve hipotalamusta bulunan santral sinir sistemi hücre tipleri (Bach et al., 1991; Bondy and Lee, 1993) ve karaciğer gibi periferik dokularda üretilir (Le Roith, 2003). IGF-1, hem dolaşımda hem de dokularda yüksek afiniteli IGF-1 bağlayıcı proteinlere bağlanır ve bu bağlanma IGF-1 ve reseptörü arasındaki etkileşimleri düzenler, IGF-1'in yarı ömrünü uzatır (Fernandez and Torres-Alemán, 2012). IGF-1'in isimleri ve taksonomisi Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. IGF-1'in isimleri ve taksonomisi (Uniprot, 2023)

Protein İsimleri	Önerilen isim: Insulin-like growth factor I Alternatif isimler: Mechano growth factor (MGF) Somatomedin-C
Gen isimleri	Adı: IGF1 Sinonimler: IBP1
Organizma	Homo sapiens

2.4.2. Genomik Lokalizasyonu

12. kromozomun uzun kolunun 23.2 bölgesinde yer almaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. IGF-1'in kromozomal lokalizasyonu (Genecards, 2023a)

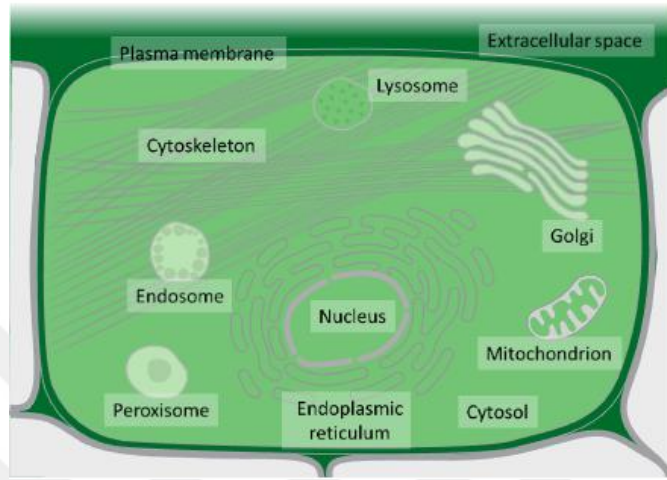
Aşağıda Tablo 2.2'de IGF-1'in gen özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.2. IGF-1 gen özellikleri (Genecards, 2023a)

Tip	Fonksiyonel
Büyüklik	85,966 baz çifti
Oryantasyon	Negatif zincir
Ekzon sayısı	7
Kromozomdaki pozisyonu	102,395,874-102,481,839
Sitogenetik band	12q23.2

2.4.3. Subselüler Lokalizasyonu

IGF-1'in hücrede yoğun bulunduğu kompartmandan az bulunduğu kompartmana doğru sıralaması ekstraselüler alan, plazma membranı, lizozom, sitozol, endoplazmik retikulum, nükleus, mitokondri, hücre iskeleti, golgi, endozom ve peroksizomdur (Şekil 2.3) (Genecards, 2023a).



Şekil 2.3. IGF-1'in subselüler lokalizasyonu

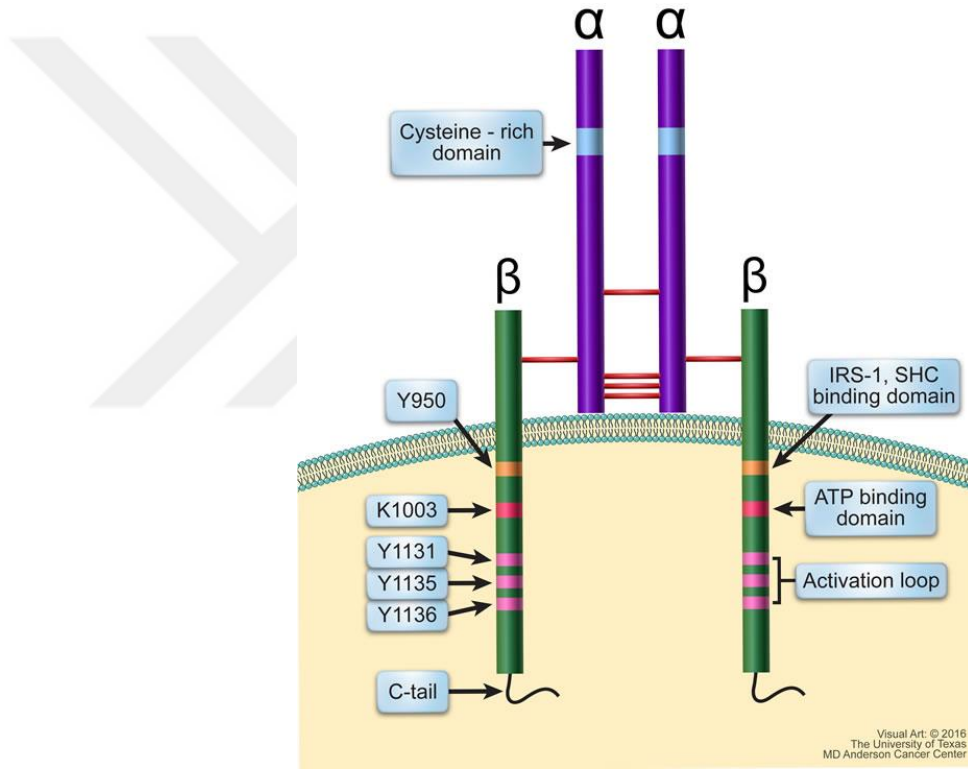
2.4.4. Fonksiyonları

Plazmadan izole edilen insülin benzeri büyüme faktörleri, yapısal ve fonksiyonel olarak insülin ile ilişkilidir ancak çok daha yüksek büyümeyi teşvik edici aktiviteye sahiptir. Osteoblastlarda [1-14C]-2-deoksi-D-glukoz (2DG) taşınmasında görevli olduğu ve glikojen sentezinin fizyolojik düzenleyicisi olduğu bildirilmektedir. Kemik kaynaklı osteoblastik (PyMS) hücrelerde glukoz taşınmasını uyarır ve sadece glikojen ve DNA sentezi açısından değil, aynı zamanda glukoz alımını artırma açısından da insülininden çok daha düşük konsantrasyonlarda bile etkilidir. Sinaps olgunlaşmasında rol oynayabilir. (Zoidis et al., 2011; Shcheglovitov et al., 2013). IGF-1'in Ca^{2+} 'ya bağlı ekzositozu, bulbus olfactoriusdakokunun duyuşal algılanması için gereklidir. IGF-1R için bir ligand görevi görür. IGF1R'nin alfa alt birimine bağlanır, beta alt birimindeki tirozin kalıntıları otofosforile eden intrinsik tirozin kinaz aktivitesinin aktivasyonuna yol açar, böylece Fosfoinositid-3 Kinaz (PI3K)-AKT Serine/Threonine Kinase 1 (AKT)/Protein Kinaz B(PKB) ve Ras-Mitojen-Aktive Protein Kinaz(MAPK) yollarının aktivasyonuna yol açan bir aşağı akış sinyal olaylarını başlatır. Integrin Subunit Alpha V(ITGAV): Integrin Subunit Beta 3 (ITGB3) ve ITGA6:ITGB4 integrinlere bağlanır. Integrinlere bağlanması ve ardından IGFR1 ile üçlü kompleks

oluşumu, IGF-1 sinyali için esastır. IGF-1R, MAPK3/ERK1, MAPK1/ERK2 ve AKT Serine/Threonine Kinase 1 (AKT1)'in fosforilasyonunu ve aktivasyonunu indükler (Saegusa et al., 2009; Fujita et al., 2012; 2013a; 2013b).

2.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptörü (IGF-1R)

IGF-1'in biyolojik etkilerine, iki alfa ve iki beta zincirinden oluşan bir transmembran tirozin kinaz olan insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü (IGF-1R) aracılık eder (Şekil 2.4). Heterotetramerik bir glikoprotein olan IGF-1R, yaşam boyunca hem nöral kök hücrelerde hem de tüm sinir hücrelerinde eksprese edilir (Baron-Van Evercooren vd., 1991; Popken vd., 2005).



Şekil 2.4. IGF-1R yapısı (Vishwamitra et al., 2017)

2.5.1. IGF-1R'nin İsimleri ve Taksonomisi

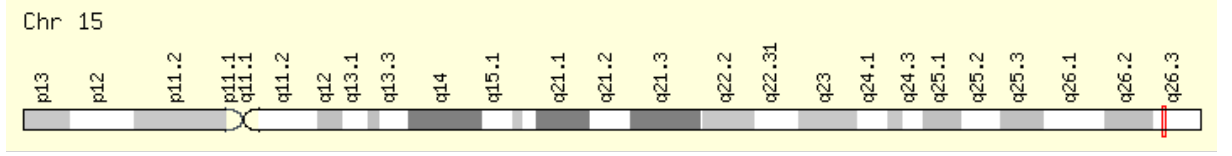
IGF-1R'nin isimleri ve taksonomisi Tablo 2.3'de gösterilmektedir (Genecards, 2023b; Uniprot, 2023b).

Tablo 2.3. IGF-1R'nin isimleri ve taksonomisi

Protein İsimleri	Önerilen isim: insulin-like growth factor 1 receptor
Gen isimleri	Adı: IGF1R Sinonimler: IGFR; CD221; IGFIR; JTK13
Organizma	Homo sapiens

2.5.2. Genomik Lokalizasyonu

15. kromozomun uzun kolunun 26.3 bölgesinde yer almaktadır.



Şekil 2.5. IGF-1R kromozomal lokalizasyon (Genecards, 2023b)

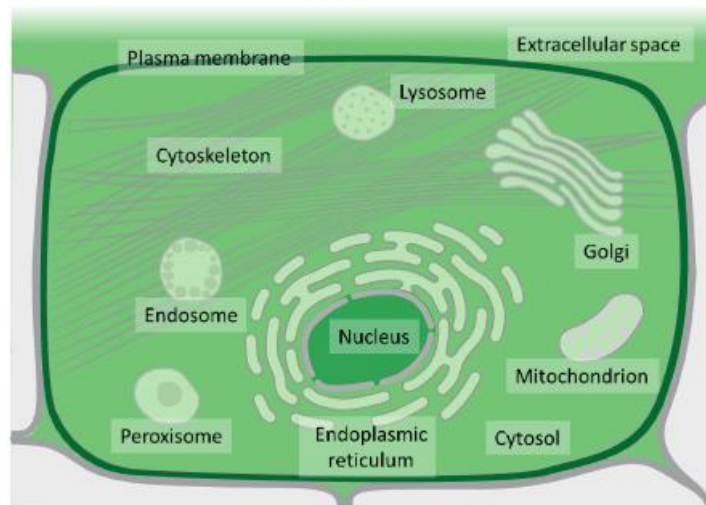
Aşağıda Tablo 2.4’de IGF-1R’in gen özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.4. IGF-1R gen özellikleri (Genecards, 2023b)

Tip	Fonksiyonel
Büyükklük	315,992 Baz çifti
Oryantasyon	Pozitif zincir
Ekzon sayısı	25
Kromozomdaki pozisyonu	98,648,539-98,964,530
Sitogenetik band	15q26.3

2.5.3. Subselüler Lokalizasyonu

IGF-1R, hücrede yoğun bulunduğu kompartmandan az bulunduğu kompartmana doğru sıralaması plazma membranı, nükleus, sitozol, ekstraselüler alan, golgi, lizozom, endozom, endoplazmik retikulum, peroksisom ve mitokondridir (Şekil 2.6) (Genecards, 2023b).



Şekil 2.6. IGF-1R’nin subselüler lokalizasyonu

2.5.4. Fonksiyonları

IGF-1'in etkilerine aracılık eden reseptör tirozin kinazdır. IGF-1'i yüksek afinite ile IGF-2 ve insülini ise daha düşük afinite ile bağlar. Aktive edilmiş IGF-1R, hücre büyümesi ve hayatta kalma kontrolünde rol oynar. IGF-1R, tümör transformasyonu ve malign hücrenin hayatta kalması için çok önemlidir. Ligand bağlanması, reseptör kinazı aktive ederek, reseptör otofosforilasyonuna ve insülin-reseptör substratları (IRS1/2), Shc ve 14-3-3 proteinleri dahil sinyal adaptör proteinleri olarak işlev gören çoklu substratların tirozin fosforilasyonuna yol açar. IRS proteinlerinin fosforilasyonu, PI3K-AKT/PKB yolu ve Ras-MAPK yolu olmak üzere iki ana sinyal yolunun aktivasyonuna yol açar. PI3K yolunun aktive edilmesi apoptozu inhibe eder ve protein sentezini uyarırken, MAPK yolunun aktive edilmesinin sonucu, hücresel proliferasyonun artmasıdır. Fosforillenmiş IRS1, PI3K'nın 85 kDa düzenleyici alt birimini aktive edebilir. Aktive protein AKT/PKB dahil olmak üzere birkaç aşağı akış substratının aktivasyonuna yol açar. AKT fosforilasyonu, sırayla, Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase(mTOR) aktivasyonu yoluyla protein sentezini artırır ve BCL2 Associated Agonist Of Cell Death(BAD)'nin fosforilasyonu ve inaktivasyonu yoluyla IGF-1R'nin antiapoptotik etkilerini tetikler. PI3K güdümlü sinyallemeye paralel olarak, fosforlanmış IRS1 veya Shc tarafından Growth Factor Receptor Bound Protein 2 (Grb2)/SOS alımı, Ras alımına ve ras-MAPK yolunun aktivasyonuna yol açar. Bu iki ana sinyalleme yoluna ek olarak IGF-1R, Janus kinaz/sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon yolunun aktivatörü (JAK/STAT) aracılığıyla da sinyal verir. JAK proteinlerinin fosforilasyonu, sinyal transdüserlerinin ve transkripsiyon (STAT) proteinlerinin aktivatörlerinin fosforilasyonuna/aktivasyonuna yol açabilir. Özellikle STAT3'ün aktivasyonu, IGF-1R'nin transforme edici aktivitesi için gerekli olabilir. JAK/STAT yolu, gen transkripsiyonunu aktive eder ve transformasyon aktivitesinden sorumlu olabilir. JNK kinazlar ayrıca IGF-1R tarafından da aktive edilebilir. IGF-1, doğrudan IGF-1R ile ilişki kurabilen Mitojen-aktive Protein Kinaz Kinaz 5 (MAP3K5)/ASK1'in fosforilasyonu ve inhibisyonu yoluyla JNK aktivasyonu üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir (Uniprot, 2023b).

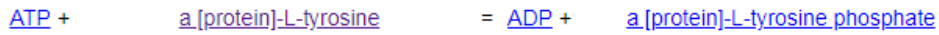
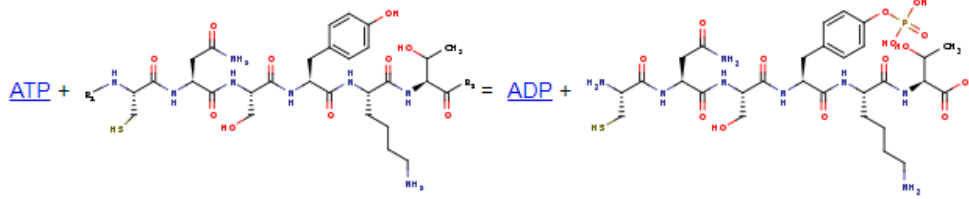
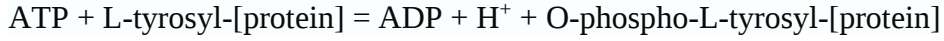
2.5.5. Enzim Sınıflaması

EC 2.7.10.1 (Brenda, 2023)

- EC 2.-.-.- Transferazlar

- EC 2.7.-.- Fosfor grubunu transfer eden transferazlar
 - EC 2.7.10.- Protein-tirozin kinazlar
 - EC 2.7.10.1 Reseptör protein-tirozin kinaz

2.5.6. Katalitik Aktivite



Şekil 2.7. IGF-1R katalitik aktivite reaksiyonu

Kinaz aktivasyonu, Tyr-1165, Tyr-1161 ve Tyr-1166'nın otofosforilasyon ile sağlanır. Optimum kinaz aktivitesi için üç tirozin kalıntısının hepsinde fosforilasyon gereklidir (Uniprot, 2023b).

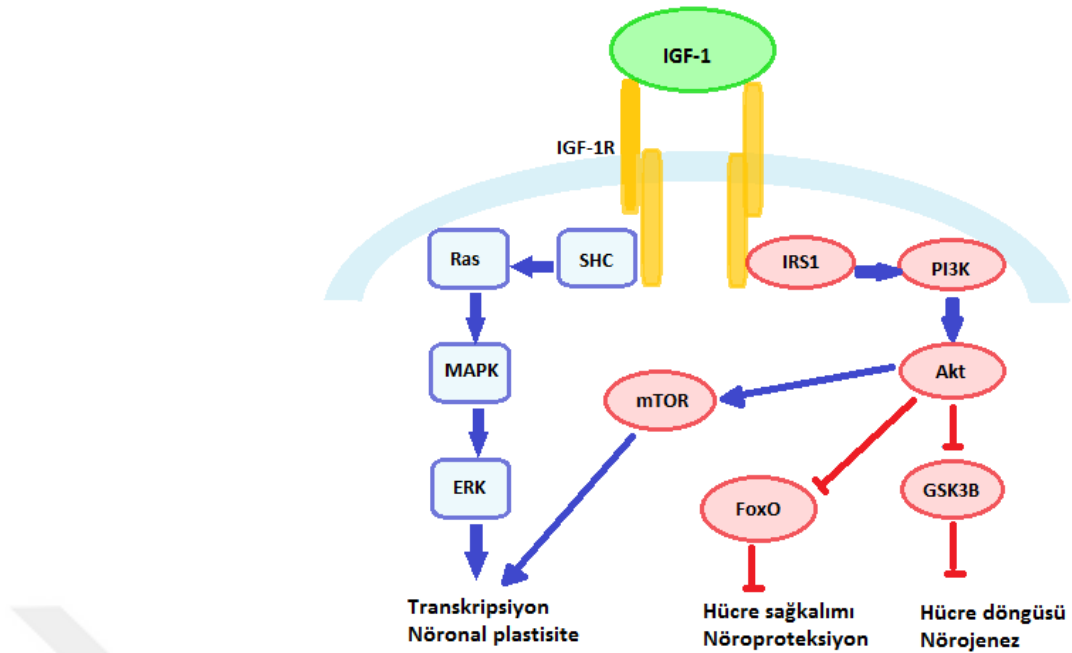
2.6. IGF-1 ve IGF-1R Ekspresyonu

IGF-1, birçok dokuda embriyonik gelişim sırasında bol miktarda üretilir, ancak doğum sonrası yaşam sırasında ekspresyonu önemli ölçüde azalır. Yetişkin bireyde, IGF-1 esas olarak karaciğerde büyüme hormonu (GH) tarafından düzenlenen bir mekanizma ile sentezlenir. Ayrıca, subventriküler zon (SVZ), olfaktor bulbus (OB), HC ve CB gibi bölgelerde küçük bir yerel üretim vardır (Rotwein et al., 1988; Ye et al., 1997). Beyinde IGF-1, GH etkisinden bağımsız olarak nöronlar tarafından sentezlenebilir (Bartlett et al., 1991, 1992; Bondy and Cheng, 2004; Russo et al., 2005; Fernandez and Torres-Alemán, 2012). Sistemik IGF-1, lipoprotein (LDL)- reseptörü ile ilişkili protein 2 (LRP2) yoluyla kandan beyin omurilik sıvısına geçebilir. Ek olarak IGF-1, endotel hücrelerinde bulunan IGF-1R'ye bağlanarak kan-beyin bariyerini geçebilir ve daha sonra astrositler tarafından nöronlara aktarılmak üzere veya doğrudan nöronlar tarafından alınır (Nishijima et al., 2010; Fernandez and Torres-Alemán, 2012). Bu nedenle IGF-1 beyinde endokrin, parakrin veya otokrin bir şekilde

hareket edebilir. IGF-1R ekspresyonu, korteks, OB, HC, CB, hipotalamus ve omuriliği içeren bölgelerde embriyonik gelişim sırasında başlar (Bondy et al., 1990). Doğum sonrası IGF-1R seviyeleri biraz azalır ve yetişkinde ekspresyonu SVZ, OB, HC, CB ve koroid pleksusta devam eder (Bondy and Cheng, 2004; Russo et al., 2005; Fernandez and Torres-Alemán, 2012).

2.7. IGF-1/IGF-1R Sinyal Yolağı

IGF-1'in nöronlarda ve astrositlerde IGF-1R'e bağlanarak IGF-1R aktivasyonuna yol açması, β -alt birimlerinde tirozin kinaz aktivitesi, otofosforilasyon ve downstream sinyallerin aktivasyonu ile sonuçlanır (LeRoith et al., 1995). IGF-1/IGF-1R sinyali ile aktive edilen iki kanonik yol, (i) PI3K-Akt kinaz yolu ve (ii) Ras-Raf-MAPK yoludur (Sun and D'Ercole, 2006; Ye et al., 2010). IGF-1R'nin aktivasyonu, IRS veya Src homoloji 2 içeren SHC familyasına ait adaptör proteinlerinin fosforilasyonu ile sonuçlanır. SHC'nin aktivasyonu, MAPK yoluyla sinyal iletim aktivasyonuna yol açarken, IRS fosforilasyonu PI3K'yı aktive eder. Hem MAPK hem de PI3K, gelişmiş protein sentezine, hücre sağ kalımı ve proliferasyona yol açan birçok downstream sinyal proteinini ve transkripsiyon faktörünü aktif hale getirir veya inhibe eder. PI3K-Akt'nin önemli downstream efektörleri; rapamisin (mTOR), glikojen sentaz kinaz 3b (GSK3b) ve b-katenindir (Ryves and Harwood, 2003; Bibollet-Bahena and Almazan, 2009). Ras-Raf-MAPK yolunda IGF-1, hücre olgunlaşma ve hayatta kalma açısından önemli olan Erk1 / 2 ve p38 MAPK'nın hızlı bir şekilde fosforilasyon ve aktivasyonuna neden olur (Cui and Almazan, 2007; Ye et al., 2010). Şekil 2.8'de IGF-1 / IGF-1R sinyal kaskadı gösterilmektedir.



Şekil 2.8. IGF-1/IGF-1R sinyal kaskadı (Madathil and Kathryn, 2015)

2.8. IGF-1/IGF-1R'nin Biyolojik Fonksiyonları

2.8.1. Organ ve Vücut Büyümesi

IGF-1, birden fazla moleküler mekanizmada yer alan pleiotropik bir faktördür, bu nedenle etkileri, konsantrasyonuna, hücre tipine ve hayvanın gelişim aşamasına bağlı olarak farklılık gösterir. IGF-1, uterusu embriyo implantasyonunu teşvik ettiği için gebeliğin erken dönemlerinde gereklidir (O'Kusky and Ye, 2012). IGF-1, doğum öncesi büyüme ve doğum sonrası hayatta kalmak için önemlidir. Doğumdan sonra IGF-1 ve IGF-1R Knockout (KO) farelerde kontrol yavrularına kıyasla farelerin daha küçük boyutta olduğu tespit edilmiştir. SSS gelişimi ve yetişkin nörojenezinde, IGF-1/IGF-1R sistemi, nöronların çoğalmasını, hayatta kalmasını ve ayrıca nöronların çeşitli şekillerde üretilmesini, farklılaşmasını ve olgunlaşmasını düzenler (Beck et al., 1995; Cheng et al., 2001; Pichel et al., 2003; Russo et al., 2005; Hurtado-Chong et al., 2009; Fernandez and Torres-Alemán, 2012; O'Kusky and Ye, 2012; Chaker et al., 2015).

Karaciğere özgü IGF-1 eksikliği olan fareler, kontrol hayvanlarına kıyasla benzer bir vücut boyutuna sahiptir. Bu bulgu, IGF-1'in doku büyümesini otokrin veya parakrin bir şekilde etkilediğini düşündürmektedir (Yakar et al., 2002). IGF-1 KO farelerin büyük çoğunluğunun yetersiz akciğer olgunlaşması nedeniyle doğumdan hemen sonra

öldüğü tespit edilmiştir. (Liu et al., 1993; Moreno-Barriuso et al., 2006; Kappeler et al., 2008; Hurtado-Chong et al., 2009; Pais et al., 2013). IGF-1 eksikliğinde kas, beyin, kemik ve deri dokusu etkilenmektedir. KO farelerde kas hipoplazisi, azalmış beyin boyutu, kemikleşme ve deri kalınlığı bildirilmiştir (Baker et al., 1993; Liu et al., 1993; Powell-Braxton et al., 1993; Beck et al., 1995; Pichel et al., 2003).

İnsanlarda, IGF-1 ve IGF-1R genlerindeki mutasyonlar, mikrosefali de dahil büyüme geriliğine neden olmaktadır (Roback et al., 1991; Woods et al., 1996; Walenkamp et al., 2005, 2013; van Duyvenvoorde et al., 2010; Burkhardt et al., 2015). IGF-1 veya IGF-1R'nin konjenital eksikliği, Laron sendromunun özellikleridir. Bu sendroma sahip hastalar, doğumdan sonra daha az büyür ve gelişirler ve bu yaşla birlikte daha şiddetli hale gelir ve daha küçük beyin boyutuna, daha küçük kalp ve daha az kas gelişimine sahiptirler (Puche and Castilla-Cortázar, 2012). SSS gelişimi ve yetişkin nörojenezisi sırasında, IGF-1/IGF-1R sistemi, nöronların çoğalmasını ve hayatta kalmasını ve ayrıca nöronların çeşitli şekillerde üretilmesini, farklılaşmasını ve olgunlaşmasını düzenler (Beck et al., 1995; Cheng et al., 2001; Pichel et al., 2003; Russo et al., 2005; Hurtado-Chong et al., 2009; Fernandez and Torres-Alemán, 2012; O'Kusky and Ye, 2012; Chaker et al., 2015).

2.8.2. Hücre Proliferasyonu

IGF-1, PI3K/Akt veya MAP kinaz yollarını aktive edebilen IGF-1R ile etkileşime girerek nöral hücrelerin proliferasyonunu teşvik eder (Otaegi et al., 2006; Mairet-Coello et al., 2009; Vogel, 2013; Yuan et al., 2015). Embriyonik gelişim sırasında IGF-1, hem in vitro (Hernández-Sánchez et al., 1995; Arsenijevic et al., 2001; Vicario-Abejón et al., 2003; Cui and Almazan, 2007; Magariños et al., 2010; Ziegler et al., 2012) hem de in vivo olarak nöroepitelyal progenitör hücrelerin proliferasyonunu destekler (Popken et al., 2004; Ye and D'Ercole, 2006; Hu et al., 2012). Son zamanlarda IGF-1'in, pro-proliferatif ve anti-apoptotik etkileri yoluyla mezenkimal kök hücrelerin nöronal soy hücrelerine differansiasyonunda önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Huat et al., 2014). Nöral kök hücrelerde, IGF-1 aynı zamanda artmış hücre proliferasyonu ve uzatılmış yaşam ömrü ile ilişkilidir (Supeno et al., 2013). IGF-1'in nöral kök hücrelerin nöronal veya glial hücre tiplerine diferansiasyonu üzerinde önemli etkileri olduğu görülmektedir (Brooker et al., 2000; Supeno et al., 2013).

2.8.3. Hücre Sağkalımı

Araştırmalar, IGF-1'in hem in vivo hem de in vitro apoptozu inhibe ederek hücre sağkalımını teşvik ettiğini göstermektedir. Bu etkiler, nöral progenitörlerde ve kortikal hücreler, motor nöronlar, Purkinje hücreleri veya optik nöral progenitör hücreler gibi çeşitli nöronal hücre tiplerinde gözlenmiştir (Gago et al., 2003; Vicario-Abejón et al., 2004; Hodge et al., 2007; Croci et al., 2010; Aburto et al., 2012; Lunn et al., 2015). IGF-1, amiloid- β ve Tau proteinlerinin birikimiyle seyreden Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöronal ölümü önleyebilir (Carro et al., 2002; Puche and Castilla-Cortázar, 2012). Alzheimer hastalarında bulunan bilişsel gerileme, azalmış dentat girus nörojenezine bağlanabilir. IGF-1 seviyelerindeki bir artış, nörojenez artırır ve beyindeki yaşa bağlı bilişsel bozukluğu iyileştirir. IGF-1, oksidatif stres ve DNA hasarının neden olduğu yaşlanma ile ilişkili diğer fizyolojik işlevlerin kademeli olarak kaybını da önleyebilir (Puche and Castilla-Cortázar, 2012).

2.8.4. Hücre Migrasyonu

IGF-1 belirli hücre tiplerinin göçünün düzenlenmesinde rol oynar. Nöroblastoma hücre hattı kültürlerinde IGF-1, hücre göçünü uyarmaktadır (Puglianiello et al., 2000; Russo et al., 2005). Nöroblastların SVZ'den OB'ye çıkışı ve OB'deki radyal nöronal göç için IGF-1'in gerekli olduğunu gösterilmiştir (Hurtado-Chong et al., 2009). Bu etkilere PI3K yolağının aktivasyonu ve reelin sinyal dönüştürücüsü homolog 1'in fosforilasyonu aracılık etmektedir (Hurtado-Chong et al., 2009). Bu bulgular, IGF-1'in yalnızca nöral kök hücre (NSC) sayısını ve farklılaşmasını düzenleyerek değil, aynı zamanda nöronal konumlandırma ve göçü yönlendirerek de yetişkin nörojenezini desteklediğini göstermektedir.

2.8.5. IGF-1'in Nörojenezdeki Rolü

IGF-1'in, afektif bozukluklarda bozulmuş nörojenez, miyelinizasyon, remiyelinizasyon, nöromodülasyon ve sinaptogenezde yardımcı olduğu kanıtlanmıştır (O'Kusky et al., 2000; Slavich and Irwin, 2014). Ayrıca farklılaşmış nöronlarda önemli bir anti-apoptotik sinyaldir (Chrysis et al., 2001; Hodge et al., 2007). IGF-1, belirli embriyonik aşamalarda aşırı eksprese edildiğinde nöron progenitörlerinin genişlemesinde derin etkilere sahiptir (Popken et al., 2004). Gelişmekte olan beyinde IGF-1 aşırı ekspresyonu, serebral kortekste toplam nöron sayısında artışa neden olur. Ayrıca IGF-1, muhtemelen PI3K-Akt yolağı ile aksonal gelişim ve sinaps oluşumu

üzerinde güçlü etkilere sahiptir (Fernandez and Torres-Aleman, 2012). IGF-1 ayrıca GABAerjik ve glutamaterjik nöronların proliferasyonu ve migrasyonu ve ayrıca SSS'de nöronal sinaptogenezde önemli rollere sahiptir (Oishi et al., 2009; Hurtado-Chong et al., 2009). Hayvan depresyon modeliyle yapılan bir çalışmada IGF-1'in N-metil-D-aspartat reseptöründen bağımsız olarak, IGF-1R ve protein sentezine bağımlı tarzda uzun süreli potansiyasyonu kalıcı olarak arttırdığı gösterilmiştir (Burgdorf et al., 2015). IGF-1/IGF-1R sistemi, hem embriyonik gelişim sırasında hem de yetişkin beyinde NSC'lerden ve progenitörlerden üretilen nöronların büyük ölçüde PI3K/Akt yolu aracılığıyla farklılaşmasını ve olgunlaşmasını düzenler (Aberg et al., 2000; Brooker et al., 2000; O'Kusky et al., 2000; Trejo et al., 2001; VicarioAbejón et al., 2003; Otaegi et al., 2006; Carlson et al., 2014; Zhang et al., 2014; Yuan et al., 2015). IGF-1, astrositlerin ve oligodendrositlerin gelişimini de etkiler (Ye and D'Ercole, 2006; O'Kusky and Ye, 2012). Nöral progenitörlerin miyelin üreten olgun oligodendrositlere farklılaşmasını teşvik eder ve fizyolojik koşullar altında ve yaralanmadan sonra astrositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarır (Cao et al., 2003; Ye et al., 2004). IGF-1 ve IGF-1R KO farelerde, embriyonik gelişim sırasında ve doğum sonrası SVZ-OB ve HC'de nörojenez sırasında nöron sayısında bir azalma tarif edilmiştir (Baker et al., 1993; Liu et al., 1993, 2009; Powell-Braxton et al., 1993; Beck et al., 1995; Hurtado-Chong et al., 2009). IGF-1, kültürdeki embriyonik koku soğanı kök hücrelerine (eOBSC) eklendiğinde, nöronların, astrositlerin ve oligodendrositlerin sayısında bir artış meydana getirirken, IGF-1 KO farelerinden izole edilen eOBSC'lerin farklılaşmasında bir azalma gözlenmiştir (Vicario-Abejón et al., 2003; Otaegi et al., 2006). IGF-1 KO hayvanların doğum sonrası yetişkin OB'sinde, muhtemelen SVZ'den değişen nöroblast çıkışı ve göç nedeniyle inter nöron popülasyonlarının sayısında azalma gözlenmiştir (Hurtado-Chong et al., 2009). Aksine, IGF-1'i aşırı eksprese eden hayvanlar, HC'deki nöronların sayısında bir artış sergilemektedir (O'Kusky et al., 2000; Popken et al., 2004; Carlson et al., 2014).

IGF-1, yetişkin beyin bölgelerindeki ana nörojenik rolüne ek olarak, hipotalamustaki nörojenez de artırır. IGF-1 ile intraserebroventriküler tedaviden sonra, tüm hipotalamusta BrdU ile etiketlenen nöronların ve astrositlerin sayısı önemli ölçüde artmıştır (Pérez-Martín et al., 2010). IGF-1, aksonal ve dendritik büyümeyi etkileyen nöronal olgunlaşmayı düzenleyebilir ve hücre hayatta kalmasından bağımsız olarak farklı beyin bölgelerinde sinapslar kurabilir (O'Kusky et al., 2000; Cao et al.,

2011). IGF-1 KO hayvanlar, periferik sinirlerde daha düşük bir gelişime (Gao et al., 1999), Corti organının duyusal hücrelerinin değiştirilmiş bir inervasyonuna (Camarero et al., 2001) ve nöronlarda korteksin II-III katmanında daha düşük bir omurga yoğunluğuna sahiptir (Chengetal., 2003). IGF-1 KO farelerinin OB'sinde, duyusal koku alma nöronlarının aksonal projeksiyonlarının paterni değiştirilir, çünkü IGF-1 aksonal büyüme konileri için bir kemoatraktan görevi görür (Scolnicketal., 2008). HC'de IGF-1, nöronal polaritenin kurulmasında ve Akt yolu üzerinden aksonal koninin başlangıç büyümesinde de rol oynar (Laurinoetal., 2005; Sosaetal., 2006). Transgenik farede IGF-Iover ekspresyonu, DG'de dendrit büyümesini ve sinaptogenezi destekler. (O'Kuskyetal., 2000; Carlsonetal., 2014). Egzersiz, yetişkinlerde IGF-1 seviyelerinde bir artışa neden olur ve bu durum, CA1 piramidal nöronların bazal dendritlerindeki dikenlerin yoğunluğunda bir artışı uyarır, ancak DG'deki granül nöronları veya CA3 piramidal nöronları etkilemez (Glasperetal., 2010). Benzer şekilde, IGF-1 ventriküler infüzyonla uygulandığında CA3'teki sinaps sayısında hiçbir etki gözlenmemiştir (Poeetal., 2001). Bununla birlikte, serum IGF-1 seviyelerindeki bir düşüş, HC'de glutamaterjik bultonların azalmasına neden olur (Trejoetal., 2007). Bu bulgu, IGF-1'in HC'ye girişinin sinaps oluşumunu ve / veya sürdürülmesini destekleyebileceğini ve bu nedenle mekansal öğrenme ve kaygı benzeri davranışı azaltmada faydalı olabileceğini göstermektedir (Llorens-Martínetal., 2010; Baldinietal., 2013).

Bununla birlikte, IGF-1 ekspresyonunun beyin boyutunu arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin embriyonik beyin gelişimi sırasında nestin ile başlatılan IGF-1 aşırı ekspresyonu ile geç gebelikten itibaren beyin ağırlığında%10-20 artış olduğu gösterilmiştir (Popken et al., 2004). IGF-1 yoksunu (null) mutant farelerde beyin ağırlığının %29-38 azaldığı bulunmuştur (Ye et al., 2002). IGF-1R delesyonu olan farelerde ise beyin ağırlıklarının 90 günlükken %40 azaldığı tespit edilmiştir (D'Ercole and Ye, 2008). IGF-1'in beyin gelişimi üzerindeki etkilerinin çoğunun geçici ve uzamsal olarak sınırlı olabileceğini hatırlamak akıllıca olmakla birlikte, bu önemli çalışmalar, IGF-1'in SSS gelişiminde önemli bir büyüme faktörü olarak güçlü etkilerini göstermektedir. Erken beyin gelişiminde IGF-1, otokrin, proliferatif ve prosurvival faktör olarak önemli rollere sahiptir (Fernandez and Torres-Aleman, 2012). Son zamanlarda IGF-1'in, pro-proliferatif ve anti-apoptotik etkileri yoluyla mezenkimal kök hücrelerin nöronal soy hücrelerine differansiyasyonunda önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Huat et al., 2014). NSC'lerde, IGF-1 aynı zamanda artmış

hücre proliferasyonu ve uzatılmış yaşam ömrü ile ilişkilidir (Supeno et al., 2013). IGF-1'in nöral kök hücrelerin nöronal veya glial hücre tiplerine proliferasyonu üzerinde önemli etkileri olduğu görülmektedir (Brooker et al., 2000; Supeno et al., 2013). IGF-1'in beyin gelişimi üzerindeki en çok çalışılan etkileri IGF-1'in nöroenez üzerindeki etkileridir.

Olanzapinin IGF-1 üzerine etkisini inceleyen bildiğimiz kadarıyla bugüne kadar iki çalışma yapılmıştır. Bunlardan ilki Endotel hücresi/adipoz türevi stromal hücre ko-kültürü ile yapılan bir çalışmadır ve olanzapinin IGF-1 mRNA ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Xue et al., 2017). İkinci çalışmada ise cuprizona maruz kalan C57BL/6 farelerinde oluşan nöropatolojik değişiklikleri olanzapinin düzelttiği ve frontal korteksinde IGF-1 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Zhang et al., 2014). Ancak bu konuda yapılan çalışmalar hem sayı olarak hem de beyin farklı bölgelerinin incelenmesi açısından yetersizdir. Prefrontal korteksin yanı sıra hipokampus gibi limbik sistemin önemli bölgelerinin incelenmesi gereklidir. Bu çalışma ile bipolar bozukluğun ortaya çıkışında prefrontal korteks ve hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R düzeyleri arasındaki ilişkiyi ve beyin bu bölgelerinde olanzapinin IGF-1 ve IGF-1R düzeyi üzerine etkisini incelemek amaçlanmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Santrifüj (Hermle Z 32 HK)
- Thermal Cycler (Gene Pro TC-E96G)
- Mikropipetler (Eppendorf 20, 100, 200, 1000, Germany).
- Mini spin (Sprout, HSA17413)
- Thermomixer (Eppendorf, C model)
- 1,5 ml nükleaz içermeyen eppendorf (Cat No.616201 Grenier Bio-one, USA)
- 0,2 ml PCR tüp (Cat No.683201 Grenier Bio-one, USA)
- Derin dondurucu -80°C, (NUAIRE, Seri no: 9394248, USA)
- Derin dondurucu -80°C, (Vestel, BZP-XL 3403 XE)
- Yatay Elektroforez (Biorad, Mini protean)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Biorad, PowerPac HC)
- Vorteks (Velp scientifica)
- Agilent MX3000pro Real Time PCR Cihazı
- Elektronik terazi (Chyo Balanced Corporation, JL-180, seri no: 300258)
- NanoDrop (Thermo Scientific, Nanodrop 2000 Spectrophotometer)
- 10 µl (cat. no. 765288), 20 µl (cat. no.774288) 100 µl (cat. no.772288), 200 µl, 1000 µl (cat. no.740288) pipet uçları, steril, (Grenier bio-one, Austria)
- pH metre, (Microprocessor pH meter, EDT Instruments RE 357, 702 U.K.)
- 1,5 ml'lik vial (Corning 430909, polypropylene, steril)
- 15 ml'lik falkon tüp (Corning 430766, RNase/DNase free, polypropylene, steril)
- SYNERGY 4 Elisa Reader (BioTek)
- MultiWash (Tri-Continent Scientific, 8070-04)

3.2. Kullanılan Kimyasallar

- NaCl (Merck, Cat. No: 6400) MW: 58,44 Germany)
- KCl (Merck, Cat. No: 4935) MW: 74,56 Germany)
- Na₂HPO₄ (Merck, Cat. No: 6586) MW: 141,96 Germany)
- KH₂PO₄ (Merck, Cat. No: 4871) MW: 136,09 Germany)
- pH 4, pH 7, pH 10 kalibratörler (Orion Application Solution 910104, 910107, 910110 CAS Reg. No 7732-18-5, GmBh)
- FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit (Favorgen Biotech Corp., Cat. No: FATRK 001-1)
- iScript cDNA Synthesis Kit (BIORAD, Cat. No: 1708891)
- iTaq Universal SYBR Green Supermix (BIORAD, Cat. No: 1725121)
- Rat beta-2 mikroglobulin forward primer, 20 b (Oligomer, Seri No: 20220111/2-34)
- Rat beta-2 mikroglobulin reverse primer, 20 b (Oligomer, Seri No: 20220111/2-35)
- Rat IGF-1 forward primer, 20 b (Oligomer, Seri No: 20220111/2-36)
- Rat IGF-1 reverse primer, 20 b (Oligomer, Seri No: 20220111/2-37)
- Rat IGF-1R forward primer, 20 b (Oligomer, Seri No: 20220111/2-38)
- Rat IGF-1R reverse primer, 20 b (Oligomer, Seri No: 20220111/2-39)
- Olanzapin (Acros Organics, CAS Number:132539-06-1)
- Glasiyel asetik asitte (Merck, Almanya)
- NaOH (Merck, Almanya)
- Keta-Control (Seri No: 200697)
- Agaroz (Biomax prona agarose, lot no: 000320PR)
- ETBR (Sigma E8751-1g)
- Trisma base (Sigma CAS 77-86-1)
- Borik asit (Sigma CAS 10043-35-3)
- EDTA (CAS 6381-82-6)
- Rat IGF-1 Elisa kit (BT LAB, Cat. No. E0709Ra)
- Rat IGF-1R Elisa kit (BT LAB, Cat. No. E1719Ra)
- Xylazine (Vetaxyl® , Vet-Agro, Polonya)
- Cresyl violet (C5042-10 gr, Sigma-Aldrich, Almanya)

- IGF-1 antikor (Cat No: E-AB-40014, Elabscience, USA)
- IGF-1R antikor (Cat No: bs-0227R, Bioss, USA)

3.3. Hayvan Deneyi

3.3.1. İlaçların Uygulanması

Çalışmada, her biri 200-300 gram olan toplam 48 yetişkin erkek albino wistar rat kullanıldı. Hayvan deneyi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezinde (OMÜ DEHAM) gerçekleştirildi. Ratlar standart kafeslerde, odun talaşı zeminde ve standart rat pelletleriyle (Bil-Yem Co, Ankara, Turkey) ve su sistemi ile istedikleri zaman beslenebilecekleri şekilde deney ortamına yerleştirildi. Deney ortamında aydınlatma 12 saat gündüz ve 12 saat gece ve nem %50-70 olacak şekilde programlanarak sıcaklık 22 ± 1 °C olarak sabitlendi.

Ratlar kontrol grubu (n=12), ketamin grubu (n=12), olanzapin grubu (n=12) ve ketamin+olanzapin (n=12) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Ratlarda bipolar mani modeli oluşturmak için kullanılan ketamin dozları, Canever vd. (2010) ve De Oliveira vd. (2011)'nin yaptıkları çalışma dikkate alınarak seçilmiştir. Olanzapinin tedavi edici dozu Bardgett vd.'nin (2002) yapmış olduğu çalışmayı dikkate alarak belirlenmiştir. Akut manik atağın tedavi süresi Frey vd., (2006a, b) ve Valvassori vd., (2010) 'nin yapmış oldukları çalışmalara dayanarak belirlenmiştir.

Kontrol grubu: Ratlara 14 günlük bir süre boyunca günde bir kere 0,5 ml salin enjeksiyonu (intraperitoneal) yapılmıştır.

Ketamin grubu: Ratlara 14 günlük bir süre boyunca günde bir kez ketamin (0,5 ml, 25 mg/kg) enjeksiyonu (intraperitoneal) yapılmıştır.

Ratlara uygulanacak olan ketamin dozu, 21 ml Keta-Control (Seri No: 200697) alınıp 168 ml'ye deiyonize su ile tamamlanarak hazırlanmıştır.

Olanzapin grubu: Ratlara 14 günlük bir süre boyunca günde bir kez olanzapin (0,5 ml, 2 mg/kg) enjeksiyonu (intraperitoneal) yapılmıştır.

Olanzapin grubuna verilen olanzapin solüsyonu hazırlamak için, 150 mg olanzapin minimum miktarda glasiyel asetik asitte (yaklaşık 0.2 ml) yaklaşık 100 ml deiyonize su ile çözdürüldü, deiyonize su ile hacim 150 ml'ye tamamlandı ve 2 N NaOH solüsyonu ile pH 6.0'a ayarlandı (Davey et al., 2012). Olanzapin final konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde glasiyel asetik asit çözeltisinde çözünmüş

olarak hazırlandı. Ratlara intraperitoneal yoldan 2 mg/kg dozunda uygulandı (her rat için yaklaşık 0,5 ml solüsyon uygulandı).

Ketamin+olanzapin grubu: Ratlara 14 günlük bir süre boyunca günde bir kez ketamin (0,5 ml, 25 mg/kg) enjeksiyonu (intraperitoneal) yapılmıştır. 8-14 gün arasında ketamine ilave olarak olanzapin (0,5 ml, 2 mg/kg) günde 1 kez (intraperitoneal) uygulanmıştır.

Tüm ratlara bu prosedür 14 gün boyunca sabah 8-10 saatleri arasında uygulanmıştır. Tedavinin 15. gününde mani oluşumunu test etmek için ketamin grubunda ve ketamin+olanzapin grubunda yer alan ratlara tek doz ketamin enjeksiyonu (0,5 ml, 25 mg/kg), diğer iki gruptaki ratlara ise tek doz 0,5 ml salin enjeksiyonu yapıldıktan 30 dakika sonra lokomotor aktivite "açık alan testi" kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.3.2. Açık Alan Testi

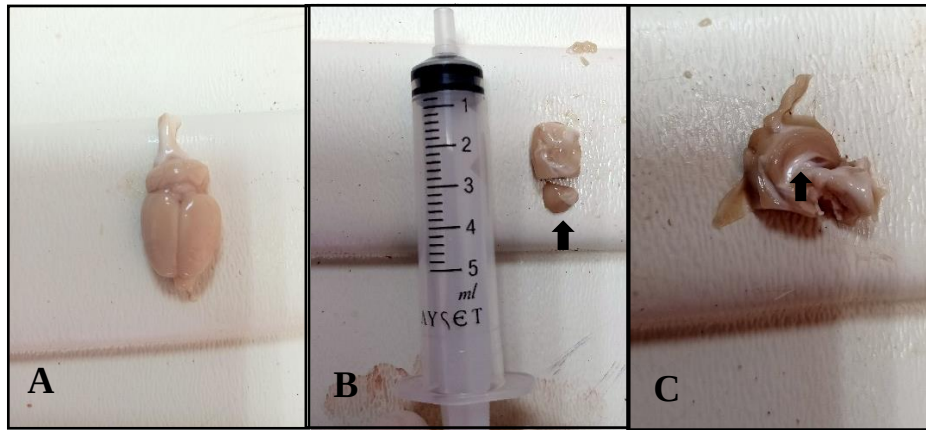
Açık alan testi 50 cm yüksekliğindeki duvarlarla çevrili 40x60 cm açık alanda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Aparatın zemini vernikli ahşaptan yapılmış ve siyah çizgilerle 9 eşit dikdörtgene bölünmüştür. Hayvanlar, arenayı 5 dakika boyunca keşfetmek için testin başlangıcında hafifçe köşe karelerinden birine yerleştirilmiştir. Siyah çizgiler ve ratların arka kısımların kesişmeleri yani keşif faaliyeti sayılmıştır (Prut and Belzung, 2003). Bu sayının ketamin verilen gruplarda verilmeyenlere göre istatistiksel olarak fazla olması (artmış lokomotor aktivite) mani modelinin oluşturulduğunun göstergesidir.



Şekil 3.1. Açık alan testi

3.3.3. Perfüzyon ve Fiksasyon

Açık alan testi uygulanan her bir rat perfüzyon işlemine başlamadan önce intraperitoneal olarak 100 mg/kg ketamine hydrochloride ve 10 mg/kg xylazine ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde anestezi altına alındı. Daha sonra bir ızgara üzerine sırt üstü olarak sabitlenmiş olan ratların bir makas yardımıyla göğüs kafesi açılarak kalbi ortaya çıkarıldı. Kan kalp tarafından pompalanmaya devam ederken plastik bir kanül ile sol ventrikül apeksinden girilerek aynı zamanda çapraz bir şekilde sağ atriyum kesildi ve bu esnada kanın tüm dolaşım sisteminden temizlenmesi için sol ventrikül apeksinden %0.9'luk serum fizyolojik verildi. Ardından hızlı bir şekilde ratlar dekapite edildi ve beyin dokusundan prefrontal korteks ve hipokampus gen ekspresyon analizi, protein düzeyi ölçümü ve histopatolojik inceleme için dikkatli bir şekilde kafatasından çıkartıldı. Gen ekspresyon analizi ve protein düzeyi ölçümü için alınan sağ hemisfere ait prefrontal korteks ve hipokampus çalışma gününe kadar -80 °C'ye kaldırıldı. Histopatolojik inceleme içinse deneysel süreçleri takiben yapılan perfüzyon işlemi sonrasında sol hemisfere ait prefrontal korteks ve hipokampus disseke edilerek %10 luk formalin içerisine konularak 10 gün boyunca post fiksasyonu sağlandı.



Şekil 3.2. Hayvan deneyi ile elde edilen rat beyin dokuları (A: Rat beyni, B: Prefrontal korteks, C: Hipokampus)

3.4. Total RNA İzolasyonu

FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit ve Trizol kullanılarak prefrontal korteks ve hipokampus numunelerinden RNA izolasyonu yapıldı. Kit kılavuzunda yer alan izolasyon protokolü aşağıdaki tabloda verilmiştir.

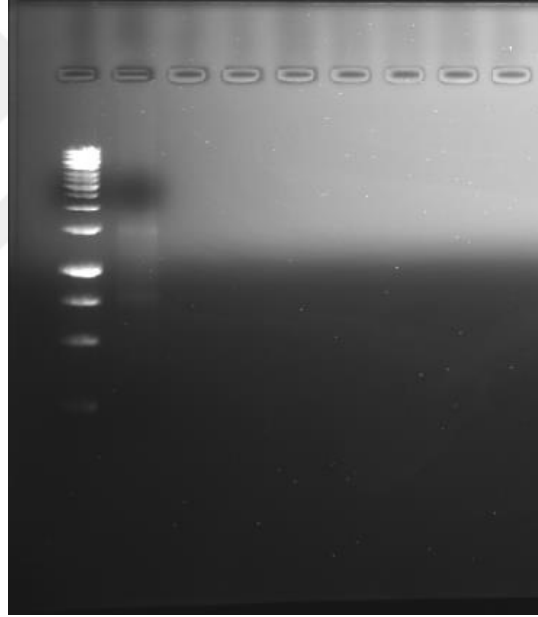
Tablo 3.1. RNA izolasyon protokolü

FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit ve Trizol ile RNA İzolasyon Protokolü	
1.	- Yaklaşık 30 mg doku örneği havana alınır ve sıvı nitrojen içinde toz haline gelinceye kadar tokmak yardımıyla pulverize edilir (Şekil 3.3). - Havandaki numune üzerine 1 ml Trizol eklenir ve pulverizasyona devam edilir.
2.	- Elde edilen lizat mikrosantrifüj tüpüne alınır ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilir. 12.000 x g'de 10 dk 4°C'de santrifüj edilir. - Santrifüj sonrası ortaya çıkan peletin üst fazı temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alınır.
	- Alınan üst faza 200 µl kloroform eklenir ve 15 sn ters-düz edildikten sonra 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilir. 12.000 x g'de 15 dk 4°C'de santrifüj edilir. (Santrifüj sonrası oluşan iki fazdan alttaki faz DNA, üstteki faz RNA'yı içermektedir.)
3.	<i>Collection Tube</i> içerisine <i>FARB Mini Column</i> yerleştirilir ve santrifüj sonrası elde edilen üst faz <i>FARB Mini Column</i>'a aktarılır. 20.000 x g'de 1 dk 4°C'de santrifüj edilir. <i>Collection Tube</i> içerisindeki sıvı atılır ve <i>FARB Mini Column, Collection Tube</i> geri konulur.
4.	<i>FARB Mini Column</i> içerisine 500 µl <i>Wash Buffer 1</i> eklenir. 20.000 x g'de 1 dk 4°C'de santrifüj edilir. <i>Collection Tube</i> içerisindeki sıvı atılır ve <i>FARB Mini Column, Collection Tube</i> geri koyulur.
5.	<i>FARB Mini Column</i> içerisine 750 µl <i>Wash Buffer 2</i> eklenir. 20.000 x g'de 1 dk 4°C'de santrifüj edilir. <i>Collection Tube</i> içerisindeki sıvı atılır ve <i>FARB Mini Column, Collection Tube</i> geri koyulur. - Bu yıkama işlemi tekrar edilir.
6.	<i>FARB Mini Column</i> 'un kurutulması; 20.000 x g'de 3 dk 4°C'de santrifüj edilir. <i>Collection Tube</i> atılır ve <i>FARB Mini Column, Elution Tube</i> yerleştirilir.
7.	<i>FARB Mini Column</i> membran merkezine 50 µl RNaz free ddH₂O eklenir. - Kolon oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilir.
8.	- RNA'yı ayrıştırmak için <i>FARB Mini Column</i> 20.000 x g'de 1 dk 4°C'de santrifüj edilir. <i>Elution Tube</i> 'de kalan RNA'dır. - RNA'nın kalitesini ve miktarını arttırmak amacıyla bu basamak tekrarlanabilir. - Elde edilen RNA'nın -80° C'de saklanır.



Şekil 3.3. Doku numunelerinin homojenizasyonu

Elde edilen RNA'ların saflığı ve konsantrasyonları nanofotometrede ölçülerek belirlendi. RNA agaroz jel elektroforezinde yürütülerek saflığı kontrol edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. İzole RNA'nın elektroforez görüntüsü

İzole edilen RNA miktarı nanodrop yardımıyla ölçüldü. A260/A280 oranı 1,8-2,0 aralığında olan numunelerin RNA konsantrasyonları kaydedilip, izole edilen RNA'lar cDNA sentezinde kullanıldı.

3.5. İzole Edilen RNA'lardan cDNA Elde Edilmesi

iScript cDNA Synthesis Kit kullanılarak thermal cycler cihazında aşağıda yer alan protokol ile cDNA sentezi yapıldı.

3.5.1. cDNA Sentez Protokolü

- Kullanmadan önce tüm reaktifler çözölmeli ve kısa süreli santrifüj edilmelidir.
- Buz üzerinde ya da soğuk kolon üzerinde tutulan steril, nuclease-free, thin-walled PCR tüpte, Tablo 3.2 'de verilen sırada pipetleme yapılarak karışım reaksiyon başına 20 µl olacak şekilde hazırlanır.
- Her bir örnek için kullanılan total RNA ve PCR-grade distile su miktarları final konsantrasyonu 1 µg total RNA olacak şekilde düzenlenir.

Tablo 3.2. Reaksiyon miks

	Komponent	Hacim
1	5x iScript Reaction mix	4 µl
2	iScript Reverse transcriptase	1 µl
3	Nükleaz free su	Değişken
4	RNA numunesi	Değişken
5	Total Hacim	20 µl

- Tüpteki reaktifler iyice karıştırılır ve vorteks yapılmamalıdır.
- Tüpler thermal cycler cihazına yerleştirilir ve Tablo 3.3'de verilen ters transkripsiyon PCR programı ile reaksiyon gerçekleştirildi.

Tablo 3.3. Ters transkripsiyon PCR programı

Priming	25 °C'de 5 dakika
Ters Transkripsiyon (RT)	46 °C'de 20 dakika
RT İnaktivasyonu	95 °C'de 1 dakika
Opsiyonel Adım	4 °C'de ∞

- Reaksiyon sonrasında elde edilen cDNA örnekleri eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) yapılana kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.6. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Ölçümü

Real-time PCR'da çalışılacak genlerin dizileri Tablo 3.4'de yer almaktadır.

Tablo 3.4. Primer dizileri

Genler	Forward primerler	Reverse primerler	Amplikon Büyüklüğü
Beta-2 mikroglobulin	AGCAGGTTCTCAAACAAGG	TTCTGCCTTGGAGTCCTTTC	60 bp
IGF-1	AACCTGCAAAACATCGGAAC	GCAGCCAAAATTCAGAGAGG	358 bp
IGF-1R	GACAGTGAATGAGGCTGCAA	CCAGCCATCTGGATCATCTT	252 bp

- cDNA numuneleri, iTaq Universal SYBR® Green Supermix, Beta-2-mikroglobulin, IGF-1 ve IGF-1R primerleri buz üzerinde çözüldü.
- Reaksiyon bileşenleri nazıkçe karıştırıldı ve santrifüj edildi.
- Her reaksiyon için toplam 18 µl olacak şekilde master mix hazırlandı (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Master mix hazırlığı

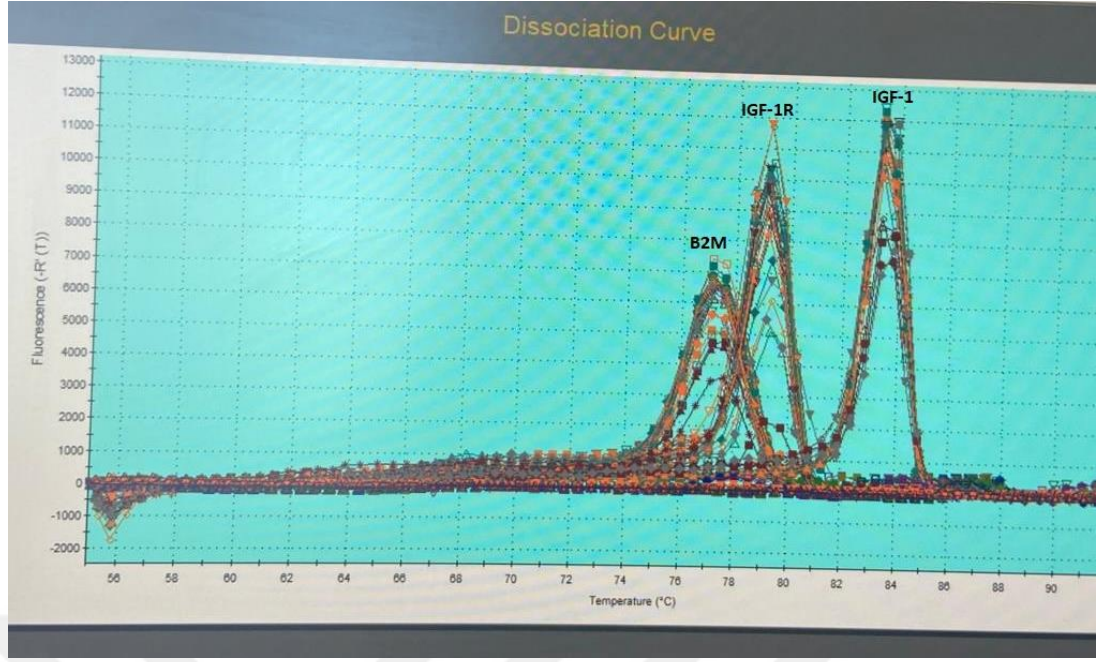
Malzeme	Hacim (1 numune için)	Başlangıç Kons.	Final Kons.
iTaq Universal SYBR® Green Supermix (2x)	10 µl	2X	1X
Forward Primer	1 µl	10 µM	0,5 µM
Reverse Primer	1 µl	10 µM	0,5 µM
Nuclease-free H ₂ O	6 µl	-	-
Toplam Hacim	18 µl		

- Çalışılacak tüm pleytin kuyucuklarına 18'er µL master mix pipetlendi.
- Her numune için uygun kuyucuklara 2'şer µL cDNA (1µg) pipetlendi.
- Pipetlemeler bittikten sonra pleyt sealing foil ile kapatılarak 30 saniye vorteks yapıldı.
- 2 dakika oda sıcaklığında 1500xg'de santrifüj edildi.
- Agilent MX3000pro cihazında aşağıdaki programa göre PCR çalışması yapıldı.

Tablo 3.6. qRT-PCR programı

	Siklus	Sıcaklık (°C)	Süre
Polimeraz Aktivasyonu	1	95 °C	30 saniye
Amplifikasyon	40	95 °C	5 saniye
Denatürasyon		60 °C	30 saniye
Bağlanma/Uzama			
Melt Curve Analizi		65-95 °C	2-5 saniye

qRT-PCR sonrası melting-curve grafiği Şekil 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Melting-curve grafiği

Çalışma gruplarının relatif gen ekspresyon analizi, Beta-2-mikroglobulin geni referans gen ve kontrol grubu da kalibratör olarak kabul edilerek, komparatif crossing threshold (Ct) metodunu esas alan QIAGEN 2009 relative expression software (REST) programı kullanılarak yapıldı.

3.7. Komparatif Ct Metodu ile Gen Ekspresyon Analizi

3.7.1. Relatif Kantitasyon

Gen ekspresyonunun relatif kantitasyonu, farklı dokulardaki spesifik genlerin ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıkları belirlemeye izin verir. Bu farklılık, absöü kantitasyonda olduğu gibi bir değer olarak değer, n-katı şeklinde ifade edilir. Real-time PCR kantitasyonunda hedef numunenin başlangıç miktarındaki küçük farklılıklar, amplifikasyon ürününe katlanarak yansır. Bu durum özellikle farklı bireylerden alınan örneklerle başlanan reaksiyonlarda izlenir. Bu relatif kantitasyonda yanlış sonuçlara sebep olur. Bir internal kontrol kullanılarak bu başlangıç farklılıklarını standardize etmek bu yüzden çok faydalıdır. İdeal bir internal kontrol tüm dokulardan ekspresse olabilmelidir. Bu amaçla kullanılan 'housekeeping gen'ler ökaryotlarda çok çeşitli olmakla birlikte en sık GAPDH, β actin, Asidik ribozomal fosfoprotein (36B4) ve rRNA kullanılmaktadır(Bernard et al., 1999). Bu genler referans gen olarak da isimlendirilmektedir. Çalışmamızda referans gen olarak Beta-2-mikroglobulin kullanıldı.

3.7.2. Komparatif Ct (Threshold Siklus) Metodu

$\Delta\Delta Ct$ metodu olarak da isimlendirilen bu metot, standart eğri metoduna benzer ancak konsantrasyonların yerine Ct değerleri kullanılır. Hedef genin Ct değeri bir referans genin Ct değerine oranlararak normalize edilir. Daha sonra normalize Ct değerleri kalibratöre oranlanır. Sonuçlar kalibratörün n-katı şeklinde verilir. Komparatif Ct metodu $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile ifade edilir. Burada:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{hedef gen}) - \Delta Ct(\text{kalibratör})$$

$$\Delta Ct(\text{hedef gen}) = Ct(\text{hedef gen}) - Ct(\text{referans gen})$$

$$\Delta Ct(\text{kalibratör}) = Ct(\text{kalibratör}) - Ct(\text{referans gen})$$

Karşılaştırmalı Ct metodunun uygulanabilirliği validasyon (relatif verimlilik) çalışması ile değerlendirilir. Bunun için iki şart gereklidir: Birincisi, hedef gen amplifikasyonunun verimliliği ile referansın gen amplifikasyon verimliliğinin yaklaşık eşit ve %100'e yakın olmasıdır. İkincisi de farklı başlangıç konsantrasyonlarında ΔCt değerinin değişmemesi yani logaritmik konsantrasyona karşı ΔCt grafiğinde slope değerinin sıfıra yakın ($<0,1$) olmasıdır (Wong and Medrano, 2005).

3.8. Elektroforez

RNA izolasyonu sonrasında RNA numuneleri ve Real time PCR sonrasında cDNA numuneleri agaroz jelde yürütülerek görüntülenmiştir. Agaroz jel %3'lük olarak hazırlanmıştır.

- %3'lük agaroz jelin hazırlanışı:

3 gr agaroz, 100 ml 1X TBE çözeltisine eklenerek çözdürülür ve mikrodalga fırında 3 dk kaynatılarak eritilir. Sonrasında 60 °C' ye kadar soğutulur ve içerisine çeker ocakta ETBR çözeltisinden 0.5 µl eklenir ve karıştırılarak elektroforez trayine dökülür. Soğuması ve donması beklenir.

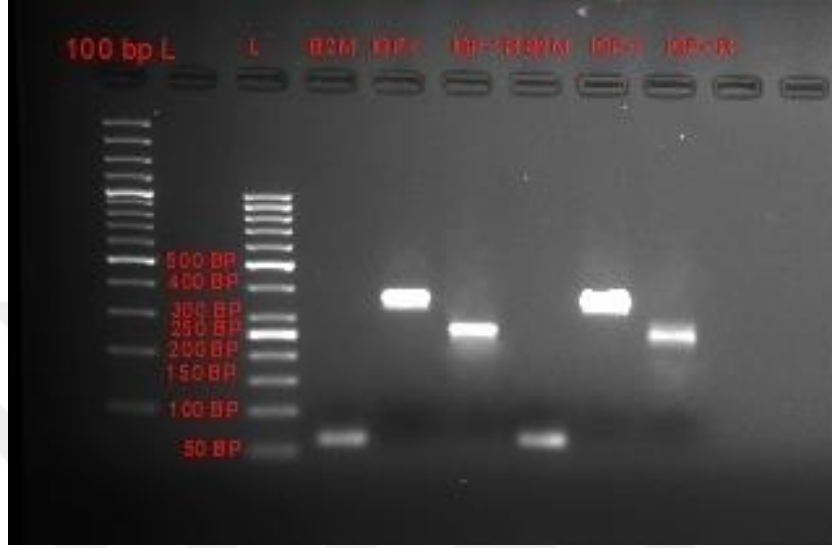
- 10x TBE çözeltisi hazırlanışı:

108 g Trisma base ve 55 g Borik asit, 0,5 M EDTA (pH 8) 40 ml eklenerek toplam hacim 1000 ml olacak şekilde saf suda çözülüp kapaklı cam şişede 120 °C' de 20 dk otoklavlanır.

- 1x TBE çözeltisi hazırlanışı:

10x TBE tamponundan 100 ml alınır. 1000 ml'ye saf su eklenerek tamamlanır.

%3'lük Agaroz jel üzerinde cDNA'lar 90 voltta 90 dk Biorad yatay elektroforez üzerinde yürütülmüştür. Yürütme sırasında her bir cDNA örneğinden 5 µl alınarak 1 µl loading dye çözeltisi eklenmiştir. Jelde belirteç olarak Thermo scientific Generuler Low range DNA ladder kullanılmıştır. Ardından Biorad chemidoc yardımıyla görüntü alınmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Amplikonların elektroforez görüntüsü

3.9. IGF-1 ve IGF-1R Protein Düzeylerinin ELISA Yöntemi İle Tespiti

-80°C'de muhafaza edilen prefrontal korteks ve hipokampus doku numuneleri sıvı azotla havanda parçalanarak homojenize edildi. Homojenize doku, 1 ml pH:7,4 PBS içeren tampona eklendi ve vortekslendi. Ardından numuneler 3000 g'de 20 dk santrifüj edilerek süpernatantlar ELISA'da çalışılmak üzere toplandı. Çalışmaya başlamadan önce 2-8 °C' de muhafaza edilen ELISA kitler oda ısısına getirildi .

1 L PBS solüsyonu hazırlığında kullanılan kimyasallar ve miktarları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Tablo 3.7. PBS solüsyon hazırlığı

Madde	Miktar	Firma
NaCl 136 mM	8 g	Merck, cat. no.6400, S-12, Germany
KCl 2,7 mM	0,2 g	Merck, cat. no 4935, P-11, Germany
Na ₂ HPO ₄ , 10 mM	1,44 g	Merck, cat. no 6586, S-7a, Germany

KH ₂ PO ₄ , 2 Mm	0,24 g	Merck, A997671 851, P-3, Germany
dH ₂ O	800 ml	

- 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄, 0,24 g KH₂PO₄ tartılarak 800 ml dH₂O ile çözünmesi sağlandı.
- pH 7,4'e ayarlanarak dH₂O ile 1 litreye tamamlandı.
- 0.22 µm'lik filtre ile filtre edildi. Otoklavda sterilizasyonu yapıldı ve 2-8°C'de saklandı.

Ticari olarak piyasada bulunan rat IGF-1 Elisa kit (BT LAB, Cat. No. E0709Ra) ve rat IGF-1R Elisa kit (BT LAB, Cat. No. E1719Ra) ile sandwich metot ELISA yöntemi ile çalışıldı. Rat IGF-1 ELISA kiti için rat IGF-1 standardı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 5 adet standart standart (S1-30 ng/mL, S2-60 ng/mL, S3-120 ng/mL, S4-240 ng/mL, S5-480 ng/mL) hazırlandı. Rat IGF-1R ELISA kiti için rat IGF-1R standardı kullanılarak seri dilüsyon yöntemiyle, 5 adet standart standart (S1-15 ng/L, S2-30 ng/L, S3-60 ng/L, S4-120 ng/L, S5-240 ng/mL) hazırlandı.

3.9.1. Elisa Protokolü

- Standart kuyularına 50 µl standart eklendi (Standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklenmez).
- Numune kuyularına 40 µl numune eklendikten sonra 10 µl Rat IGF-1/IGF-1R antikor eklenir.
- Numune kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklendi (Blank kuyusuna eklenmez). İyice karıştırıldı.
- Pleyt sealing foil ile kapatıldı. 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Sealing foil çıkarıldı ve pleytteki tüm kuyucuklar 300 µl yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- Pleyt ters çevrilir ve havlu peçete üzerine hafifçe vurularak kuyucukların kurulanması sağlanır.
- Her kuyuya 50 µl substrat solüsyonu A eklenmesinin ardından 50 µl substrat solüsyonu B eklendi.
- Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca yeni bir sealing foil ile kaplanmış pleyt inkübe edildi.

- Her kuyuya 50 µl Stop solüsyonu eklenir ve mavi rengin hemen sarıya dönüştüğü gözlemlenir.
- Stop solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikrolekt okuyucu kullanarak hemen her kuyunun optik yoğunluğunu (OD değeri) belirlenir.

Ratlarda prefrontal korteks ve hipokampus dokularında IGF-1 ve IGF-1R konsantrasyonları standart değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğrilerine göre hesaplandı ve elde edilen konsantrasyonlar IGF-1 için ng/mL, IGF-1R için ng/L olarak ifade edildi. IGF-1 ELISA kit için inter-assay CV <%10, intra-assay CV ise <%8 idi. Kit sensitivity 1.55 ng/mL'dir. Standart ölçüm aralığı 3-900 ng/mL arasındadır. IGF-1R ELISA kit için inter-assay CV <%10, intra-assay CV ise <%8 idi. Kit sensitivity 0.44 ng/L'dir. Standart ölçüm aralığı 1-400 ng/L arasındadır.

Standart okumalarından elde edilen absorbans değerleri ve konsantrasyon değerleri ile grafik çizilip ratların prefrontal korteks ve hipokampus doku numunelerinin konsantrasyonları hesaplandı.

3.10. Doku Örneklerinde Protein Miktarının Belirlenmesi

Doku homojenatlarında her bir numunenin protein miktarı Lowry metodu (Lowry et al., 1951) ile tespit edildi. Lowry metodu, alkali şartlar altında peptid nitrojenlerin, bakır iyonları (Cu^{+2}) ile reaksiyonu ve sonrasında aromatik aminoasitlerin bakır katalizli oksidasyonu aracılığı ile ortama eklenen Folin reaktifinin heteropolimolibden mavisine indirgenmesi prensibine dayanır.

3.10.1. Reaktifler ve Hazırlanışları

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.

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.

Solusyon C (%2 Na-K tartarat): 2,6596 gram 4 sulu Na-K tartarattan tartılıp bir miktar distile su ile çözüldükten sonra balon jode 100 ml'ye tamamlandı.

Complex Forming Reagent: Solusyon A, B, C'den sırasıyla 100:1:1 oranında karıştırılarak hazırlandı.

2N NaOH: 8 gram NaOH tartılıp bir miktar distile suda çözüldükten sonra balon joje içerisinde 100 ml'ye tamamlandı.

1N Folin Reagent: 2N folin reagent stoğundan 50 ml alınıp distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Albumin Standardı: Sığır serum albuminden 4 mg/ml konsantrasyonunda standart solüsyon hazırlandı, dilüsyon yöntemi ile diğer standartlar elde edildi.

3.10.2. Lowry Protokolü

- Standart ve örnek numunelerinden 0,1 mL alınarak tüplere konuldu.
- Blank tüpüne 0,1 ml distile su konuldu.
- Tüm tüplere 0,1 ml 2N NaOH eklendi.
- Tüpler 100 °C' de su banyosunda 10 dakika bekletildi ve sonrasında su banyosundan alınarak oda ısısına gelene kadar dışarıda tutuldu.
- Oda ısısına gelen tüplere 1 ml complex forming reagent eklendi ve oda ısısında 10 dakika bekletildi.
- Tüplere 0,1 ml folin reagent ilave edilip 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra absorbanlar 550 nm'de fotometrik olarak okundu ve doku homojenatlarının total protein konsantrasyonu hesaplandı.
- ELISA ile elde edilen sonuçlar total protein düzeyine bölünerek sonuçlar IGF-1 düzeyleri için mg protein başına ng (ng/mg protein), IGF-1R düzeyleri için mg protein başına pg (pg/mg protein) olarak hesaplandı.

3.11. Doku Takibi ve Histolojik Kesitlerin Alınması

Fiksasyon süresi tamamlanan dokular, akarsuda bir gece yıkandıktan sonra alkol serilerinde (%70, %80, %96, %100) 1'er saat tutularak dehidrate edildi. Alkol sonrası ksilende tutulan dokuların şeffaflaşması sağlandı. 58°C'deki sıvı parafinde tutulan dokuların infiltrasyon işlemi tamamlandıktan sonra L şeklinde demir bloklara gömüldü. Parafine gömülü kesitlerden ışık mikroskopik görüntüler için sistematik rastgele örnekleme kuralına göre 1/20 oranında 20 µm kalınlığında kesitler rotary mikrotom (Leica RM2245, Nussloch, Almanya) kullanılarak alındı. Sistematik rastgele örnekleme göre seri dışında kalan alanlardan immünohistokimyasal analizler için 7 µm kalınlığında kesitler adheziv lamlara alındı.

Beyin dokusunu ait kesitler 58°C'lik sıcaklıktaki etüvde bir gece bekletilerek, dokudan parafinin uzaklaştırılması sağlandı. Daha sonra histopatolojik değerlendirme ve stereolojik analizler için deparafinizasyonu tamamlanan kesitler %0,1'lik cresyl violet (C5042-10 gr, Sigma-Aldrich, Almanya) boyası ile boyandı. Entellanla kapatıldıktan sonra kurumaya bırakılan kesitler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan kamera eklentili ışık mikroskobunda analiz edildi.

3.12. Stereolojik Analizler

Beyin hemisferine ait cresyl viyoletilerle boyanan kesitlerden elde edilen ışık mikroskopik resimlerde hipokampus ve prefrontal korteks hacimleri noktalı alan ölçüm cetveli kullanılarak hesaplandı. Prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerinin sınırları atlas yardımıyla belirlendi (Paxinos and Watson, 2007). Stereolojik analizlerde kullanılan noktalı alan ölçüm cetvelinin temeli Cavalieri prensibine dayanmaktadır. Stereoloji, dokuların iki boyutlu görüntülerinden elde edilen verilere dayanarak dokunun morfolojik değişikliklerin istatistiksel değerlendirilmesini sağlayan tarafsız bir morfo kantitatif yöntemdir (Peterson and Jones, 1993; Deniz et al., 2018). Cavalieri prensibi, herhangi bir yapının toplam hacmi ve yapı bileşenlerin ayrı ayrı hacminin ölçülmesi, yapı bileşenlerinin birbirine olan ya da toplam yapıya olan oransal değerinin elde edilmesi açısından güvenilir ve tarafsız bir yöntemdir. Bu yöntemde her kesitin aynı yüzeye bakması ve birbirine paralel olması önemlidir (Gundersen and Jensen, 1987).

Hacim ölçümünde kullanılan noktalı alan cetvelindeki nokta sıklığı ve kesit örnekleme oranı uygun hata katsayısı ($HK \leq 0,05$) göz önünde tutularak pilot çalışma ile belirlendi. Hipokampus hacmi ve prefrontal korteks hacmine ilişkin değişim katsayısı değerleri ($DK \leq 0,2$) kabul edilebilir değerdeydi.

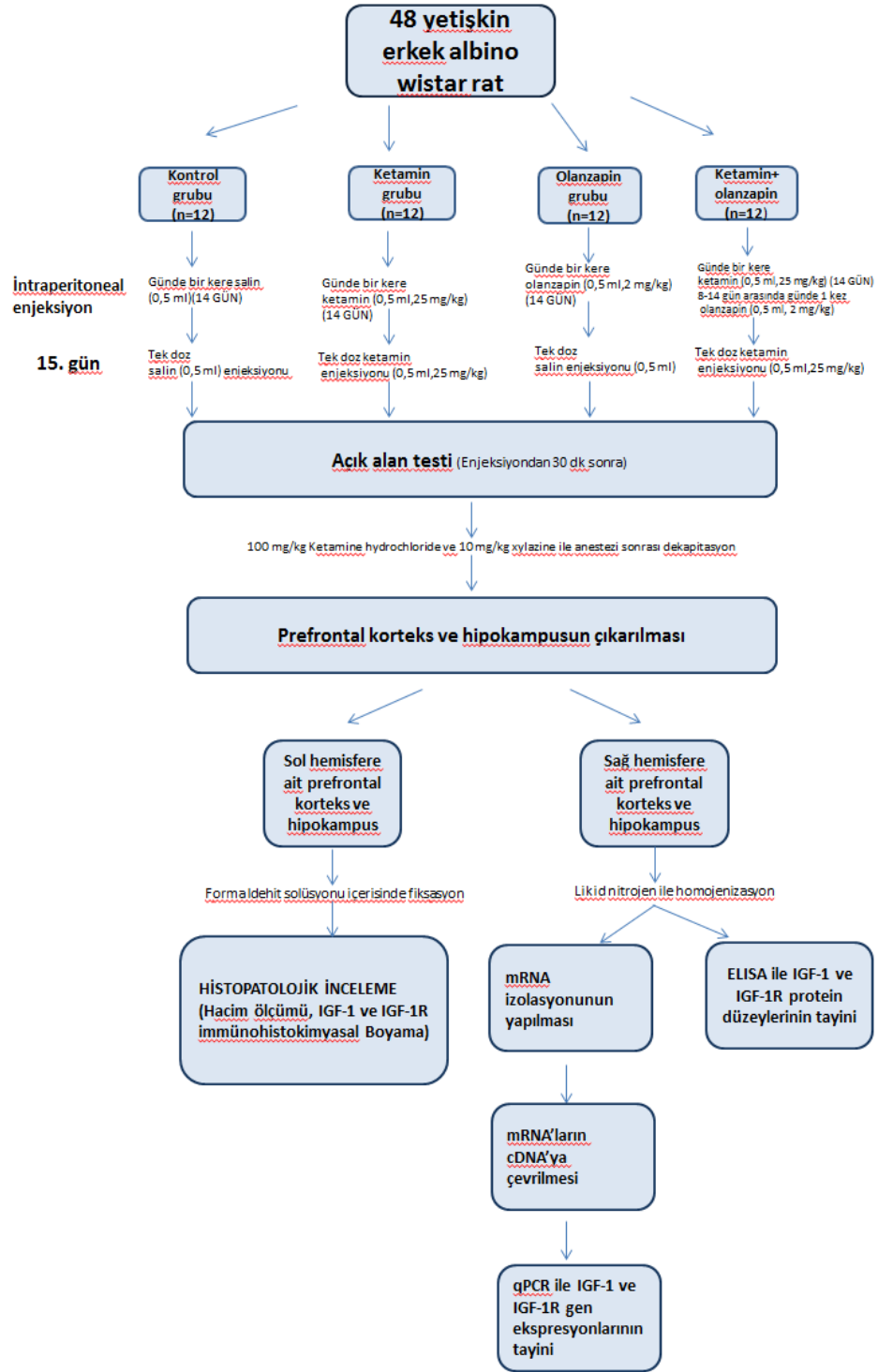
3.13. İmmünohistokimyasal Analizler

IGF-1 ve IGF-1R proteinlerinin beyindeki ekspresyonları hipokampusun cornu ammonis bölgelerinde ve prefrontal kortekste immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Her sıçan beyninden elde edilen 7 µm kalınlığındaki ince parafin kesitler deparafinizasyon işlemini takiben IGF-1 (Cat No: E-AB-40014, Elabscience, USA) (1:100) ve IGF-1R (Cat No: bs-0227R, Bioss, USA) (1:200) antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyama yapıldı. İmmünohistokimyasal analizler

esnasında, deparafinizasyon sonrası kesitler, %3'lük H₂O₂ ile muamele edildi. Fosfat tampon ile yıkanan kesitler, daha sonra epitoplara açılması için sitrat tamponunda (1:10, Thermo Fisher Scientific, İngiltere) 800 Watt mikrodalga fırında kaynatıldı. Non-spesifik boyamayı engellemek için kesitler protein blokları ile inkübe edildi. Fosfat tampon ile yıkanan kesitler, primer antikordaki +4°C'de bir gece bekletildi. Daha sonra sırasıyla Biotinli antikor ve streptavidinli peroksidaz enzimi ile oda sıcaklığında inkübe edilen kesitlerden meydana gelen tepkime AEC kromojen ile gösterildi. Ara yıkamalar fosfat tampon ile yapıldı. Ters boyamalarda Mayer hematoxilen (Abcam, ABD) kullanıldı. Kahverengi boyanan çekirdekler pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

Materyal ve metodun akış şeması Şekil 3.7'dedir.





Şekil 3.7. Yöntemin akış şeması özeti

3.14. İstatiksel Analiz

Çalışma gruplarının relatif gen ekspresyon analizi, Beta-2-mikroglobulin geni referans gen ve kontrol grupları da kalibratör olarak kabul edilerek, QIAGEN 2009 relative expression software (REST) programı kullanılarak yapıldı.

Çalışma gruplarının açık alan testi, prefrontal korteks ve hipokampusta ELISA yöntemi ile ölçülen IGF-1 ve IGF-1R protein düzeyleri (ng/mg protein), stereolojik (hacim ölçümü) ve immunohistokimyasal incelemeden (IGF-1 ve IGF-1R protein düzeyleri) elde edilen veriler SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Sciences) yazılımı aracılığı ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Açık alan testi verileri ve prefrontal kortekste IGF-1 protein düzeyleri normal dağılıma uymadığından Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi uygulandı. Diğer parametreler normal dağılıma uyduğundan One Way Anova ve Post-hoc Tukey ve Tamhane testi yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Açık Alan Testi Sonuçları

Açık alan testinde gezdiği kare sayısı ($P=0.021$), merkeze girme sayısı ($P=0.031$) ve şahlanma sayısında ($P=0.000$) ketamin grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış saptanırken defekasyon sayısında anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır ($P=0,423$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Açık alan testi sonuçları

	Kontrol	Ketamin	P
Gezdiği kare sayısı	22,25+24,95	36,75+12,757	0,021
Merkeze girme sayısı	0,16+0,389	0,75+0,753	0,031
Şahlanma sayısı	0,33+0,49	2,58+1,24	0,000
Defekasyon sayısı	2,08+2,15	2,33+1,55	0,423

4.2. Kantitatif Real Time-PCR Sonuçları

Prefrontal kortekste farklı çalışma gruplarındaki Beta-2-mikroglobulin, IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için cDNA numuneleri ile yapılan PCR çalışmalarından elde edilen Ct değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Prefrontal kortekste yapılan PCR çalışmalarından elde edilen Ct değerleri

	Beta-2-mikroglobulin		IGF-1		IGF-1R	
	Ct1	Ct2	Ct1	Ct2	Ct1	Ct2
CPC1	22,00	21,53	34,16	34,23	24,11	23,99
CPC2	21,46	21,25	33,86	33,98	23,36	23,44
CPC3	21,46	21,46	34,32	34,65	23,59	23,46
CPC4	21,9	21,66	34,37	33,86	24,85	25,01
CPC5	24,62	24,48	37,09	37,36	27,16	27,41
CPC6	21,16	21,18	33,12	33,28	23,84	23,88
CPC7	21,11	21,22	33,86	33,49	23,66	23,82
CPC8	22,23	22,06	34,81	34,12	25,05	25,04
CPC9	23,77	23,71	36,06	35,85	27,62	27,5
CPC10	22,5	22,36	34,73	35,07	24,62	24,71
CPC11	22,4	22,38	33,53	34,9	24,8	24,97
CPC12	23,06	22,95	34,21	34,32	26,39	26,13
KPC1	20,89	20,72	31,7	32,18	23,55	23,54
KPC2	25,71	25,6	38,02	37,98	32,00	31,39
KPC3	21,17	21,14	32,17	32,04	23,75	23,91
KPC4	21,19	21,03	33,91	34,07	23,78	23,94
KPC5	23,82	23,39	35,00	34,45	26,74	26,96
KPC6	24,44	25,61	37,41	37,51	30,51	31,03
KPC7	20,95	20,92	33,6	33,5	24,6	24,68
KPC8	25,14	25,17	38	37,33	30,74	31,30
KPC9	20,57	20,48	32,77	32,95	23,59	23,68
KPC10	24,23	24,17	36,84	36,76	30,64	30,61
KPC11	24,13	24,1	36,31	36,91	29,73	29,98

KPC12	25,63	25,81	36,20	36,88	31,94	32,72
OPC1	22,52	22,45	32,78	32,96	24,93	24,79
OPC2	20,21	20,62	32,3	32,69	23,04	23,32
OPC3	21,11	21,14	32,8	32,87	23,3	23,46
OPC4	21,3	21,26	33,27	33,88	23,93	23,9
OPC5	20,67	20,61	30,56	31,24	23,13	23,06
OPC6	22,73	22,91	32,54	32,78	25,37	25,79
OPC7	20,47	20,3	32,34	32,72	23,02	23,03
OPC8	23,38	23,38	35,67	34,75	26,48	26,66
OPC9	20,41	20,32	31,32	31,76	23,27	23,26
OPC10	23,38	24,24	36,14	35,62	26,64	26,63
OPC11	24,92	25,06	34,57	35,45	27,64	27,67
OPC12	21,94	22,35	32,96	33,46	24,55	24,75
KOPC1	24,75	24,99	37,71	37,18	27,78	27,91
KOPC2	22,98	22,93	34,34	35,24	24,03	24,18
KOPC3	22,51	22,47	35,18	34,63	24,26	24,32
KOPC4	22,62	22,5	35,23	33,77	24,95	24,98
KOPC5	22,59	22,65	33,69	33,44	25	25,07
KOPC6	22,82	22,78	35,36	35,84	25,16	25,54
KOPC7	25,1	24,98	37,58	37,82	28,07	27,99
KOPC8	22,42	22,35	35	34,63	24,62	24,7
KOPC9	22,43	22,28	34,22	34,5	24,58	24,46
KOPC10	22,8	22,83	33,85	34,11	23,8	23,69
KOPC11	22,11	22,02	33,85	33,97	24,59	24,42
KOPC12	22,52	22,73	34,96	34,93	24,57	24,5

(CPC: PFC kontrol, KPC: PFC ketamin, OPC: PFC olanzapin, KOPC: PFC ketamin+olanzapin)

Hipokampusta farklı çalışma gruplarındaki Beta-2-mikroglobulin, IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için cDNA numuneleri ile yapılan PCR çalışmalarından elde edilen Ct değerleri Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Hipokampusta yapılan PCR çalışmalarından elde edilen Ct değerleri

	Beta-2-mikroglobulin		IGF-1		IGF-1R	
	Ct1	Ct2	Ct1	Ct2	Ct1	Ct2
CH1	22,79	22,46	33,31	34,02	27,36	27,38
CH2	22,9	22,68	33,72	33,49	28,0	27,87
CH3	22,77	22,66	33,55	33,75	28,12	28,1
CH4	24,8	24,48	36,66	35,76	29,74	29,79
CH5	24,05	24,02	34,86	34,18	28,32	28,41
CH6	23,48	23,26	33,85	33,59	27,02	27,04
CH7	23,71	23,48	34,4	34,32	28,55	28,47
CH8	23,14	23,03	34,51	34,25	28,02	28,27
CH9	23,28	23,2	33,46	33,61	28,86	28,96
CH10	23,31	23,29	33,48	33,85	28,64	28,33
CH11	23,22	23,04	34,3	35,27	28,36	28,12
CH12	24,2	24,08	34,73	34,69	28,99	29,0
KH1	22,78	22,89	34,23	34,14	29,04	30,12
KH2	23,15	23,19	34,68	34,96	27,66	27,82
KH3	23,3	23,23	34,82	35,43	29,85	29,58
KH4	23,36	23,07	33,74	34,62	29,88	29,55
KH5	23,39	23,46	34,99	34,05	28,56	28,5
KH6	24,01	23,94	35,88	35,76	27,92	27,83
KH7	22,84	22,83	35,17	35,26	26,52	26,79

KH8	22,99	23,04	34,84	35,46	26,67	26,81
KH9	23,46	23,37	35,19	34,92	26,73	27,1
KH10	22,64	22,59	34,79	34,48	26,45	26,52
KH11	23,08	23,45	34,12	34,9	26,47	26,66
KH12	23,14	23,0	34,19	34,17	26,44	26,25
OH1	22,64	22,52	34,33	33,65	26,05	26,06
OH2	23,51	23,68	35,33	36,61	27,48	27,2
OH3	24,59	24,3	35,15	35,5	27,39	27,61
OH4	23,62	23,64	35,96	35,89	26,36	26,19
OH5	21,96	21,78	32,12	32,15	23,83	23,68
OH6	23,97	23,88	33,91	34,44	27,44	27,34
OH7	22,76	22,54	35,89	34,25	25,23	25,24
OH8	23,5	23,38	34,32	35,75	26,88	26,81
OH9	21,52	21,33	31,38	31,59	24,15	24,31
OH10	20,99	21,06	32,58	32,15	23,93	23,64
OH11	21,08	20,99	32,68	32,6	24,12	24,23
OH12	22,56	22,82	33,84	34,19	25,77	25,63
KOH1	23,6	23,68	32,63	32,66	35,88	37,28
KOH2	24,2	24,28	33,33	33,29	37,74	38,74
KOH3	22,19	22,18	35,33	34,52	36,31	36,17
KOH4	22,51	22,36	34,77	35,25	36,13	35,9
KOH5	24,09	23,92	37,31	38,27	35,62	36,64
KOH6	22,71	22,67	35,14	33,53	37,43	38,17
KOH7	24,6	24,56	33,88	33,7	36,73	37,37
KOH8	23,22	23,43	33,77	33,55	36,9	36,9
KOH9	24,02	23,96	33,89	33,69	38,93	37,86
KOH10	23,76	23,85	33,46	33,85	37,35	36,6
KOH11	23,86	23,96	35,69	36,44	37,97	36,78
KOH12	22,84	22,95	35,05	34,49	36,11	36,71

(CH: HC kontrol, KH: HC ketamin, OH: HC olanzapin, KOH: HC ketamin+olanzapin)

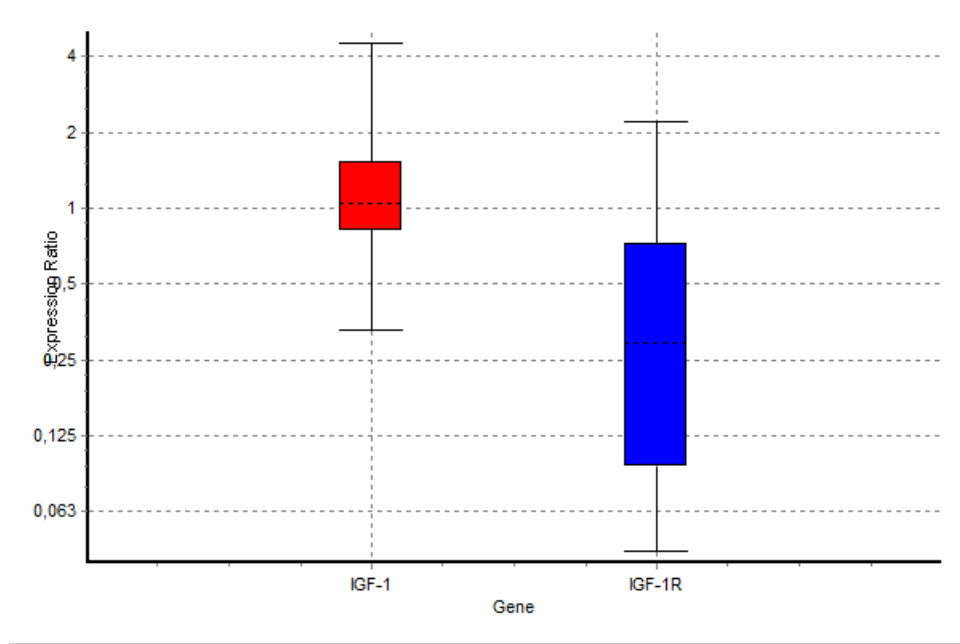
Çalışma gruplarının relatif gen ekspresyon analizi, Beta-2-mikroglobulin geni referans gen ve kontrol grupları da kalibratör olarak kabul edilerek, QIAGEN 2009 relative expression software (REST) programı kullanılarak yapıldı.

14 gün boyunca 25 mg/kg ketamin uygulanan ratların prefrontal korteksinden çalışılan IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon analizi sonuçları Tablo 4.4 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla ketamin uygulanan grupta IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken IGF-1R gen ekspresyonunun anlamlı bir şekilde azaldığı (P=0,001) görülmektedir.

Tablo 4.4. Prefrontal kortekste ketamin grubu REST analizi sonuçları

Gen	Verimlilik	Ekspresyon	Standart Hata	95% C.I.	P	Sonuç
Beta-2-mikroglobulin	0,99	1,000				
IGF-1	0,99	1,154	0,715 - 2,401	0,436 - 3,434	0,386	
IGF-1R	0,99	0,277	0,079 - 0,961	0,050 - 1,550	0,001	DOWN

(P: Anlamlılık değeri, DOWN: Downregülasyon, C.I.: Confidens Intervale, Güven Aralığı)



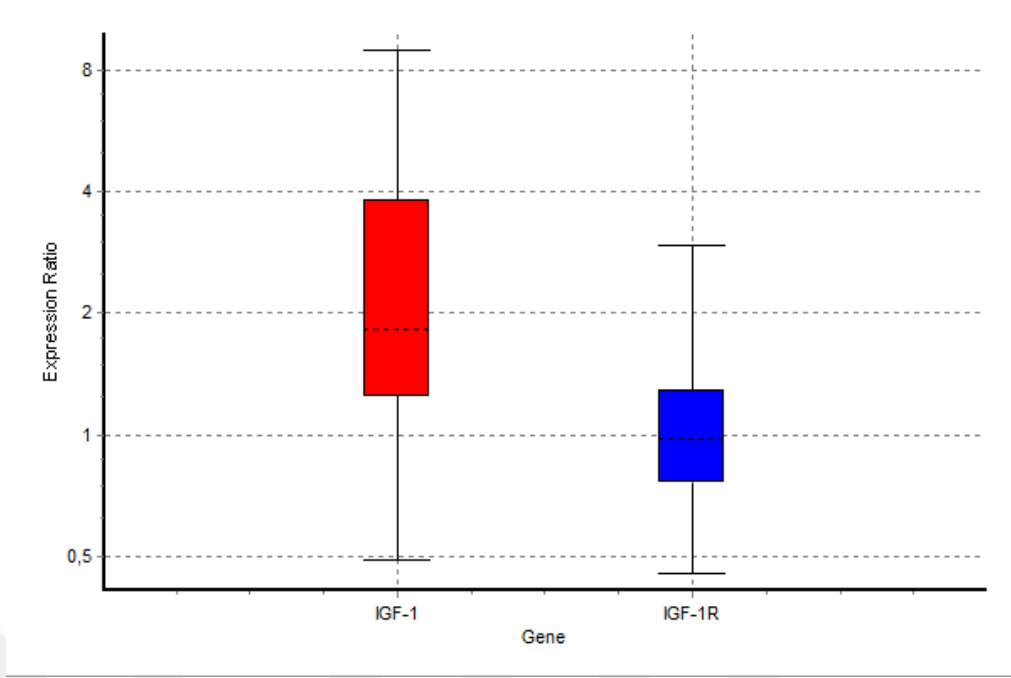
Şekil 4.1. Prefrontal kortekste ketamin grubu REST analizi sonuçları

14 gün boyunca 2 mg/kg olanzapin uygulanan ratların prefrontal korteksinden çalışılan IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon analizi sonuçları Tablo 4.5 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla olanzapin uygulanan grupta IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir artış ($P=0,002$) gözlenirken IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Tablo 4.5.Prefrontal kortekste olanzapin grubu REST analizi sonuçları

Gen	Verimlilik	Ekspresyon	Standart Hata	95% C.I.	P	Sonuç
Beta-2-mikroglobulin	0,99	1,000				
IGF-1	0,99	2,082	1,103 - 4,609	0,632 - 6,599	0,002	UP
IGF-1R	0,99	1,016	0,686 - 1,508	0,547 - 2,350	0,901	

(P: Anlamlılık değeri, UP: Upregülasyon, C.I.: Confidens İntervale, Güven Aralığı)



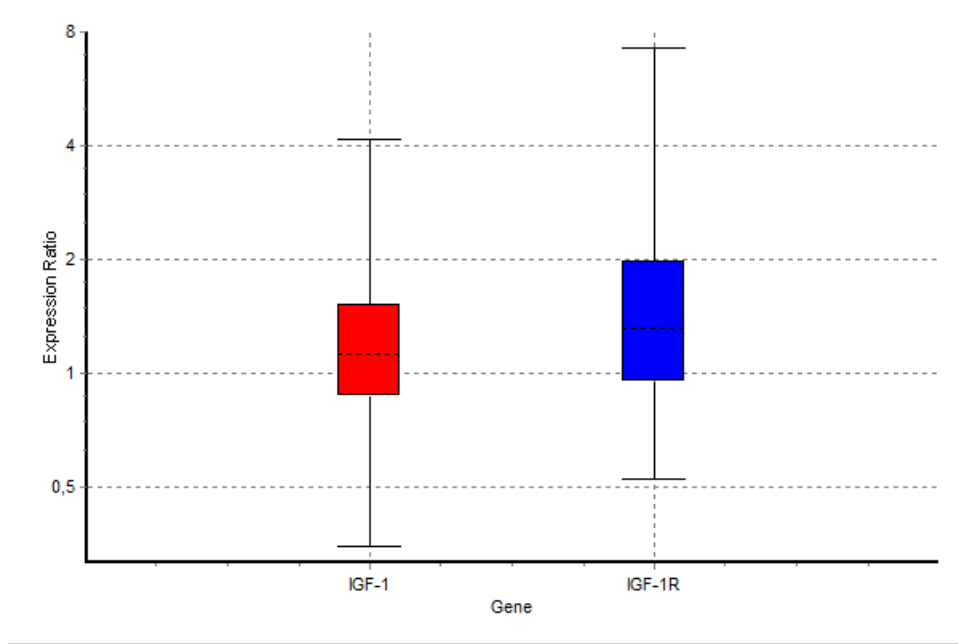
Şekil 4.2. Prefrontal kortekste olanzapin grubu REST analizi sonuçları

14 gün boyunca 25 mg/kg ketamin ve 8-14 gün arasında ilave olarak 2 mg/kg olanzapin uygulanan ratların prefrontal korteksinden çalışılan IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon analizi sonuçları Tablo 4.6 ve Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla ketamin+olanzapin uygulanan grupta IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir artış ($P=0,037$) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.6. Prefrontal kortekste ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları

Gen	Verimlilik	Ekspresyon	Standart Hata	95% C.I.	P	Sonuç
Beta-2-mikroglobulin	0,99	1,000				
IGF-1	0,99	1,169	0,753 - 1,881	0,450 - 2,984	0,330	
IGF-1R	0,99	1,431	0,830 - 2,552	0,569 - 4,406	0,037	UP

(P: Anlamlılık değeri, UP: Upregülasyon, C.I.: Confidens Intervale, Güven Aralığı)



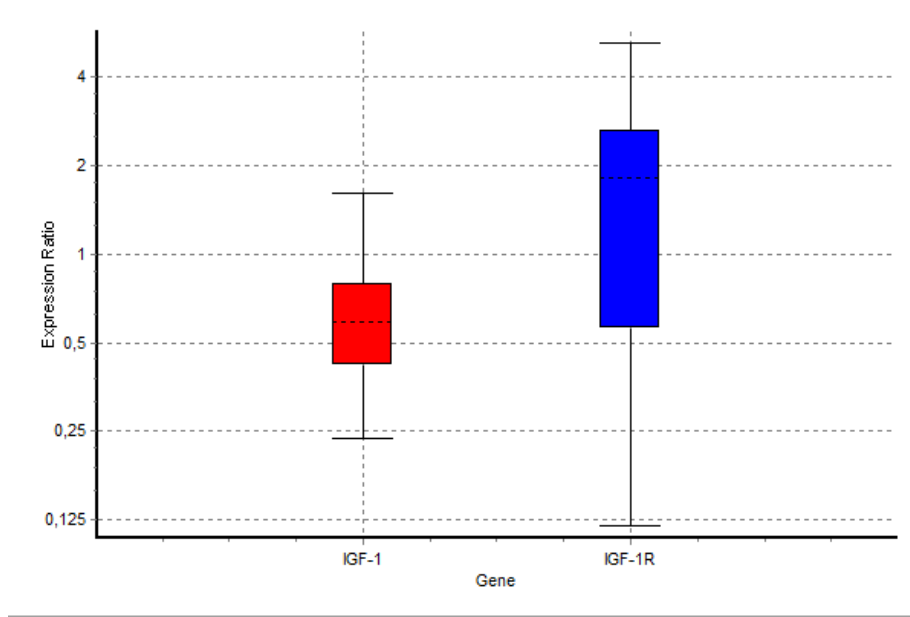
Şekil 4.3. Prefrontal kortekste ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları

14 gün boyunca 25 mg/kg ketamin uygulanan ratların hipokampusundan çalışılan IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon analizi sonuçları Tablo 4.7 ve Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla ketamin uygulanan grupta IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir azalma ($P=0,002$) gözlenirken IGF-1R gen ekspresyonunun anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Tablo 4.7. Hipokampustaketamingrubu REST analizi sonuçları

Gen	Verimlilik	Ekspresyon	Standart Hata	95% C.I.	P	Sonuç
Beta-2-mikroglobulin	0,99	1,000				
IGF-1	0,99	0,592	0,370 - 0,914	0,277 - 1,416	0,002	DOWN
IGF-1R	0,99	1,274	0,371 - 3,061	0,210 - 4,259	0,413	

(P: Anlamlılık değeri, DOWN: Downregülasyon, C.I.: Confidens İntervale, Güven Aralığı)



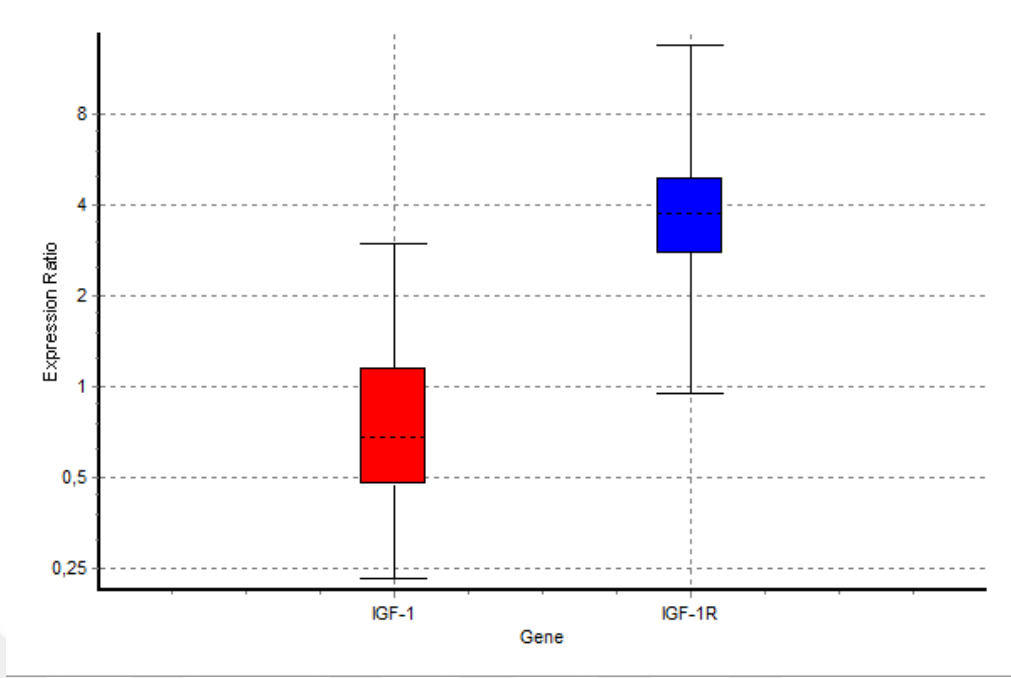
Şekil 4.4. Hipokampusta ketamin grubu REST analizi sonuçları

14 gün boyunca 2 mg/kg olanzapin uygulanan ratların hipokampusundan çalışılan IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon analizi sonuçları Tablo 4.8 ve Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla olanzapin uygulanan grupta IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir artış ($P=0,000$) tespit edilmiştir.

Tablo 4.8. Hipokampustaolanzapin grubu REST analizi sonuçları

Gen	Verimlilik	Ekspresyon	Standart Hata	95% C.I.	P	Sonuç
Beta-2-mikroglobulin	0,99	1,000				
IGF-1	0,99	0,722	0,383 - 1,413	0,246 - 2,532	0,099	
IGF-1R	0,99	3,712	2,459 - 5,699	1,255 - 9,241	0,000	UP

(P: Anlamlılık değeri, UP: Upregülasyon, C.I.: Confidens İntervale, Güven Aralığı)



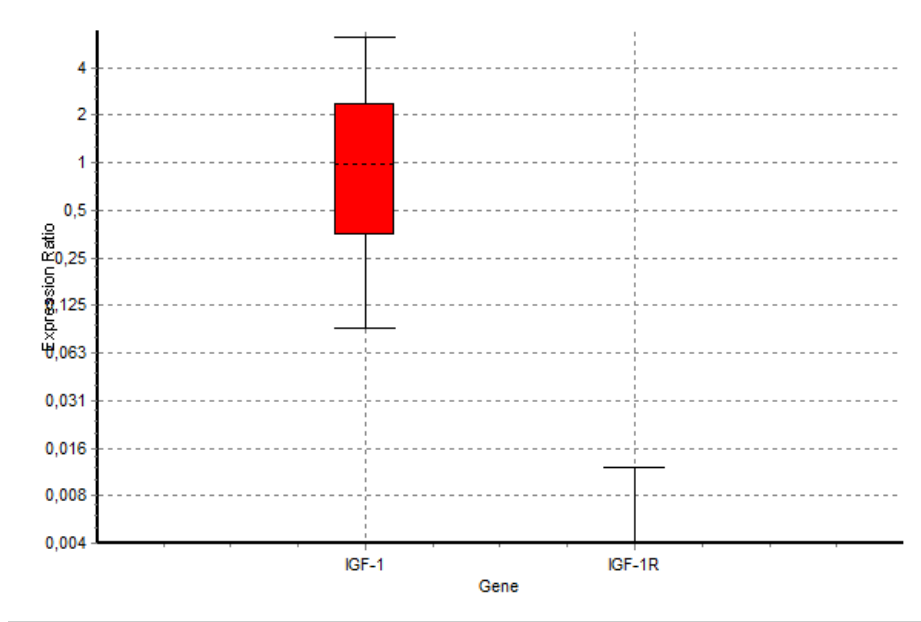
Şekil 4.5. Hipokampusta olanzapin grubu REST analizi sonuçları

14 gün boyunca 25 mg/kg ketamin ve 8-14 gün arasında ilave olarak 2 mg/kg olanzapin uygulanan ratların hipokampusundan çalışılan IGF-1 ve IGF-1R gen ekspresyon analizi sonuçları Tablo 4.9 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla ketamin+olanzapin uygulanan grupta IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir azalma ($P=0,000$) tespit edilmiştir.

Tablo 4.9. Hipokampustaketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları

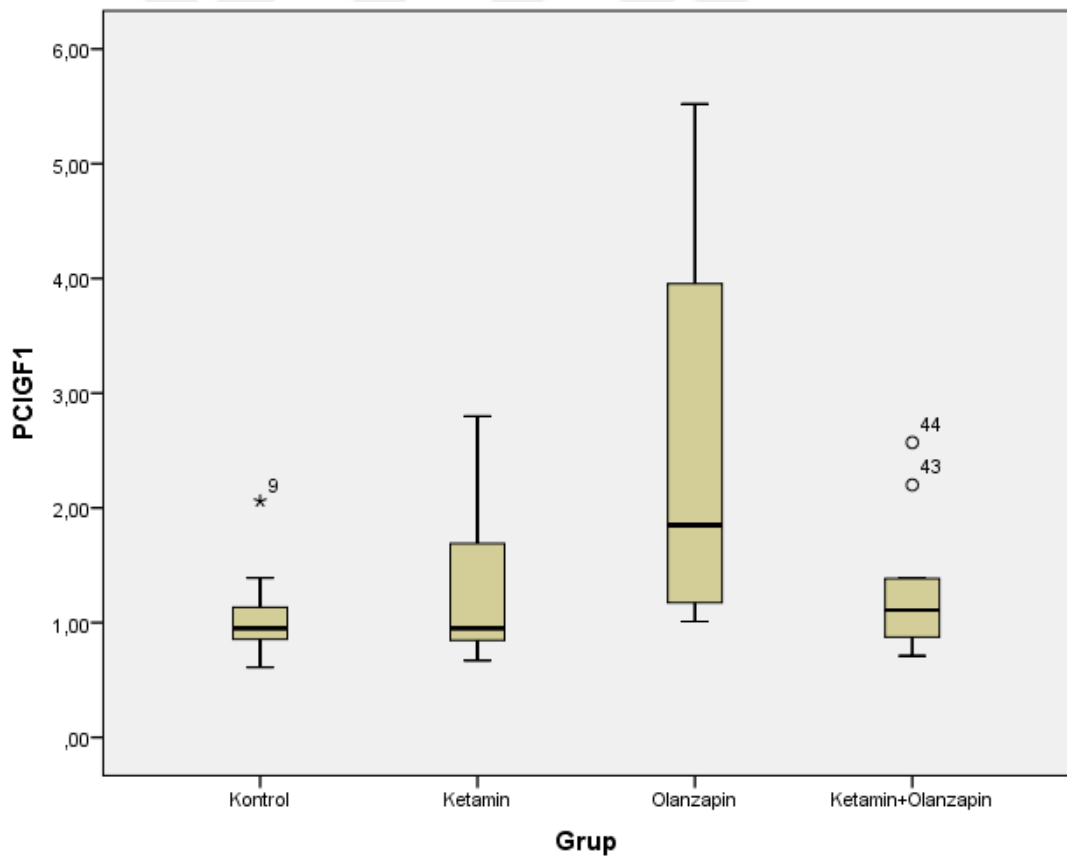
Gen	Verimlilik	Ekspresyon	Standart Hata	95% C.I.	P	Sonuç
Beta-2-mikroglobulin	0,99	1,000				
IGF-1	0,99	0,897	0,264 - 3,068	0,107 - 5,467	0,751	
IGF-1R	0,99	0,003	0,001 - 0,005	0,001 - 0,008	0,000	DOWN

(P: Anlamlılık değeri, DOWN: Downregülasyon, C.I.: Confidens Intervale, Güven Aralığı)



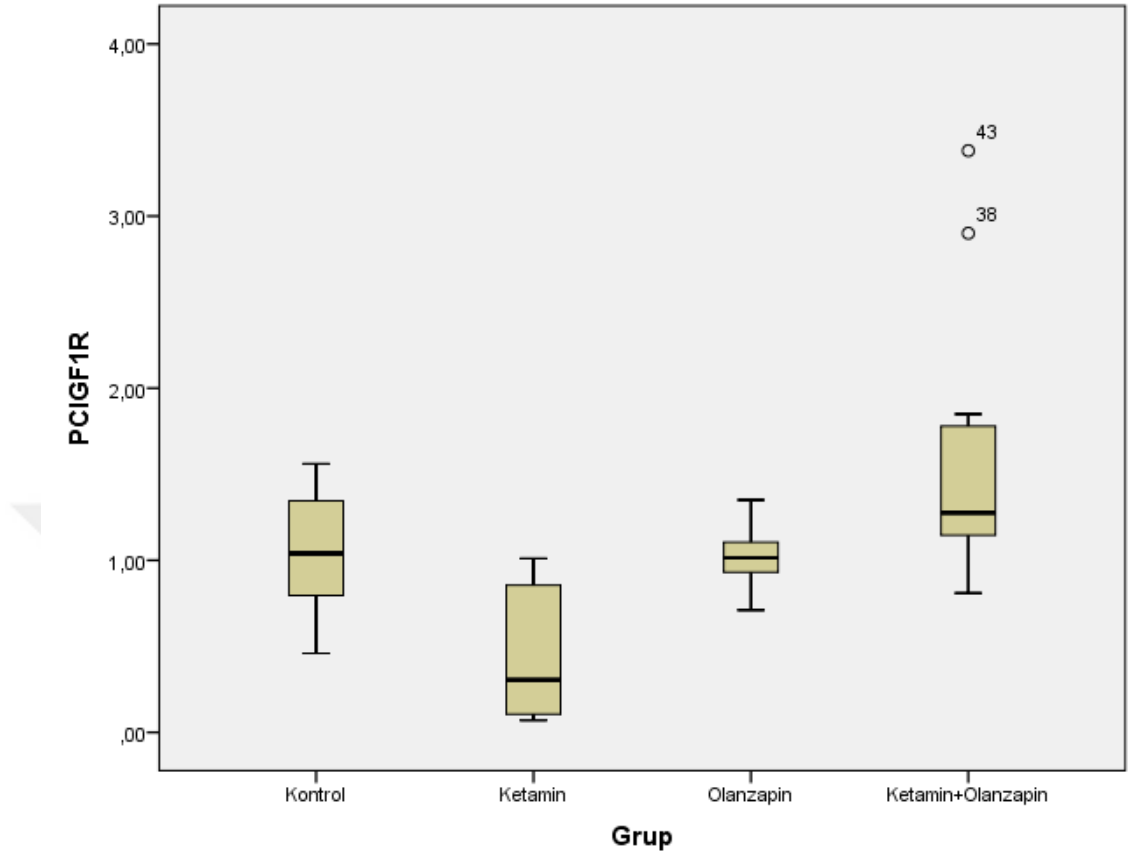
Şekil 4.6. Hipokampusta ketamin+olanzapin grubu REST analizi sonuçları

Çalışma gruplarının prefrontal kortekste IGF-1 gen ekspresyon düzeyleri Şekil 4.7’de verilmiştir.



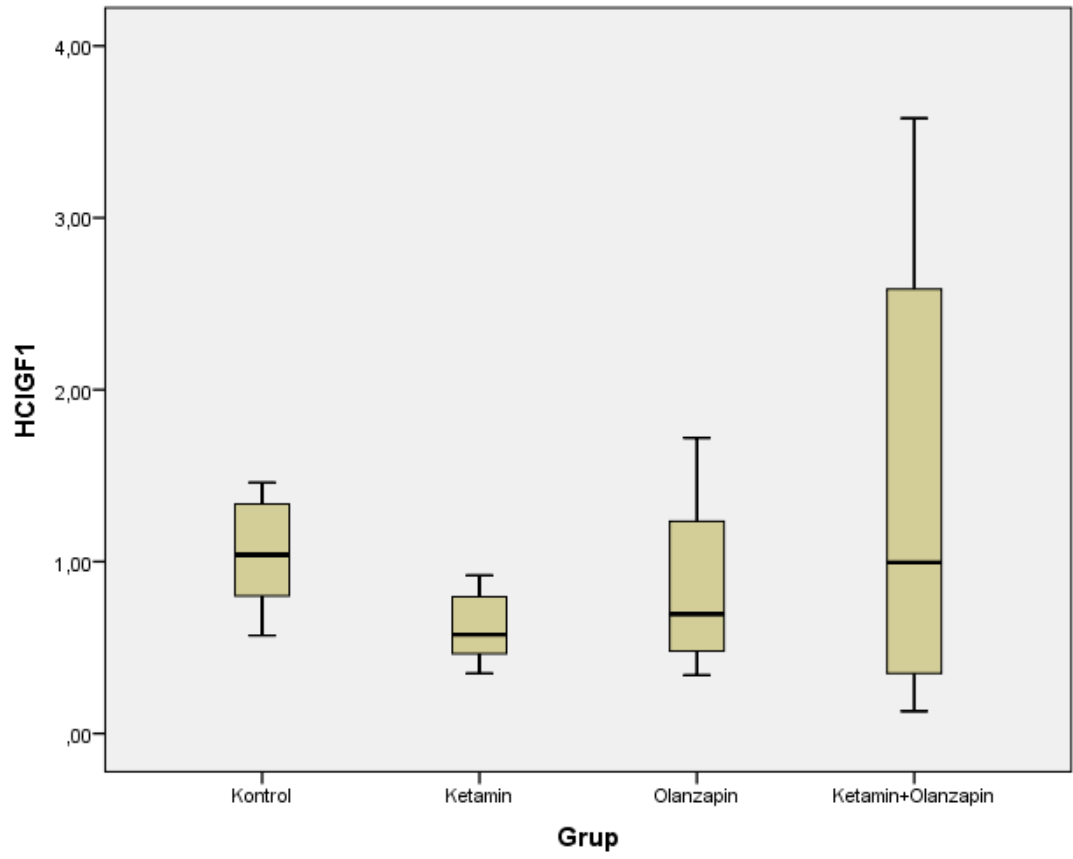
Şekil 4.7. Prefrontal korteks IGF-1 gen ekspresyon düzeyleri

Çalışma gruplarının prefrontal kortekste IGF-1R gen ekspresyon düzeyleri Şekil 4.8’de verilmiştir.



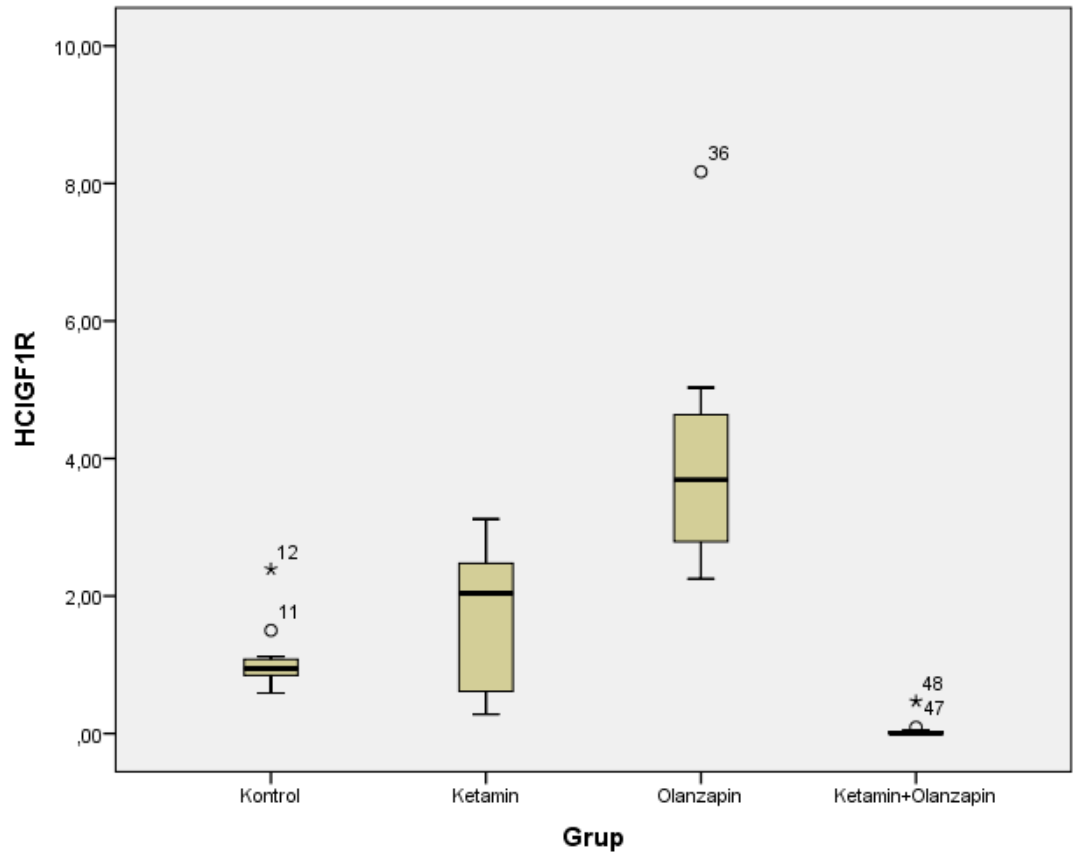
Şekil 4.8. Prefrontal korteks IGF-1R gen ekspresyon düzeyleri

Çalışma gruplarının hipokampusta IGF-1 gen ekspresyon düzeyleri Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9. Hipokampus IGF-1 gen ekspresyon düzeyleri

Çalışma gruplarının hipokampusta IGF-1Rgen ekspresyon düzeyleri Şekil 4.10'da verilmiştir.



. Şekil 4.10. Hipokampus IGF-1R gen ekspresyon düzeyleri

4.3. ELISA İle Protein Düzeyi Sonuçları

Ratların prefrontal korteks ve hipokampusundan çalışılan IGF-1 ve IGF-1R protein düzeyleri sonuçları Tablo 4.10'da gösterilmiştir. Prefrontal kortekste; kontrol grubuna kıyasla diğer üç grupta IGF-1 protein düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($P=0.520$). Bu bölgede IGF-1R protein düzeylerinde de kontrol grubuna kıyasla diğer üç grupta anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ketamin vs ketamin+olanzapin grubu arasında anlamlı bir değişiklik olduğu saptanmıştır ($P=0.08$).

Hipokampusta; kontrol grubuna kıyasla diğer üç grupta IGF-1 protein düzeylerinde anlamlı bir azalış olduğu (kontrol vs ketamin $P=0.013$, kontrol vs olz $P=0.023$, kontrol vs ket+olz $P=0.005$) saptanmıştır ($P=0.000$). Bu bölgede IGF-1R protein düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla ketamin+ olanzapin grubunda anlamlı bir azalış olduğu saptanmıştır ($P=0.001$).

Tablo 4.10. Prefrontal korteks ve hipokapusta ölçülen IGF-1 ve IGF-1R protein düzeyleri

Doku	Test	Kontrol	Ketamin	Olanzapin	Ket+Olz	P
PFC	IGF-1 (ng/mg protein)	178.96±85.6 4	213.65±76.24	204.12±74.00	191.69±97.97	0.520
	IGF-1R (pg/mg protein)	128.47±65.6 9	187.31±37.81	136.70±29.12	105.55±23.91 ^a	0.008
HC	IGF-1 (ng/mg protein)	316.79±121. 08 ^b	177.79±25.79	187.41±45.15	152.93±66.98	0.000
	IGF-1R (pg/mg protein)	205.63±64.9 1	152.97±41.19	144.45±54.70	100.97±48.45 ^c	0.001

a post-hoc tamhane ketamin vs ket+olz P=0.010

b post-hoc tamhane kontrol vs ketamin P=0.013, kontrol vs olz P=0.023, kontrol vs ket+olz P=0.005

c kontrol vs ketamin+olanzapin P=0.003

4.4. Histolojik Stereoloji İnceleme Sonuçları

Prefrontal korteks ve hipokampusun histolojik stereoloji inceleme sonuçları Tablo 4.11’de gösterilmiştir. Prefrontal korteks hacminde ketamin grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalış (P=0.000) tespit edilmiştir. Hipokampus hacminde kontrol grubuna kıyasla diğer üç grupta anlamlı bir azalış (kontrol vs ketamin P=0.000, kontrol vs olz P=0.000, kontrol vs ket+olz P=0.000) tespit edilmiştir.

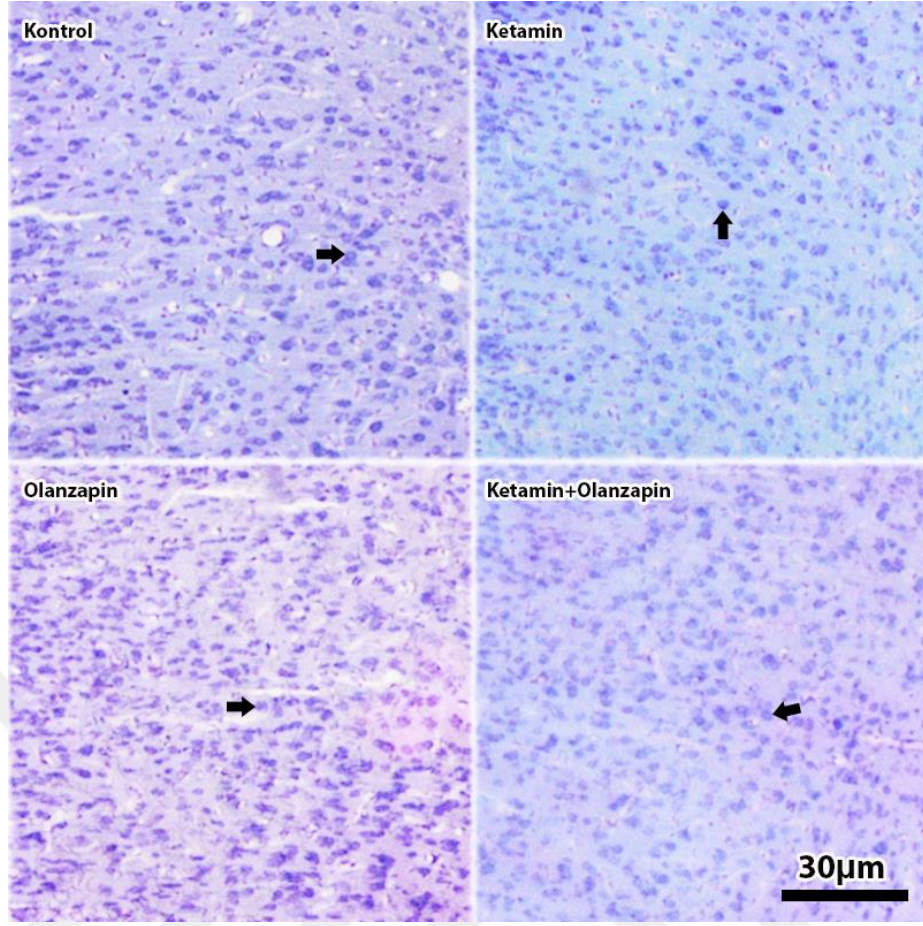
Tablo 4.11. Prefrontal korteks ve hipokampusun histolojik stereoloji inceleme sonuçları

	Kontrol	Ketamin	Olanzapin	Ket+Olz	P
Prefrontal Korteks Doku hacmi (mm³)	66.55±0.43	62.08±1.31 ^a	67.05±0.74	67.17±0.66	0.000
Hipokampus Doku hacmi (mm³)	9.85±0.74 ^b	8.14±0.05	8.08±0.12	8.54±0.21	0.000

a post-hoc Tukey kontrol vs ketamin P=0.000

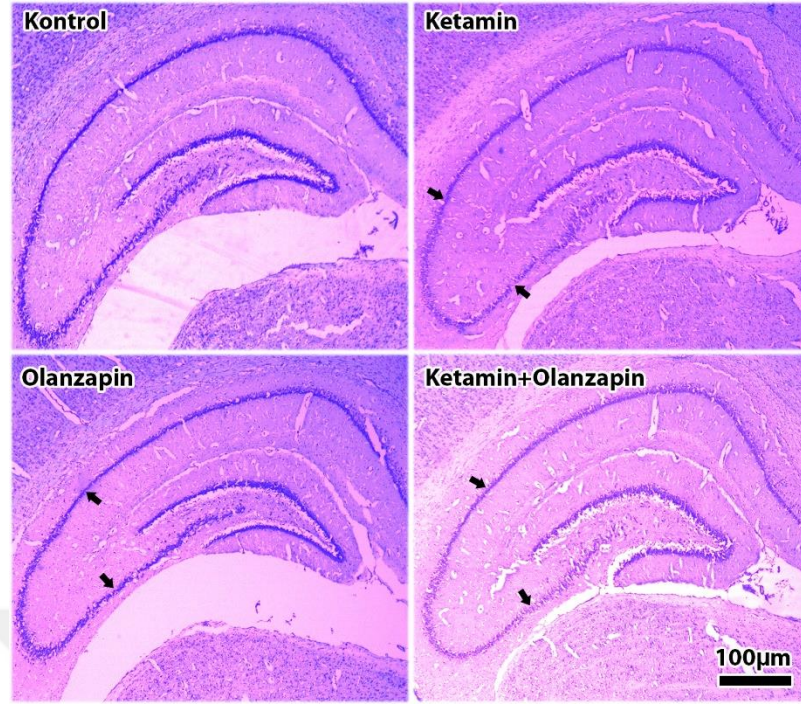
b post-hoc Tukey kontrol vs ketamin P=0.000, kontrol vs olz P=0.000, kontrol vs ket+olz P=0.000

Çalışma gruplarına ait prefrontal korteks bölgelerinin yüksek büyütmede temsili genel görüntüsü Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.11. Çalışma gruplarına ait prefrontal korteks bölgelerinin yüksek büyütmede temsili genel görüntüsü Oklar, ilgili bölgelerde yerleşik nöronları göstermektedir (Cresyl violet boyama)

Çalışma gruplarına ait hipokampus bölgelerinin yüksek büyütmede temsili genel görüntüsü Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.12. Çalışma gruplarına ait hipokampus bölgelerinin yüksek büyütmede temsili genel görüntüsü. Oklar, deney gruplarında hipokampus bölgelerinin azalmış hücre yoğunluğu ve incelmış hücre tabakalarını göstermektedir (Cresyl violet boyama)

4.5. İmmünohistokimyasal Analiz Sonuçları

Prefrontal kortekste IGF-1 immünohistokimyasal boyama sonucu kontrol grubuna kıyasla olanzapin grubunda ($P=0,000$) ve ketamin+olanzapin grubunda ($P=0,031$) anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu bölgede IGF-1R immünohistokimyasal boyama sonucu kontrol grubuna kıyasla ketamin grubunda anlamlı bir azalma ($P=0,000$), ketamin+olanzapin grubunda anlamlı bir artış ($P=0,000$) tespit edilmiştir (Tablo 4.12, Şekil 4.13).

Hipokampusta IGF-1 immünohistokimyasal boyama sonucu kontrol grubuna kıyasla diğer üç grupta anlamlı bir azalma (kontrol vs ketamin $P=0,000$, kontrol vs olz $P=0,011$, kontrol vs ket+olz $P=0,035$) gözlenmiştir. Bu bölgede IGF-1R immünohistokimyasal boyama sonucu kontrol grubuna kıyasla olanzapin grubunda anlamlı bir artış ($P=0,000$) tespit edilirken ketamin+olanzapin grubunda anlamlı bir azalma ($P=0,000$) tespit edilmiştir (Tablo 4.12, Şekil 4.14).

Tablo 4.12. Prefrontal korteks ve hipokampus IGF-1 ve IGF-1R immunohistokimyasal analiz sonuçları

Doku	Test	Kontrol	Ketamin	Olanzapin	Ket+Olz	P
PFC	IGF-1	26.8±1.48	27.6±1.94	69.8±1.48 ^a	30.6±2.6 ^b	0.000
	IGF-1R	28.2±1.64	12.2±1.92 ^c	32.6±3.91	52.6±23.91 ^d	0.000
HC	IGF-1	26.8± 1.48 ^e	17.4± 3.28	21.8± 1.78	22.6± 1.67	0.000
	IGF-1R	28.2± 1.64	31.40± 3.50	71.6± 3.20 ^f	15.6± 4.39 ^g	0.000

a post-hoc Tukey kontrol vs olz P=0,000,

b post-hoc Tukey kontrol vs ket+olz P=0.031

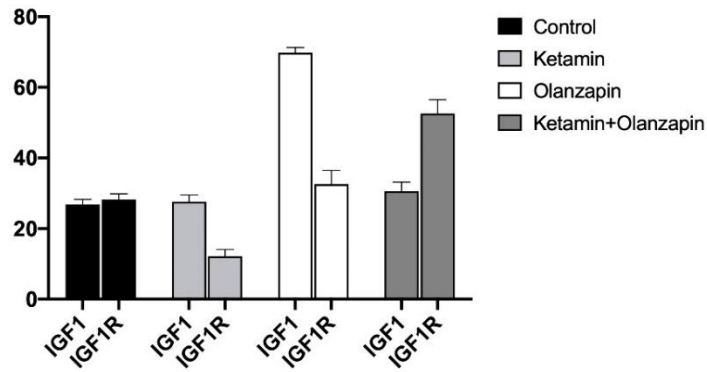
c post-hoc Tukey kontrol vs ketamin P=0.000

d post-hoc Tukey kontrol vs ket+olz P=0.000

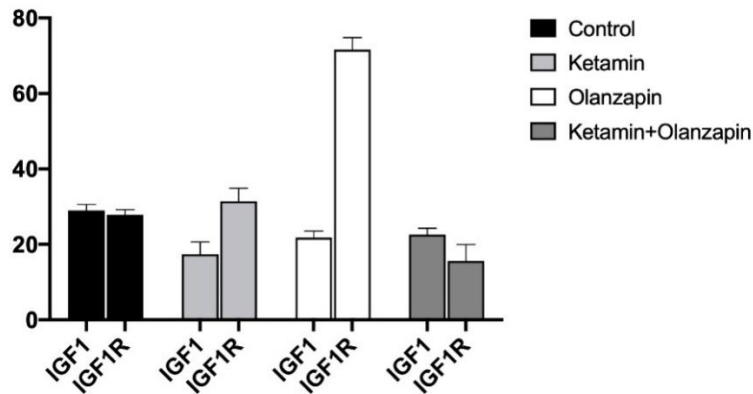
e post-hoc Tukey kontrol vs ketamin P=0.000, kontrol vs olz P=0.011, kontrol vs ket+olz P=0.035

f post-hoc Tukey kontrol vs olz P=0.000

g post-hoc Tukey kontrol vs ket+olz P=0.000

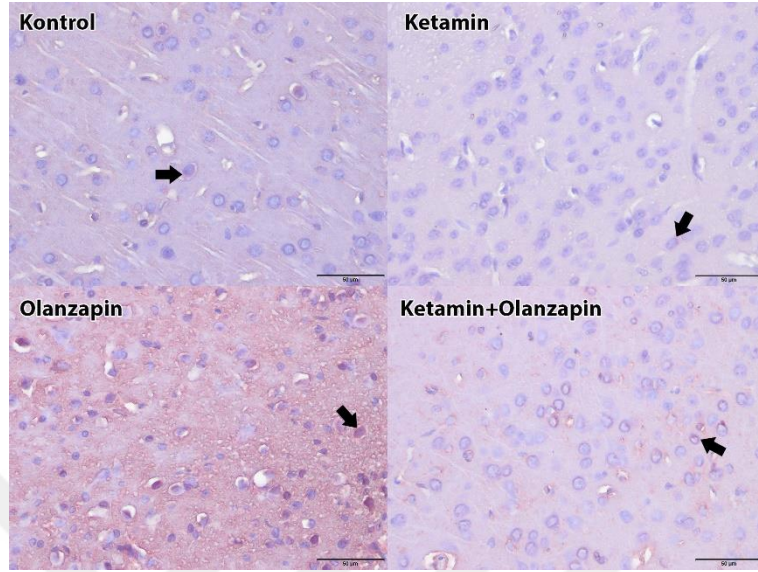


Şekil 4.13. Prefrontal kortekste IGF-1 ve IGF-1R immunohistokimyasal boyama



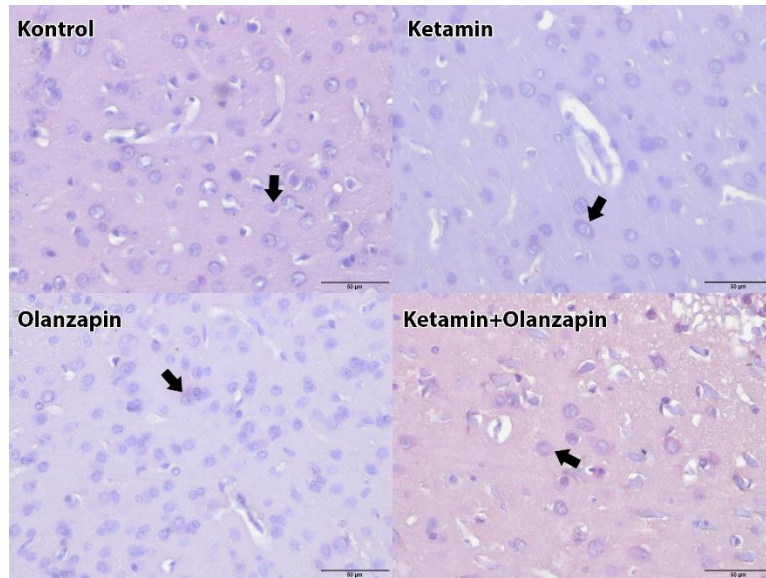
Şekil 4.14. Hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R immunohistokimyasal boyama

Prefrontal korteks bölgesinde gruplara ait IGF-1 immünohistokimyasal boyama görüntüleri Şekil 4.15’de verilmiştir.



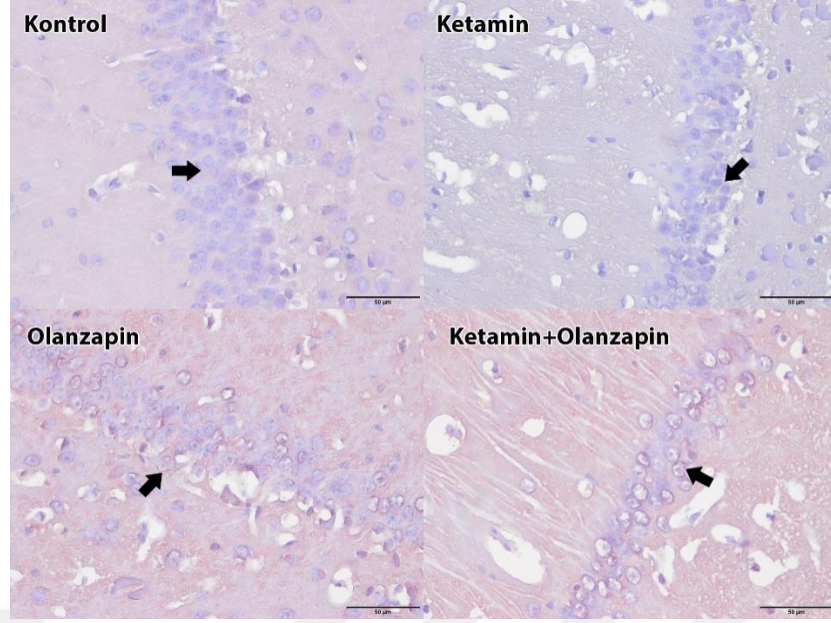
Şekil 4.15. Prefrontal korteks gruplara ait IGF-1 immünohistokimyasal boyama görüntüleri (okların göstermiş olduğu kahverengi boyanan alanlar immün pozitif boyanan nöronları göstermektedir)

Prefrontal korteks bölgesinde gruplara ait IGF-1R immünohistokimyasal boyama görüntüleri Şekil 4.16’da verilmiştir.



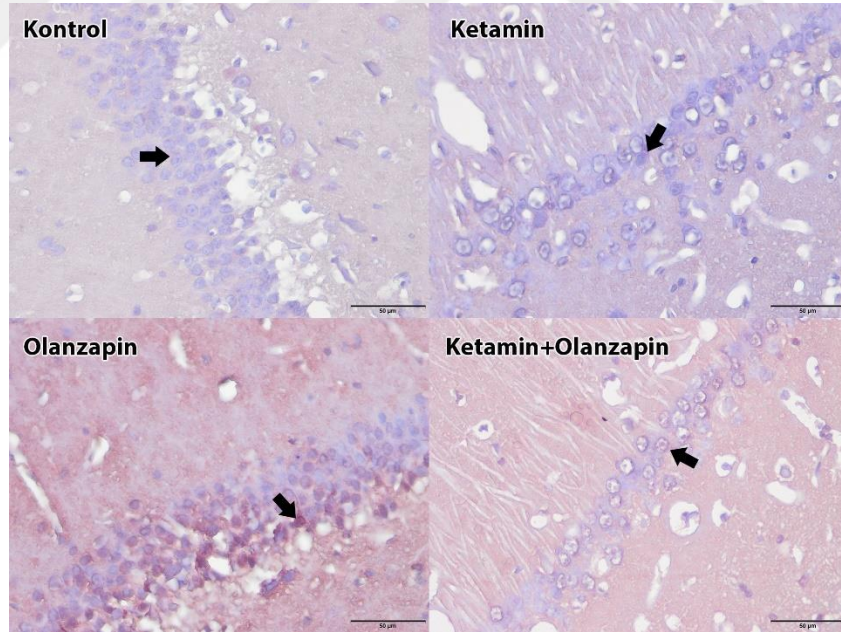
Şekil 4.16. Prefrontal korteks gruplara ait IGF-1R immünohistokimyasal boyama görüntüleri (okların göstermiş olduğu kahverengi boyanan alanlar immün pozitif boyanan nöronları göstermektedir)

Hipokampus bölgesinde gruplara ait IGF-1 immünohistokimyasal boyama görüntüleri Şekil 4.17’de verilmiştir.



Şekil 4.17. Hipokampusta gruplara ait IGF-1 immünohistokimyasal boyama görüntüleri (okların göstermiş olduğu kahverengi boyanan alanlar immün pozitif boyanan nöronları göstermektedir)

Hipokampus bölgesinde gruplara ait IGF-1R immünohistokimyasal boyama görüntüleri Şekil 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.18. Hipokampusta gruplara ait IGF-1R immünohistokimyasal boyama görüntüleri (okların göstermiş olduğu kahverengi boyanan alanlar immün pozitif boyanan nöronları göstermektedir)

5. TARTIŞMA

Biz bu çalışmada, prefrontal korteks hacminde ketamin ile bipolar mani modeli oluşturulan grupta kontrole kıyasla anlamlı bir azalma tespit ettik. Hacimdeki bu azalmaya rağmen IGF-1'in gen ekspresyon, protein düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken IGF-1R'nin gen ekspresyon düzeylerinde ve protein düzeylerinde (immün boyama) anlamlı bir azalma tespit ettik. Olanzapin grubunda prefrontal korteks hacminde bir değişiklik yoktu ve IGF-1 gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immun boyama) anlamlı bir artış vardı. IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Ketamin+olanzapin grubunda da hacimde bir değişiklik gözlenmezken IGF-1 protein (immun boyama), IGF-1R gen ekspresyon ve IGF-1R protein düzeylerinde (immün boyama) anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Hipokampus hacminde üç deney grubunda da kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma tespit ettik. Hacimdeki bu azalmayı destekler şekilde, IGF-1 protein düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla üç grubun hepsinde anlamlı bir azalma görüldü. IGF-1 gen ekspresyon düzeylerinde ise üç grupta da kontrole kıyasla azalma gözlenmesine rağmen, sadece ketamin grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı. IGF-1R düzeylerini incelediğimizde ise ketamin grubunda kontrol grubuna kıyasla IGF-1R gen ekspresyon ve IGF-1R protein düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken olanzapin grubunda IGF-1R gen ekspresyon düzeylerinde ve IGF-1R protein düzeylerinde (immun boyama) anlamlı bir artış saptandı. Ketamin+olanzapin grubunda ise kontrole kıyasla IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit edildi.

Bipolar bozukluğun ortaya çıkışında beynin hangi bölgelerinde hangi değişikliklerin etkili olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Subkortikal yapıların hacimsel mega analizinde 1745 BB hastası ve 2613 sağlıklı kontrole yapılan çalışmada, BB'un artmış lateral ventriküler boyutu ve azalmış amigdala, hipokampus ve talamus hacimleri ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Hibar et al., 2016). 1043 hastayı kapsayan 25 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde BB'da hipokampal hacimdeki azalma manyetik rezonans görüntüleme veya fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme yöntemi ile tespit edilmiştir (Otten and Meeter, 2015). Beyin yapısının kesitsel çalışmaları, yaşam boyunca BB'de beyin ve prefrontal lob hacminde azalma, globus pallidus ve lateral ventrikül hacminde artma göstermektedir (Arnone

et al., 2009). Bununla birlikte, bipolar bozukluğu olan hastalarda lateral ve medial prefrontal bölgelerde, insula ve fusiform girusta ve hipokampus ve talamus hacminde kortikal kalınlıkta ince fakat ölçülebilir azalmalar tespit edilmiştir (Hibar et al., 2016; Hibar et al., 2018; Pezzoli et al., 2018). Çalışmamızda ketamin ile bipolar mani modeli oluşturduğumuz grupta gördüğümüz hacim düşüklükleri prefrontal kortekste IGF-1R'nin gen ekspresyon ve protein düzeylerindeki (immün boyama) azalmayla, hipokampusta ise IGF-1'in gen ekspresyon ve protein düzeylerindeki azalma ile ilişkili olabilir. Yapılan çalışmalardan birinde embriyonik beyin gelişimi sırasında nestin ile başlatılan IGF-1 aşırı ekspresyonu ile geç gebelikten itibaren beyin ağırlığında %10-20 artış olduğu gösterilmiştir (Popken et al., 2004). Bunu destekler şekilde, IGF-1 yoksunu (null) mutant ve IGF-1R delesyonu olan farelerde beyin ağırlığında sırasıyla %29-38 ve %40 azalma olduğu bildirilmiştir. (Ye et al., 2002; D'Ercole and Ye, 2008). Bu bulgular da bizim çalışmamızdaki bulgularla uyumludur.

Olanzapinin kesin etki mekanizmasının bilinmemesinin yanında beyinde ne gibi değişikliklere sebep olduğu da hala tartışmalı bir konudur (Boonstra et al., 2011). Literatürde ilacın nöroprotektif etki gösterdiğini savunan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Atipik bir antipsikotik ilaç olan olanzapinin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kognitif bozukluk ve nöropatolojik değişiklikler üzerinde yararlı etkileri olduğu varsayılmaktadır (He et al., 2005). Olanzapinin nöral progenitorların nöroenezini ve/veya proliferasyonunu indükleyerek terapötik etkinliklerinden bazılarını sergileyebileceği ileri sürülmektedir (Chikama et al., 2017; Wakade et al., 2002). Yapılan bir çalışmada, olanzapinin fareleri metamfetamin kaynaklı yüksek ölüm oranlarından ve kaudat putamende dopaminerjik terminal hasara karşı koruyabildiği bildirilmiştir (He et al., 2004). Başka bir çalışmada olanzapinin glutamat maruziyetinden kaynaklı nörotoksisiteden embriyonik kortikal nöronları koruduğunu gösterilmiştir (Koprivica et al., 2011). Bunun yanında, β -amyloid peptide(25-35) ile oluşturulan oksidatif stres kaynaklı nörotoksisiteden dolayı oluşan nöronal hücre ölümünde olanzapinin doza bağımlı bir azalma gösterdiği bulunmuştur (Yang and Lung, 2011). Olanzapinin nöroprotektif etkisini gösteren çalışmalar daha çok beynin prefrontal korteksine yoğunlaşmıştır. Yetişkin ratlarla yapılan bir çalışmada kronik olanzapin uygulamasının prefrontal kortekste hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Kodama et al., 2004). Olanzapin ile kronik tedavinin, yetişkin erkek sıçanların PFC'sinde yeni üretilen hücrelerin sayısını ve

hayatta kalma oranını artırma yeteneğinin incelendiği bir çalışmada olanzapinin PFC BrdU etiketli hücrelerin hem toplam sayısını hem de yoğunluğunu önemli ölçüde artırdığı, bildirilmiştir (Wang, et al., 2004). Ayrıca, olanzapin ile in vivo yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanlarına uygulanan kronik tedavinin, prefrontal kortikal piramidal hücre dendritlerinde 6-hidroksidopamin kaynaklı değişiklikleri tersine çevirdiğini bildirilmiştir (Wang and Deutch, 2008). Yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanları ile yapılan bir başka çalışmada ise fensiklidine maruziyet sonrası olanzapin ile prefrontal korteksin II/III katmanındaki asimetric omurga sinapslarına karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu gösterilmiştir (Elsworth et al., 2011). Olanzapinin nöroprotektif özellik gösterdiğine dair bu çalışmalar, bipolar bozukluk tedavisinde bu etkinin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Fakat ilacın nöroprotektif özelliğini hangi moleküler yolak üzerinden gerçekleştirdiğine dair bilgi bulunmamaktadır. Nöron gelişiminde etkisi olan İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 ve reseptörü bu mekanizmalardan biri olabilir.

IGF-1'in, affektif bozukluklarda bozulmuş nörojenez, miyelinizasyon, remiyelinizasyon, nöromodülasyon ve sinaptogenezde yardımcı olduğu kanıtlanmıştır (O'Kusky et al., 2000; Slavich and Irwin, 2014). Ayrıca farklılaşmış nöronlarda önemli bir anti-apoptotik sinyaldir (Chrysis et al., 2001; Hodge et al., 2007). IGF-1, belirli embriyonik aşamalarda aşırı eksprese edildiğinde nöron progenitörlerinin genişlemesinde derin etkilere sahiptir (Popken et al., 2004). Gelişmekte olan beyinde IGF-1 aşırı ekspresyonu, serebral kortekste toplam nöron sayısında artışa neden olur. Ayrıca IGF-1, muhtemelen PI3K-Akt yolağı ile aksonal gelişim ve sinaps oluşumu üzerinde güçlü etkilere sahiptir (Fernandez and Torres-Aleman, 2012). IGF-1 ayrıca GABAerjik ve glutamaterjik nöronların proliferasyonu migrasyonu ve ayrıca SSS'de nöronal sinaptogenezde önemli rollere sahiptir (Oishi et al., 2009; Hurtado-Chong et al., 2009). Hayvan depresyon modeliyle yapılan bir çalışmada IGF-1'in N-metil-D-aspartat reseptöründen bağımsız olarak, IGF-1R ve protein sentezine bağımlı tarzda uzun süreli potansiyasyonu kalıcı olarak arttırdığı gösterilmiştir (Burgdorf et al., 2015). IGF-1 / IGF-1R sistemi, hem embriyonik gelişim sırasında hem de yetişkin beyinde NSC'lerden ve progenitörlerden üretilen nöronların büyük ölçüde PI3K / Akt yolu aracılığıyla farklılaşmasını ve olgunlaşmasını düzenler (Aberg et al., 2000; Brooker et al., 2000; O'Kusky et al., 2000; Trejo et al., 2001; VicarioAbejón et al., 2003; Otaegi et al., 2006; Carlson et al., 2014; Zhang et al., 2014; Yuan et al., 2015).

IGF-1, astrositlerin ve oligodendrositlerin gelişimini de etkiler (Ye and D'Ercole, 2006; O'Kusky and Ye, 2012). Nöral progenitörlerin miyelin üreten olgun oligodendrositlere farklılaşmasını teşvik eder ve fizyolojik koşullar altında ve yaralanmadan sonra astrositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarır (Cao et al., 2003; Ye et al., 2004). IGF-1 ve IGF-1R KO farelerinde, embriyonik gelişim ve doğum sonrası SVZ-OB ve HC'de nörojenez sırasında nöron sayısında bir azalma tarif edilmiştir (Baker et al., 1993; Liu et al., 1993, 2009; Powell-Braxton et al., 1993; Beck et al., 1995; Hurtado-Chong et al., 2009). IGF-1, kültürdeki embriyonik koku soğanı kök hücrelerine eklendiğinde, nöronların, astrositlerin ve oligodendrositlerin sayısında bir artış meydana getirirken, IGF-1 KO farelerinden izole edilen eOBSC'lerin farklılaşmasında bir azalma gözlenmiştir (Vicario-Abejón et al., 2003; Otaegi et al., 2006). IGF-1 KO hayvanların doğum sonrası yetişkin OB'sinde, muhtemelen yukarıda bahsedildiği gibi SVZ'den değişen nöroblast çıkışı ve göç nedeniyle inter nöron popülasyonlarının sayısında azalma gözlenmiştir (Hurtado-Chong et al., 2009). Aksine, IGF-1'i aşırı eksprese eden hayvanlar, HC'deki nöronların sayısında bir artış sergilemektedir (O'Kusky et al., 2000; Popken et al., 2004; Carlson et al., 2014). Olanzapinin IGF-1 üzerine etkisini inceleyen ise bildiğimiz kadarıyla bugüne kadar iki çalışma yapılmıştır. Bunlardan ilki endotel hücresi/adipoz türevi stromal hücre ko-kültürü ile yapılan bir çalışmadır ve olanzapinin IGF-1 mRNA ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Xue et al., 2017). İkinci çalışmada ise cuprizona maruz kalan C57BL/6 farelerinde oluşan nöropatolojik değişiklikleri olanzapinin düzelttiği ve frontal korteksinde IGF-1 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Zhang et al., 2014). Bizim çalışmamızda, PFC'de olanzapin uygulanan ratlarda IGF-1 gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immun boyama) anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Bulgularımız, bipolar mani modeli oluşturulmuş ratların olanzapin ile tedavisinin (ketamin+olanzapin) ise IGF-1 protein düzeylerini (immun boyama) ve IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerini (immun boyama) arttırarak prefrontal kortekste nöroprotektif bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Olanzapin ve ketamin+olanzapin uygulanan gruplarda prefrontal kortekste hacimde bir değişiklik gözlenmemesi bu değişikliklere bağlı olabilir.

Olanzapinin nöroprotektif etkisini bildiren çalışmaların yanı sıra nörodejeneratif etkisinden bahseden çalışmalar da bulunmaktadır. Olanzapin tedavisi ile beyin kortikal kalınlığı ve gri/beyaz cevher kontrastı arasındaki ilişkinin

araştırıldığı bir çalışmada, olanzapin kullananlarda korteksin (frontal, orbitofrontal, medial temporal) daha ince olduğu yoğunluk kontrastının sağlıklı kontrole kıyasla benzer olduğu bildirilmiştir (Gjerde et al., 2018). Olanzapin ile tedaviden sonra, hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla gri madde hacminde azalma olduğu bildirilmiştir (Molina et al., 2007). Makak maymun ile kronik olanzapine maruz kalma modelinin geliştirildiği bir çalışmada, olanzapin uygulanan hayvanlarda ortalama taze beyin ağırlıklarında ve sol taze beyin ağırlıklarında ve hacimlerinde %8-11'lik bir azalma gözlenmiştir. Farklılıklar tüm ana beyin bölgelerinde (frontal, parietal, temporal, oksipital ve serebellum) gözlenmiştir. Parietal bölgenin stereolojik analizi ile hem gri hem de beyaz maddede benzer hacim azalmaları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, insan dışı primatların antipsikotiklere (olanzapin) kronik olarak maruz kalması beyin hacminde azalma ile ilişkilendirilmiştir (Dorph-Petersen et al., 2005). Olanzapine kronik maruziyetin frontal serebral korteks hacminde (%8-%12) bir azalmadan kaynaklanan tüm beyin hacminde önemli bir azalmaya (%6-%8) sebep olduğu bildirilmiştir (Vernon et al., 2011). Olanzapinin hem in vitro hem de in vivo olarak otofaji ve apoptoz indüksiyonu ile birlikte glioma hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Wang et al., 2014). Yüksek doz olanzapinin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde artma, mitokondriyal hasar ve mitofaji inhibisyonu yoluyla hipotalamik nöronların nörotoksitesine neden olabileceği bildirilmiştir (Boz et al., 2020). Bizim de çalışmamızda olanzapin ve ketamin+olanzapin grubunda hipokampus hacminde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gözlenmesi bu bulguları destekler niteliktedir. Buna ilaveten, hipokampusta, IGF-1 protein düzeylerinde olanzapin ve ketamin+olanzapin grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gözlenirken, gen ekspresyon düzeylerinde her iki grupta da kontrole kıyasla azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Olanzapin grubunda IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immun boyama) gerçekleşen artış ise IGF-1 düzeylerindeki azalmaya karşı bir kompanzasyon mekanizması olarak meydana gelmiş olabilir. IGF-1 seviyesinin azalması IGF-1R seviyesinin artışına yol açıyor olabilir (Bergstedt and Wieloch, 1993). Ketamin+olanzapin grubunda ilginç bir şekilde kontrole kıyasla IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. IGF-1R'ündeki bu azalmanın sebebi de ilaç etkileşimi olabilir. Ancak bunun açıklığa kavuşturulması için daha ileri incelemelere ihtiyaç bulunmaktadır.

Bizim bulgumuzun aksine, olanzapinin hipokampusta nörotoksik etkisinin aksini savunan çalışmalar da bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada olanzapinin hem akut hem de kronik dozunun, sensorimotor kortekste kan beyin perfüzyonunda azalmaya neden olurken, piriform korteks veya hipokampusta herhangi bir etki gözlenmediği tespit edilmiştir. Bu bulguları destekler şekilde, olanzapine kronik maruziyetin hipokampus hacminde değişikliğe sebep olmadığı bildirilmiştir (Crum et al., 2016). Olanzapinin, hipokampusta okadaik asidin neden olduğu uzamsal hafıza bozukluğunu ve nöropatolojik değişiklikleri önemli ölçüde azalttığı da ileri sürülmüştür (He et al., 2005). Ratlara olanzapin uygulanması kainik asit ile indüklenen hipokampal nöronal kaybı da tersine çevirebilir (Csernansky et al., 2006). Yetişkin ratlarla yapılan bir çalışmada kronik olanzapin uygulamasının hipokampusta hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Kodama et al., 2004). Yetişkin farelere olanzapin uygulamasının hipokampusta BrdU-pozitif hücrelerin yoğunluğunu önemli ölçüde arttırması da bu hipotezi destekleyen diğer bir bulgudur. (Chikama et al., 2017; Wakade et al., 2002).

Bizim çalışmamızın en önemli limitasyonlarından biri, fosfo-IGF-1R (fosforillenmiş IGF-1R) protein düzeylerinin incelenmemiş olmasıdır. IGF-1'in reseptörüne bağlanmasının ardından meydana gelen otofosforilasyonun araştırılması olanzapinin etki mekanizmasını açığa kavuşturmak için faydalı olacaktır.

Sonuç olarak, bipolar bozukluğun altında yatan sebeplerden biri de prefrontal korteks ve hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R düzeyindeki değişiklikler olabilir. Hastalığın tedavisinde kullanılan olanzapin, farklı beyin bölgelerinde farklı etkiler gösteriyor olabilir. Bulgularımız olanzapinin prefrontal kortekste IGF-1 ve IGF-1R düzeylerini arttırarak nöroprotektif bir etki, hipokampusta ise IGF-1 ve IGF-1R düzeylerinde azalmaya sebep olarak nörodejeneratif bir etki gösterebileceğine işaret ediyor olabilir. Çalışmamız, bipolar bozukluğun moleküler tanı ve tedavisi için öncü bir çalışma olup ileri çalışmalar ve klinisyenler için yol gösterici olacaktır.

6. SONUÇ

1. Prefrontal kortekste ketamin; hacimde, IGF-1R'nin gen ekspresyon ve protein düzeylerinde (immün boyama) azalmaya neden oldu.
2. Prefrontal kortekste olanzapin; IGF-1 gen ekspresyon ve protein düzeylerini (immun boyama) arttırdı.
3. Prefrontal kortekste ketamin ile bipolar mani modeli oluşturulan ratlara olanzapin uygulanması; IGF-1 protein (immun boyama), IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerini (immün boyama) arttırdı.
4. Hipokampusta ketamin/olanzapin/ketamin+olanzapin uygulanması hacimde ve IGF-1 protein düzeylerinde azalmaya neden oldu.
5. Hipokampusta, ketamin IGF-1 gen ekspresyon düzeylerini azalttı.
6. Hipokampusta, olanzapin IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerini (immun boyama) arttırdı.
7. Hipokampusta, ketamin ile bipolar mani modeli oluşturulan ratlara olanzapin uygulanması IGF-1R gen ekspresyon ve protein düzeylerini azalttı.

KAYNAKÇA

- Aberg, M. A., Aberg, N. D., Hedbäcker, H., Oscarsson, J., and Eriksson, P. S. (2000). Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 20, 2896–2903.
- Aburto, M. R., Magariños, M., Leon, Y., Varela-Nieto, I., and Sanchez-Calderon, H. (2012). AKT signaling mediates IGF-I survival actions on otic neural progenitors. *PLoS ONE* 7:e30790.
- Adams, J. D., Castagnoli, N., & Trevor, A. J. (1978). Quantitative analysis of ketamine enantiomers. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 21, 471–472.
- Altamura, A. C., Dell'Osso, B., Berlin, H. A., Buoli, M., Bassetti, R., & Mundo, E. (2010). Duration of untreated illness and suicide in bipolar disorder: a naturalistic study. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 260(5), 385–391.
- Altshuler, L. L., Ventura, J., van Gorp, W. G., Green, M. F., Theberge, D. C., & Mintz, J. (2004). Neurocognitive function in clinically stable men with bipolar I disorder or schizophrenia and normal control subjects. *Biological psychiatry*, 56(8), 560–569.
- Angst, J., & Marneros, A. (2001). Bipolarity from ancient to modern times: conception, birth and rebirth. *Journal of affective disorders*, 67(1-3), 3–19.
- Arnone, D., Cavanagh, J., Gerber, D., Lawrie, S. M., Ebmeier, K. P., & McIntosh, A. M. (2009). Magnetic resonance imaging studies in bipolar disorder and schizophrenia: meta-analysis. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 195(3), 194–201.
- Arsenijevic, Y., Weiss, S., Schneider, B., and Aebischer, P. (2001). Insulin-like growth factor-I is necessary for neural stem cell proliferation and demonstrates distinct actions of epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2. *J. Neurosci.* 21, 7194–7202.
- Avery, S. N., Williams, L. E., Woolard, A. A., & Heckers, S. (2013). Relational memory and hippocampal function in psychotic bipolar disorder. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 10.1007/s00406-013-0442-z.
- Bach, M. A., Shen-Orr, Z., Lowe, W. L., Jr, Roberts, C. T., Jr, & LeRoith, D. (1991). Insulin-like growth factor I mRNA levels are developmentally regulated in specific regions of the rat brain. *Brain research. Molecular brain research*, 10(1), 43–48.
- Baker, J., Liu, J. P., Robertson, E. J., and Efstratiadis, A. (1993). Role of insulinlike growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 75, b73–b82.
- Baldini, S., Restani, L., Baroncelli, L., Coltelli, M., Franco, R., Cenni, M. C., et al. (2013). Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. *J. Neurosci.* 33, 11715–11723.
- Bardgett, M. E., Humphrey, W. M., & Csernansky, J. G. (2002). The effects of excitotoxic hippocampal lesions in rats on risperidone- and olanzapine-induced locomotor suppression. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 27(6), 930–938.
- Baron-Van Evercooren, A., Olichon-Berthe, C., Kowalski, A., Visciano, G., & Van Obberghen, E. (1991). Expression of IGF-I and insulin receptor genes in the rat central nervous system: a developmental, regional, and cellular analysis. *Journal of neuroscience research*, 28(2), 244–253.
- Bartlett, W. P., Li, X. S., & Williams, M. (1992). Expression of IGF-1 mRNA in the murine subventricular zone during postnatal development. *Brain research. Molecular brain research*, 12(4), 285–291.

- Bartlett, W. P., Li, X. S., Williams, M., & Benkovic, S. (1991). Localization of insulin-like growth factor-1 mRNA in murine central nervous system during postnatal development. *Developmental biology*, 147(1), 239–250.
- Bearden, C. E., Glahn, D. C., Monkul, E. S., Barrett, J., Najt, P., Kaur, S., Sanches, M., Villarreal, V., Bowden, C., & Soares, J. C. (2006). Sources of declarative memory impairment in bipolar disorder: mnemonic processes and clinical features. *Journal of psychiatric research*, 40(1), 47–58.
- Beck, K. D., Powell-Braxton, L., Widmer, H. R., Valverde, J., and Hefti, F. (1995). Igf1 gene disruption results in reduced brain size, CNS hypomyelination, and loss of hippocampal granule and striatal parvalbumin-containing neurons. *Neuron* 14, 717–730.
- Bergstedt, K., & Wieloch, T. (1993). Changes in insulin-like growth factor 1 receptor density after transient cerebral ischemia in the rat. Lack of protection against ischemic brain damage following injection of insulin-like growth factor 1. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 13(5), 895–898.
- Berk, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Dean, O. M., Giorlando, F., Maes, M., Yücel, M., Gama, C. S., Dodd, S., Dean, B., Magalhães, P. V., Amminger, P., McGorry, P., & Malhi, G. S. (2011). Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 35(3), 804–817.
- Berman, R. M., Cappiello, A., Anand, A., Oren, D. A., Heninger, G. R., Charney, D. S., & Krystal, J. H. (2000). Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biological psychiatry*, 47(4), 351–354.
- Bernard, P. S., Ajioka, R. S., Kushner, J. P., & Wittwer, C. T. (1998). Homogeneous multiplex genotyping of hemochromatosis mutations with fluorescent hybridization probes. *The American journal of pathology*, 153(4), 1055–1061.
- Bhana, N., & Perry, C. M. (2001). Olanzapine: a review of its use in the treatment of bipolar I disorder. *CNS drugs*, 15(11), 871–904.
- Bibollet-Bahena, O., & Almazan, G. (2009). IGF-1-stimulated protein synthesis in oligodendrocyte progenitors requires PI3K/mTOR/Akt and MEK/ERK pathways. *Journal of neurochemistry*, 109(5), 1440–1451.
- Birur, B., Kraguljac, N. V., Shelton, R. C., & Lahti, A. C. (2017). Brain structure, function, and neurochemistry in schizophrenia and bipolar disorder-a systematic review of the magnetic resonance neuroimaging literature. *NPJ schizophrenia*, 3, 15.
- Blanco, C., Compton, W. M., Saha, T. D., Goldstein, B. I., Ruan, W. J., Huang, B., & Grant, B. F. (2017). Epidemiology of DSM-5 bipolar I disorder: Results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions - III. *Journal of psychiatric research*, 84, 310–317.
- Bondy, C. A., & Cheng, C. M. (2004). Signaling by insulin-like growth factor 1 in brain. *European journal of pharmacology*, 490(1-3), 25–31.
- Bondy, C. A., & Lee, W. H. (1993). Patterns of insulin-like growth factor and IGF receptor gene expression in the brain. Functional implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 692, 33–43.
- Bondy, C. A., Werner, H., Roberts, C. T., Jr, & LeRoith, D. (1990). Cellular pattern of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and type I IGF receptor gene expression in early organogenesis: comparison with IGF-II gene expression. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 4(9), 1386–1398.

- Boonstra, G., van Haren, N. E., Schnack, H. G., Cahn, W., Burger, H., Boersma, M., de Kroon, B., Grobbee, D. E., Hulshoff Pol, H. E., & Kahn, R. S. (2011). Brain volume changes after withdrawal of atypical antipsychotics in patients with first-episode schizophrenia. *Journal of clinical psychopharmacology*, 31(2), 146–153.
- Bowdle, T. A., Radant, A. D., Cowley, D. S., Kharasch, E. D., Strassman, R. J., & Roy-Byrne, P. P. (1998). Psychedelic effects of ketamine in healthy volunteers: relationship to steady-state plasma concentrations. *Anesthesiology*, 88(1), 82–88.
- Boz, Z., Hu, M., Yu, Y., & Huang, X. F. (2020). N-acetylcysteine prevents olanzapine-induced oxidative stress in mHypoA-59 hypothalamic neurons. *Scientific reports*, 10(1), 19185.
- Brenda. (2023). Information on EC 2.7.10.1 - receptor protein-tyrosine kinase February 13, 2023 from Information on EC 2.7.10.1 - receptor protein-tyrosine kinase - BRENDA Enzyme Database (brenda-enzymes.org).
- Brooker, G. J., Kalloniatis, M., Russo, V. C., Murphy, M., Werther, G. A., and Bartlett, P. F. (2000). Endogenous IGF-1 regulates the neuronal differentiation of adult stem cells. *J. Neurosci. Res.* 59, 332–341.
- Brunner, E., Falk, D. M., Jones, M., Dey, D. K., & Shatapathy, C. C. (2013). Olanzapine in pregnancy and breastfeeding: a review of data from global safety surveillance. *BMC pharmacology & toxicology*, 14, 38.
- Burgdorf, J., Zhang, X. L., Colechio, E. M., Ghoreishi-Haack, N., Gross, A., Kroes, R. A., Stanton, P. K., & Moskal, J. R. (2015). Insulin-Like Growth Factor I Produces an Antidepressant-Like Effect and Elicits N-Methyl-D-Aspartate Receptor Independent Long-Term Potentiation of Synaptic Transmission in Medial Prefrontal Cortex and Hippocampus. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 19(2), pyv101.
- Burkhardt, S., Gesing, J., Kapellen, T. M., Kovacs, P., Kratzsch, J., Schlicke, M., et al. (2015). Novel heterozygous IGF1R mutation in two brothers with developing impaired glucose tolerance. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 28, 217–225.
- Calhoun, V. D., Sui, J., Kiehl, K., Turner, J., Allen, E., & Pearlson, G. (2012). Exploring the psychosis functional connectome: aberrant intrinsic networks in schizophrenia and bipolar disorder. *Frontiers in psychiatry*, 2, 75.
- Callaghan, J. T., Bergstrom, R. F., Ptak, L. R., & Beasley, C. M. (1999). Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clinical pharmacokinetics*, 37(3), 177–193.
- Camarero, G., Avendano, C., Fernandez-Moreno, C., Villar, A., Contreras, J., de Pablo, F., et al. (2001). Delayed inner ear maturation and neuronal loss in postnatal Igf-1-deficient mice. *J. Neurosci.* 21, 7630–7641.
- Canever, L., Oliveira, L., D'Altoé de Luca, R., Correa, P. T., de B Fraga, D., Matos, M. P., Scaini, G., Quevedo, J., Streck, E. L., & Zugno, A. I. (2010). A rodent model of schizophrenia reveals increase in creatine kinase activity with associated behavior changes. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3(6), 421–427.
- Cao, B., Passos, I. C., Mwangi, B., Bauer, I. E., Zunta-Soares, G. B., Kapczinski, F., & Soares, J. C. (2016). Hippocampal volume and verbal memory performance in late-stage bipolar disorder. *Journal of psychiatric research*, 73, 102–107.
- Cao, P., Maximov, A., and Südhof, T. C. (2011). Activity-dependent IGF-1 exocytosis is controlled by the Ca(2+)-sensor synaptotagmin-10. *Cell* 145, 300–311.
- Cao, Y., Gunn, A. J., Bennet, L., Wu, D., George, S., Gluckman, P. D., et al. (2003). Insulin-like growth factor (IGF)-1 suppresses oligodendrocyte caspase-3 activation and increases glial proliferation after ischemia in near-term fetal sheep. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 23, 739–747.

- Carlson, S. W., Madathil, S. K., Sama, D. M., Gao, X., Chen, J., and Saatman, K. E. (2014). Conditional overexpression of insulin-like growth factor-1 enhances hippocampal neurogenesis and restores immature neuron dendritic processes after traumatic brain injury. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 73, 734–746.
- Carro, E., Trejo, J. L., Gomez-Isla, T., LeRoith, D., and Torres-Aleman, I. (2002). Serum insulin-like growth factor I regulates brain amyloid-beta levels. *Nat. Med.* 8, 1390–1397.
- Cerdán, L. F., Guevara, M. A., Sanz, A., Amezcua, C., & Ramos-Loyo, J. (2005). Brain electrical activity changes in treatment refractory schizophrenics after olanzapine treatment. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology*, 56(3), 237–247.
- Ceylan, M. E., Çetin, M. (2009). Araştırma ve Klinik Uygulamada Biyolojik Psikiyatri Şizofreni. 4. Baskı. İstanbul: İncekara Kağıt Matbaa, 907-1117.
- Chaker, Z., Aïd, S., Berry, H., and Holzenberger, M. (2015). Suppression of IGFI signals in neural stem cells enhances neurogenesis and olfactory function during aging. *Aging Cell* 14, 847–856.
- Chelkeba, L., Gidey, K., Mamo, A., Yohannes, B., Matso, T., & Melaku, T. (2017). Olanzapine for chemotherapy-induced nausea and vomiting: systematic review and meta-analysis. *Pharmacy practice*, 15(1), 877.
- Chen, C. H., Suckling, J., Lennox, B. R., Ooi, C., & Bullmore, E. T. (2011). A quantitative meta-analysis of fMRI studies in bipolar disorder. *Bipolar disorders*, 13(1), 1–15.
- Cheng, C. M., Cohen, M., Tseng, V., and Bondy, C. A. (2001). Endogenous IGF1 enhances cell survival in the postnatal dentate gyrus. *J. Neurosci. Res.* 64, 341–347.
- Cheng, C. M., Mervis, R. F., Niu, S. L., Salem, N. Jr., Witters, L. A., Tseng, V., et al. (2003). Insulin-like growth factor 1 is essential for normal dendritic growth. *J. Neurosci. Res.* 73, 1–9.
- Chepenik, L. G., Wang, F., Spencer, L., Spann, M., Kalmar, J. H., Womer, F., Kale Edmiston, E., Pittman, B., & Blumberg, H. P. (2012). Structure-function associations in hippocampus in bipolar disorder. *Biological psychology*, 90(1), 18–22.
- Chikama, K., Yamada, H., Tsukamoto, T., Kajitani, K., Nakabeppu, Y., & Uchimura, N. (2017). Chronic atypical antipsychotics, but not haloperidol, increase neurogenesis in the hippocampus of adult mouse. *Brain research*, 1676, 77–82.
- Chrysis, D., Calikoglu, A. S., Ye, P., & D'Ercole, A. J. (2001). Insulin-like growth factor-I overexpression attenuates cerebellar apoptosis by altering the expression of Bcl family proteins in a developmentally specific manner. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(5), 1481–1489.
- Clements, J. A., Nimmo, W. S., & Grant, I. S. (1982). Bioavailability, pharmacokinetics, and analgesic activity of ketamine in humans. *Journal of pharmaceutical sciences*, 71(5), 539–542.
- Coryell, W., Endicott, J., Maser, J. D., Keller, M. B., Leon, A. C., & Akiskal, H. S. (1995). Long-term stability of polarity distinctions in the affective disorders. *The American journal of psychiatry*, 152(3), 385–390.
- Coyle, J. T., & Duman, R. S. (2003). Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. *Neuron*, 38(2), 157–160.
- Croci, L., Barili, V., Chia, D., Massimino, L., van Vugt, R., Masserdotti, G., et al. (2010). Local insulin-like growth factor I expression is essential for Purkinje neuron survival at birth. *Cell Death Differ.* 18, 48–59.

- Crum, W. R., Danckaers, F., Huysmans, T., Cotel, M. C., Natesan, S., Modo, M. M., Sijbers, J., Williams, S. C., Kapur, S., & Vernon, A. C. (2016). Chronic exposure to haloperidol and olanzapine leads to common and divergent shape changes in the rat hippocampus in the absence of grey-matter volume loss. *Psychological medicine*, 46(15), 3081–3093.
- Csernansky, J. G., Martin, M. V., Czeisler, B., Meltzer, M. A., Ali, Z., & Dong, H. (2006). Neuroprotective effects of olanzapine in a rat model of neurodevelopmental injury. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 83(2), 208–213.
- Cui, Q. L., & Almazan, G. (2007). IGF-I-induced oligodendrocyte progenitor proliferation requires PI3K/Akt, MEK/ERK, and Src-like tyrosine kinases. *Journal of neurochemistry*, 100(6), 1480–1493.
- Cullen, B., Ward, J., Graham, N. A., Deary, I. J., Pell, J. P., Smith, D. J., & Evans, J. J. (2016). Prevalence and correlates of cognitive impairment in euthymic adults with bipolar disorder: A systematic review. *Journal of affective disorders*, 205, 165–181.
- Dagani, J., Signorini, G., Nielssen, O., Bani, M., Pastore, A., Girolamo, G., & Large, M. (2017). Meta-analysis of the Interval between the Onset and Management of Bipolar Disorder. *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*, 62(4), 247–258.
- Dalgarno, P. J., & Shewan, D. (1996). Illicit use of ketamine in Scotland. *Journal of psychoactive drugs*, 28(2), 191–199.
- Davey, K. J., O'Mahony, S. M., Schellekens, H., O'Sullivan, O., Bienenstock, J., Cotter, P. D., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2012). Gender-dependent consequences of chronic olanzapine in the rat: effects on body weight, inflammatory, metabolic and microbiota parameters. *Psychopharmacology*, 221(1), 155–169.
- DD, D. D., & Marek, G. J. (2002). Preclinical pharmacology of mGlu2/3 receptor agonists: novel agents for schizophrenia?. *Current drug targets. CNS and neurological disorders*, 1(2), 215–225.
- de Oliveira, L., Fraga, D. B., De Luca, R. D., Canever, L., Ghedim, F. V., Matos, M. P., Streck, E. L., Quevedo, J., & Zugno, A. I. (2011). Behavioral changes and mitochondrial dysfunction in a rat model of schizophrenia induced by ketamine. *Metabolic brain disease*, 26(1), 69–77.
- Delaloye, C., de Bilbao, F., Moy, G., Baudois, S., Weber, K., Campos, L., Canuto, A., Giardini, U., von Gunten, A., Stancu, R. I., Scheltens, P., Lazeyras, F., Millet, P., Giannakopoulos, P., & Gold, G. (2009). Neuroanatomical and neuropsychological features of euthymic patients with bipolar disorder. *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*, 17(12), 1012–1021.
- Delvecchio, G., Fossati, P., Boyer, P., Brambilla, P., Falkai, P., Gruber, O., Hietala, J., Lawrie, S. M., Martinot, J. L., McIntosh, A. M., Meisenzahl, E., & Frangou, S. (2012). Common and distinct neural correlates of emotional processing in Bipolar Disorder and Major Depressive Disorder: a voxel-based meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 22(2), 100–113.
- Deniz, Ö. G., Altun, G., Kaplan, A. A., Yurt, K. K., von Bartheld, C. S., & Kaplan, S. (2018). A concise review of optical, physical and isotropic fractionator techniques in neuroscience studies, including recent developments. *Journal of neuroscience methods*, 310, 45–53.
- Domino, E. F., Chodoff, P., & Corssen, G. (1965). Pharmacologic effects of ci-581, a new dissociative anesthetic, in man. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 6, 279–291.

- Dorph-Petersen, K. A., Pierri, J. N., Perel, J. M., Sun, Z., Sampson, A. R., & Lewis, D. A. (2005). The influence of chronic exposure to antipsychotic medications on brain size before and after tissue fixation: a comparison of haloperidol and olanzapine in macaque monkeys. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(9), 1649–1661.
- Drazanova, E., Kratka, L., Vaskovicova, N., Skoupy, R., Horska, K., Babinska, Z., Kotolova, H., Vrlíkova, L., Buchtova, M., Starcuk, Z., Jr, & Ruda-Kucerovala, J. (2019). Olanzapine exposure diminishes perfusion and decreases volume of sensorimotor cortex in rats. *Pharmacological reports : PR*, 71(5), 839–847.
- Duman, R. S., & Monteggia, L. M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biological psychiatry*, 59(12), 1116–1127.
- Dundee, J. W., Knox, J. W., Black, G. W., Moore, J., Pandit, S. K., Bovill, J., Clarke, R. S., Love, S. H., Elliott, J., & Coppel, D. L. (1970). Ketamine as an induction agent in anaesthetics. *Lancet (London, England)*, 1(7661), 1370–1371.
- Eichenbaum H. (2000). A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature reviews. Neuroscience*, 1(1), 41–50.
- Einat, H., & Manji, H. K. (2006). Cellular plasticity cascades: genes-to-behavior pathways in animal models of bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 59(12), 1160–1171.
- Einat, H., Yuan, P., Gould, T. D., Li, J., Du, J., Zhang, L., Manji, H. K., & Chen, G. (2003). The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood modulation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(19), 7311–7316.
- Eli Lilly and Company. Zyprexa (olanzapine) prescribing information [online]. Available from URL: [http://www.pyrexia.com\(http://pi.lilly.com/us/zyprexa-pi.pdf\)](http://www.pyrexia.com(http://pi.lilly.com/us/zyprexa-pi.pdf)) [Accessed 2004 Jun 23].
- Elsworth, J. D., Morrow, B. A., Hajszan, T., Leranth, C., & Roth, R. H. (2011). Phencyclidine-induced loss of asymmetric spine synapses in rodent prefrontal cortex is reversed by acute and chronic treatment with olanzapine. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 36(10), 2054–2061.
- Erdemir, H., Huber, F. C., & Corssen, G. (1970). Dissociative anesthesia with ketamine: a suitable adjunct to epidural anesthesia. *Anesthesia and analgesia*, 49(4), 623–627.
- Fernandez, A. M., & Torres-Alemán, I. (2012). The many faces of insulin-like peptide signalling in the brain. *Nature reviews. Neuroscience*, 13(4), 225–239.
- Ferrari, A. J., Stockings, E., Khoo, J. P., Erskine, H. E., Degenhardt, L., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2016). The prevalence and burden of bipolar disorder: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Bipolar disorders*, 18(5), 440–450.
- Frangou S. (2019). Neuroimaging Markers of Risk, Disease Expression, and Resilience to Bipolar Disorder. *Current psychiatry reports*, 21(7), 52.
- Frey, B. N., Andreazza, A. C., Ceresér, K. M., Martins, M. R., Valvassori, S. S., Réus, G. Z., Quevedo, J., & Kapczinski, F. (2006a). Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life sciences*, 79(3), 281–286.
- Frey, B. N., Valvassori, S. S., Réus, G. Z., Martins, M. R., Petronilho, F. C., Bordini, K., Dal-Pizzol, F., Kapczinski, F., & Quevedo, J. (2006b). Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN*, 31(5), 326–332.
- Fujita, M., Ieguchi, K., Cedano-Prieto, D. M., Fong, A., Wilkerson, C., Chen, J. Q., Wu, M., Lo, S. H., Cheung, A. T., Wilson, M. D., Cardiff, R. D., Borowsky, A. D., Takada, Y.

- K., & Takada, Y. (2013). An integrin binding-defective mutant of insulin-like growth factor-1 (R36E/R37E IGF1) acts as a dominant-negative antagonist of the IGF1 receptor (IGF1R) and suppresses tumorigenesis but still binds to IGF1R. *The Journal of biological chemistry*, 288(27), 19593–19603.
- Fujita, M., Ieguchi, K., Davari, P., Yamaji, S., Taniguchi, Y., Sekiguchi, K., Takada, Y. K., & Takada, Y. (2012). Cross-talk between integrin $\alpha 6\beta 4$ and insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) through direct $\alpha 6\beta 4$ binding to IGF1 and subsequent $\alpha 6\beta 4$ -IGF1-IGF1R ternary complex formation in anchorage-independent conditions. *The Journal of biological chemistry*, 287(15), 12491–12500.
- Fujita, M., Takada, Y. K., & Takada, Y. (2013). Insulin-like growth factor (IGF) signaling requires $\alpha \beta 3$ -IGF1-IGF type 1 receptor (IGF1R) ternary complex formation in anchorage independence, and the complex formation does not require IGF1R and Src activation. *The Journal of biological chemistry*, 288(5), 3059–3069.
- Gago, N., Avellana-Adalid, V., Baron-Van Evercooren A., and Schumacher, M. (2003). Control of cell survival and proliferation of postnatal PSANCAM(+) progenitors. *Mol. Cell. Neurosci.* 22, 162–178.
- Gao, W. Q., Shinsky, N., Ingle, G., Beck, K., Elias, K. A., and Powell-Braxton, L. (1999). IGF-I deficient mice show reduced peripheral nerve conduction velocities and decreased axonal diameters and respond to exogenous IGF-I treatment. *J. Neurobiol.* 39, 142–152.
- Gardner, H. H., Kleinman, N. L., Brook, R. A., Rajagopalan, K., Brizee, T. J., & Smeeding, J. E. (2006). The economic impact of bipolar disorder in an employed population from an employer perspective. *The Journal of clinical psychiatry*, 67(8), 1209–1218.
- Genecards. (2023a). IGF1 Gene - Insulin Like Growth Factor 1 Retrieved February 13, 2023 from IGF1 Gene - GeneCards | IGF1 Protein | IGF1 Antibody
- Genecards. (2023b). IGF1R Gene - Insulin Like Growth Factor 1 Receptor Retrieved February 13, 2023 from IGF1R Gene - GeneCards | IGF1R Protein | IGF1R Antibody
- Gjerde, P. B., Jørgensen, K. N., Steen, N. E., Melle, I., Andreassen, O. A., Steen, V. M., & Agartz, I. (2018). Association between olanzapine treatment and brain cortical thickness and gray/white matter contrast is moderated by cholesterol in psychotic disorders. *Psychiatry research. Neuroimaging*, 282, 55–63.
- Glasper, E. R., Llorens-Martin, M. V., Leuner, B., Gould, E., and Trejo, J. L. (2010). Blockade of insulin-like growth factor-I has complex effects on structural plasticity in the hippocampus. *Hippocampus* 20, 706–712.
- Goodwin, F. & Jamison, K. (2007). Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression. Oxford Univ. Press.
- Gorlin, A. W., Rosenfeld, D. M., & Ramakrishna, H. (2016). Intravenous sub-anesthetic ketamine for perioperative analgesia. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 32(2), 160–167.
- Grande, I., Berk, M., Birmaher, B. & Vieta, E. (2016). Bipolar disorder. *Lancet*, 387, 1561–1572.
- Grande, I., Fries, G. R., Kunz, M., & Kapczinski, F. (2010). The role of BDNF as a mediator of neuroplasticity in bipolar disorder. *Psychiatry investigation*, 7(4), 243–250.
- Grande, I., Goikolea, J. M., de Dios, C., González-Pinto, A., Montes, J. M., Saiz-Ruiz, J., Prieto, E., Vieta, E., & PREBIS group (2013). Occupational disability in bipolar disorder: analysis of predictors of being on severe disablement benefit (PREBIS study data). *Acta psychiatrica Scandinavica*, 127(5), 403–411.

- Grande, I., Magalhães, P. V., Chendo, I., Stertz, L., Fries, G. R., Cereser, K. M., Cunha, Â. B., Góí, P., Kunz, M., Udina, M., Martín-Santos, R., Frey, B. N., Vieta, E., & Kapczinski, F. (2014). Val66Met polymorphism and serum brain-derived neurotrophic factor in bipolar disorder: an open-label trial. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 129(5), 393–400.
- Gundersen, H. J., & Jensen, E. B. (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *Journal of microscopy*, 147(Pt 3), 229–26.
- Hantouche, E. G., Akiskal, H. S., Lancrenon, S., Allilaire, J. F., Sechter, D., Azorin, J. M., Bourgeois, M., Fraud, J. P., & Châtenet-Duchêne, L. (1998). Systematic clinical methodology for validating bipolar-II disorder: data in mid-stream from a French national multi-site study (EPIDEP). *Journal of affective disorders*, 50(2-3), 163–173.
- He, J., Xu, H., Yang, Y., Zhang, X., & Li, X. M. (2004). Neuroprotective effects of olanzapine on methamphetamine-induced neurotoxicity are associated with an inhibition of hyperthermia and prevention of Bcl-2 decrease in rats. *Brain research*, 1018(2), 186–192.
- He, J., Yang, Y., Xu, H., Zhang, X., & Li, X. M. (2005). Olanzapine attenuates the okadaic acid-induced spatial memory impairment and hippocampal cell death in rats. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(8), 1511–1520.
- Heresco-Levy U. (2005). Glutamatergic neurotransmission modulators as emerging new drugs for schizophrenia. *Expert opinion on emerging drugs*, 10(4), 827–844.
- Hernández-Sánchez, C., López-Carranza, A., Alarcón, C., de La Rosa, E. J., and de Pablo, F. (1995). Autocrine/paracrine role of insulin-related growth factors in neurogenesis: local expression and effects on cell proliferation and differentiation in retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 9834–9838.
- Hibar, D. P., Westlye, L. T., Doan, N. T., Jahanshad, N., Cheung, J. W., Ching, C. R. K., Versace, A., Bilderbeck, A. C., Uhlmann, A., Mwangi, B., Krämer, B., Overs, B., Hartberg, C. B., Abé, C., Dima, D., Grotegerd, D., Sprooten, E., Bøen, E., Jimenez, E., Howells, F. M., ... Andreassen, O. A. (2018). Cortical abnormalities in bipolar disorder: an MRI analysis of 6503 individuals from the ENIGMA Bipolar Disorder Working Group. *Molecular psychiatry*, 23(4), 932–942.
- Hibar, D. P., Westlye, L. T., van Erp, T. G., Rasmussen, J., Leonardo, C. D., Faskowitz, J., Haukvik, U. K., Hartberg, C. B., Doan, N. T., Agartz, I., Dale, A. M., Gruber, O., Krämer, B., Trost, S., Liberg, B., Abé, C., Ekman, C. J., Ingvar, M., Landén, M., Fears, S. C., ... Andreassen, O. A. (2016). Subcortical volumetric abnormalities in bipolar disorder. *Molecular psychiatry*, 21(12), 1710–1716.
- Hodge, R. D., D’Ercole, A. J., and O’Kusky, J. R. (2007). Insulin-like growth factorI (IGF-I) inhibits neuronal apoptosis in the developing cerebral cortex in vivo. *Int. J. Dev. Neurosci.* 25, 233–241.
- Hu, Q., Lee, S. Y., O’Kusky, J. R., and Ye, P. (2012). Signaling through the type 1 insulin-like Growth Factor Receptor (IGF1R) interacts with canonical Wnt signaling to promote neural proliferation in developing brain. *ASN Neuro* 4:e00092.
- Huat, T. J., Khan, A. A., Pati, S., Mustafa, Z., Abdullah, J. M., & Jaafar, H. (2014). IGF-1 enhances cell proliferation and survival during early differentiation of mesenchymal stem cells to neural progenitor-like cells. *BMC neuroscience*, 15, 91.
- Hurtado-Chong, A., Yusta-Boyo, M. J., Vergaño-Vera, E., Bulfone, A., de Pablo, F., and Vicario-Abejón, C. (2009). IGF-I promotes neuronal migration and positioning in the olfactory bulb and the exit of neuroblasts from the subventricular zone. *Eur. J. Neurosci.* 30, 742–755.

- Inder, M. L., Crowe, M. T., Moor, S., Luty, S. E., Carter, J. D., & Joyce, P. R. (2008). "I actually don't know who I am": the impact of bipolar disorder on the development of self. *Psychiatry*, 71(2), 123–133.
- Joseph D'Ercole, A., & Ye, P. (2008). Expanding the mind: insulin-like growth factor I and brain development. *Endocrinology*, 149(12), 5958–5962.
- Judd, L. L., Akiskal, H. S., Schettler, P. J., Coryell, W., Endicott, J., Maser, J. D., Solomon, D. A., Leon, A. C., & Keller, M. B. (2003). A prospective investigation of the natural history of the long-term weekly symptomatic status of bipolar II disorder. *Archives of general psychiatry*, 60(3), 261–269.
- Judd, L. L., Akiskal, H. S., Schettler, P. J., Endicott, J., Maser, J., Solomon, D. A., Leon, A. C., Rice, J. A., & Keller, M. B. (2002). The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Archives of general psychiatry*, 59(6), 530–537.
- Kaplan & Sadock (2005). Klinik Psikiyatri. Synopsis of Psychiatry. Çeviri editörü: Aydın H. İstanbul: Güneş kitapevi, 2005:122-154.
- Kappeler, L., De Magalhaes Filho, C., Dupont, J., Leneuve, P., Cervera, P., Périn, L., et al. (2008). Brain IGF-1 receptors control mammalian growth and lifespan through a neuroendocrine mechanism. *PLoS Biol.* 6:e254.
- Kapur, S., & Seeman, P. (2001). Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. *The American journal of psychiatry*, 158(3), 360–369.
- Kapur, S., Zipursky, R. B., Remington, G., Jones, C., DaSilva, J., Wilson, A. A., & Houle, S. (1998). 5-HT₂ and D₂ receptor occupancy of olanzapine in schizophrenia: a PET investigation. *The American journal of psychiatry*, 155(7), 921–928.
- Karamustafalıoğlu O.(2018). Temel ve Klinik Psikiyatri. Güneş Tıp Kitapevleri.
- Khadka, S., Meda, S. A., Stevens, M. C., Glahn, D. C., Calhoun, V. D., Sweeney, J. A., Tamminga, C. A., Keshavan, M. S., O'Neil, K., Schretlen, D., & Pearlson, G. D. (2013). Is aberrant functional connectivity a psychosis endophenotype? A resting state functional magnetic resonance imaging study. *Biological psychiatry*, 74(6), 458–466.
- Kinon, B. J., & Lieberman, J. A. (1996). Mechanisms of action of atypical antipsychotic drugs: a critical analysis. *Psychopharmacology*, 124(1-2), 2–34.
- Kodama, M., Fujioka, T., & Duman, R. S. (2004). Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biological psychiatry*, 56(8), 570–580.
- Konopaske, G. T., Lange, N., Coyle, J. T., & Benes, F. M. (2014). Prefrontal cortical dendritic spine pathology in schizophrenia and bipolar disorder. *JAMA psychiatry*, 71(12), 1323–1331.
- Koprivica, V., Regardie, K., Wolff, C., Fernald, R., Murphy, J. J., Kambayashi, J., Kikuchi, T., & Jordan, S. (2011). Aripiprazole protects cortical neurons from glutamate toxicity. *European journal of pharmacology*, 651(1-3), 73–76.
- Krystal, J. H., Karper, L. P., Seibyl, J. P., Freeman, G. K., Delaney, R., Bremner, J. D., Heninger, G. R., Bowers, M. B., Jr, & Charney, D. S. (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Archives of general psychiatry*, 51(3), 199–214.
- Kugaya, A., & Sanacora, G. (2005). Beyond monoamines: glutamatergic function in mood disorders. *CNS spectrums*, 10(10), 808–819.

- Lahti, A. C., Weiler, M. A., Tamara Michaelidis, B. A., Parwani, A., & Tamminga, C. A. (2001). Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 25(4), 455–467.
- Laurino, L., Wang, X. X., de la Houssaye, B. A., Sosa, L., Dupraz, S., Cáceres, A., et al. (2005). PI3K activation by IGF-1 is essential for the regulation of membrane expansion at the nerve growth cone. *J. Cell Sci.* 118, 3653–3662.
- Le Roith, D. (2003). The insulin-like growth factor system. *Exp Diabetes Res*, 4, 205–212.
- LeRoith, D., Werner, H., Beitner-Johnson, D., & Roberts, C. T., Jr (1995). Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocrine reviews*, 16(2), 143–163.
- Li, N., Lee, B., Liu, R. J., Banasr, M., Dwyer, J. M., Iwata, M., Li, X. Y., Aghajanian, G., & Duman, R. S. (2010). mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5994), 959–964.
- Liu, J. P., Baker, J., Perkins, A. S., Robertson, E. J., and Efstratiadis, A. (1993). Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell* 75, 59–72.
- Liu, W., Ye, P., O’Kusky, J. R., and D’Ercole, A. J. (2009). Type 1 insulinlike growth factor receptor signaling is essential for the development of the hippocampal formation and dentate gyrus. *J. Neurosci. Res.* 87, 2821–2832.
- Llorens-Martín, M., Torres-Aleman, I., and Trejo, J. L. (2010). Exercise modulates insulin-like growth factor 1-dependent and -independent effects on adult hippocampal neurogenesis and behaviour. *Mol. Cell. Neurosci.* 44, 109–117.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265–275.
- Lund, B. C., & Perry, P. J. (2000). Olanzapine: an atypical antipsychotic for schizophrenia. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 1(2), 305–323.
- Lunn, J. S., Sakowski, S. A., McGinley, L. M., Pacut, C., Hazel, T. G., Johe, K., et al. (2015). Autocrine production of IGF-I increases stem cell-mediated neuroprotection. *Stem Cells* 33, 1480–1489.
- Madathil, S. K., & Saatman, K. E. (2015). IGF-1/IGF-R Signaling in Traumatic Brain Injury: Impact on Cell Survival, Neurogenesis, and Behavioral Outcome. In F. H. Kobeissy (Ed.), *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects*. CRC Press/Taylor & Francis.
- Maeng, S., & Zarate, C. A., Jr (2007). The role of glutamate in mood disorders: results from the ketamine in major depression study and the presumed cellular mechanism underlying its antidepressant effects. *Current psychiatry reports*, 9(6), 467–474.
- Magariños, M., Aburto, M. R., Sánchez-Calderón, H., Muñoz-Agudo, C., Rapp, U. R., and Varela-Nieto, I. (2010). RAF kinase activity regulates neuroepithelial cell proliferation and neuronal progenitor cell differentiation during early inner ear development. *PLoS ONE* 5:e14435.
- Mairet-Coello, G., Tury, A., and DiCicco-Bloom, E. (2009). Insulin-like growth factor-1 promotes G(1)/S cell cycle progression through bidirectional regulation of cyclins and cyclin-dependent kinase inhibitors via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in developing rat cerebral cortex. *J. Neurosci.* 29, 775–788.
- Maj, M., Akiskal, H. S., Lopez-Ibor, J. J., Sartorius, N. (2002). *Bipolar Disorders*. West Sussex, UK, Wiley.

- Manji, H. K., & Chen, G. (2002). PKC, MAP kinases and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. *Molecular psychiatry*, 7 Suppl 1, S46–S56.
- Markowitz, J. S., DeVane, C. L., Malcolm, R. J., Gefroh, H. A., Wang, J. S., Zhu, H. J., & Donovan, J. L. (2006). Pharmacokinetics of olanzapine after single-dose oral administration of standard tablet versus normal and sublingual administration of an orally disintegrating tablet in normal volunteers. *Journal of clinical pharmacology*, 46(2), 164–171.
- McCormack, P. L., & Wiseman, L. R. (2004). Olanzapine: a review of its use in the management of bipolar I disorder. *Drugs*, 64(23), 2709–2726.
- McCullumsmith, R. E., Kristiansen, L. V., Beneyto, M., Scarr, E., Dean, B., & Meador-Woodruff, J. H. (2007). Decreased NR1, NR2A, and SAP102 transcript expression in the hippocampus in bipolar disorder. *Brain research*, 1127(1), 108–118.
- Melka, M. G., Castellani, C. A., Laufer, B. I., Rajakumar, R. N., O'Reilly, R., & Singh, S. M. (2013). Olanzapine induced DNA methylation changes support the dopamine hypothesis of psychosis. *Journal of molecular psychiatry*, 1(1), 19.
- Meltzer, H. Y. (1996) Pre-clinical pharmacology of atypical anti-psychotic drugs: a selective review. *Br J Psychiatry*, 168(29), 23–31.
- Merikangas, K. R., Jin, R., He, J. P., Kessler, R. C., Lee, S., Sampson, N. A., Viana, M. C., Andrade, L. H., Hu, C., Karam, E. G., Ladea, M., Medina-Mora, M. E., Ono, Y., Posada-Villa, J., Sagar, R., Wells, J. E., & Zarkov, Z. (2011). Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Archives of general psychiatry*, 68(3), 241–251.
- Michalak, E. E., Murray, G., Young, A. H., & Lam, R. W. (2008). Burden of bipolar depression: impact of disorder and medications on quality of life. *CNS drugs*, 22(5), 389–406.
- Miller, O. H., Moran, J. T., & Hall, B. J. (2016). Two cellular hypotheses explaining the initiation of ketamine's antidepressant actions: Direct inhibition and disinhibition. *Neuropharmacology*, 100, 17–26.
- Mion G. (2017). History of anaesthesia: The ketamine story-past, present and future. *European journal of anaesthesiology*, 34(9), 571–575.
- Mion, G., & Villevieille, T. (2013). Ketamine pharmacology: an update (pharmacodynamics and molecular aspects, recent findings). *CNS neuroscience & therapeutics*, 19(6), 370–380.
- Molina, V., Reig, S., Sanz, J., Palomo, T., Benito, C., Sánchez, J., Pascau, J., & Desco, M. (2007). Changes in cortical volume with olanzapine in chronic schizophrenia. *Pharmacopsychiatry*, 40(4), 135–139.
- Moreno-Barriuso, N., López-Malpartida, A. V., de Pablo, F., and Pichel, J. G. (2006). Alterations in alveolar epithelium differentiation and vasculogenesis in lungs of LIF/IGF-I double deficient embryos. *Dev. Dyn.* 235, 2040–2050.
- Morgan, C. J., Curran, H. V., & Independent Scientific Committee on Drugs (2012). Ketamine use: a review. *Addiction (Abingdon, England)*, 107(1), 27–38.
- Newcomer, J. W., Farber, N. B., Jevtovic-Todorovic, V., Selke, G., Melson, A. K., Hershey, T., Craft, S., & Olney, J. W. (1999). Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 20(2), 106–118.
- Nishijima, T., Piriz, J., Dufloth, S., Fernandez, A. M., Gaitan, G., Gomez-Pinedo, U., Verdugo, J. M., Leroy, F., Soya, H., Nuñez, A., & Torres-Aleman, I. (2010). Neuronal activity

- drives localized blood-brain-barrier transport of serum insulin-like growth factor-I into the CNS. *Neuron*, 67(5), 834–846.
- Nivoli, A. M., Pacchiarotti, I., Rosa, A. R., Popovic, D., Murru, A., Valenti, M., Bonnin, C. M., Grande, I., Sanchez-Moreno, J., Vieta, E., & Colom, F. (2011). Gender differences in a cohort study of 604 bipolar patients: the role of predominant polarity. *Journal of affective disorders*, 133(3), 443–449.
- Oishi, K., Watatani, K., Itoh, Y., Okano, H., Guillemot, F., Nakajima, K., & Gotoh, Y. (2009). Selective induction of neocortical GABAergic neurons by the PDK1-Akt pathway through activation of Mash1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(31), 13064–13069.
- O'Kusky, J. R., Ye, P., & D'Ercole, A. J. (2000). Insulin-like growth factor-I promotes neurogenesis and synaptogenesis in the hippocampal dentate gyrus during postnatal development. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(22), 8435–8442.
- O'Kusky, J., & Ye, P. (2012). Neurodevelopmental effects of insulin-like growth factor signaling. *Frontiers in neuroendocrinology*, 33(3), 230–251.
- Oldis, M., Murray, G., Macneil, C. A., Hasty, M. K., Daglas, R., Berk, M., Conus, P., & Cotton, S. M. (2016). Trajectory and predictors of quality of life in first episode psychotic mania. *Journal of affective disorders*, 195, 148–155.
- Ongür, D., Lundy, M., Greenhouse, I., Shinn, A. K., Menon, V., Cohen, B. M., & Renshaw, P. F. (2010). Default mode network abnormalities in bipolar disorder and schizophrenia. *Psychiatry research*, 183(1), 59–68.
- Otaegi, G., Yusta-Boyo, M. J., Vergaño-Vera, E., Méndez-Gómez, H. R., Carrera, A. C., Abad, J. L., et al. (2006). Modulation of the PI 3-kinase-Akt signalling pathway by IGF-I and PTEN regulates the differentiation of neural stem/precursor cells. *J. Cell Sci.* 119, 2739–2748.
- Otten, M., & Meeter, M. (2015). Hippocampal structure and function in individuals with bipolar disorder: a systematic review. *Journal of affective disorders*, 174, 113–125.
- Oye, I., Paulsen, O., & Maurset, A. (1992). Effects of ketamine on sensory perception: evidence for a role of N-methyl-D-aspartate receptors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 260(3), 1209–1213.
- Pais, R. S., Moreno-Barriuso, N., Hernández-Porras, I., López, I. P., De Las Rivas, J., and Pichel, J. G. (2013). Transcriptome analysis in prenatal IGF1-deficient mice identifies molecular pathways and target genes involved in distal lung differentiation. *PLoS ONE* 8:e83028.
- Paxinos, G. and Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. 6. bs., San Diego 2007.
- Pérez-Martín, M., Cifuentes, M., Grondona, J. M., López-Avalos, M. D., GómezPinedo, U., García-Verdugo, J. M., et al. (2010). IGF-I stimulates neurogenesis in the hypothalamus of adult rats. *Eur. J. Neurosci.* 31, 1533–1548.
- Perlick, D. A., Rosenheck, R. R., Clarkin, J. F., Raue, P., & Sirey, J. (2001). Impact of family burden and patient symptom status on clinical outcome in bipolar affective disorder. *The Journal of nervous and mental disease*, 189(1), 31–37.
- Peterson, D. A., & Jones, D. G. (1993). Determination of neuronal number and process surface area in organotypic cultures: a stereological approach. *Journal of neuroscience methods*, 46(2), 107–120.
- Pezzoli, S., Emsell, L., Yip, S. W., Dima, D., Giannakopoulos, P., Zarei, M., Tognin, S., Arnone, D., James, A., Haller, S., Frangou, S., Goodwin, G. M., McDonald, C.,

- &Kempton, M. J. (2018). Meta-analysis of regional white matter volume in bipolar disorder with replication in an independent sample using coordinates, T-maps, and individual MRI data. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 84, 162–170.
- Pichel, J. G., Fernández-Moreno, C., Vicario-Abejón, C., Testillano, P. S., Patterson, P. H., and de Pablo, F. (2003). Developmental cooperation of leukemia inhibitory factor and insulin-like growth factor I in mice is tissuespecific and essential for lung maturation involving the transcription factors Sp3 and TTF-1. *Mech. Dev.* 120, 349–361.
- Poe, B. H., Linville, C., Riddle, D. R., Sonntag, W. E., and Brunso-Bechtold, J. K. (2001). Effects of age and insulin-like growth factor-1 on neuron and synapse numbers in area CA3 of hippocampus. *Neuroscience* 107, 231–238.
- Pomarol-Clotet, E., Honey, G. D., Murray, G. K., Corlett, P. R., Absalom, A. R., Lee, M., McKenna, P. J., Bullmore, E. T., & Fletcher, P. C. (2006). Psychological effects of ketamine in healthy volunteers. Phenomenological study. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 189, 173–179.
- Popken, G. J., Dechert-Zeger, M., Ye, P., & D'Ercole, A. J. (2005). Brain development. *Advances in experimental medicine and biology*, 567, 187–220.
- Popken, G. J., Hodge, R. D., Ye, P., Zhang, J., Ng, W., O'Kusky, J. R., et al. (2004). In vivo effects of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on prenatal and early postnatal development of the central nervous system. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2056–2068.
- Powell-Braxton, L., Hollingshead, P., Warburton, C., Dowd, M., Pitts-Meek, S., Dalton, D., et al. (1993). IGF-I is required for normal embryonic growth in mice. *Genes Dev.* 7, 2609–2617.
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 3–33.
- Pubchem. (2023). Olanzapine. Retrieved February 13, 2023 from Olanzapine | C17H20N4S - PubChem (nih.gov)
- Puche, J. E., and Castilla-Cortázar, I. (2012). Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. *J. Transl. Med.* 10, 224.
- Puglianiello, A., Germani, D., Rossi, P., and Cianfarani, S. (2000). IGF-I stimulates chemotaxis of human neuroblasts. Involvement of type 1 IGF receptor, IGF binding proteins, phosphatidylinositol-3 kinase pathway and plasmin system. *J. Endocrinol.* 165, 123–131.
- Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(2), 676–682.
- Rathmell, J.P., Rosow, C.E. (2015). Intravenous Sedatives and Hypnotics. In: Flood P, Rathmell JP, Shafer S (eds): *Stoelting's pharmacology and physiology in anesthetic practice*. Wolters Kluwer Health, 160-203.
- Reich, D. L., & Silvay, G. (1989). Ketamine: an update on the first twenty-five years of clinical experience. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthésie*, 36(2), 186–197.
- Richelson E. (1999). Receptor pharmacology of neuroleptics: relation to clinical effects. *J Clin Psychiatry*, 60(10), 5-14.
- Ricke, A. K., Snook, R. J., & Anand, A. (2011). Induction of prolonged mania during ketamine therapy for reflex sympathetic dystrophy. *Biological psychiatry*, 70(4), e13–e14.

- Roback, E. W., Barakat, A. J., Dev, V. G., Mbikay, M., Chrétien, M., and Butler, M. G. (1991). An infant with deletion of the distal long arm of chromosome 15 (q26.1—qter) and loss of insulin-like growth factor 1 receptor gene. *Am. J. Med. Genet.* 38, 74–79.
- Robinson, L. J., Thompson, J. M., Gallagher, P., Goswami, U., Young, A. H., Ferrier, I. N., & Moore, P. B. (2006). A meta-analysis of cognitive deficits in euthymic patients with bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 93(1-3), 105–115.
- Rolan, P., Lim, S., Sunderland, V., Liu, Y., & Molnar, V. (2014). The absolute bioavailability of racemic ketamine from a novel sublingual formulation. *British journal of clinical pharmacology*, 77(6), 1011–1016.
- Rorick-Kehn, L. M., Johnson, B. G., Knitowski, K. M., Salhoff, C. R., Witkin, J. M., Perry, K. W., Griffey, K. I., Tizzano, J. P., Monn, J. A., McKinzie, D. L., & Schoepp, D. D. (2007). In vivo pharmacological characterization of the structurally novel, potent, selective mGlu2/3 receptor agonist LY404039 in animal models of psychiatric disorders. *Psychopharmacology*, 193(1), 121–136.
- Rotwein, P., Burgess, S. K., Milbrandt, J. D., & Krause, J. E. (1988). Differential expression of insulin-like growth factor genes in rat central nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(1), 265–269.
- Roytblat, L., Talmor, D., Rachinsky, M., Greemberg, L., Pekar, A., Appelbaum, A., Gurman, G. M., Shapira, Y., and Duvdenani, A. (1998). Ketamine attenuates the interleukin-6 response after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg*, 87, 266–271.
- Russo, V. C., Gluckman, P. D., Feldman, E. L., & Werther, G. A. (2005). The insulin-like growth factor system and its pleiotropic functions in brain. *Endocrine reviews*, 26(7), 916–943.
- Ryves, W. J., & Harwood, A. J. (2003). The interaction of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) with the cell cycle. *Progress in cell cycle research*, 5, 489–495.
- Saegusa, J., Yamaji, S., Ieguchi, K., Wu, C. Y., Lam, K. S., Liu, F. T., Takada, Y. K., & Takada, Y. (2009). The direct binding of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) to integrin α 5 β 3 is involved in IGF-1 signaling. *The Journal of biological chemistry*, 284(36), 24106–24114.
- Schatzberg, A. and Nemeroff, C. (2017). The american psychiatric association publishing textbook of psychopharmacology (5th ed.). American Psychiatric Association Publishing.
- Scolnick, J. A., Cui, K., Duggan, C. D., Xuan, S., Yuan, X.-B., Efstratiadis, A., et al. (2008). Role of IGF signaling in olfactory sensory map formation and axon guidance. *Neuron* 57, 847–857.
- Shcheglovitov, A., Shcheglovitova, O., Yazawa, M., Portmann, T., Shu, R., Sebastiano, V., Krawisz, A., Froehlich, W., Bernstein, J. A., Hallmayer, J. F., & Dolmetsch, R. E. (2013). SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature*, 503(7475), 267–271.
- Siegel R. K. (1978). Phencyclidine and ketamine intoxication: a study of four populations of recreational users. *NIDA research monograph*, (21), 119–147.
- Slavich, G. M., & Irwin, M. R. (2014). From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychological bulletin*, 140(3), 774–815.
- Sosa, L., Dupraz, S., Laurino, L., Bollati, F., Bisbal, M., Cáceres, A., et al. (2006). IGF-1 receptor is essential for the establishment of hippocampal neuronal polarity. *Nat. Neurosci.* 9, 993–995.
- Stewart C. E. (2001). Ketamine as a street drug. *Emergency medical services*, 30(11).

- Stockton, M. E., & Rasmussen, K. (1996). Electrophysiological effects of olanzapine, a novel atypical antipsychotic, on A9 and A10 dopamine neurons. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 14(2), 97–105.
- Sun, L. Y., & D'Ercole, A. J. (2006). Insulin-like growth factor-I stimulates histone H3 and H4 acetylation in the brain in vivo. *Endocrinology*, 147(11), 5480–5490.
- Supeno, N. E., Pati, S., Hadi, R. A., Ghani, A. R., Mustafa, Z., Abdullah, J. M., Idris, F. M., Han, X., & Jaafar, H. (2013). IGF-1 acts as controlling switch for long-term proliferation and maintenance of EGF/FGF-responsive striatal neural stem cells. *International journal of medical sciences*, 10(5), 522–531.
- Suppes, T., Leverich, G. S., Keck, P. E., Nolen, W. A., Denicoff, K. D., Altshuler, L. L., McElroy, S. L., Rush, A. J., Kupka, R., Frye, M. A., Bickel, M., & Post, R. M. (2001). The Stanley Foundation Bipolar Treatment Outcome Network. II. Demographics and illness characteristics of the first 261 patients. *Journal of affective disorders*, 67(1-3), 45–59.
- Swanson, C. J., Bures, M., Johnson, M. P., Linden, A. M., Monn, J. A., & Schoepp, D. D. (2005). Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. *Nature reviews. Drug discovery*, 4(2), 131–144.
- Thomas, K., & Saadabadi, A. (2022). Olanzapine. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Tollens, F., Gass, N., Becker, R., Schwarz, A. J., Risterucci, C., Künnecke, B., Lehardt, P., Reinwald, J., Sack, M., Weber-Fahr, W., Meyer-Lindenberg, A., & Sartorius, A. (2018). The affinity of antipsychotic drugs to dopamine and serotonin 5-HT₂ receptors determines their effects on prefrontal-striatal functional connectivity. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 28(9), 1035–1046.
- Trejo, J. L., Carro, E., and Torres-Aleman, I. (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J. Neurosci.* 21, 1628–1634.
- Trejo, J. L., Piriz, J., Llorens-Martin, M. V., Fernandez, A. M., Bolós, M., LeRoith, D., et al. (2007). Central actions of liver-derived insulin-like growth factor I underlying its pro-cognitive effects. *Mol. Psychiatry* 12, 1118–1128.
- Uniprot. (2023a). Q5U743_HUMAN Retrieved February 13, 2023 from IGF1 - Insulin-like growth factor I - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt
- Uniprot. (2023b). H0YNR0 · H0YNR0_HUMAN February 13, 2023 from IGF1R - Insulin-like growth factor 1 receptor - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt
- Valvassori, S. S., Rezin, G. T., Ferreira, C. L., Moretti, M., Gonçalves, C. L., Cardoso, M. R., Streck, E. L., Kapczinski, F., & Quevedo, J. (2010). Effects of mood stabilizers on mitochondrial respiratory chain activity in brain of rats treated with d-amphetamine. *Journal of psychiatric research*, 44(14), 903–909.
- van Duyvenvoorde, H. A., van Setten, P. A., Walenkamp, M. J., van Doorn, J., Koenig, J., Gauguin, L., et al. (2010). Short stature associated with a novel heterozygous mutation in the insulin-like growth factor 1 gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95, E363–E367.
- van Gorp, W. G., Altshuler, L., Theberge, D. C., & Mintz, J. (1999). Declarative and procedural memory in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 46(4), 525–531.
- Vargas, C., López-Jaramillo, C., & Vieta, E. (2013). A systematic literature review of resting state network--functional MRI in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 150(3), 727–735.

- Vernon, A. C., Natesan, S., Modo, M., & Kapur, S. (2011). Effect of chronic antipsychotic treatment on brain structure: a serial magnetic resonance imaging study with ex vivo and postmortem confirmation. *Biological psychiatry*, 69(10), 936–944.
- Vicario-Abejón, C., Fernandez-Moreno, C., Pichel, J. G., and de Pablo, F. (2004). Mice lacking IGF-I and LIF have motoneuron deficits in brain stem nuclei. *Neuroreport* 15, 2769–2772.
- Vicario-Abejón, C., Yusta-Boyo, M. J., Fernández-Moreno, C., and de Pablo, F. (2003). Locally born olfactory bulb stem cells proliferate in response to insulin-related factors and require endogenous insulin-like growth factor-I for differentiation into neurons and glia. *J. Neurosci.* 23, 895–906.
- Vieta, E., & Suppes, T. (2008). Bipolar II disorder: arguments for and against a distinct diagnostic entity. *Bipolar disorders*, 10(1 Pt 2), 163–178.
- Vieta, E., Berk, M., Schulze, T. G., Carvalho, A. F., Suppes, T., Calabrese, J. R., Gao, K., Miskowiak, K. W., & Grande, I. (2018). Bipolar disorders. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18008.
- Vigo, D., Thornicroft, G., & Atun, R. (2016). Estimating the true global burden of mental illness. *The lancet. Psychiatry*, 3(2), 171–178.
- Vishwamitra, D., George, S. K., Shi, P., Kaseb, A. O., & Amin, H. M. (2017). Type I insulin-like growth factor receptor signaling in hematological malignancies. *Oncotarget*, 8(1), 1814–1844.
- Vlerick, L., Devreese, M., Peremans, K., Dockx, R., Croubels, S., Duchateau, L., & Polis, I. (2020). Pharmacokinetics, absolute bioavailability and tolerability of ketamine after intranasal administration to dexmedetomidine sedated dogs. *PloS one*, 15(1), e0227762.
- Vogel, T. (2013). “Insulin/IGF-signalling in embryonic and adult neural proliferation and differentiation in the mammalian central nervous system,” in *Trends in Cell Signaling Pathways in Neuronal Fate Decision*, ed S. WisletGendebien (Rijeka: InTech), 37–73.
- Wakade, C. G., Mahadik, S. P., Waller, J. L., & Chiu, F. C. (2002). Atypical neuroleptics stimulate neurogenesis in adult rat brain. *Journal of neuroscience research*, 69(1), 72–79.
- Walenkamp, M. J., Karperien, M., Pereira, A. M., Hilhorst-Hofstee, Y., van Doorn, J., Chen, J. W., et al. (2005). Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 2855–2864.
- Walenkamp, M. J., Losekoot, M., and Wit, J. M. (2013). Molecular IGF-1 and IGF-1 receptor defects: from genetics to clinical management. *Endocr. Dev.* 24, 128–137.
- Wang, H. D., & Deutch, A. Y. (2008). Dopamine depletion of the prefrontal cortex induces dendritic spine loss: reversal by atypical antipsychotic drug treatment. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(6), 1276–1286.
- Wang, H. D., Dunnivant, F. D., Jarman, T., & Deutch, A. Y. (2004). Effects of antipsychotic drugs on neurogenesis in the forebrain of the adult rat. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(7), 1230–1238.
- Wang, Y. X., Xu, S. Q., Chen, X. H., Liu, R. S., & Liang, Z. Q. (2014). Autophagy involvement in olanzapine-mediated cytotoxic effects in human glioma cells. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 15(19), 8107–8113.
- Weisman, H. (1971). Anesthesia for pediatric ophthalmology. *Ann Ophthalmol* 3, 229–232.

- White PF, Eng MR: Intravenous Anesthetics. In: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, Calahan MK, Stock MC, Ortega R (eds): Clinical Anesthesia. 478-500. Lippincott Williams and Wilkins, 2013.
- White, P. F., Way, W. L., & Trevor, A. J. (1982). Ketamine--its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology*, 56(2), 119–136.
- Wolff, K., & Winstock, A. R. (2006). Ketamine : from medicine to misuse. *CNS drugs*, 20(3), 199–218.
- Wong, M. L., & Medrano, J. F. (2005). Real-time PCR for mRNA quantitation. *BioTechniques*, 39(1), 75–85.
- Woods, K. A., Camacho-Hübner, C., Savage, M. O., and Clark, A. J. (1996). Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *N. Engl. J. Med.* 335, 1363–1367.
- Xue, C., Xie, J., Zhao, D., Lin, S., Zhou, T., Shi, S., Shao, X., Lin, Y., Zhu, B., & Cai, X. (2017). The JAK/STAT3 signalling pathway regulated angiogenesis in an endothelial cell/adipose-derived stromal cell co-culture, 3D gel model. *Cell proliferation*, 50(1), e12307.
- Yakar, S., Rosen, C. J., Beamer, W. G., Ackert-Bicknell, C. L., Wu, Y., Liu, J.-L., et al. (2002). Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J. Clin. Invest.* 110, 771–781.
- Yang, M. C., & Lung, F. W. (2011). Neuroprotection of paliperidone on SH-SY5Y cells against β -amyloid peptide(25-35), N-methyl-4-phenylpyridinium ion, and hydrogen peroxide-induced cell death. *Psychopharmacology*, 217(3), 397–410.
- Yang, T., Liu, Q., Lu, M., Ma, L., Zhou, Y., & Cui, Y. (2017). Efficacy of olanzapine for the prophylaxis of chemotherapy-induced nausea and vomiting: a meta-analysis. *British journal of clinical pharmacology*, 83(7), 1369–1379.
- Ye, P., and D'Ercole, A. J. (2006). Insulin-like growth factor actions during development of neural stem cells and progenitors in the central nervous system. *J. Neurosci. Res.* 83, 1–6.
- Ye, P., Hu, Q., Liu, H., Yan, Y., & D'Ercole, A. J. (2010). beta-catenin mediates insulin-like growth factor-I actions to promote cyclin D1 mRNA expression, cell proliferation and survival in oligodendroglial cultures. *Glia*, 58(9), 1031–1041.
- Ye, P., Li, L., Richards, R. G., DiAugustine, R. P., & D'Ercole, A. J. (2002). Myelination is altered in insulin-like growth factor-I null mutant mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(14), 6041–6051.
- Ye, P., Popken, G. J., Kemper, A., McCarthy, K., Popko, B., and D'Ercole, A. J. (2004). Astrocyte-specific overexpression of insulin-like growth factorI promotes brain overgrowth and glial fibrillary acidic protein expression. *J. Neurosci. Res.* 78, 472–484.
- Ye, P., Umayahara, Y., Ritter, D., Bunting, T., Auman, H., Rotwein, P., & D'Ercole, A. J. (1997). Regulation of insulin-like growth factor I (IGF-I) gene expression in brain of transgenic mice expressing an IGF-I-luciferase fusion gene. *Endocrinology*, 138(12), 5466–5475.
- Yuan, H., Chen, R., Wu, L., Chen, Q., Hu, A., Zhang, T., et al. (2015). The regulatory mechanism of neurogenesis by IGF-1 in adult mice. *Mol. Neurobiol.* 51, 512–522.
- Zarate, C. A., Jr, Singh, J. B., Carlson, P. J., Brutsche, N. E., Ameli, R., Luckenbaugh, D. A., Charney, D. S., & Manji, H. K. (2006). A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Archives of general psychiatry*, 63(8), 856–864.

- Zhang, H., Zhang, Y., Xu, H., Wang, L., Adilijiang, A., Wang, J., Hartle, K., Zhang, Z., Zhang, D., Tan, Q., Kong, J., Huang, Q., & Li, X. M. (2014). Olanzapine ameliorates neuropathological changes and increases IGF-1 expression in frontal cortex of C57BL/6 mice exposed to cuprizone. *Psychiatry research*, 216(3), 438–445.
- Zhang, X., Zhang, L., Cheng, X., Guo, Y., Sun, X., Chen, G., et al. (2014). IGF-1 promotes Brn-4 expression and neuronal differentiation of neural stem cells via the PI3K/Akt pathway. *PLoS ONE* 9:e113801.
- Ziegler, A. N., Schneider, J. S., Qin, M., Tyler, W. A., Pinter, J. E., Fraidenraich, D., et al. (2012). IGF-II promotes stemness of neural restricted precursors. *Stem Cells* 30, 1265–1276.
- Zoidis, E., Ghirlanda-Keller, C., & Schmid, C. (2011). Stimulation of glucose transport in osteoblastic cells by parathyroid hormone and insulin-like growth factor I. *Molecular and cellular biochemistry*, 348(1-2), 33–42.



EKLER

Ek 1: Etik Kurul İzni



T. C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



KURUL KARARI

KARAR NO: 2020/23	Proje KABUL NO: 2020-23	KARAR TARİHİ: 14.07.2020
“Bipolar mani modeli oluşturulmuş ratlarda olanzapinin prefrontal korteks ve hipokampusta IGF-1 ve IGF-1R üzerine etkisi”		
YÜRÜTÜCÜ	Doç. Dr. Özgür Korhan TUNÇEL	TC: 49771786706
E-POSTA	oktuncel@omu.edu.tr	MOBİL TEL: 5426543464
KURUM	Tıp Fakültesi	İÇ HAT TEL NO: 2091
- Yukarıda tanımlanan Laboratuvar Hayvanları ile yapılan çalışmayı; belirtilen araştırmacılar ile gerçekleştireceğini, ekip dışında başka kişileri HADYЕК ten izin almadan iştirak ettirmeyeceğini, çalışmanın başından sonuna kadar başkaları ile paylaşmayacağını ve yayın haline dönüştüğünde belirtilen katkı sırasına göre yayınlayacağını, - Üniversitemiz WEB sayfasında güncel hali yayınlanan, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun olarak çalışacağını, - Onay alınmış Projede belirtilen Deney Hayvanları Kullanımına müsaade edilen kişilerin haricinde başkalarına hayvanlarda herhangi bir Deneyssel işlem yaptırmayacağını ve Proje sürecinde işlemlerde ve çalışma ekibinde yapılacak her türlü değişiklikler için HADYЕК'e izin başvurusunda bulunacağını ve onay gelinceye kadar çalışmalarını durduracağını, - Proje onay tarihinden itibaren her 6(altı) ay sonrasında HADYЕК'e gelişim raporu vereceğini ve Proje bitim tarihini müteakiben 3 ay içerisinde çalışma sonucunu HADYЕК'e bildireceğini, Bu Proje süresince, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesinde yer alan etik ilkelerle uyumlayan veya beklenmeyen ters bir etki veya olay olduğunda derhal Yerel Etik Kurul'a bildireceğini Kabul ve taahhüt eden kimlik ve iletişim bilgileri yukarıda yazılı yürütücünün Araştırma Projesi, Etik Kurul Üyeleri tarafından OMU HADYЕК yönergesi kapsamında Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine UYGUN bulunmuştur.		
İMZA Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY Üye	İMZA Prof. Dr. Ahmet UZUN Üye	KATILMADI Dr. Öğr. Üyesi İsmail Alper TARIM Üye
KATILMADI Prof. Dr. Ahmet GÜLER Üye	İMZA Prof. Dr. H. Tahsin KEÇELİGİL Üye	İMZA Prof. Dr. N. Umur SAKALLIOĞLU Üye
KATILMADI Prof. Dr. Özcan YILMAZ Üye	KATILMADI Doç. Dr. Savaş YILMAZ Üye	İMZA Dr. Öğretim Üyesi Buğra GENÇ Üye
İMZA Prof. Dr. Yüksel TERZİ Üye	İMZA Vet. Hek. Mustafa ERMİŞ Üye	KATILMADI Doç. Dr. Berfin M GÖLCÜ Üye
KATILMADI Mak. mülh. Reşat KURT Üye		İMZA Dr. Habib DEMİREL Üye
İMZA Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ Başkan		

5070 Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiş yazı ekidir.
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden ilgi yazıda belirtilen kod ile yapılabilir.

ÖZ GEÇMİŞ

Eser ÇAKMAK, Samsun Final Lisesi'ni bitirdikten sonra Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya bölümünden 20.06.2012 tarihinde mezun oldu. 2016 yılında OMÜ LEE Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programını bitirdi, 2016 yılında OMÜ LEE Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda doktora programına başladı. Mezuniyetinden buyana araştırma görevlisi olarak görev yapan Eser ÇAKMAK, iyi/orta derecede İngilizce bilmektedir (YÖKDİL:72,5).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-2243-4489

Yayınlar:

1. **Çakmak, E.**, Bedir, A., Tunçel O.K.(2022). The Effect of Metformin on SIK1 and SIK2 in MCF-7 Cell as an Anticancer Agent. *International Journal of Hematology and Oncology*, 32 (4), 069-074.
2. Cenik, Y., Baydin, A., **Çakmak, E.**, Fidan, M., Aydın, K., Tuncel, Ö. K., & Aslan, K. (2021). The Effect of Biomarkers and Optic Nerve Sheath Diameter in Determining Mortality in non-Traumatic Subarachnoid Hemorrhage. *Clinical neurology and neurosurgery*, 207, 106813. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2021.106813>
3. Sayarlioglu, H., Okuyucu, A., Bedir, A., Salis, O., **Yenen, E.**, Bekfilavioglu, G., & Kaya, C. (2016). Is there any role of epithelial to mesenchymal transition in the pathogenesis of contrast nephropathy?. *Renal failure*, 38(8), 1249–1255. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2016.1209381>
4. Salis, O., Okuyucu, A., Bedir, A., Gör, U., Kulcu, C., **Yenen, E.**, & Kılıç, N. (2016). Antimetastatic effect of fluvastatin on breast and hepatocellular carcinoma cells in relation to SGK1 and NDRG1 genes. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 37(3), 3017–3024. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4119-2>
5. **Çakmak, E.**, Tunçel Ö. The Effect Of Olanzapine On Insulin Like Growth Factor 1 And Its Receptor In Prefrontal Cortex And Hypocampus (2022). *Turkish Journal of Biochemistry*, TBS International Biochemistry Congress 2022 - 33rd National Biochemistry Congress (Sözlü sunum, bildiri).
6. **Çakmak, E.**, Bedir, A., Tunçel, ÖK. The Effect Of Metformin On Salt Inducible Kinase 1 And Salt Inducible Kinase 2 In MCF-7 Cell As An Anticancer Agent (2021). *Turkish Journal of Biochemistry*, TBS International Biochemistry Congress 2021 - 32nd National Biochemistry Congress (Sözlü sunum, bildiri).
7. Ayşenur Arlı, A., Güzel, A., Tunçel, Ök., Aksu, E.E, **Çakmak, E.**, Yılmaz, S. Obstrüktif Uyku Apne Sendromlu Hastalarda CPAP Kullanımının Nörokognitif Fonksiyonlar ve Serum Glial Fibriller Asidik Protein Düzeyine Etkisi (2018). Ulusal Akciğer Sağlığı Kongresi (Sözlü sunum, bildiri).