



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFRENİ İLİŞKİLİ POTANSİYEL miRNA'LARIN COMT  
GENİ İLE OLASI İLİŞKİSİNİN İN VİTRO MODEL  
OLUŞTURULARAK ARAŞTIRILMASI**

ONUR TONK

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ  
DR. ÖĞR. ÜYESİ ONUR TOKGÜN

MANİSA-2022





TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFRENİ İLİŞKİLİ POTANSİYEL miRNA'LARIN COMT  
GENİ İLE OLASI İLİŞKİSİNİN İN VİTRO MODEL  
OLUŞTURULARAK ARAŞTIRILMASI**

ONUR TONK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ SAVUNMA SINAVI JÜRİ ÜYELERİ

DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ

(Danışman)

PROF. DR. HALUK AKIN

(Üye)

DOÇ. DR. AYSUN TORAMAN

(Üye)

## I. BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



Onur TONK

## II. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bana yol gösteren, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, akademik hayatım için bana yeni kapılar açan, bilimsel ve manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen çok değerli Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ' a,

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kanser Moleküler Biyolojisi laboratuvarında çalışma imkânı sunan, tez çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen ve kritik yorumlarıyla yeni tecrübeler kazanmamı sağlayan çok değerli ikinci tez Danışman Hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Onur TOKGÜN' e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman bana yardımcı olan, değerli bilimsel fikirlerini benimle paylaşan ve moleküler biyoloji laboratuvar çalışmalarımızı birlikte yürüttüğümüz Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim dalı Doktora Öğrencisi Sevgili Uzm. Bio. Özge SARICA YILMAZ' a

Tez çalışmalarımda her zaman yardımcı olan, değerli bilimsel fikir ve yorumlarını, deneyimlerini benimle paylaşan, Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı' ndan Sevgili Dr. Pervin Elvan TOKGÜN'e,

Pamukkale Üniversitesinin Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kanser Moleküler Biyolojisi laboratuvarında, çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Sevgili Kubilay İNCİ' ye, Büşra ÇELİKKAYA' ya ve Nesrin İREP' e,

Üniversite yıllarımdan beri her zaman yanımda olan, manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen, değerli fikir ve önerilerini benimle paylaşan ve beni her zaman destekleyen Sevgili Dilan ULUKAYA' ya

Yaşamım boyunca maddi ve manevi desteklerini bir an olsun bile esirgemeyen, mesafe olarak onlardan uzak olsam da varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim, hasret çekmeye katlanan ve attığım her adımda beni cesaretlendiren, bugün bulunduğum yerde olmamda sonsuz katkıları olan Canım Annem Saniye TONK' a, Canım Babam Şinasi TONK' a ve Canım Kardeşim Okan TONK' a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Onur TONK

### III. KISALTMALAR

<b>3'UTR:</b>	mRNA'nın 3' çevrilmemiş bölgesi
<b>5-hmC:</b>	5-hidroksimetilsitozin
<b>5-HTR2A:</b>	5-hidroksitriptamin Reseptör 2A
<b>5-mC:</b>	5-metilsitozin
<b>AGO:</b>	Argonaute Protein
<b>BD:</b>	Bipolar Bozukluk
<b>BDNF:</b>	Beyinden Türetilmiş Nörotrofik Faktör
<b>BOS:</b>	Beyin Omurilik Sıvısı
<b>C.Elegans:</b>	Caenorhabditis Elegans
<b>cAMP:</b>	Siklik Adenozin Monofosfat
<b>COMT:</b>	Katekol-O-Metiltransferaz
<b>CpG:</b>	C-fosfat-G
<b>DA:</b>	Dopamin
<b>DAOA:</b>	D-amino Asit Oksidaz Aktivatör
<b>DAT:</b>	Dopamin Taşıyıcısı
<b>DISC1:</b>	Şizofrenide Bozukluk 1
<b>DMSO:</b>	Dimetilsülfoksit
<b>DNMT:</b>	DNA Metiltransferaz
<b>DRD2:</b>	Dopamin Reseptörü D2
<b>FBS:</b>	Fetal Bovine Serum
<b>GABA:</b>	Gama-aminobütrik Asit
<b>GRM3:</b>	Glutamat Metabotropik Reseptör 3
<b>GWAS:</b>	Genom Çaplı İlişkilendirme Çalışmaları
<b>MAOA:</b>	Monoamine oksidaz A
<b>MB-COMT:</b>	Membrana Bağlı COMT

<b>Met:</b>	Metiyonin
<b>miRNA:</b>	mikro Ribonükleik Asit
<b>mRNA:</b>	mesajcı Ribonükleik Asit
<b>NEUROD1:</b>	Nöronal Farklılaşma 1
<b>NGF:</b>	Sinir Büyüme Faktörü
<b>NMDA:</b>	N-metil-D-aspartik asit
<b>NRG1:</b>	Neurogulin 1
<b>PBMC:</b>	Periferik Kan Mononükleer Hücreler
<b>PFC:</b>	Prefrontal Korteks
<b>PPP1R1B:</b>	Protein Fosfataz 1 Düzenleyici İnhibitör Alt Birimi 1B
<b>RA:</b>	Retinoik Asit
<b>RELN:</b>	Reelin
<b>RISC:</b>	RNA Kaynaklı Susturma Kompleksi
<b>RNAi:</b>	RNA İnterferans
<b>RNaz:</b>	Ribonükleaz
<b>RT-qPZR:</b>	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>S-COMT:</b>	Çözünür COMT
<b>SCZ:</b>	Şizofreni
<b>SLC6A4:</b>	Solute Taşıyıcı Ailesi 6 Üye 4
<b>SNP:</b>	Tek Nükleotid Polimorfizmi
<b>SOX10:</b>	SRY-Box Transkripsiyon Faktör 10
<b>TET:</b>	Ten-eleven Translocation
<b>UBE21:</b>	Anti-Ubikitin-Eşlenik Enzimler E21
<b>Val:</b>	Valin

## IV. İÇİNDEKİLER

I. BEYAN .....	i
II. TEŞEKKÜR .....	ii
III. KISALTMALAR .....	iii
IV. İÇİNDEKİLER.....	v
V. ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
VI. GRAFİKLER DİZİNİ.....	ix
VII. RESİMLER DİZİNİ.....	x
VIII. TABLOLAR DİZİNİ.....	xi

1. ÖZET .....	1
2. ABSTRACT .....	2
3. GİRİŞ.....	3
4. GENEL BİLGİLER .....	6
4.1. ŞİZOFRENİNİN TANIMI.....	6
4.2. ŞİZOFRENİNİN TARİHÇESİ .....	6
4.3. ŞİZOFRENİNİN PATOGENEZİ .....	7
4.4. ŞİZOFRENİ RİSK FAKTÖRLERİ .....	7
4.4.1. Doğum Komplikasyonları .....	8
4.4.2. Cinsiyet ve Yaş Faktörü .....	8
4.4.3. Göç .....	9
4.4.4. Kentsellik.....	9
4.4.5. Genetik Faktörler.....	9
4.4.6. Uyuşturucu, Alkol ve Sigara Riskleri.....	9
4.5. ŞİZOFRENİDE ALT TİPLER.....	10
4.5.1. Paranoid Tip .....	10
4.5.2. Dezorganize Tip .....	10
4.5.3. Katatonik Tip.....	10
4.5.4. Ayrışmamış Tip .....	11
4.5.5. Rezidüel Tip .....	11
4.6. ŞİZOFRENİNİN SEMPTOMLARI .....	11

4.6.1. Pozitif Semptomlar .....	11
4.6.2. Negatif Semptomlar .....	11
4.6.3. Bilişsel Semptomlar .....	12
4.6.4. Duygudurum Semptomlar .....	12
4.7. ŞİZOFRENİ SEMPTOMLARININ TEDAVİ İLE İLİŞKİSİ .....	12
4.8. DOPAMİN HİPOTEZİ .....	13
4.8.1. Dopamin Reseptörleri.....	14
4.9. ŞİZOFRENİDE ADAY GENLER.....	14
4.9.1. Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) Geni .....	15
4.9.1.1. COMT Geni Polimorfizmi.....	16
4.10. EPİGENETİK DÜZENLEME .....	17
4.11. MİKORNA'LAR.....	18
4.12. miRNA TARİHÇESİ .....	19
4.13. miRNA BİYOGENEZİ.....	19
4.13.1. Argonaute Protein (AGO) İşlevi .....	22
4.14. miRNA ve ŞİZOFRENİ.....	23
4.15. miRNA VERİ TABANLARI.....	24
4.16. POTANSİYEL miRNA'LAR .....	25
4.16.1. hsa-miR-34a-5p .....	26
4.16.2. hsa-miR-30 Ailesi (hsa-miR-30a-5p ve hsa-miR-30e-5p) .....	27
4.17. SH-SY5Y HÜCRE HATTI.....	29
<b>5. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
5.1. MATERYAL .....	31
5.1.1. Kimyasallar ve Kitler .....	31
5.1.2. Plastik Malzemeler .....	32
5.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	32
5.2. YÖNTEMLER .....	33
5.2.1. Hücre Kültürü.....	33
5.2.1.1. Hücrelerin Dondurulması .....	34
5.2.1.2. Hücrelerin Çözülmesi .....	34
5.2.2. miRNA Mimik Transfeksiyon Deneyi .....	34
5.2.3. Total RNA İzolasyonu.....	35
5.2.4. RNA Miktar ve Saflık Tayini.....	36
5.2.5. Total RNA'nın cDNA'ya Dönüşümü.....	36

5.2.6. Real-time PZR Protokolü .....	37
5.2.7. İstatistiksel Analiz .....	39
<b>6. BULGULAR .....</b>	<b>40</b>
6.1. miRNA Mimik Transfeksiyonu Etkinliğinin Belirlenmesi.....	40
6.2. miRNA Mimik Transfeksiyonu Yapılan miRNA'ların COMT Genine Olan Etkisinin İncelenmesi .....	45
<b>7. TARTIŞMA .....</b>	<b>47</b>
<b>8. KAYNAKLAR.....</b>	<b>51</b>
<b>9. EKLER.....</b>	<b>60</b>
EK 1. Enstitü Yönetim Kurulu Kararı .....	60
EK 2. Etik Kurul Kararı .....	61
EK 3. Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu .....	62
<b>10. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>63</b>

## V. ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1.** Şizofreninin Gelişim Faktörleri ile İlişkisi

**Şekil 2.** Şizofrenide Dopamin Reseptörleri ve Dopaminerjik Sistem Anormallikleri

**Şekil 3.** COMT Geni Genomik Konumu

**Şekil 4.** mikroRNA Olgunlaşması ve İşlevi

**Şekil 5.** mikroRNA (miRNA) Biyogenezi Şeması

**Şekil 6.** miRNA'ların RNA kaynaklı susturma kompleksini oluşturmak için AGO protein ailesinin üyelerini bağlanmasını gösteren miRNA yolağı şeması

**Şekil 7.** Algoritmik olarak TargetScan veri tabanında bulunan COMT geni direkt targetları olan miRNA'lar

**Şekil 8.** Homo Sapiens (insan) miR-34a-5p'nin Genom Konumu

**Şekil 9.** Homo Sapiens (insan) miR-30a-5p'nin Genom Konumu

**Şekil 10.** Homo Sapiens (insan) miR-30e-5p'nin Genom Konumu

## VI. GRAFİKLER DİZİNİ

**Grafik 1.** miR-30a-5p 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında mimik transfeksiyonu sonrasında ekspresyon seviyeleri artış miktarları

**Grafik 2.** miR-30e-5p 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında mimik transfeksiyonu sonrasında ekspresyon seviyeleri artış miktarları

**Grafik 3.** miR-34a-5p 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında mimik transfeksiyonu sonrasında ekspresyon seviyeleri artış miktarları

**Grafik 4.** miR-30a-5p mimik transfeksiyonu sonrasında COMT geni ekspresyon seviyeleri.

**Grafik 5.** miR-30e-5p mimik transfeksiyonu sonrasında COMT geni ekspresyon seviyeleri

**Grafik 6.** miR-34a-5p mimik transfeksiyonu sonrasında COMT geni ekspresyon seviyeleri

## VII. RESİMLER DİZİNİ

**Resim 1.** Çalışmamızda kullanılan SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin mikroskopik görüntüsü.

**Resim 2.** miR-30a-5p transfeksiyon aşamasında 0.saat, 24.saat ve 48. saat mikroskopik görüntüleri.

**Resim 3.** miR-30e-5p transfeksiyon aşamasında 0.saat, 24.saat ve 48. saat mikroskopik görüntüleri.

**Resim 4.** miR-34a-5p transfeksiyon aşamasında 0.saat, 24.saat ve 48. saat mikroskopik görüntüleri.



## VIII. TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 1.** Çalışmamızda Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

**Tablo 2.** Çalışmamızda Kullanılan Araç ve Gereçler

**Tablo 3.** miRNA mimik transfeksiyonunda kullanılan miRNA mimiklerin oligonükleotid dizileri.

**Tablo 4.** miRNA - cDNA Sentez Kiti ve Miktarları

**Tablo 5.** VitaScript™ FirstStrand cDNA Synthesis Kit

**Tablo 6.** A.B.T. miR-qPZR Mastermiks Kiti RT-PZR Koşulları

**Tablo 7.** 2X Magic SYBR Mix qRT-PZR Koşulları

**Tablo 8.** Hedef gen ve internal kontrol geni primer dizileri.

**Tezin Başlığı:** Şizofreni İlişkili Potansiyel miRNA'ların COMT Geni ile Olası İlişkinin İn Vitro Model Oluşturularak Araştırılması

**Öğrencinin Adı:** Onur TONK

**Danışmanı:** Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

**Anabilim Dalı:** Tıbbi Biyoloji

## 1. ÖZET

**Amaç:** Çalışmamızda TargetScan veritabanından ve literatür taramasından belirlediğimiz miRNA'ların (miR-30a-5p, miR-30e-5p ve miR-34a-5p) COMT geni ile bir ilişkisinin olup olmadığının in vitro ortamda araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Şizofreni hücreleri olarak SH-SY5Y insan nöroblastom hücre hattı kullanılmıştır. Çalışmamızda miRNA mimik transfeksiyonu, RNA ekstraksiyonu, miRNA ve mRNA ters transkripsiyonu, RT-qPCR analizi ve istatistiksel analiz metodları kullanılmıştır. RT-qPCR araştırmaları  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızda miR-30a-5p, miR-30e-5p ve miR-34a-5p'nin COMT genindeki rolü araştırılmış ve miRNA mimik transfeksiyonu yapılan SH-SY5Y hücrelerinde miR-30a-5p ve miR-34a-5p transfeksiyonu sonucunda COMT geni ekspresyon seviyesinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi fakat miR-30e-5p transfeksiyonu sonucunda COMT geni ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi.

**Sonuçlar:** Çalışmamız miR-30a-5p, miR-30e-5p ve miR-34a-5p'nin COMT genine olan etkisi ile ilgili yapılan ilk çalışma olması nedeniyle yüksek özgün değere sahiptir. Çalışmamız sonucunda miR-30e-5p COMT genini baskılamakta olduğu sonucuna varılmıştır. TargetScan database verilerine göre seçmiş olduğumuz miR-30e-5p'nin COMT genine doğrudan bağlanabileceği ve potansiyel bir terapötik strateji olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Şizofreni, miRNA, COMT

**Thesis Title:** Investigation of the Possible Association of Schizophrenia-Associated Potential miRNAs with the COMT Gene by Creating an In Vitro Model

**Student Name:** Onur TONK

**Supervisor:** Assoc. Prof. Nuray ALTINTAŞ

**Department:** Medical Biology

## 2. ABSTRACT

**Aim:** In our study, it was aimed to investigate in vitro whether the miRNAs (miR-30a-5p, miR-30e-5p and miR-34a-5p) that we determined from the TargetScan database and literature review have a relationship with the COMT gene.

**Material and Method:** : The SH-SY5Y human neuroblastoma cell line was used as schizophrenia cells. miRNA mimic transfection, RNA extraction, miRNA and mRNA reverse transcription, RT-qPCR analysis and statistical analysis methods were used in our study. RT-qPCR studies were analyzed using the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method

**Results:** In our study, the role of miR-30a-5p, miR-30e-5p and miR-34a-5p in the COMT gene was investigated and the COMT gene expression level was investigated in miRNA mimic transfected SH-SY5Y cells as a result of miR-30a-5p and miR-34a-5p transfection no significant change was observed, but it was observed that COMT gene expression level decreased significantly as a result of miR-30e-5p transfection.

**Conclusion:** Our study has a high specificity because it is the first study on the effect of miR-30a-5p, miR-30e-5p and miR-34a-5p on the COMT gene. As a result of our study, it was concluded that miR-30e-5p suppresses the COMT gene. According to the TargetScan database data, it is thought that the miR-30e-5p we selected can directly bind to the COMT gene and be a potential therapeutic strategy.

**Key Words:** Schizophrenia, miRNA, COMT

### 3. GİRİŞ

Şizofreni (SCZ), genetik ve nörobiyolojik geçmişi olan günlük yaşamın birçok alanında bozukluklarla karakterize, erken ölüm ve yüksek tedavi direnci prevelansı ile sonuçlanan kalıtsal, kronik ve şiddetli bir nörogelişimsel beyin hastalığıdır (Perkovic ve ark. 2017; Wysokiński ve ark. 2021). Şizofreni erken başlangıcı ve kronikliği nedeniyle en çok yıkıcı etkiye sahip psikiyatrik hastalık olmakla birlikte patomekanizması oldukça karmaşıktır. Yaklaşık %80 kalıtım oranına sahip olan şizofreni, patogenezinde genetik faktörlerin rol oynamasıyla birlikte çevresel stres ve nörogelişimsel faktörlerde hastalığın ortaya çıkmasında etkin görev almaktadır (Swathy ve Banerjee 2017; Obi-Nagata ve ark. 2019; Koszła ve ark. 2020; Golov ve ark. 2020).

Şizofreninin patogenezi açısından tedavi hedefleri, pozitif semptomlarla ilişkili olan dopamine (DA) yoğunlaşmaktadır (Kim ve ark. 2017). Çok sayıda çalışma, dopaminin ve serotoninin şizofreni patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını kanıtlamıştır (Wysokiński ve ark. 2021). DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'lar gibi epigenetik modifikasyonlar, birçok hastalıkta rol oynamaktadır. Şizofreni gibi psikiyatrik ve nörogelişimsel bozukluklar, çoklu epigenetik mekanizmalarındaki anormalliklerle ilişkilendirilmiştir ve bu anormallikler sonucunda gelişim ve yetişkinlik sırasında gen ifadesinin değişimi gözlemlenmiştir (Shorter ve Miller 2015). Yapılan çalışmalarda, şizofrenide Reelin (RELN), Katekol-O-Metiltransferaz (COMT), Monoamine Oksidaz A (MAOA), Hidroksitriptamin Reseptör 2A (HTR2A), SRY-Box Transkripsiyon Faktör 10 (SOX10) gibi genlerin promotörlerinde DNA metilasyonunun dereglasyonu gözlemlenmiştir (Blokhin ve ark. 2020). Yapılan çalışmalar sonucunda dopamin metabolizması ve sinyallemede rol oynamaları nedeniyle Dopamin Reseptör 2 (DRD2), COMT, 5-HTR2A ve Solute Taşıyıcı Ailesi 6 Üye 4 (SLC6A4) genleri şizofreni ve tedavisi için umut vaat eden aday genler olarak kabul edilmiştir (Li ve ark. 2018; Ahmadi ve ark. 2018). Bu aday genler arasında bulunan COMT geni 22. kromozomun uzun kolunda (22q11.2) bulunmaktadır (Gozukara Bağ 2018; Hajj ve ark. 2019).

COMT geni katekolaminleri degrade eden bir enzim üretmekte ve prefrontal kortekste (PFC) dopamin seviyesinin düzenlenmesinde önemli bir faktör olarak görev almaktadır. Dopamin, adrenalin ve noradrenalin gibi nörotransmitterleri parçalayarak bir metil grubunu katekolamine transfer etmektedir (Saravani ve ark. 2017; Kirenskaya ve ark. 2018).

COMT geninin yaygın fonksiyonel bir polimorfizmi olan Val158Met (rs4680), guaninin adenine tek nükleik asit değişikliği ile valinin (Val) metiyonin (Met) ile yer değiştirmesine neden olmaktadır. COMT geninin en yaygın olan rs4680 polimorfizmi, COMT aktivitesini ve dolayısıyla prefrontal dopamin seviyelerini önemli ölçüde etkilemektedir (Li ve ark. 2015; Sagud ve ark. 2018; Penadés ve ark. 2020).

mikroRNA'lar (miRNA'lar), hedef mesajcı RNA'ların (mRNA'ların) 3' çevrilmemiş bölgelerine (3'UTR'ler) bağlanan ve translasyonu inhibe ederek mRNA ekspresyonunu regüle eden yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda protein kodlamayan RNA'lardır. miRNA'ların düzensizliğinin Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Şizofreni gibi merkezi sinir sistemi hastalıkları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Hunsberger ve ark. 2013; Choi ve ark. 2015). miRNA'ların %70'e yakını merkezi sinir sisteminde olup farklı konumlarda ifade edilmektedir (Kamal ve ark. 2015).

Yapılan çalışmalarda miRNA'ların düzenleyici görevi, mRNA'ların translasyonunu inhibe ederek genlerin ekspresyon seviyelerini düzenlemesinden dolayı miRNA'ların şizofreninin etiolojisine katkıda bulunabileceğini gösteren sonuçlar elde edilmiştir (Wang ve ark. 2014). Bu nedenle son zamanlarda miRNA'ların düzenleyici mekanizmalarına olan ilgi daha da artmaktadır (You ve ark. 2020). Şizofreninin nedenleri hala net olarak anlaşılmamakla birlikte, şizofreni hastalarının beyin dokularında, kan, serum, plazma gibi vücut sıvılarında ve periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC'ler) anormal olarak ifade edilen miRNA'lar tespit edilmiştir (He ve ark.2019). Yapılan çalışmalarda miRNA'lar ve şizofreni ile bağlantılı mRNA'lar arasında potansiyel miRNA-mRNA etkileşimleri ortaya konulmuştur. Ayrıca miRNA'lar, çoklu hücre sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynayabilir ve bu nedenle şizofreninin başlangıcında da rol alabilirler (Cao ve Zhen 2018; Wang ve ark. 2019).

miRNA'lar, RNA Kaynaklı Susturma Kompleksi (RISC) aracılığıyla transkripsiyon sonrası gen düzenleyici görevi görmektedir. Argonaute (AGO), bu düzenleyici komplekste yer alan ana proteindir. AGO proteinleri, miRNA dizisi ile hedef mesajcı RNA (mRNA) arasındaki etkileşimi güçlendirerek üçlü bir miRNA: AGO: mRNA kompleksi oluşturur. miRNA'yı hedef mRNA'larına bağlayan Argonaute proteinleri ile doğrudan etkileşim yoluyla RISC'ler hedef mRNA'larına bağlanırlar. Oluşan bu üçlü kompleksle birlikte, mRNA bölünmesi ya da translasyonel baskılama oluşur (Capelari ve ark. 2019; Ayoubian ve ark. 2019).

Biyoinformatik araçlar, deneysel doğrulamalar için etkili bir miRNA: mRNA etkileşimini ve hedeflemelerini algoritmik olarak tahmin etmeye çalışmaktadır. miRNA hedeflerini tanımlamak için miRanda, PicTar, mirSVR ve TargetScan gibi birçok hesaplama yöntemi geliştirilmiştir. Bu veri tabanlarında bildirilen diziler deneysel olarak doğrulanmamıştır (Liu ve ark. 2014; Riffo-Campos ve ark. 2016).

Bu sebeple çalışmamızda şizofreni için SH-SY5Y hücre hattında TargetScan veri tabanından ve literatür taramalarından seçilen miR-30a-5p, miR-30e-5p ve miR-34a-5p'nin COMT geni ile ilişkisinin olup olmadığının biyolojik olarak kanıtlanması amaçlanmıştır. Ayrıca belirlenen miRNA'ların şizofreni için moleküler ajan veya biyomarker olarak kullanılabilmesi ihtimalleri üzerinde çalışılmıştır ve literatürdeki eksiklikleri giderip ileriki çalışmalar için bilgi birikimi sağlanması hedeflenmiştir.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. ŞİZOFRENİNİN TANIMI

Şizofreni, halüsinasyonlar, sanrılar, düzensiz konuşma, katatonik davranış gibi çoklu psikiyatrik belirtilerle karakterize olan bir zihinsel bozukluk olmakla birlikte insan nüfusunun yaklaşık %0,5 ila %0,7'sini etkileyen ciddi bir beyin hastalığıdır (Girdler ve ark 2019; Golov ve ark. 2020).

“Şizofreni” terimi, SCZ hastalarında gözlemlenen psikiyatrik belirtiler sonucu oluşan, düşünce ve bilişin birbirinden ayrılmasını kısa bir şekilde özetleyen, Yunanca kökenli bölünmüş anlamına gelen “şizo” ve zihin anlamına gelen “fren” sözcüklerinden türetilmiştir (Obı-Nagata ve ark. 2019).

DSM-5 tanı kriterlerine göre bir hastada şizofreninin klinik tanısı, (1) sanrılarının oluşması, (2) halüsinasyonlar görülmesi, (3) konuşma düzensizliği, (4) düzensiz veya katatonik davranışlar ve (5) negatif semptomların ikisi veya daha fazlasının en az bir aylık bir süre boyunca görülmesi durumunda konulmaktadır (Girdler ve ark 2019).

### 4.2. ŞİZOFRENİNİN TARİHÇESİ

Dr. Philippe Pinel 1793 yılında şizofreni hastalığını, düşünme yeteneğinin ortadan kalkması ya da bozulması anlamına gelen “demans” olarak isimlendirdi. Daha sonrasında Emil Kraepelin zihinsel bozuklukların nöropatoloji, fizyoloji ve beynin biyolojik kimyası ile ilişkili olduğu iddia ederek “demans praecox” kavramını önerdi. Eugen Bleuler, Kraepelin'in kavramını hastalığın yeni adı olan “şizofreni” kelimesi ile değiştirdi ve yine E. Bleuler “intihar dürtüsünü” tüm şizofreni semptomlarının en ciddi olanı olarak tanımladı. 1939'da Rennie şizofrenili 500 hastanın %11'inin 20 yıllık bir takip süresi boyunca intiharlı öldüğünü gözlemledi. 1969'da Mirsky bilişsel, nörolojik ve elektroensefalografik incelemelerden SCZ'de beyin disfonksiyonunun kanıtı olduğu sonucuna vardı (Karakuş ve ark. 2017; Sher ve Kahn 2019; Koszła ve ark. 2020).

### 4.3. ŞİZOFRENİNİN PATOGENEZİ

Yüksek kalıtım oranıyla (yaklaşık %80) çok faktörlü ve güçten düşüren bir hastalık olan şizofreni dünya çapında her 1000 kişide dört ila yedi kişiyi etkilemektedir. Fenotipik heterojenliğe rağmen, bilişsel bozukluklar klinik olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ancak bu hastalığın genetik olarak tek bir kromozomdaki basit bir pozisyon değişikliğinden mi, eksik penetransa sahip tek bir genden mi yoksa değişik genlerdeki bozukluklardan mı kaynaklandığı henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Fakat klasik Mendel kalıtımına uymayan bu hastalıkta eksik penetrans ve çoklu gen kuramı daha olası görünmektedir (Acar ve Kartalcı 2014; Matsuzaka ve ark. 2017).

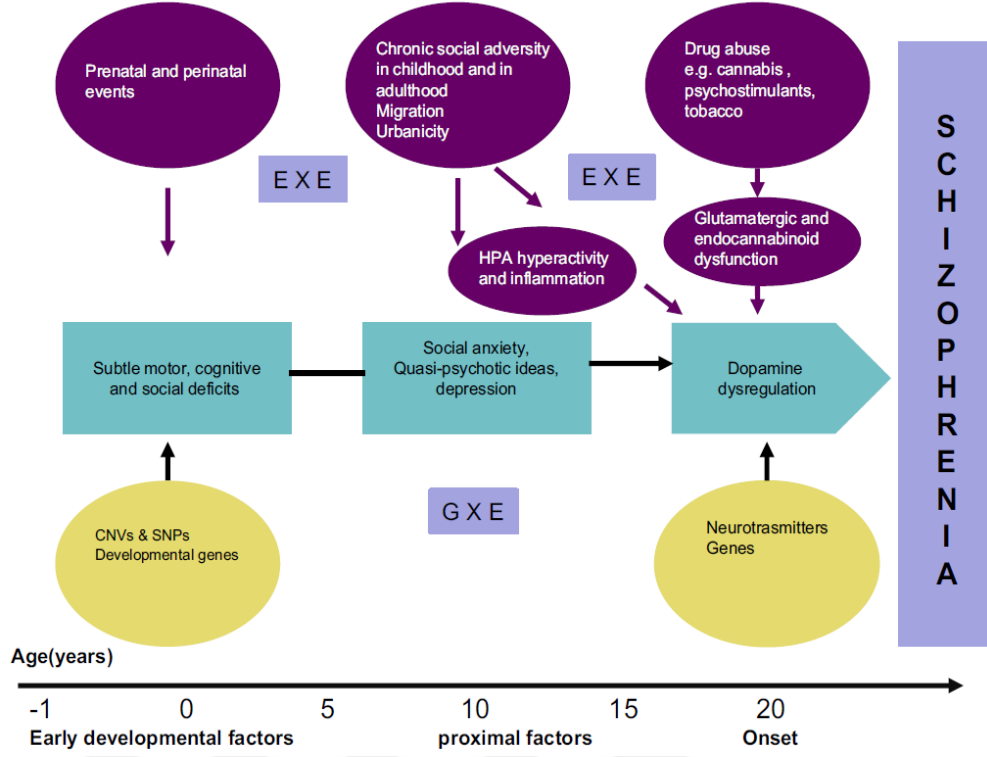
Şizofreni yaşam boyunca önemli morbidite ve mortalite ile küresel sağlık için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. SCZ'nin patogenezi belirsizliğini korumaktadır. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar kalıtsal genetik varyantlarının SCZ'de kritik roller oynadığını göstermektedir. Genom çapı ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) tarafından tanımlanan risk varyantlarının çoğunun protein yapısı veya işlevinden ziyade gen ekspresyonunu etkileyerek SCZ riskine katkıda bulunduğu bilinse de şimdiye kadar yalnızca çok sınırlı fonksiyonel varyantlar tanımlanmıştır (Huo ve ark. 2019).

### 4.4. ŞİZOFRENİ RİSK FAKTÖRLERİ

Şizofreninin gelişmesinde; doğum öncesi komplikasyonlar, cinsiyet, yaş, kentsel çevrede yaşama, nörogelişimsel tehlikeler, çocukluk çağı güçlükleri, göç, uyuşturucu kullanımı (özellikle esrar, amfetamin, metamfetamin ve kokain), fiziksel ve cinsel istismar gibi çok sayıda risk faktörleri rol oynamaktadır (Howes ve ark. 2017; Perkovic ve ark. 2017).

Şizofreninin nörogelişimsel kökenini, klinik, genetik ve epidemiyolojik alanlarda yapılan son çalışmalar desteklemektedir ve hastalığın ortaya çıkmasında çok önemli olabilecek spesifik beyin gelişim bozukluklarını tanımlamaya başlamıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda tanı riskini arttıran çok sayıda risk faktörlerinin belirlenmesine rağmen patolojik süreçlerdeki bozukluğun tek bir nedenden oluşmayacağı gözlemlenmiştir (Şekil 1) (Schmidt ve Mirnics 2015).



Şekil 1. Şizofreninin Gelişim Faktörleri ile İlişkisi (Stilo ve Murray 2019).

#### 4.4.1. Doğum Komplikasyonları

Yapılan çalışmalarda obstetrik komplikasyonların şizofreni için bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir ve açık sezeryan, gebelik sırasında kanama, gebelik zehirlenmesi ve düşük doğum ağırlığı ile ilişkilendirilmiştir. Doğum esnasında forseps kullanımı ve düşük doğum ağırlığı, erken psikoz başlangıcını arttırmaktadır (Stilo ve Murray 2019).

#### 4.4.2. Cinsiyet ve Yaş Faktörü

Şizofrenide başlangıç yaşı erkekler ve kadınlar arasında farklılık göstermektedir. Bu fark kadınlarda 25-35 yaş aralığındayken erkeklerde 15-25 yaş aralığındadır. Kadınlarda geç başlangıcı açıklayan iki hipotez mevcuttur. Bu hipotezlerden birincisi östrojenin dopamin (DA) reseptörleri üzerindeki düzenleyici etkisi, ikincisi ise kadınların merkezi sinir sistemi gelişimini erkeklerden daha erken tamamlamış olmasıdır (Altıntaş ve ark. 2019).

Ayrıca babanın 34 yaş ve üstü olması şizofreni ile ilişkilendirilmiştir. Bunun nedeni, yapılan çalışmalarda erkek germ hücrelerinde sporadik de novo mutasyonlarda yaşla ilgili artışın bir rol oynayabilecek olmasıdır (Stilo ve Murray 2019).

#### **4.4.3. Göç**

Meta-analitik incelemeler, göçmen grupların şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar açısından yüksek risk altında olduğunu göstermektedir. Birleşik Krallık, Hollanda, Almanya, Danimarka, Fransa ve İtalya gibi ülkelerde mülteciler ile mülteci olmayanlar karşılaştırıldığında şizofreni oranının mültecilerde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Stilo ve Murray 2019).

#### **4.4.4. Kentsellik**

Kentsel bir çevrede büyümek ya da yaşamak şizofreni veya genel olarak psikoz riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Çocuklukta ikametinin kırsal ortamdan kentsel ortama değiştirilmesi şizofreni gelişme riskini iki katına çıkarır ve bir çocuk kentsel alanda ne kadar çok yıl geçirirse risk o kadar artmaktadır (Stilo ve Murray 2019).

#### **4.4.5. Genetik Faktörler**

Şizofreni ile ilgili yapılan genetik çalışmalarda aile bireylerinde şizofreni hastası olduğu durumlarda bireylerin de şizofreni hastalığına yakalanma oranının fazla olduğu ve ebeveynlerin her ikisi de şizofreni hastası ise çocuklarında da şizofreni hastalığı görülme oranının yaklaşık % 40 olduğu bilinmektedir (Tarhan 2019).

#### **4.4.6. Uyuşturucu, Alkol ve Sigara Riskleri**

Şizofreni hastalarında tütün, alkol, esrar ve kokain kullanımı yaygın olarak görülmektedir ve şizofreni hastaları bu maddelerin kullanımıyla ilgili ciddi sorunlar yaşamaktadır. Yapılan çalışmalarda şizofreni hastalarının şizofreni olmayanlara göre daha yüksek tütün içme oranına sahip oldukları belirtilmiştir (Perkovic ve ark. 2017).

Dahası, bazı araştırmacılar ergen yaşta esrar kullanımının ve sigara içmenin şizofreni riskini arttırdığını öne sürmüşlerdir (Perkovic ve ark. 2017).

#### **4.5. şİZOFRENİDE ALT TIPLER**

şizofreninin alt tipleri, değerlendirme sırasında önde gelen belirtilere göre tanımlanmaktadır. şizofreninin alt tipleri tedaviye verdikleri cevaplara ve prognozlarına göre değişkenlik göstermektedir. Bunlardan paranoid tip, tedaviye en iyi cevap veren ve prognozu en iyi olandır, dezorganize tip ise prognozu en kötü olan ve tedaviye en az cevap veren tiptir (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

##### **4.5.1. Paranoid Tip**

Paranoid tip, anksiyete veya bir konuyla bağlantılı tekrarlanan yanılısamaların oluşması ile ilişkilidir. Paranoid tip diğer tiplere göre çoğunlukla daha geç yaşlarda başlar ve yavaştır. Bir veya daha fazla hezeyan ya da sık işitsel halüsinasyonun olması, katatonik davranış gibi etkilerin net olarak görülmemesi ile tanımlanır (Culum 2016; Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

##### **4.5.2. Dezorganize Tip**

Dezorganize tip, düşünme başarısızlığı ve bağlantıların bariz bir şekilde kopması ile oluşmaktadır. Bu tip, geç yaşta pozitif semptomlarla başlamaktadır. Düzensiz davranış ve düzensiz konuşma gibi etkiler bu tipin temel semptomlarındandır. şizofreni alt tipleri arasından en ağır olan tipidir (Culum 2016; Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

##### **4.5.3. Katatonik Tip**

Katatonik (donakalım), kişinin belli bir durumda uzun süre hareket etmeden kalması anlamına gelmektedir. Uyumama, yememe, içmeme, konuşmama, verilen tavsiyelere uymama gibi etkilere sahiptir. Tembellik, olumsuzluk, coşku gibi psikomotor rahatsızlık ile ilişkilidir. Bu tip genellikle 15-25 yaş arasında görülmekte ve aniden başlamaktadır (Culum 2016; Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

#### **4.5.4. Ayrışmamış Tip**

Ayrışmamış tip, şizofreni teşhisi koyduracak semptomların görüldüğü fakat bu semptomların paranoid, dezorganize ya da katatonik tip kriterlerini karşılamadığı şizofreni tipidir (Culum 2016; Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

#### **4.5.5. Rezidüel Tip**

Rezidüel tip bir ya da birkaç şizofrenik tekrarlanma sonucu oluşan, negatif semptomların baskın olduğu kronik şizofrenik bozukluktur. Umursamazlık, girişim ve eylem eksikliği, ilgisizlik, toplumdandan kopma, düşüncede somutlaşma, kendine bakımda azalma gibi belirtilere sahiptir (Culum 2016; Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

### **4.6. ŞİZOFRENİNİN SEMPTOMLARI**

Genetik ve nörobiyolojik geçmişe sahip kronik ve şiddetli bir psikiyatrik bozukluk olan şizofreninin semptomları; pozitif, negatif, bilişsel ve duygudurum semptomları olarak sınıflandırılmaktadır. Şizofreni, bilişsel bozukluğa, zayıflatıcı pozitif ve negatif semptomlara, yaşam süresinin kısalmasına yol açan yıkıcı ve ömür boyu süren bir hastalık olarak da bilinmektedir (Donegan ve Lodge 2017; Perkovic ve ark. 2017; Girdler ve ark 2019).

#### **4.6.1. Pozitif Semptomlar**

Pozitif semptomlar, halüsinasyonlar, sanrılar, düzensiz konuşma ve düzensiz davranış gibi psikiyatrik belirtilerden oluşmaktadır (Perkovic ve ark. 2017).

#### **4.6.2. Negatif Semptomlar**

Negatif semptomlar arasında azalmış duygular, konuşma yoksulluğu, ilgi ve dürtü kaybı yer almaktadır (Perkovic ve ark. 2017).

### **4.6.3. Bilişsel Semptomlar**

Bilişsel semptomlar, körelmiş duygulanım, duygusal geri çekinme, sosyal kaçınma, çalışma belleğindeki bozulmalar, dikkat eksiklikleri, düzensiz düşünce gibi olumsuz etkilere sahiptir. Bu belirtiler sosyal ve mesleki işlevleri etkileyebilir aynı zamanda yaşam kalitesini de düşürebilir (Girdler ve ark 2019).

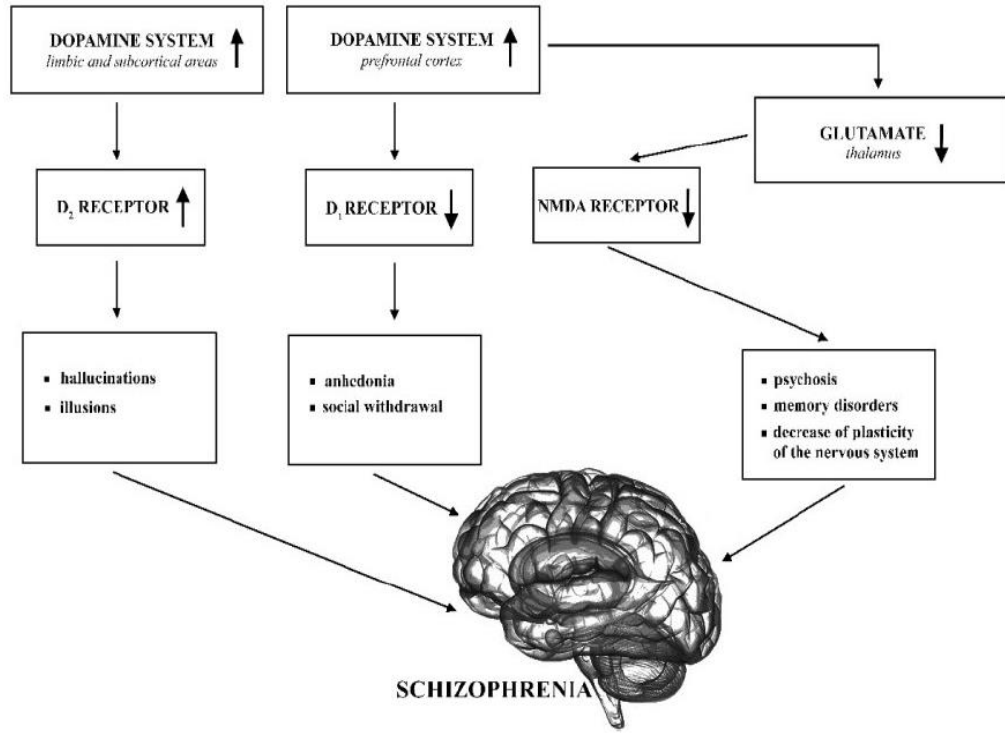
### **4.6.4. Duygudurum Semptomlar**

Duygudurum belirtileri depresif, neşeli veya üzgün ruh hallerinden oluşmaktadır (Perkovic ve ark. 2017).

## **4.7. ŞİZOFRENİ SEMPTOMLARININ TEDAVİ İLE İLİŞKİSİ**

Şizofrenide genellikle pozitif semptomlar iyileştirilebilirken, negatif ve bilişsel semptomlar tedavi edilmeden kalmaktadır. Antipsikotiklerin çeşitli nörotransmitter reseptörleri ile etkileşimlerinin şizofreni semptomlarını tedavi etmedeki etkilerinden sorumlu olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Fakat şizofreninin patomekanizması tam olarak anlaşılamadığından tedavi için mevcut antipsikotikler ciddi sınırlamalarla karakterizedir (Stepnicki ve ark. 2018).

Şizofreninin etiyolojisi, mezolimbik yoldaki aşırı dopamin aktivitesi “pozitif” semptomlarla, prefrontal korteksteki azalmış dopamin aktivitesi ise “negatif” semptomlarla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca negatif ve bilişsel semptomlar hipokampustaki Gama-Aminobütrik Asit (GABAerjik) sinyal ve N-metil-D-aspartik asit (NMDA) işlevi arasındaki karmaşık bir etkileşimden kaynaklanmaktadır. Şizofreninin etiyolojisi ve patogenezi açısından mevcut tedavi hedefleri pozitif semptomlarla ilişkili olan dopamine odaklanmaktadır (Şekil 2) (Shorter ve Miller 2015; Kim ve ark. 2017; Girdler ve ark 2019).



**Şekil 2.** Şizofrenide Dopamin Reseptörleri ve Dopaminerjik Sistem Anormallikleri (Koszla ve ark. 2020).

#### 4.8. DOPAMİN HİPOTEZİ

Dopamin hipotezi, dopamin sisteminin aşırı aktivitesinin şizofrenik semptomların ortaya çıkmasına neden olduğunu iddia etmektedir. Bu hipotez, mezolimbik yolda dopaminerjik nörotransmisyonunun işleyişini etkilediğini öne sürmektedir (Koszla ve ark. 2020).

Şizofreninin dopamin hipotezi ilk olarak 1960'larda, ilk antipsikotik ilaç olan klorpromazinin şizofreni hastalarının pozitif semptomlarını başarılı bir şekilde tedavi ettiği tespit edildiğinde ortaya atıldı (Yang ve Tsai 2017).

Dopamin hipotezi, şizofreninin altında yatan potansiyel nörobiyolojik mekanizmaları açıklayan en uzun süredir devam eden ve en çok kabul gören hipotezlerden biri olmuştur. Ayrıca bu hipotez şizofreninin araştırılması ve tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Orijinal dopamin hipotezinde şizofreni semptomlarının aşırı subkortikal dopaminden kaynaklandığı öne sürülerek dopamin fazlalığının rolü vurgulanmıştır (Donegan ve Lodge 2017; Stepnicki ve ark. 2018).

Dopamin hipotezini destekleyen etkenlerden biri de pozitif semptomları azaltabilen antipsikotik ilaçların D2 reseptöründe antagonist görevi görmesidir. Fakat dopamin hipotezi şizofrenide mevcut olan tüm semptomları tam olarak açıklayamamaktadır (Donegan ve Lodge 2017; Stepnicki ve ark. 2018).

Genetik çalışmalar, SCZ ile dopamin D2 reseptörünü kodlayan dopamin reseptörü D2 (DRD2) genindeki mutasyonlar arasındaki bağlantıyı ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, SCZ'li hastaların dopamin sentezlemek için bazal kapasitenin arttığı bilinmektedir (Blokhin ve ark. 2020).

#### **4.8.1. Dopamin Reseptörleri**

Dopamin reseptörlerinin D1, D2, D3, D4 ve D5'den oluşan beş alt tipi mevcuttur. Bu beş alt tipten D1 ve D5, D1 benzeri ailenin üyeleri iken D2, D3 ve D4 ise D2 benzeri aileye aittir. D1 benzeri reseptörler anahtar düzenleyici rollere sahip bir enzim olan adenilil siklazı aktive ederek siklik adenozin monofosfatın (cAMP) hücre içi konsantrasyonunu artırırken, D2 benzeri reseptörler ise cAMP üretimini inhibe eder. Bu nedenle D1 benzeri reseptörler, uyarıcı dopamin reseptörleri olarak, D2 benzeri reseptörler ise inhibe edici dopamin reseptörleri olarak sınıflandırılır (Wysokin' ski ve ark. 2021).

Şizofrenide dopamin sinyallenmesinin önemini açıklayan durumlar şizofreni hastalarının çoğunun dopamin antagonistlerine karşı oldukça duyarlı olması, psikozun ve diğer pozitif semptomların hemen yeniden ortaya çıktığını göstermesidir. Bir diğeri ise fonksiyonel görüntüleme çalışmalarının asemptomatik veya ilaç almamış hastalarda bile beyindeki dopamin hiperaktivitesi için çok büyük kanıtlar sağlamış olmasıdır (Shorter ve Miller 2015).

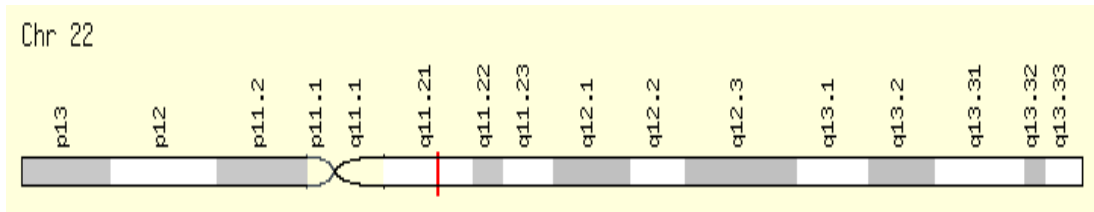
#### **4.9. ŞİZOFRENİDE ADAY GENLER**

Nörobiyolojik çalışmalar, SCZ ve Bipolar bozukluk (BD)'daki duyarlılık genlerinin 2 ana sınıfa ayrılabilceğini göstermektedir. Birinci sınıf genleri içeren D-amino asit oksidaz aktivatör (DAOA), Neuregulin 1 (NRG1), Şizofrenide Bozukluk 1 (DISC1), Dysbindin ve Glutamat Metabotropik Reseptör 3 (GRM3) genleri NMDA glutamat reseptörlerini etkiler (Ahmadi ve ark. 2018).

İkinci sınıf genleri içeren COMT, DRD2 ve Protein Fosfataz 1 Düzenleyici İnhibitör Alt Birimi 1B (PPP1R1B) genleri ise dopamin metabolizması ve sinyallemede rol oynar. DAOA geni ve COMT geni yalnızca psikotik bozukluklarla ilişkili değildir aynı zamanda glutamaterjik ve dopaminerjik nörotransmisyonlarda da önemli roller oynamaktadır (Ahmadi ve ark. 2018). Genomik konumu ve dopamin katabolizmasındaki işlevi nedeniyle COMT, şizofreni için güçlü bir aday gen olarak kabul edilir (Gozukara Bağ 2018). Ayrıca literatürde dopaminerjik ve serotoninerjik yollardan dört aday gen DRD2, COMT, 5-HTR2A ve SLC6A49 en çok ilgiyi almış ve tedavi yanıtı için umut verici aday genler olarak kabul edilmiştir (Li ve ark. 2018). Sonuç olarak aday gen çalışmaları SCZ ile ilişkisini doğrulamak için COMT genini hedeflemektedir (Arslan 2018).

#### 4.9.1. Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) Geni

COMT, dopamin dahil olmak üzere katekolaminleri degrade eden önemli bir enzimdir. COMT geni, 22. kromozomun uzun kolunda bulunur (22q11.2) ve prefrontal kortekste (PFC) dopamin seviyesinin düzenlenmesinde rol alan anahtar faktörlerden biridir (Tang ve ark. 2017; Kirenskaya ve ark. 2018; Sagud ve ark. 2018). 22. kromozom, insan genomunun yaklaşık %1,8'lik kısmını içeren ikinci en küçük insan kromozomudur. Akrosentrik kromozomun uzun kolu (22q) protein kodlayan genleri kısa kolu (22p) ise ribozomal genleri içermektedir. COMT enzimi membrana bağlı (MB-COMT) ya da çözünebilen (S-COMT) form olmak üzere iki formda bulunabilir. Bu enzimin bu iki formu (MB-COMT ve S-COMT formları), iki farklı transkripsiyon başlama bölgesine sahip olan ve insanda 22q11.2 bölgesine yerleşmiş olan COMT geni tarafından kodlanmaktadır (Şekil 3) (Arslan ve ark. 2011; Tarhan 2019).



**Şekil 3.** COMT geni genomik konumu (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=COMT>, Erişilme tarihi: 16.05.2021).

Dopamin, epinefrin ve nöroepinefrini metabolize eden COMT geninin şizofreni ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. COMT, dopamin, adrenalin ve nöroadrenalin dahil olmak üzere nörotransmitterlerin parçalanması nedeniyle bir metil grubunu katekolamine transfer eder. Çalışmalar ayrıca DA sinyalindeki değişikliklerin ve yapısal kortikal olgunlaşmasının şizofreniye genetik yatkınlıkla ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca COMT geninin katabolik etkisi prefrontal korteksteki DA seviyelerini düzenlemede önemlidir ve bu bölgenin yapısı ve işlevinin şizofreniye katkıda bulunduğu doğrulanmıştır. Bu çalışmalar COMT geninin şizofreninin başlangıcında çok önemli bir rol oynadığını ve bu zihinsel bozuklukta beyin yapısının morfolojik değişiklikleri üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. COMT polimorfizmi, bazı psikiyatrik ve davranışsal problemlerde olası bir katkıda bulunan rol olarak incelenmiştir (Li ve ark. 2015; Saravani ve ark. 2017).

#### **4.9.1.1. COMT Geni Polimorfizmi**

COMT geni, enzim aktivitesini etkileyen yaygın bir fonksiyonel polimorfizm olan Val158Met (rs4680) içerir ve yapılan çalışmalarda bu polimorfizmin prefrontal kortikol fiziyojijiyi, çalışma belleğini ve insanlarda duygusal düzenlemeyi etkilediği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, COMT geninin prefrontal ve hipokampal kortekslerde dopamin akışının modüle edilmesindeki ana rolü ve kortikal bilgi işlemenin ayarlanmasında DA'nın önemi ile tutarlıdır (Gothelf ve ark. 2014). Rs4680 polimorfizmi 1980'lerden beri detaylı bir şekilde çalışılmıştır. Val158 alleli, Met158 alleli ile karşılaştırıldığında daha büyük COMT enzim aktivitesi ve daha büyük DA degradasyonu ile ilişkilidir. Alleller, heterozigot genotip (Val158/Met158) olarak birlikte dominanttır ve COMT geninin enzimatik aktivitesiyle ilişkilendirilmiştir (Li ve ark. 2015). Val158/Met158 ve Met158/Met158'e sahip taşıyıcıları, Val158/Val158'e sahip taşıyıcılarda dört ila beş kat daha düşük COMT aktivitesine sahiptir (Li ve ark. 2015). COMT geninin bir Val158Met tek nükleotid polimorfizmi enzim aktivitesini etkilemektedir. Bu nedenle Met/Met varyantı, Val/Val varyantına göre %40 daha az enzimatik aktivitesi göstermektedir ve sonuç olarak prefrontal ve anterior singulat kortekste daha yüksek dopamin seviyeleri ile ilişkilidir. COMT Val158Met polimorfizmi buna karşılık olarak dikkat ve yönetici kontrol dahil olmak üzere birçok bilişsel işlevi etkilemektedir (Kirenskaya ve ark. 2018).

Rs4680 (A>G) veya Val108/158Met, MB-COMT için kodon 158'de bir G/A ikamesinin valinden (Val) metiyonine (Met) değiştirdiği fonksiyonel COMT polimorfizmidir (Sagud ve ark. 2018).

Fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmi (SNP) (rs4680, Val108/158Met) yüksek enzimatik aktiviteye sahiptir ve dolayısıyla prefrontal DA seviyelerini düşürmek için Val formu ile COMT ekspresyonunu modüle eder. Çalışmaların çoğu, COMT genotipinin, bilişsel ve işlevsel iyileşmenin derecesini etkilediğini göstermiştir. Özellikle COMT Met alleli, bilişsel esneklik, sözlü ve görsel öğrenme ve dikkat uyanıklığı ile ilişkilendirilmiştir (Penadés ve ark. 2020).

#### **4.10. EPİGENETİK DÜZENLEME**

DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'lar dahil epigenetik modifikasyonlar, nöropsikiyatrik bozukluklar dahil birçok hastalıkta rol oynamaktadır. Şizofreni ve diğer önemli psikiyatrik ve nörogelişimsel bozukluklar, çoklu epigenetik mekanizmalardaki anormalliklerle ilişkilidir. Bu da gelişim ve yetişkinlik sırasında gen ifadesinin değişmesine neden olmaktadır. Şizofreni risk genlerindeki polimorfizmler, hastalığın yüksek kalıtsallığına katkıda bulunur ancak epigenetik modifikasyonlara yol açan çevresel faktörler, şizofreni ve ilgili bozukluklarla ilişkili moleküler ve davranışsal fenotiplerin ekspresyonunu azaltabilir veya arttırabilir. Literatürde şizofreni dahil birçok nöropsikiyatrik bozuklukta DNA metilasyonunda değişiklikler tespit edilmiştir (Shorter ve Miller 2015).

DNA metiltransferazlar (DNMT'ler), metil gruplarının DNA'ya transferini katalize ederek gen promoter bölgelerindeki C-phosphate-G (CpG) adalarında 5-metilsitozin (5-mC) modifikasyonuna neden olurlar. DNA metilasyonu, 5-mC üreten sitozinin ilk karbonunun metilasyonu yoluyla gerçekleştirilen ve transkripsiyonel baskılamaya neden olan evrimsel olarak korunmuş bir epigenetik işlemdir. Buna karşılık, Ten-eleven translocation (TET) enzimleri 5-mC'nin 5-hidroksimetilsitozine (5-hmC) dönüşümünü katalize ederek DNA metilasyonuna ve ardından transkripsiyonel gerilemeye neden olabilir. Çok sayıda çalışma SCZ'ye RELN, COMT, MAOA, HTR2A, SOX10 gibi genlerin promotörlerinin deregülasyonuna eşlik ettiğini göstermiştir (Shorter ve Miller 2015; Blokhin ve ark. 2020).

Şizofreni hem gen hem de çevreden etkilenen karmaşık bir hastalıktır. Risk geni ve çevrenin etkileşimi SCZ’de anormal bir epigenetik mekanizmanın ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu epigenetik mekanizmaların ayırt edici özelliği, değiştirilmiş modifikasyon durumu, histon modifikasyonları ve mikroRNA’lar (miRNA) aracılığıyla izlenir (Swathy ve Banerjee 2017).

#### 4.11. MİKRORNA’LAR

mikroRNA’lar, mRNA’ların 3’ çevrilmemiş bölgelerine (3’UTR’ler) bağlanan ve mRNA stabilitesini azaltarak veya translasyonu inhibe ederek mRNA ekspresyonunu aşağı regüle eden, gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenlenmesine katılan 22-25 nükleotid uzunluğunda küçük, endojen ve kodlamayan RNA molekülleridir (Choi ve ark. 2015; He ve ark. 2017; Cao ve ark. 2019). miRNA’ların çeşitli organizmalarda yaygın olarak bulunduğu gelişim, farklılaşma, büyüme regülasyonu ve apoptoz dahil hemen hemen tüm yaşam süreçlerinde rol oynadıkları bilinmektedir (He ve ark. 2017). Transkripsiyon ve translasyonu etkileyen birden fazla mekanizma yoluyla miRNA’lar, gelişim ve yaşam boyu hücrel işleyiş için önemli olan gen gruplarının ekspresyonunu etkileyebilmektedir (Warnıca ve ark. 2015).

Hayvan genomları, metabolizma, sinir ve bağışıklık sistemlerinin gelişimi ve düzenlenmesinden kanser başlangıcına kadar uzanan süreçleri etkilemek için birçok protein kodlayan geni transkripsiyonel olarak düzenleyen çok sayıda miRNA’yı barındırır. Bugüne kadar insan genomunda yüzlerce miRNA tanımlanmıştır ve bunlar çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde anahtar roller oynamaktadır (Sun ve Zhang 2014).

Yapılan çalışmalarda miRNA’nın insan plazmasında endojen ribonükleaz (RNaz) aktivitesinden korunan oldukça kararlı bir formda mevcut olduğu bulunmuştur ve kanda bulunan miRNA’lardaki değişikliklerin insan vücudunun patolojik fizyolojisini yansıtılabileceği doğrulanmıştır. Plazma veya serumdaki spesifik miRNA’ların fazlalığının kanser veya diğer hastalıklar için bir biyobelirteç olarak hizmet edebileceği bildirilmiştir (Wang ve ark. 2019).

miRNA'lar aşağıdaki avantajlara sahiptir;

- miRNA, sıcaklık, pH, veya fiziksel durumdaki değişiklik gibi etkilere rağmen kararlı kalmaktadır.
- miRNA'ların ekspresyonu, cinsiyet veya birey gibi farklar olmaksızın spesifiktir.
- Serum ve plazmadaki miRNA'lar in vitro olarak ölçülebilmektedir. Bu nedenle miRNA'lar umut verici biyobelirteçler olma özelliğine sahiptirler.

miRNA'lar, çoklu hücre sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynamakta, hücrel fizyolojik işleyişi etkileyebilmekte ve bu nedenle şizofreninin başlangıcında rol oynayabilmektedir (Wang ve ark. 2014).

#### **4.12. miRNA TARİHÇESİ**

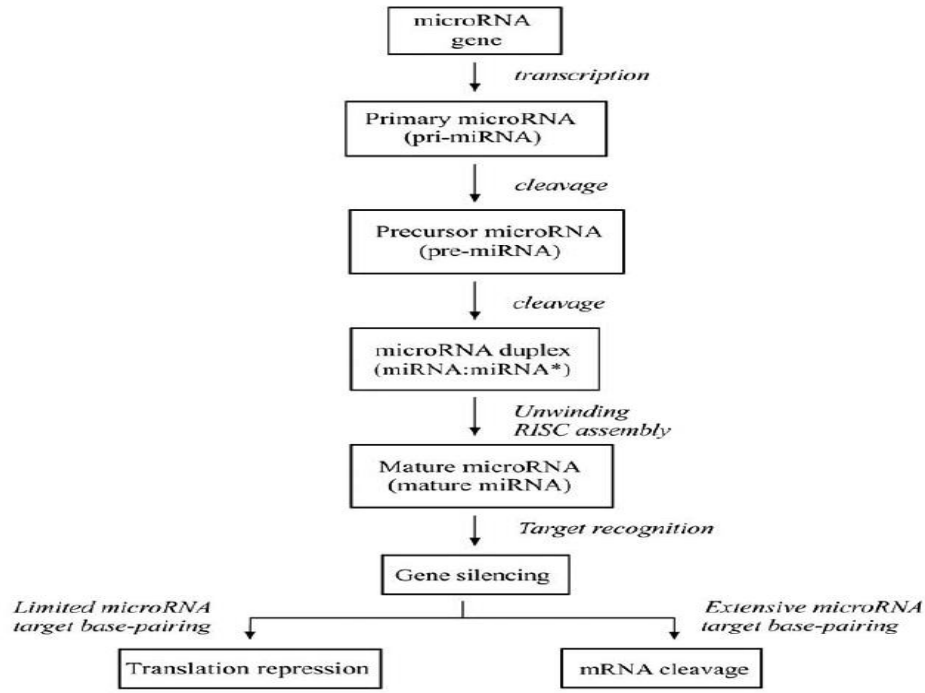
1993 yılında Lee ve arkadaşları tarafından yuvarlak solucan olarak bilinen *Caenorhabditis Elegans* (*C. Elegans*) larva gelişiminin zamanlamasını kontrol eden lin-4 adı verilen miRNA keşfedildi. Sonrasında Wightman ve arkadaşları lin-4 adı verilen miRNA'nın lin-14 geni üzerinde negatif düzenleyici olarak rol oynadığını bildirdiler (Lim ve ark. 2003; Güzelgöl ve Aksoy 2015; Cao ve Zhen 2018).

Lin-4'ün keşfinden yedi yıl sonra yani 2000 yılında ise Reinhert ve arkadaşları yine *C.elegans*ta let-7 adı verilen bir miRNA keşfettiler. 21 nükleotid uzunluğunda olan let-7 geç larva ve yetişkin aşamalarına geçişi tetiklemek için benzer bir şekilde hareket ettiği gözlemlendi. Let-7'nin keşfinden sonra gen ifadesinden sorumlu olan RNA'lara mikroRNA adı verildi. Böylelikle lin-4 ve let-7 miRNA'ları kodlamayan RNA sınıfının kurucu üyeleri olarak kabul edildi. 2000 yılından sonra hayvanlarda, bitkilerde, virüslerde ve ayrıca memeli merkezi sinir sisteminde binlerce miRNA tanımlandı. Ayrıca miRNA'lar evrimsel açıdan da korunmuşlardır (Lim ve ark. 2003; Güzelgöl ve Aksoy 2015; Cao ve Zhen 2018).

#### **4.13. miRNA BİYOGENEZİ**

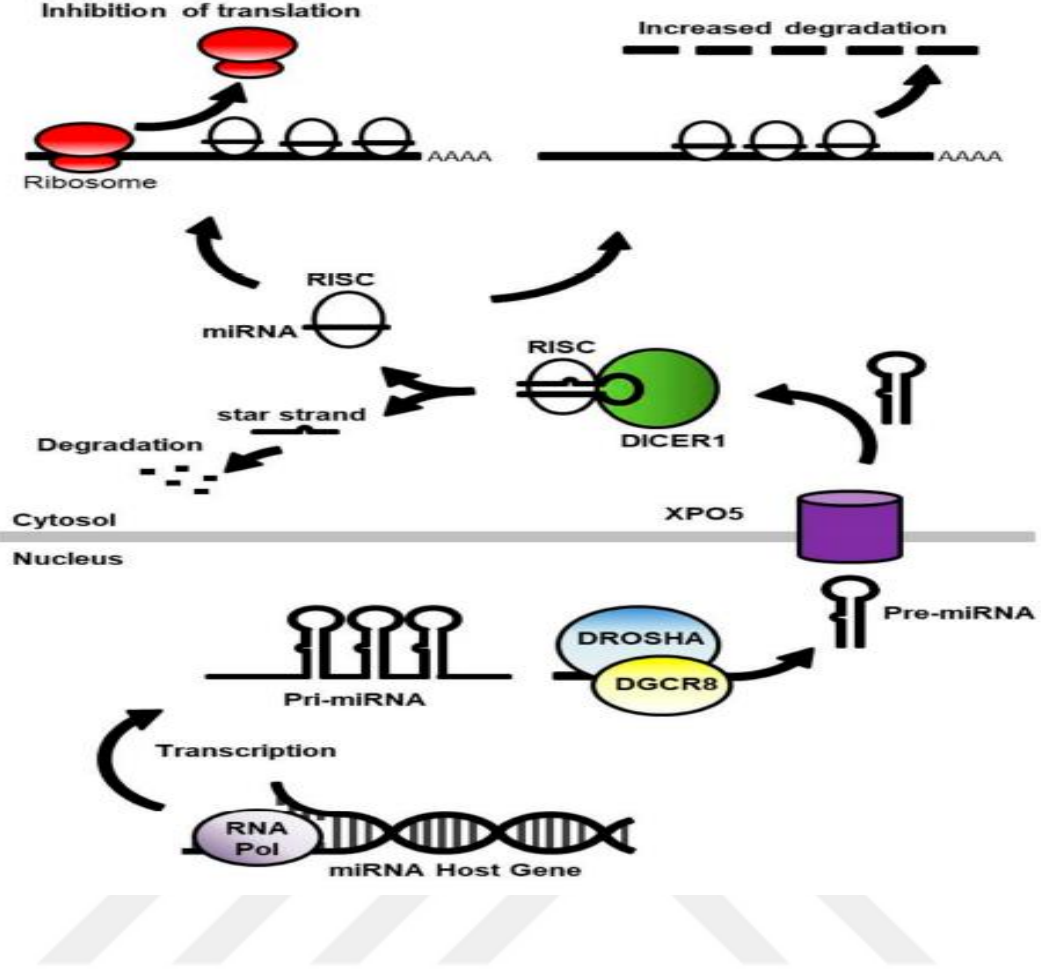
miRNA'lar, mRNA transkriptindeki tamamlayıcı dizilere bağlanarak aktivitelerine aracılık eder. Bu da, mRNA bozulma oranını değiştirerek, mRNA'nın hücrede kaldığı süreyi kontrol ederek veya transkriptin ribozomlar tarafından

çevrilmesini fiziksel olarak engelleyerek protein çevirisini etkiler (Şekil 4) (Gibbons ve ark. 2018).



Şekil 4. mikroRNA Olgunlaşması ve İşlevi (MacFarlane ve Murphy 2010).

miRNA'nın biyogenezi genellikle bir ila altı öncül (pre-) miRNA tekrarından oluşan bir dizi içeren birincil (pri-) miRNA gen ürününün transkripsiyonu ile başlar. Protein kodlayan genler gibi miRNA'lar, RNA polimeraz II veya RNA polimeraz III ile genomik DNA'dan birincil transkriptlere (pri-miRNA) kopyalanır. Pri-miRNA'lar genellikle bir 5' CAP ve bir 3' poli A kuyruğuna sahiptir ve çekirdekte bir gövde ilmek yapısı bulunan çift sarmallı bir RNA saç tokasına katlanabilir. Çekirdekte, pri-miRNA, Drosha ve DGCR8'den oluşan mikroişlemci kompleksi tarafından pre-miRNA adı verilen 70 nükleotidlik bir saç tokası (hairpin) yapısına işlenir. 22q11.2 delesyonları tarafından bozulan bir gen olan DGCR8, mRNA biyogenezinde yer alan mikroişlemci kompleksinin anahtar bileşenidir. Pre-miRNA daha sonra nükleositoloplazmik mekik protein olan exportin-5 (XPO5) tarafından sitoplazmaya aktarılır. Burada, endonükleaz Dicer tarafından daha da işlenerek olgun bir 22 nükleotid uzunluğunda çift sarmallı miRNA'ya kesilir (Şekil5) (Sun ve Zhang 2014; Warnica ve ark. 2015; Cao ve Zhen 2018; Gibbons ve ark. 2018; Khavari ve Cairns 2020).

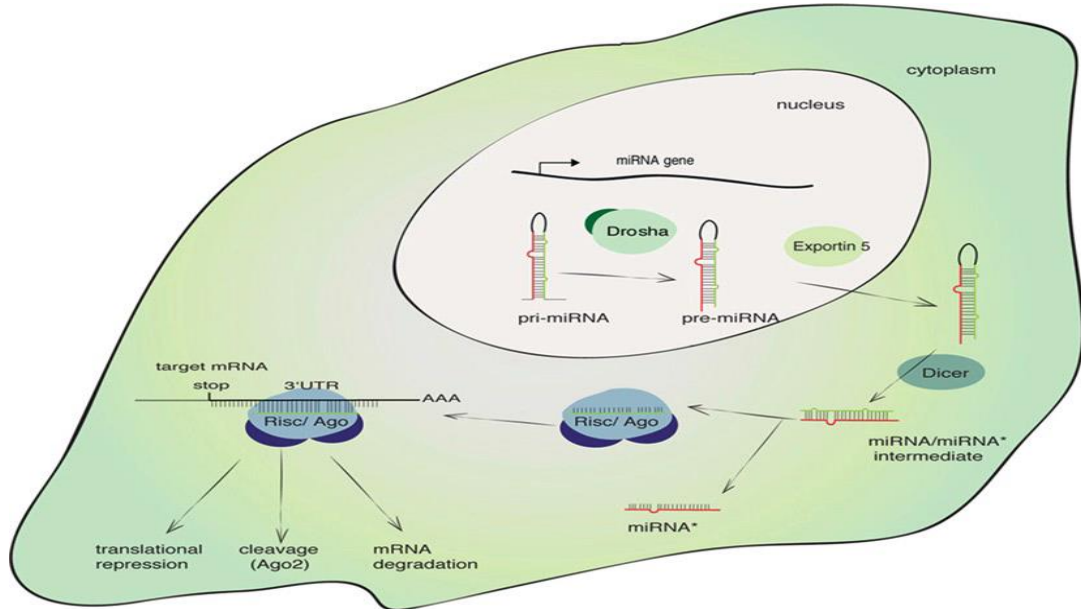


Şekil 5. mikroRNA (miRNA) Biyogenezini Şeması (Gibbons ve ark. 2018, Altıntaş ve ark. 2022).

miRNA olgunlaşma sürecinde, Dicer tarafından bölünme ile karşılaştırıldığında, Drosha ile bölünme daha önemlidir. Çünkü Dicer, Droshanın bölünme alanlarından 22 nükleotid bölgesinde çift sarmallı RNA'yı böler. Çözme işlemi sırasında, dupleksin bir ipliği olan olgun miRNA, RNA kaynaklı susturma kompleksine (RISC) yüklenebilirken, diğer iplik genellikle bozulur ya da kaybolur. Endoribonükleaz ayırıcı DICER1, saç tokası döngüsünü keserek miRNA'nın RISC'e yüklenmesine izin verdikten sonra olgun miRNA hedef mRNA transkriptlerine bağlanabilir. Sonuç olarak hedef mRNA'ların transkripsiyonel baskılanmasına veya bozulmasına neden olur. Her bir miRNA aynı anda yüzlerce genin ifadesini etkileyebilir ve bağımsız sinyal yollarının birden çok bileşenini senkronize edebilir (Sun ve Zhang 2014; Warnica ve ark. 2015; Cao ve Zhen 2018; Gibbons ve ark. 2018; Khavari ve Cairns 2020).

#### 4.13.1. Argonaute Protein (AGO) İşlevi

miRNA'lar RISC aracılığıyla bir transkripsiyon sonrası gen düzenleyici olarak hareket etmektedir. Argonaute (AGO), bu düzenleyici kompleksteki ana protein olarak görev almaktadır. miRNA'yı hedef mRNA'larına bağlayan Argonaute proteinleri ile doğrudan etkileşim halindeki RISC'ler hedef mRNA'larına bağlanırlar (Şekil 6). Argonaute proteinlerinin aktif bölgesinde küçük RNA'lar bulunur ve miRNA dizisi ile hedef mRNA arasındaki etkileşimi güçlendirerek üçlü bir miRNA: AGO: mRNA kompleksi oluşturur. Oluşan bu kompleks mRNA bölünmesi ya da translasyonel baskılama yoluyla gen ekspresyonunda bir baskıya yol açar. miRNA'nın hedefe bağlanması başlangıçta translasyonu azaltarak protein sentezini inhibe eder ancak sonrasında mRNA degradasyonuna yol açar. miRNA'nın aracılık ettiği düzenleme, mRNA ve miRNA arasında miRNA yanıt elemanları (MRE'ler) olarak bilinen tamamlayıcı dizilerin baz eşleşmesi yoluyla gerçekleşir (Ayoubian ve ark. 2019; Frydrych Capelari ve ark. 2019). İnsan hücrelerinde AGO1-4 olmak üzere dört AGO proteini vardır. AGO2, üzerinde en iyi çalışılmış olanıdır ve RNA interferans (RNAi) için katalitik motor olarak bilinir. Çünkü hedef RNA transkriptlerini parçalayabilen bir enzim aktif bölgesine sahiptir. AGO1 ve AGO3'ün rolleri net olarak bilinmemektedir (Chu ve ark. 2020).



**Şekil 6.** miRNA'ların RNA kaynaklı susturma kompleksini oluşturmak için Ago protein ailesinin üyelerini bağlanmasını gösteren miRNA yolağı şeması (Beitzinger ve Meister 2011, Altıntaş ve ark. 2022).

#### 4.14. miRNA ve ŞİZOFRENİ

İnsan miRNA'larının yaklaşık %70'i sinir sisteminde eksprese olmakta ve bu nedenle çeşitli şekillerde nöral yapı ve fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Akson büyümesinde, dendritlerin oluşumunda, nöral gelişmelerde ve olgunlaşma sürecinde görev almaları örnek olarak verilebilmektedir. Çalışmalar, nöropsikiyatrik bozuklukların oluşumunda da görev aldıklarını ve anormal ifadelerin potansiyel biyobelirteçler olarak tedavi edilebileceğini göstermiştir (He ve ark. 2017). miRNA'ların düzensizliğinin Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Şizofreni dahil olmak üzere merkezi sinir sistemi hastalıkları ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Hunsberger ve ark. 2013).

miRNA'nın biyolojik yollarında, miRNA hedef genlerinin varyasyonu da esas olarak şizofreni oluşumunda rol oynayabilmektedir. miRNA'lar büyük ölçüde transkripsiyonla düzenlendiğinden ve biyolojik yoldaki değişikliklere duyarlı olduğundan, hücredeki miRNA anormallikleri veya mutasyonları, şizofreninin patofizyolojik değişiklikleri dahil olmak üzere nörolojik bozukluklara yol açabilir (Khavari ve Cairns 2020).

İnsan ölüm sonrası çalışmaları, şizofreni hastalarında beynin farklı bölümlerinde protein ve kodlayıcı RNA ifadesinde çeşitli değişiklikler olduğunu bildirmektedir. Farklı miRNA ekspresyon kalıpları, bu tür karmaşık değişikliklerinin hastalığa yönelik ortak bir genetik yatkınlıktan nasıl kaynaklandığını açıklamada yetersizdir (Gibbons ve ark. 2018).

Spesifik olarak, şizofreni hastalarından alınan postmortem beyinler üzerine yapılan son çalışmalar, spesifik miRNA'ların ekspresyon seviyelerinde değişiklikler olduğunu göstermiştir. Diğer çalışmalar, serum, plazma ve beyin omurilik sıvısı (BOS) dahil birçok vücut sıvısında saptanan dolaşımdaki miRNA'ların şizofreni dahil birçok psikiyatrik bozukluğun patolojik durumlardan da etkilendiğini bildirmiştir (Zhao ve ark. 2019). miRNA ifadelerindeki değişiklikler, şizofreni dahil olmak üzere nöropsikiyatrik bozuklukların genetik ve biyolojik yönlerden değişimini yansıtmaktadır. Şizofreninin nedenleri hala belirsiz olmakla birlikte, şizofreni hastalarının beyin dokularında, tam olarak ifade edilen miRNA'lar tespit edilmiştir (He ve ark. 2019).

Özetle miRNA düzenleyici ağların nörogelişim ve beyin fizyolojisindeki işlevsel önemi geniş çapta incelenmiştir. Son araştırmalara göre bu ağların SCZ’de önemli roller oynadığını göstermektedir ve bu da miRNA’ların potansiyel biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak kullanılabilceğini göstermektedir (Akkouh ve ark. 2021).

#### 4.15. miRNA VERİ TABANLARI

2003 yılında Bartel'in grubu, omurgalılarda miRNA hedeflerini tahmin etmek için kullanılan ilk algoritma olan TargetScan'i geliştirdi (Riffo-Campos ve ark. 2016). Sonrasında TargetScan haricinde miRNA hedeflerini tanımlamak için yüksek verimli biyolojik yaklaşımların yokluğunda miRanda, mirSVR, PicTar, RNA22 gibi birçok hesaplama yöntemi de geliştirilmiştir. Çoğu durumda bu algoritmalar, küçük bir miRNA seçimi için deneysel olarak doğrulanmış birkaç hedef bölgeden sınırlı miktarda ampirik kanıtla birlikte geliştirilmiştir. miRNA'lar, tamamlayıcı baz eşleştirmesi yoluyla mRNA'ları tam veya eksik şekilde hedefler. Genel olarak miRNA'ların iki bağlanma modeli sınıfından en az birinde hedef transkriptlerin 3' UTR'lerine bağlandığına inanılır (Liu ve ark. 2014).

Bu veri tabanlarından bazıları, varsayılan etkileşimin gücü ve korunması hakkında daha fazla bilgi sağlayan ek özellikler sağlar. Örneğin, TargetScan, her bir miRNA'nın çekirdek bölgesi ile eşleşen korunmuş 8mer ve 7mer sitelerinin varlığını araştırır ve aynı zamanda korunmamış siteleri tahmin eder (Liu ve ark. 2014).

Hedef tahmin algoritmalarından veya miRNA-hedef veri tabanından gelen miRNA-hedef bilgileri, miRNA'lar ve mRNA'lar arasındaki potansiyel ilişkileri oluşturmak için bir yol sağlar (Liu ve ark. 2014).

TargetScan, PicTar, TarBase, miRecords ve miRWalk gibi çeşitli miRNA hedef veri tabanları, hesaplamalı olarak tahmin edilen miRNA hedeflerini ve birkaç biyolojik olarak doğrulanmış olanları depolar. miRNA-hedef bilgisi genellikle her satırın bir hedef miRNA ve mRNA çiftini gösterdiği bir tablo olarak sunulur (Şekil 7) (Liu ve ark. 2014).

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type	Context++ score	Context++ score percentile	Weighted context++ score	Conserved branch length	P <sub>CT</sub>
Position 1205-1211 of COMT 3' UTR	5' ...UUACAAAAUUUAGGUGUUUACC...         3' CGACUCACAUCCUACAAAUGU	7mer-m8	-0.19	85	-0.03	4.884	0.70
hsa-miR-30c-5p							
Position 1205-1211 of COMT 3' UTR	5' ...UUACAAAAUUUAGGUGUUUACC...         3' UCGACUCACAUCCUACAAAUGU	7mer-m8	-0.19	85	-0.03	4.884	0.70
hsa-miR-30b-5p							
Position 1205-1211 of COMT 3' UTR	5' ...UUACAAAAUUUAGGUGUUUACC...         3' GAAGGUCAGUCCUACAAAUGU	7mer-m8	-0.17	82	-0.03	4.884	0.70
hsa-miR-30a-5p							
Position 1205-1211 of COMT 3' UTR	5' ...UUACAAAAUUUAGGUGUUUACC...         3' GAAGGUCAGUCCUACAAAUGU	7mer-m8	-0.17	81	-0.03	4.884	0.70
hsa-miR-30e-5p							
Position 1205-1211 of COMT 3' UTR	5' ...UUACAAAAUUUAGGUGUUUACC...         3' GAAGGUCAGCCCCUACAAAUGU	7mer-m8	-0.16	80	-0.02	4.884	0.70
hsa-miR-30d-5p							

**Şekil 7.** Algoritmik olarak TargetScan veri tabanında bulunan COMT geni direkt hedefleri olan miRNA'lar ([http://www.targetscan.org/cgi-bin/targetscan/vert\\_72/view\\_gene.cgi?rs=ENST00000361682.6&taxid=9606&members=&showcnc=0&shownc=0&showncf1=&showncf2=&subset=1](http://www.targetscan.org/cgi-bin/targetscan/vert_72/view_gene.cgi?rs=ENST00000361682.6&taxid=9606&members=&showcnc=0&shownc=0&showncf1=&showncf2=&subset=1). Erişilme Tarihi: 12.05.2021)

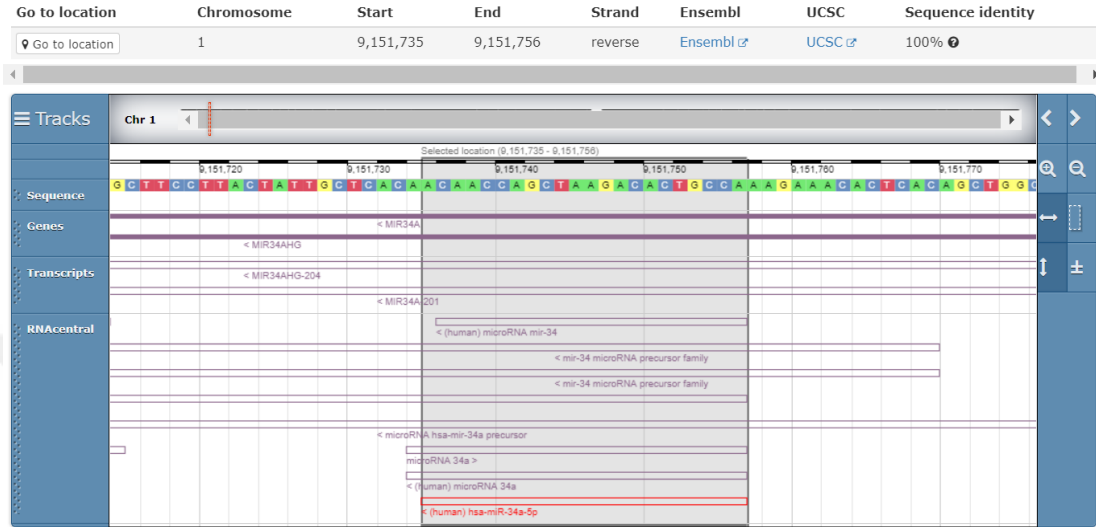
#### 4.16. POTANSİYEL miRNA'LAR

Son zamanlarda, mRNA translasyonunun inhibisyonu yoluyla gen ekspresyonunun izlenmesinden sorumlu olduğu düşünülen mikroRNA'ların düzenleyici mekanizmalarına artan bir ilgi gösterilmiştir. Önceki çalışmalar, belirli mRNA'ların ekspresyonundaki değişikliklerin, merkezi sinir sistemi ve periferik kandaki paralel değişiklikleri yansıttığını göstermiştir. Periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC'ler) ifadelerindeki değişiklikler, daha erken ve daha kesin tanı sağlayabileceğinden, belirli miRNA'ların SCZ için hassas biyobelirteçler olabileceği fikri çok fazla araştırma ilgisi olmuştur (You ve ark. 2020).

İşlevsel olarak miRNA'lar, mRNA'ların 3' UTR'lerine bağlanarak gen ekspresyonunu düzenler. Bu şekilde, protein sentez mekanizmasının sterik engellenmesi nedeniyle mRNA'nın proteine dönüşümünü engelleyebilir veya enzimatik bozunma için mRNA'yı hedefleyebilir (Rey ve ark. 2020).

#### 4.16.1. hsa-miR-34a-5p

22 nükleotid uzunluğundaki olgun miR-34a-5p'nin (Şekil 8) nükleotid sekansı: “uggcaguguccuagcugguugu” şeklindedir.



Şekil 8. Homo Sapiens (insan) miR-34a-5p'nin genom konumu ([https://rnacentral.org/rna/URS\\_000030BD69/9606](https://rnacentral.org/rna/URS_000030BD69/9606) . Erişim tarihi: 16.05.2021).

2015 yılında yapılan bir çalışmada plazmadaki miR-30e, miR-34a, miR-346, miR-181b ve miR-7'nin invazif olmayan şizofreninin tanısal biyobelirteçleri olabileceğini bildirilmiştir ve miR-34a, miR-564, miR-449a, miR-548d, miR-432, miR-652, miR-572'nin şizofreni için potansiyel biyolojik belirteçler olduğu doğrulanmıştır. 2016 yılında yapılan bir çalışmada da iki aydan fazla hastanede yatan ve semptomları hafifleyen hastaların PBMC'lerinde miR-34a, miR-432 ve miR-449a'nın değişmediği bildirilmiştir. Hastaneye yatış ve semptomların hafifletilmesinin dolaşımdaki miRNA'ların ekspresyonunu etkilemeyeceğine, dolayısıyla periferik kanda yeterince stabil ve saptanabilir biyobelirteçler olduklarını bildirilmiştir (He ve ark. 2019).

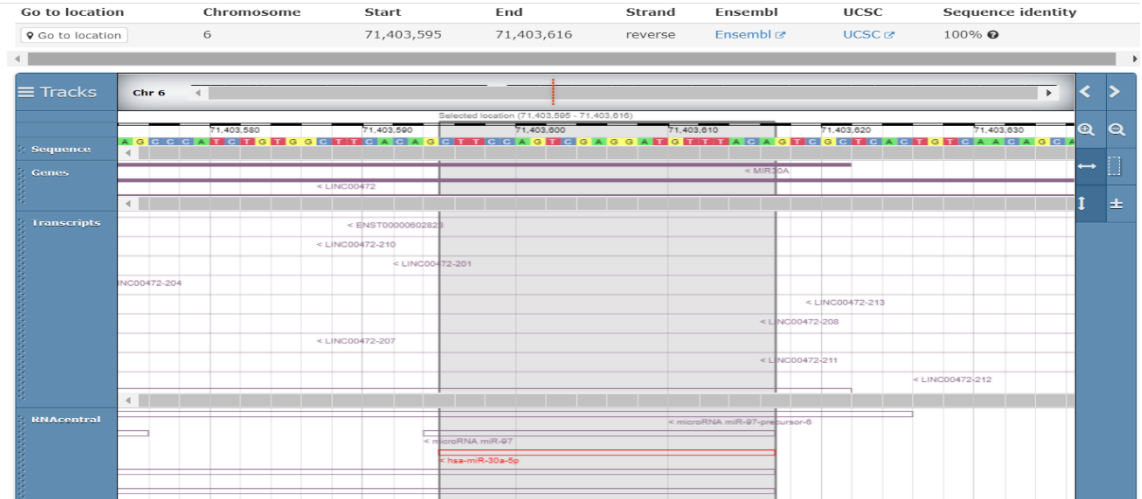
Ek olarak, bir çalışmada erken doğmuş bebeklerden yetişkinliğe kadar kan bazlı miRNA'nın ifade değişiklikleri araştırılmış ve miR-34a, miR-432 ve miR-449a'nın bebeklikten yetişkinliğe kadar tutarlı bir şekilde ifade edildiğini bildirmiştir (He ve ark. 2019).

miR-34a, Alzheimer hastası fare modeli çalışmasında sağkalım mekanizmalarında rol oynadığı ve nöroprotektif protein Bcl-2'yi inhibe etmede görev aldığı bildirilmiştir. Bir sıçan modeli çalışmasında da, miR-34a'nın hipokampol temporal lobda yukarı regüle edildiği bildirilmiştir. İn vivo miR-34a antagomir uygulaması, aktive kaspaz-3 protein ekspresyonunu inhibe etmekte ve nöron ölümünü azaltmaktadır. Ayrıca miR-34a'nın kalori kısıtlı farelerde hayatta kalma sinyalinde de işlev gördüğü gösterilmiştir. Bu çalışmalarda miR-34a'nın aşırı ekspresyonunun insan SH-SY5Y hücrelerinde nöronal ölüme neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Hunsberger ve ark. 2013).

miR-34a'nın hedef genlerinin nörojenez ve nöron farklılaşmasında rol oynadığı göz önüne alındığında ekspresyonunun bozulmasının şizofreni gelişimine katkıda bulunan bir faktör olduğu öne sürülmektedir (Khavari ve Cairns 2020).

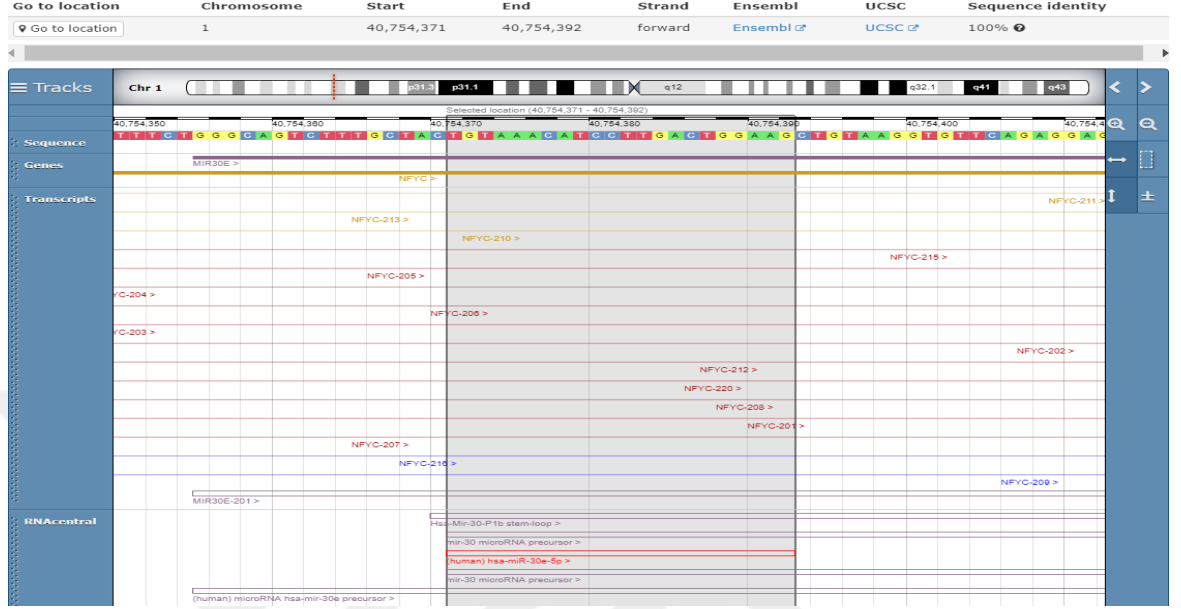
#### 4.16.2. hsa-miR-30 Ailesi (hsa-miR-30a-5p ve hsa-miR-30e-5p)

22 nükleotid uzunluğundaki olgun miR-30a-5p'nin (Şekil 9) nükleotid sekansı “uguaaacauccugacuggaag” şeklindedir (<https://rnacentral.org/rna/URS000043D1A9/9606> Erişim Tarihi: 16.05.2021).



Şekil 9. Homo Sapiens (insan) miR-30a-5p'nin genom konumu (<https://rnacentral.org/rna/URS000043D1A9/9606> Erişim Tarihi: 16.05.2021).

22 nükleotid uzunluğundaki olgun miR-30e-5p'nin (Şekil 10) nükleotid sekansı “uguaaacaucuccugacuggaag” şeklindedir (<https://rncentral.org/rna/URS00001DE669/9606> Erişim Tarihi: 16.05.2021).



Şekil 10. Homo Sapiens (insan) miR-30e-5p'nin genom konumu (<https://rncentral.org/rna/URS00001DE669/9606> Erişim Tarihi: 16.05.2021).

38 şizofreni hastasından ve 50 sağlıklı kontrolden oluşan bir grup çalışmada miR-30a-5p ve miR-30e-5p düzeylerinin hastalarda daha düşük olduğu bulunmuştur. miR-30e-5p'nin tek hedefi olan Anti-Ubiquitin-Conjugating Enzymes E21 (UBE21)'in şizofrenide bildirilmiş herhangi bir rolü olmadığından ileri çalışmalar şizofreni ile ilişkili miR-30a-5p hedef genlerine yani Beyin Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF), SMAD1 ve Neuronal Differentiation 1 (NEUROD1)'e odaklanmıştır. EGR1-miR-30a-5p-NEUROD1 eksenindeki değişiklik daha sonra hastanın PBMC'lerinde Gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR) ile doğrulanmış ve daha ileri analizler tek başına miR-30a-5p'ye kıyasla bu eksenin önemli ölçüde daha yüksek tanısal değerini doğrulamıştır (You ve ark. 2020; Khavari ve Cairns 2020). Yapılan çalışmalarda miR-30 üyelerinin yani miR-30a-5p, miR-30b, miR-30d ve miR-30e, sağlıklı deneklere kıyasla şizofreni hastalarının prefrontal korteksinde aşağı regüle edildiği ve miR-30b ekspresyonu şizofreni hastalarının beyin korteksinde önemli ölçüde azaldığı sonucuna ulaşmıştır (Liu ve ark. 2017).

Yapılan mikroarray analizleri, miR-30d ve miR-30e dahil 33 miRNA'nın şizofreni hastalarından izole edilen periferik kan mononükleer hücrelerinde azaldığını göstermiştir. 17 miRNA biyogenezinin, transkripsiyon seviyesinde hareket eden transkripsiyon faktörleri dahil olmak üzere çeşitli düzenleyiciler tarafından sıkı kontrol altında olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark. 2017). Yapılan diğer çalışmalarda miR-1814, miR-30e, miR34a ve miR-7 şizofreninin potansiyel olarak ilgili patogenezi olduğu bildirilmiştir (Song ve ark. 2014). Çoklu çalışmalar, miR-30e-5p'nin anormal ekspresyonunu şizofreni ile ilişkilendirmiştir. Plazma, periferik lökositler ve periferik kan mononükleer hücrede ve ayrıca şizofreni hastalarının prefrontal korteksinde miR-30e-5p düzeylerinde artış bulunmuştur. miR-30e-5p'in öncülüğünde bulunan polimorfizm ss178077483'ün şizofreni ile ilişkili olduğunu ortaya konulmuştur. miR-30e-5p'nin şizofreninin patofizyolojisine nasıl bağlandığı belirsizdir (Van den Berg ve ark. 2020). PBMC'de test edilen miRNA'nın ifade düzeyleri şizofreni grubu ile kontrol grubu arasında karşılaştırılmış ve sonuçlarda miR-212, miR-34a ve miR-30e'nin şizofreni grubunda kontrol grubuna göre başarılı bir şekilde yukarı regüle edildiğini gösterilmiştir (Sun ve ark. 2015).

#### 4.17. SH-SY5Y HÜCRE HATTI

İnsan tümörlerinden oluşturulan hücre hatları, in vitro modeller olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bazı tümör hücre hatları, sinir hücrelerinin özelliklerine sahiptir. Günümüzde, nöronal özelliklere sahip en sık kullanılan hücre hattı SH-SY5Y'dir. SH-SY5Y hücre hattı ilk olarak 1970'li yıllarda nöromalı bir hastanın kemik iliğinden elde edildi. Hücreler, nörit büyümesi ve nörotransmitterlerin sentezi gibi nöronların biyokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini gösterir. Ayrıca SH-SY5Y hücreleri, retinoik asit gibi maddeler kullanılarak farklılaştırılabilir ve bu da sinir hücrelerinin farklı fenotiplerine neden olur. Farklılaşmamış hücreler sürekli olarak çoğalır ve olgunlaşmamış nöronların varlığı ile karakterize edilir (Koszla ve ark. 2020).

SH-SY5Y hücrelerinin önemli bir avantajı forbol esterler, retinoik asit (RA) , beyinden türetilmiş nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF) ve nörogulinler kullanılarak şizofreni patogenezinde de önemli rol oynayan dopaminerjik, adrenerjik ve kolinerjik sistem gibi nöronal fenotiplere farklılaştırılabilmesidir. SH-SY5Y hücreleri ayrıca dopamin taşıyıcısını (DAT) ve

dopamin reseptör alt tiplerini ifade ederek, onları dopaminerjik nöronlarda ve ilaçlarda nörotoksisite çalışması için örnek bir in vitro sistem haline getirir (Agholme ve ark. 2010; Xie ve ark. 2010; Kovalevich ve Langford 2013; Wu ve ark. 2020). SH-SY5Y hücre hattının diğer önemli avantajları ise nöronların biyokimyasal ve fonksiyonel özellikleri ve spesifik proteinlerin ve protein izoformlarının ekspresyonudur. Bu hücre hattının dezavantajı ise genetik sapmaya neden olabilmesidir. SH-SY5Y hücre hattı çalışmaları ile moleküler mekanizmalar ve sinyal yollarında aktarım incelenebilmektedir (Koszla ve ark. 2020).

Literatürde, SH-SY5Y hücre hattı nörodejeneratif, nörotoksisite ve nöroproteksiyon ile ilgili nöronal farklılaşma ve metabolizma gibi deneysel nörolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmakla birlikte dopamin ve metabolitlerini eksprese etme yönünden şizofreni araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Agholme ve ark. 2010; Xie ve ark. 2010; Kovalevich ve Langford 2013; Wu ve ark. 2020).

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1. MATERYAL

“Şizofreni İlişkili Potansiyel miRNA’ların COMT Geni İle Olası İlişkisinin in Vitro Model Oluşturularak Araştırılması ” konulu ve BAP 2020-125 proje numaralı tez çalışmamızın etik kurul onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 23.12.2020 tarihinde alınmıştır. Bu tez çalışması Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından 2020-125 no lu proje ile desteklenmiştir. Tez çalışmasının moleküler çalışmaları Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kanser Moleküler Biyolojisi laboratuvarında ve Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 5.1.1. Kimyasallar ve Kitler

**Tablo 1.** Çalışmamızda Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

Kimyasallar	Markaları
DMEM low glucose besi yeri	Capricorn
Fetal Bovine Serum	Capricorn
Trypsin-EDTA 0.25%,	Capricorn
Phosphate-Buffered Saline (PBS)	Capricorn
Trizol	Qiagen
Kloroform	Qiagen
İzopropanol	ThermoFisher
Lipofectamine 2000	ThermoFisher
miRNA cDNA Synthesis Kit	A.B.T.
miR - qPCR Mastermix	A.B.T
miRNA mimic	A.B.T
FirstStrand cDNA Synthesis Kit	VitaScript
2x Magic SYBR Mix	Procomcure

### 5.1.2. Plastik Malzemeler

- T25 flask
- T75 flask
- Serolojik pipet 5 ml
- Serolojik pipet 10 ml
- Falkon tüp (15 ml ve 50 ml)
- Cryotüp 1.5 ml
- 10µl' lik disposable filtreli pipet ucu
- 1000 µl' lik disposable filtreli pipet uçları
- 200 µl' lik disposable filtreli pipet uçları
- 2 ml Ependorf tüpleri
- PCR tüpleri
- PCR plaka
- 6-well plate

### 5.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

**Tablo 2.** Çalışmamızda Kullanılan Araç ve Gereçler

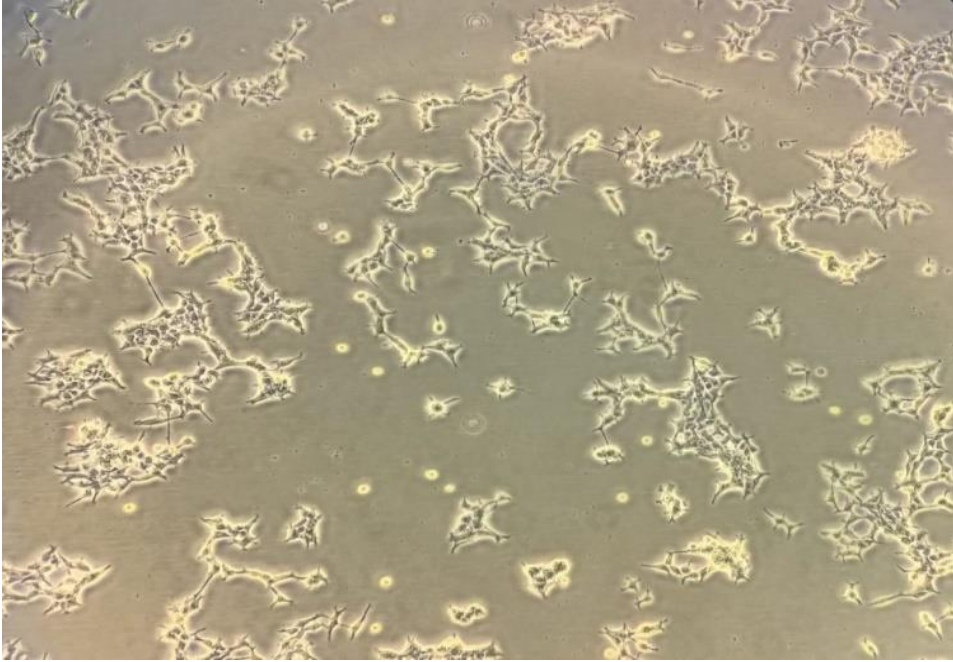
Cihaz	Model/Marka
-80°C Derin Dondurucu	Nüve
İnkübatör	Nuaire
Inverted Mikroskop	Nikon TS100
Real-time PCR Cihazı	Corbett 6000 Thermo
Thermalcycler	SimpliAmp
Nanodrop 2000	Thermo
Hücre sayım cihazı	Cell countess Thermo

## 5.2. YÖNTEMLER

### 5.2.1. Hücre Kültürü

Yaptığımız literatür taraması ve Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu (ATCC) referanslarına dayanarak, projemizde şizofreni hücre modeli olarak SH-SY5Y hücre hattı kullanılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin mikroskopik görüntüleri Resim 1’de verilmiştir.

SH-SY5Y insan nöroblastoma hücreleri ısı ile inaktive edilmiş %10 Fetal Bovine Serum (FBS), %1 penisilin/streptomycin ve %1 L-glutamin içeren Dulbecco’s modified Eagle’s medium (DMEM-low glucose, Capricorn) besiyeri içerisinde 37°C sıcaklık, %95 nem ve %5 CO<sub>2</sub> koşullarını sağlayan inkübatörde kültüre edildi.



**Resim 1.** Çalışmamızda kullanılan SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (4X). Orijinal.

### **5.2.1.1. Hücrelerin Dondurulması**

SH-SY5Y hücreleri için %5 dimetilsülfoksit (DMSO, Sigma) ve %10 Fetal Bovine Serum (FBS) içeren DMEM besiyeri hazırlandı. Dondurma işlemi için hücreler 15 ml'lik falkona alındı ve 125 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve dondurma işlemi için hazırlanan besiyeri falkona eklendi. Yavaşça pipetaj yapıp homojenize edildikten sonra cryo tüplere aktarıldı. Dondurulan hücreler -80°C'de saklandı.

### **5.2.1.2. Hücrelerin Çözülmesi**

-80°C'den alınan cryo tüpler 50 ml'lik falkona alınarak 37°C'deki su banyosunda çözüldü. Çözüldükten sonra 15 ml'lik falkon içerisine alındı. Üzerlerine 5 ml besiyeri eklendikten sonra 125 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Sonrasında süpernatant atıldı ve total hacim 7 ml olacak şekilde üzerine besiyeri eklenerek homojenize hale getirildi. Ardından T25 flasklara alınarak kültüre edildi.

### **5.2.2. miRNA Mimik Transfeksiyon Deneyi**

SH-SY5Y hücreleri %60-70 oranında yoğunluğa ulaştığında 6-well plate kuyucuklarına ( $1 \times 10^5$  hücre/kuyucuk) ekim işlemi gerçekleştirildi ve 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyeri değiştirildi. Lipofectamine 2000 Opti-MEM içinde ependorf tüpte dilue edildi. Ardından başka bir ependorf tüpte de belirlenen konsantrasyonlardaki (10 nM ve 20 nM) sense ve antisense mimikler (hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-30e-5p, hsa-miR-34a-5p ve negatif kontrol) Opti-MEM içinde dilue edildi. Bu iki ependorf tüp her mimik için ayrı ayrı hazırlandı. Ardından 5 dakika inkübe edildi. Her mimik için hazırlanan iki ayrı ependorf tüpler birleştirildi ve 20 dakika inkübe edildi. 20 dakikalık inkübasyonun sonunda 6-well plate'deki kuyucuklara damlatılarak hücrelere transfekte edildi ve CO<sub>2</sub> etüve kaldırıldı. 5 saatlik inkübasyonun ardından besiyeri değiştirildi. Hücreler 48 saat inkübe edildi. 48 saatlik inkübasyonun ardından RT-qPCR için toplandı. miRNA mimik transfeksiyonunda kullanılan miRNA mimik oligonükleotid dizileri Tablo 3. de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** miRNA mimik transfeksiyonunda kullanılan miRNA mimiklerin oligonükleotid dizileri.

miRNA mimik Oligonükleotidleri	Sekans (5' → 3')
hsa-miR-30a-5p sense	TGTAAACATCCTCGACTGGAAG
hsa-miR-30a-5p antisense	CTTCCAGTCGAGGATGTTTACA
hsa-miR-30a-5p NC sense	TCACAACCTCCTAGAAAGAGTAGA
hsa-miR-30a-5p NC antisense	TACTCTTTCTAGGAGGTTGTGATT
hsa-miR-30e-5p sense	TGTAAACATCCTTGACTGGAAG
hsa-miR-30e-5p antisense	CTTCCAGTCAAGGATGTTTACA
hsa-miR-30e-5p NC sense	TCACAACCTCCTAGAAAGAGTAGA
hsa-miR-30e-5p NC antisense	TCTACTCTTTCTAGGAGGTTGTGA
hsa-miR-34a-5p sense	TGGCAGTGTCTTAGCTGGTTGT
hsa-miR-34a-5p antisense	ACAACCAGCTAAGACACTGCC
hsa-miR-34a-5p NC sense	GGTTCGTACGTACACTGTTCA
hsa-miR-34a-5p NC antisense	TGAACAGTGTACGTACGAACC

### 5.2.3. Total RNA İzolasyonu

SH-SY5Y hücre dizilerine transfeksiyon işleminin ardından miRNA ekspresyon seviyeleri ve Ct değeri değişimlerinin gözlemlenmesi için hücrelerden total RNA izolasyonu aşağıdaki protokole uygun bir şekilde gerçekleştirildi. Flasktan kaldırılan hücreler santrifüj cihazında 1.200 rpm'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra pelletin üzerine 400 µl Trizol eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakika beklendi. Üzerlerine 80 µl kloroform eklendi ve kısa vortexlendi. 2-3 dakika beklendi. 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Oluşan üçlü fazdan (kırmızı renkli fenol-kloroform, interfaz ve renksiz üst faz) renksiz üst faz alınıp yeni tüplere aktarıldı. Üzerlerine 120 µl izopropanol eklendi ve tüpler alt üst edildi. 10 dakika beklendi. 12.000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı ve üzerlerine 1 ml %70'lik etanol eklenip tekrar kısa vortexlendi. 7500 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj işleminden sonra, süpernatant atıldı.

RNA'lar kurumaya bırakıldı ve kuruma işleminden sonra, 25 µl nukleaz içermeyen su içerisinde çözülerek -80°C'ye kaldırıldı.

#### 5.2.4. RNA Miktar ve Safılık Tayini

RNA konsantrasyonları ve saflıkları nanodrop 2000 (Thermo) cihazında 260 nm ve 280 nm dalga boylarında absorbans alınarak ölçüldü. A260/A280 değerlerine göre RNA'ların saflıkları belirlendi.

#### 5.2.5. Total RNA'nın cDNA'ya Dönüşümü

RNA örneklerindeki miRNA ekspresyon seviyelerini ölçmek için tamamlayıcı DNA (cDNA) çevrilmesi için, miR-cDNA Sentez Kitinin protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi (Tablo 4).

**Tablo 4.** miRNA - cDNA Sentez Kiti ve Miktarları

10 µl Reverse Transkriptaz için	Miktar
miR-qPCR cDNA Sentez Kit	9 µl
miRNA Örnek	1 µl
Total Miktar	10 µl

cDNA sentezi için yukarıdaki tabloda verilen miktarlara göre tüpler hazırlandı. Thermal cycler cihazına yerleştirildi. 25°C'de 10 dakika, 37°C'de 20 dakika ve 85°C'de 5 dakika tutularak tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezlendi.

Hedef genin mRNA seviyelerinin tespiti için, tamamlayıcı DNA (cDNA) çevrilmesi VitaScript™ FirstStrand cDNA Synthesis Kit'i kullanılarak, protokole uygun bir şekilde gerçekleştirildi (Tablo 5).

**Tablo 5.** VitaScript™ FirstStrand cDNA Synthesis Kiti ve Miktarları

<b>10 µl Reverse Transkriptaz için</b>	<b>Miktar</b>
5x Reaction Buffer	2 µl
VitaScript Enzyme Mix	0,5 µl
RNA	2 µl
10x Reaction Buffer	2 µl
dH <sub>2</sub> O	5,5 µl

cDNA sentezi için yukarıdaki tabloda verilen miktarlara göre tüpler hazırlandı ve Thermal cycler cihazına yerleştirildi. 42°C’de 60 dakika, 80°C’de 10 dakika tutularak tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezlendi.

#### **5.2.6. Real-time PZR Protokolü**

Daha önceden cDNA’ya dönüştürülen örneklerden 1 µl ve miR-qPZR Mastermix’ten 9 µl PZR tüplerine eklenerek total 10 µl olan tam hacimli PZR bileşenleri hazırlandı. Corbett Rotor-Gene 6000 cihazına yerleştirilerek Tablo 6’da gösterilen koşullarda reaksiyon başlatıldı. miRNA primerleri A.B.T. miR-qPZR Mastermiks Kiti içindeki protokole göre dizayn edildi.

**Tablo 6.** A.B.T. miR-qPZR Mastermiks Kiti RT-PZR Koşulları

<b>Sıcaklık</b>	<b>Zaman</b>	<b>Döngü</b>
95°C	10 dk.	1
95°C	10 sn.	30 - 40
60°C	25 sn.	
60-95°C	2-5 sn./step	-

COMT geni ifadesini gözlemlemek amacıyla 2X Magic SYBR Mix kit protokolüne göre Real-time PZR yapıldı. 5 µl 2X Magic SYBR Mix, 1 µl cDNA, 0,5 µl forward primer, 0,5 µl reverse primer, 3 µl RNaz içermeyen distile su ile total 10 µl olacak şekilde karışım hazırlandı. Corbett Rotor-Gene 6000 cihazına yerleştirilerek Tablo 7'e göre RT-PZR koşullarında reaksiyon başlatıldı.

**Tablo 7.** 2X Magic SYBR Mix qRT-PZR Koşulları

Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
95°C	5 dk.	1
95°C	10 sn.	40
55-60°C	15 sn.	
72°C	20 sn.	
72°C	2 dk./step	1

COMT geni mRNA ekspresyon seviyeleri Beta-Tubulin ( $\beta$ -Tubulin) internal kontrol kullanılarak normalleştirildi. COMT geni ve  $\beta$ -Tubulin geni primer dizileri Tablo 8'deki gibidir.

**Tablo 8.** Hedef gen ve internal kontrol geni primer dizileri.

Oligonükleotid	Sekans (5'- 3')
COMT İleri	TGGACGCCGTGATTCAGGAG
COMT Geri	GCCAGCGAAATCCACCATCC
$\beta$ -Tubulin İleri	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC
$\beta$ -Tubulin Geri	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC

COMT geni ekspresyon ifadelerindeki göreceli farklılıklar, karşılaştırmalı eşik çevrim ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) yöntemi kullanılarak belirlendi. COMT gen ifadesi  $\beta$ -Tubulin transkripti ile normalize edilerek değerlendirildi.

### 5.2.7. İstatistiksel Analiz

Hücre grubundaki Real-time PZR sonuçları Karşılaştırmalı Eşik Çevrim ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) Analiz İstatistik Yöntemi kullanılarak belirlendi. Analizler GraphPad Prism 8. 0. 1. Programı kullanılarak yapıldı.



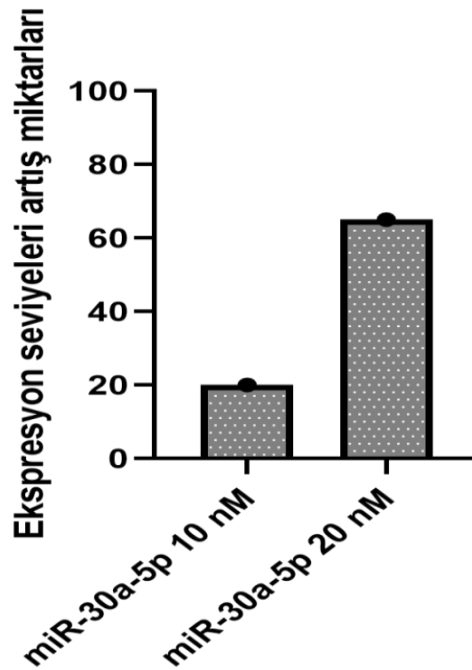
## 6. BULGULAR

### 6.1. miRNA Mimik Transfeksiyonu Etkinliğinin Belirlenmesi

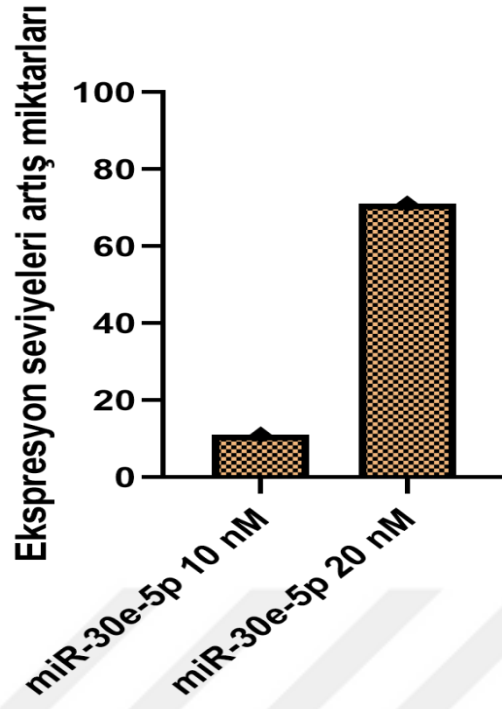
Transfeksiyon verimliliğini kontrol etmek için SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerine 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-30e-5p, hsa-miR-34a-5p ve kontrol mimik oligonükleotidleri ile 48 saat boyunca transfekte edildikten sonra RT-qPZR yöntemi ile analiz edildi.

Konsantrasyon değeri arttıkça hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-30e-5p, hsa-miR-34a-5p ekspresyon seviyelerinin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede doğru orantıda arttığı gözlemlendi.

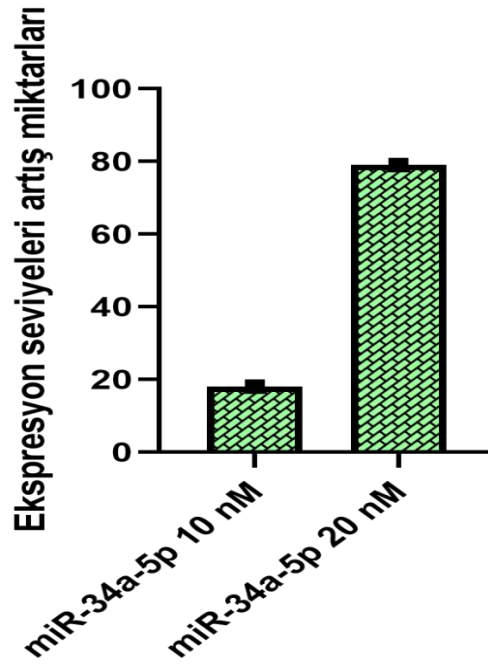
hsa-miR-30a-5p 10 nM 20 kat, 20 nM 65 kat, hsa-miR-30e-5p 10 nM 11 kat, 20 nM 71 kat, hsa-miR-34a-5p ise 10 nM 18 kat, 20 nM 79 kat artmaktadır (Grafik 1, 2, 3). Transfeksiyon aşamasında hücrelerin 0. saat, 24. saat ve 48. saatteki mikroskopik görüntüleri (10X) , Resim 2. , 3. ve 4. ' te gösterilmiştir.



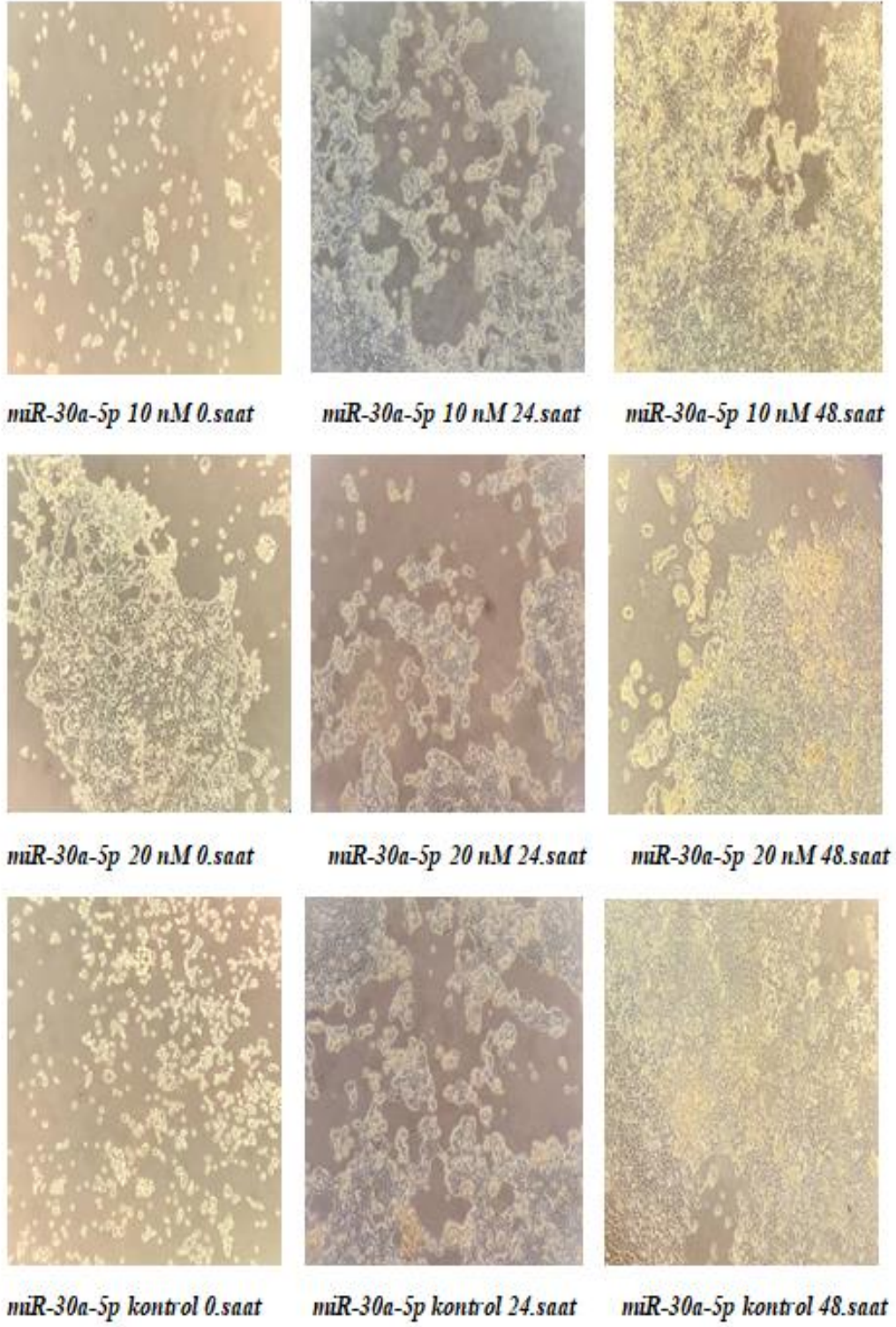
**Grafik 1.** miR-30a-5p 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında mimik transfeksiyonu sonrasında ekspresyon seviyeleri artış miktarları.



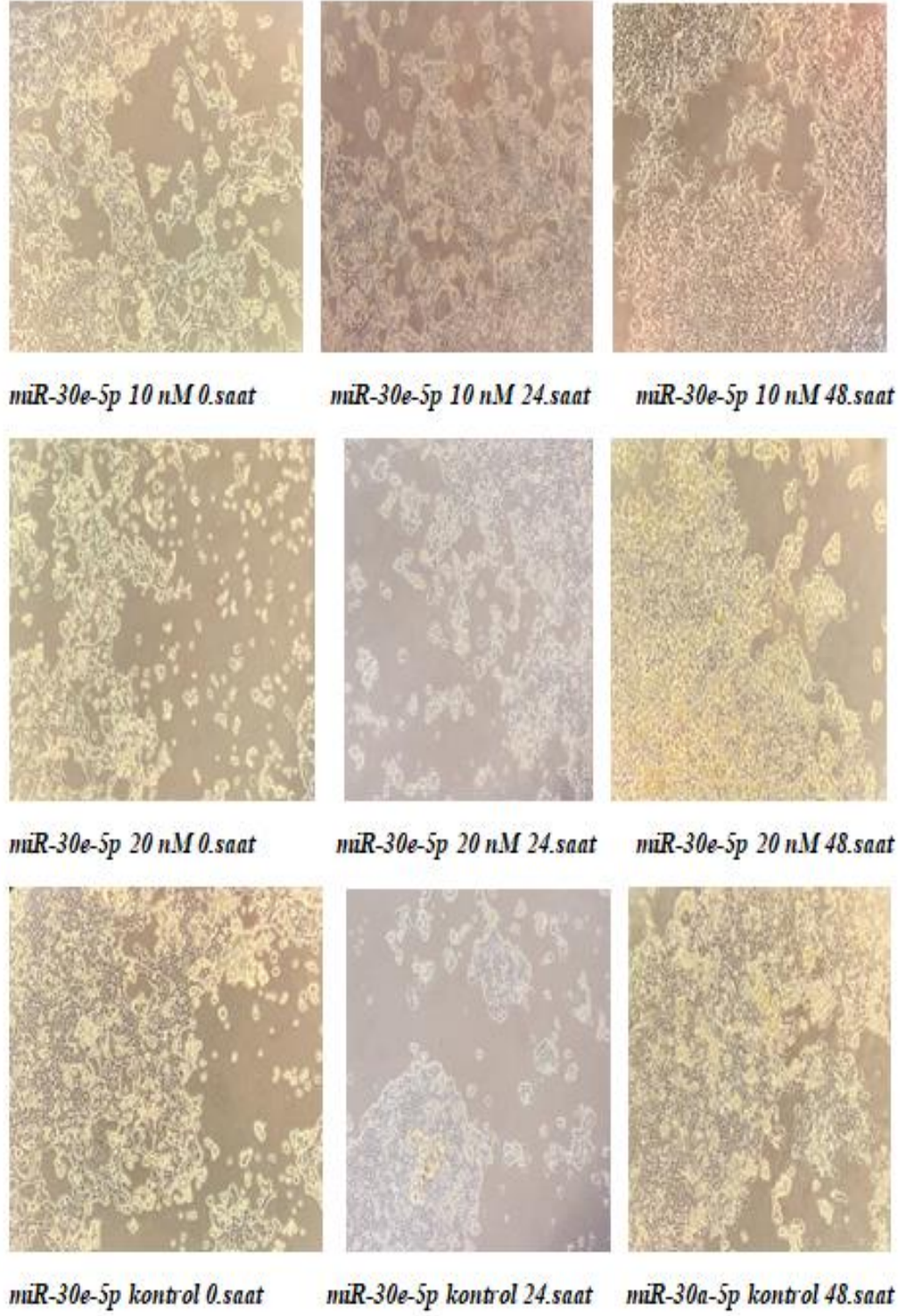
**Grafik 2.** miR-30e-5p 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında mimik transfeksiyonu sonrasında ekspresyon seviyeleri artış miktarları.



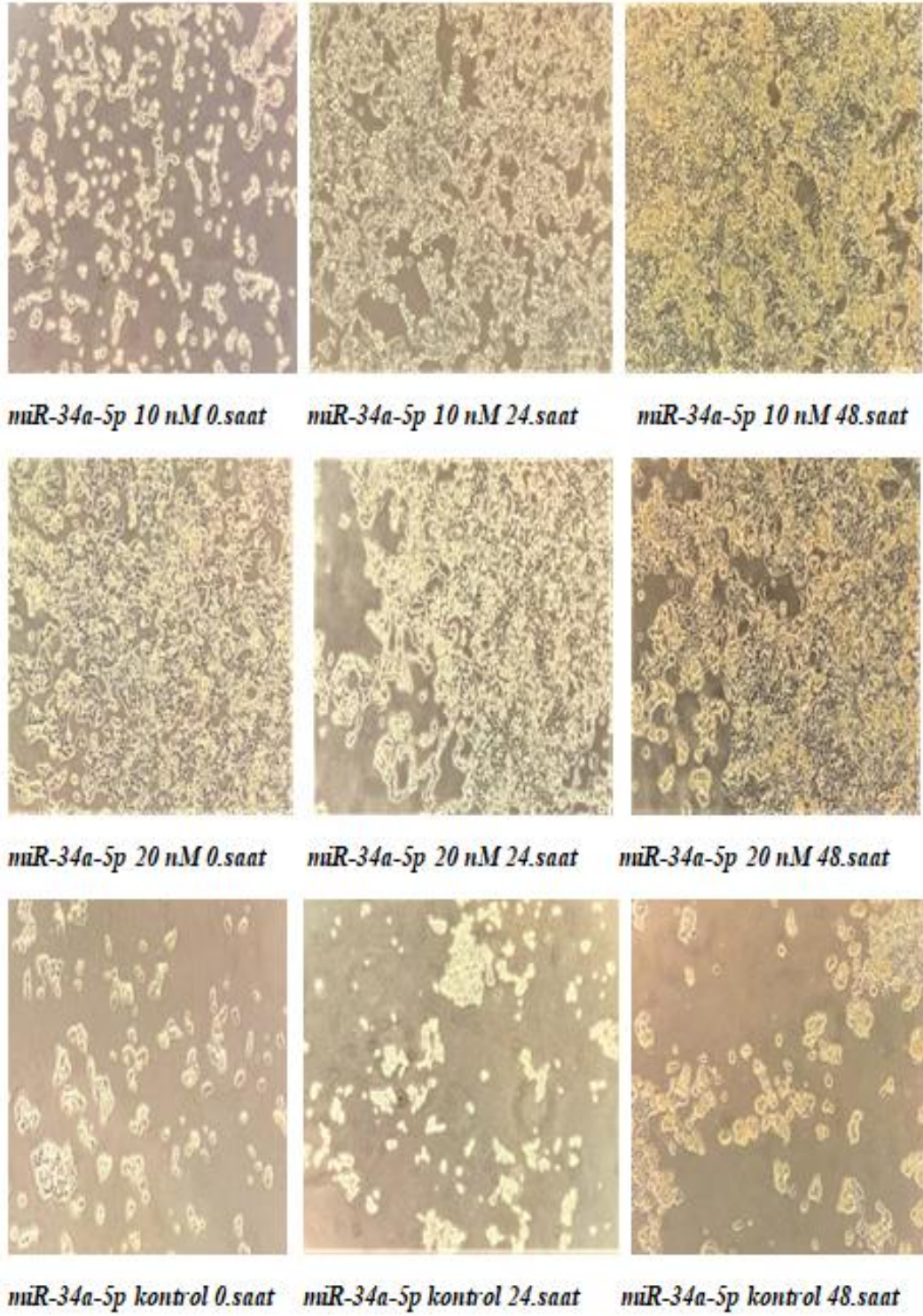
**Grafik 3.** miR-34a-5p 10 nM ve 20 nM konsantrasyonlarında mimik transfeksiyonu sonrasında ekspresyon seviyeleri artış miktarları.



**Resim 2.** miR-30a-5p transfeksiyon aşamasında 0.saat, 24.saat ve 48. saat mikroskobik görüntüleri.(Orijinal)



**Resim 3.** miR-30e-5p transfeksiyon aşamasında 0.saat, 24.saat ve 48. saat mikroskopik görüntüleri. (Orijinal)

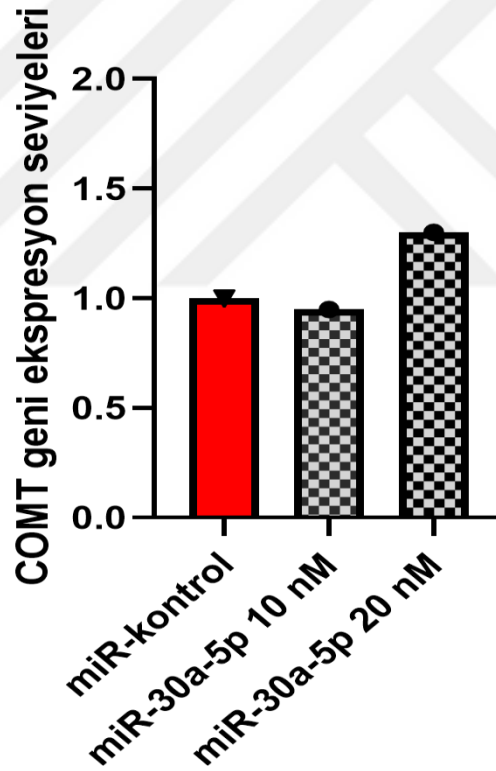


**Resim 4.** miR-34a-5p transfeksiyon aşamasında 0.saat, 24.saat ve 48. saat mikroskopik görüntüleri. (Orijinal)

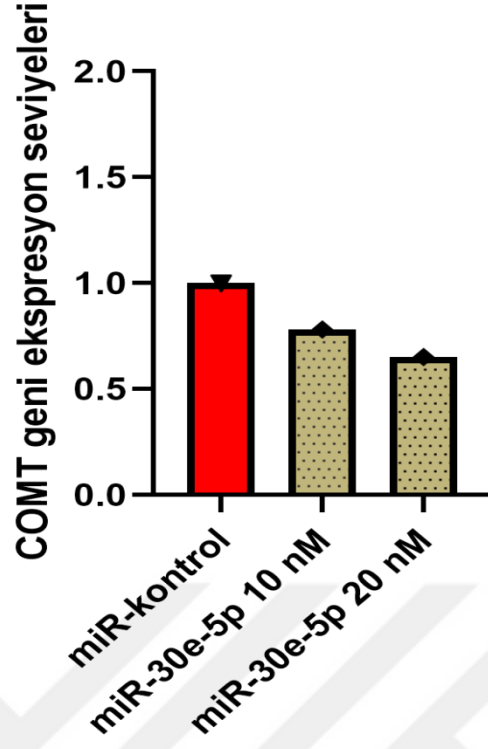
## 6.2. miRNA Mimik Transfeksiyonu Yapılan miRNA'ların COMT Genine Olan Etkisinin İncelenmesi

hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-30e-5p, hsa-miR-34a-5p ve kontrol mimik oligonükleotidleri ile 48 saat boyunca transfekte edildikten sonra COMT genine olan etkileri için RT-qPZR yöntemi ile analiz edildi.

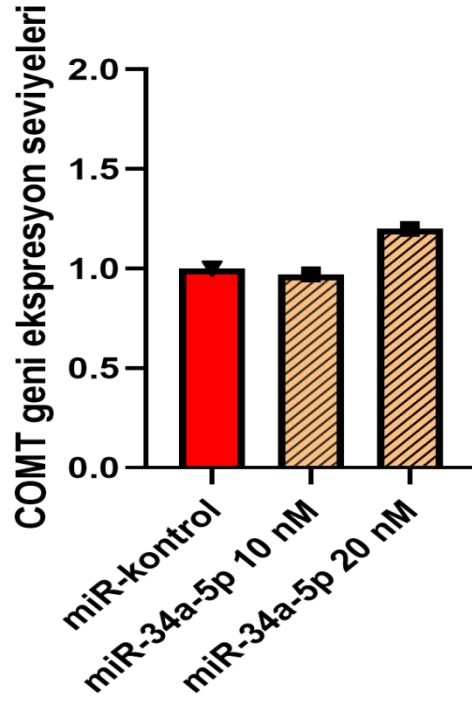
hsa-miR-30a-5p ve hsa-miR-34a-5p transfeksiyonu sonucunda kontrol grubuna kıyasla COMT geni ekspresyon seviyesinde anlamlı bir değişiklik olmadığı fakat hsa-miR-30e-5p transfeksiyonu sonucunda COMT geni ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi (Grafik 4, 5, 6).



**Grafik 4.** miR-30a-5p mimik transfeksiyonu sonrasında COMT geni ekspresyon seviyeleri.



**Grafik 5.** miR-30e-5p mimik transfeksiyonu sonrasında COMT genin ekspresyon seviyeleri.



**Grafik 6.** miR-34a-5p mimik transfeksiyonu sonrasında COMT geni ekspresyon seviyeleri.

## 7. TARTIŞMA

Şizofreni nörogelişimi, perinatal dönemde nöronların uygunsuz bağlantılarına yol açan genetik ve çevresel faktörler ile ilişkilendirilmektedir. Enfeksiyonlar veya psikososyal travma gibi çoklu etkiler şizofreninin patofizyolojisinde rol oynamaktadır. Dopaminerjik sistem, nöroprogresif yollar, nörogelişimsel süreçler ve epigenetik faktörler, mRNA bozulmasına veya translasyon inhibisyonuna yol açmaktadır (Noto ve ark. 2016, Alural ve ark. 2016). Dopamin, merkezi sinir sisteminde nöronal fonksiyonları yöneten güçlü bir nörotransmitterdir. Yapılan çalışmalarda kodlayıcı olmayan RNA'ların dopamin sinyalinin neredeyse tüm yönünü modüle ettiği gösterilmiştir. Dopamin reseptör sinyalinin hedeflenmesi seçili miRNA'lar tarafından yönlendirilmektedir ve miRNA'lar sinaptik iletimde hem kısa hem de uzun kodlamayan RNA'lar için ortaya çıkan rollere sahiptir (Carrick ve ark. 2016). Ayrıca miRNA'lar nöral gelişim, farklılaşma ve olgunlaşmada çok önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle düzensizlikleri muhtemelen ilişkili genlerin ekspresyonunda yer alan hücresel yolları etkileyerek şizofreni ile bağlantılıdır (Rizos ve ark. 2016).

COMT geni, dopamin ile ilgili hastalıklar dahil olmak üzere birçok merkezi ve periferik sinir sistemi bozukluklarının tedavisi için biyolojik bir hedefdir. Dopaminerjik sistem, şizofreni hastalarında hem değişmiş bağışıklık fonksiyonları hemde anormal dopaminerjik sistemleri gözlemlendiğinden bu hastalarda bozulan nöropsikolojik süreç ile yakından ilişkilidir. COMT şizofreni için bir duyarlılık geni olarak hastalığın tedavisi için önemli bir hedefi temsil etmektedir (Wu ve ark. 2020). COMT genotipi bilişsel iyileştirme sonuçlarının farklı genetik varyantlarla ilişkili olması nedeniyle aday gen olarak kabul edilmiştir. Ayrıca COMT genotipinin bilişsel ve işlevsel iyileşme derecesini etkilediği görülmüştür (Penades ve ark. 2020).

miR-30a-5p, merkezi sinir sistemi fonksiyonu ile ilişkili nöroproteksiyonda düzenleyici rolü olan yeni keşfedilmiş bir miRNA molekülüdür. BMSC'lerdeki osteojenik hataların miR-30a-5p'nin anormal ekspresyon seviyesiyle ilgili olup olmadığı hakkında çok az şey bilinmektedir (Che ve ark. 2020). MikroRNA'lar nöropsikiyatrik bozukluklarda yer alan yüzlerce geni susturma potansiyeline sahip olduğundan miR-30a-5p değişikliklerinin diğer gen düzenleme yollarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Croce ve ark. 2014).

miR-34a-5p yetişkin memeli beyinde bol miktarda eksprese edilir. Bu nedenle bu miRNA'nın memeli nörogenezi, sinir farklılaşması ve sinaptogenezde önemli roller oynadığına dair kanıtlar vardır. Ayrıca miR-34a-5p şizofreni dahil olmak üzere birçok merkezi sinir sistemi bozukluklarında yaygın düzensiz bir miRNA olarak tanımlanmıştır. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar miR-34a-5p'yi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirmiştir ve sinir sistemi ile ilişkili yollar ve biyolojik yapılardaki önemli işlevlerini güçlü bir şekilde desteklemiştir (Grossi ve ark. 2020). Alzheimer ve şizofreni hastalarının kan örneklerinden yapılan bir çalışmada miR-34a-5p'nin yukarı regülasyonu gözlemlenmiştir. Oksidatif stresin yaşlanma, nörolojik ve psikolojik bozukluklara katkıda bulunduğu bilinmektedir. Yaşlanma ile artan oksidatif stres miR-34a-5p'nin yukarı regülasyonunu daha da arttırmaktadır (Van den Berg ve ark. 2020). miR-34a *in vivo* olarak nöroblastların göçünü azaltarak yenidoğan nöron fonksiyonunu düzenler. Bu sonuçlar miRNA'ları değişmiş ifadesi ile şizofreninin altında yatan nörobiyolojik değişiklikler arasında olası bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Zhao ve ark. 2019). Başka bir çalışmada miR-34a'nın şizofreni için bir aday gen olan GRM7'nin ifadesinin artmasına yol açtığı bulunmuştur. Antipsikotiklerin şizofreni hastalarında anormal şekilde eksprese edilen miRNA'lar üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada miR-181b, miR-30e, miR-346, miR-34a ve miR-7'nin şizofreninin moleküler mekanizmasında önemli ölçüde katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bazı miRNA'ların anormal ekspresyon ifadeleri şizofreninin altında yatan patofizyolojide önemli olduğu giderek daha çok kabul edilmeye başlanmıştır. Şizofreni hastalarında miRNA ekspresyon değişiklikleri ile semptomlardaki iyileşme arasındaki ilişkiyi açıklayacak çalışmalar yok denecek kadar azdır. miR-30e ekspresyon seviyesinin, daha düşük yaş grubu ile daha yüksek yaş grubunun karşılaştırılması sonucunda daha düşük yaş grubunda önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur. Bu da miR-30e'nin şizofreni hastalarında erken aşamada farklı ekspresyon sergileyen tek miRNA olduğunu düşündürmektedir (Sun ve ark. 2015). Ayrıca yapılan son çalışmalarda şizofrenide glial fonksiyonlara aracılık eden tam miRNA ve onların gen hedefleri hakkında bilgiler hala azdır (Akkouh ve ark. 2021).

miRNA'lar, tamamlayıcı baz eşleşmesi yoluyla hedef mRNA'lara bağlanarak geni işlevsel olarak susturabilmektedir. miRNA'ların mRNA hedefleri üzerindeki etkisini karakterize etmek zordur, çünkü bir miRNA yüzlerce hatta binlerce mRNA'yı hedefleyebilir aynı zamanda farklı miRNA'lar da aynı mRNA'ya

bağlanabilir. Bu nedenle, bir etkileşimin doğru tanımlanması bir zorluk olarak kalmaktadır (Riffo-Campos ve ark. 2016; Cao ve Zhen 2018).

Bu sorunu çözenin yolu genellikle bu miRNA: mRNA etkileşimlerinin tahmini ve ardından deneysel doğrulamasından geçer. Bu amaçla, biyoinformatik araçlar ve yeni deneysel teknikler ortaya çıkmıştır. Biyoinformatik araçlar, sonraki deneysel doğrulama için etkili bir miRNA: mRNA etkileşimini tahmin etmeye çalışmaktadır. Bununla birlikte, her bir veri tabanı tarafından kullanılan algoritmalar ve parametrelerin, biyoinformatik alanında hiç deneyimi olmayan bilim adamları için anlaşılması zordur. Bu da sonraki doğrulama için uygun miRNA'ları seçmeyi zorlaştırır. Bununla birlikte, bu veri tabanlarında bildirilen dizilerin tümü deneysel olarak doğrulanmamıştır ve miRNA'ların tam sayısı belirlenmekten uzaktır (Riffo-Campos ve ark. 2016).

Şimdiye kadar deneysel olarak kanıtlanmış olan nispeten az sayıda miRNA hedefi olduğu gibi, hedef gen doğrulamasının zorluğu da genel olarak bilinmektedir. Genomdaki genlerin %10-30'unun miRNA'ların kontrolü altında olduğu tahmin edildiğinde, birçok miRNA: mRNA etkileşimi hala bilinmemektedir. Belirli bir hücre tipiyle ilgili miRNA hedeflerini doğru bir şekilde tanımlamak için yüksek verimli yöntemlerin olmaması, miRNA hedeflerinin keşfedilmesindeki ilerlemeyi engellediği bildirilmektedir (Tan 2009; Beitzinger ve Meister 2011).

Bildirilen etkileşimlerin çoğu biyoinformatikteki yanlış pozitiflere karşılık geldiğine ve gerçek biyolojik olayları temsil etmediğine dair kaygılar taşımaktadır. Her biyolojik sistem için miRNA'ları ve mRNA hedeflerini deneysel olarak doğrulamanın vazgeçilmez olduğu bilinmektedir (Kanematsu ve ark. 2014).

Son yıllarda yapılmış RISC ile ilişkili hücresele mRNA'yı analiz etmek için ilginç yeni bir biyokimyasal yaklaşımın uygulandığı bildirilmektedir. İnsan hücrelerinde, AGO protein immünopresipitasyonu, sentetik miRNA'ların aşırı ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Fizyolojik olarak ilgili olmayan hedef genlerle sonuçlanabilen, hücrelerin önemli bir modülasyonunu gerektiren AGO proteinleri kullanılmıştır. miRNA'lar, RNA kaynaklı susturma kompleksini oluşturmak için AGO protein ailesinin üyelerini bağlar (Tan 2009; Beitzinger ve Meister 2011) ve AGO protein immünopresipitasyonuna (AGO-IP) dayalı yöntemler miRNA mRNA ağ düzenlemelerini ortaya çıkarmak için kullanılmaktadır (Mato Prado ve ark. 2016).

Çalışmamız sonucunda SH-SY5Y hücrelerine yapmış olduğumuz miRNA mimik transfeksiyonu ile miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. Real-time PZR sonucunda ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ) yöntemi kullanılarak miR-30a-5p ve miR-34a-5p transfeksiyonu sonucunda COMT geni ekspresyon seviyesinde herhangi bir değişiklik olmadığı fakat miR-30e-5p transfeksiyonu sonucunda COMT geninde downregüle eksprese olduğu gözlemlenmiştir. Yaptığımız literatür taramaları sonucunda, şimdiye kadar miR-30a-5p, miR-34a-5p ve miR-30e-5p'nin COMT geni üzerindeki etkisine ilişkin araştırmaya rastlanılmamıştır. Tez verilerimiz özgün araştırma niteliği taşımaktadır. miR-30a-5p, miR-34a-5p ve miR-30e-5p'nin COMT geni üzerindeki etkisi ile ilişkili sonuçlarımızın literatürdeki eksikliği gidereceğini ve ilerideki çalışmalar için referans olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

## 8. KAYNAKLAR

Acar C, Kartalcı S. The Role of Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Gene in the Etiopathogenesis of Schizophrenia/Sizofreninin Etyopatogenezinde Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) Geninin Rolu. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler/Current Approaches to Psychiatry*. 2014;vol. 6, no. 3, p. 217.

Agholme L, Lindström T, Kågedal K, Marcusson J, Hallbeck M. An in vitro model for neuroscience: differentiation of SH-SY5Y cells into cells with morphological and biochemical characteristics of mature neurons. *J Alzheimers Dis*. 2010;20(4):1069-82. DOI: 10.3233/JAD-2010-091363.

Ahmadi L, Kazemi Nezhad S.R, Behbahani P, Khajeddin N, Pourmehdi-Boroujeni M. Genetic Variations of DAOA (rs947267 and rs3918342) and COMT Genes (rs165599 and rs4680) in Schizophrenia and Bipolar I Disorder. *Basic Clin Neurosci*. 2018;9(6):429-438. DOI:10.32598/bcn.9.6.429.

Akkouh I.A, Hughes T, Steen V.M, Glover J.C, Andreassen O.A, Djurovic S, Szabo A. Transcriptome analysis reveals disparate expression of inflammation-related miRNAs and their gene targets in iPSC-astrocytes from people with schizophrenia. *Brain Behav Immun*. 2021;94:235-244. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.01.037.

Altıntaş N, Şengöz S, Karamil S. Investigation of Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158Met Polymorphism in Chronic Schizophrenia Diagnosed Individuals in Manisa. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2019;13(3), 128-132.

Altıntaş N, Tonk O, Sarıca Yılmaz Ö. Effects of microRNAs in hypertension disease. *Eur Res J* 2022;8(1):131-138. DOI: 10.18621/eurj.855796

Alural B, Genc S, Haggarty S.J. Diagnostic and therapeutic potential of microRNAs in neuropsychiatric disorders: Past, present, and future. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017;6;73:87-103. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2016.03.010.

Arslan A. Mapping the Schizophrenia Genes by Neuroimaging: The Opportunities and the Challenges. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):219. DOI: 10.3390/ijms19010219.

Arslan E, Altıntaş N, Ayer A, Danacı A , Aşçı M , Örenay S . "Manisa'da Şizofren Hastaların Sitogenetik Analizi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile COMT ( 21q11.2 ) Geninin Teşhisi. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2011; 99-106.

Ayoubian H, Ludwig N, Fehlmann T, Menegatti J, Gröger L, Anastasiadou E, Trivedi P, Keller A, Meese E, Grässer F.A. Epstein-Barr Virus Infection of Cell Lines Derived from Diffuse Large B-Cell Lymphomas Alters MicroRNA Loading of the Ago2 Complex. *J Virol.* 2019;93(3):e01297-18. DOI: 10.1128/JVI.01297-18.

Beitzinger M, Meister G. Experimental identification of microRNA targets by immunoprecipitation of Argonaute protein complexes. *Methods Mol Biol.* 2011;732:153-67. DOI: 10.1007/978-1-61779-083-6\_12.

Blokhin I.O, Khorkova O, Saveanu R.V, Wahlestedt C. Molecular mechanisms of psychiatric diseases. *Neurobiol Dis.* 2020;146:105136. DOI: 10.1016/j.nbd.2020.105136.

Cao B, Yang M, Kang G, Li R, Zhu X, Kang Q, Sun Y, Zhang M, Wang Y, Chen X, Yu Q. The Relationship between Gene Polymorphism of miRNAs Regulating FGA and Schizophrenia. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019;7(9):1436-1439. DOI: 10.3889/oamjms.2019.334.

Cao T, Zhen X.C. Dysregulation of miRNA and its potential therapeutic application in schizophrenia. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24(7):586-597. DOI:10.1111/cns.12840.

Carrick W.T, Burks B, Cairns M.J, Kocerha J. Noncoding RNA Regulation of Dopamine Signaling in Diseases of the Central Nervous System. *Front Mol Biosci.* 2016;25;3:69. DOI: 10.3389/fmolb.2016.00069.

Che M, Gong W, Zhao Y, Liu M. Long noncoding RNA HCG18 inhibits the differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in osteoporosis by targeting miR-30a-5p/NOTCH1 axis. *Mol Med.* 2020;11;26(1):106. DOI: 10.1186/s10020-020-00219-6.

Choi S.Y, Pang K, Kim J.Y, Ryu J.R, Kang H, Liu Z, Kim WK, Sun W, Kim H, Han K. Post-transcriptional regulation of SHANK3 expression by microRNAs related to multiple neuropsychiatric disorders. *Mol Brain.* 2015;8(1):74. doi: 10.1186/s13041-015-0165-3.

Chu Y, Kilikevicius A, Liu J, Johnson KC, Yokota S, Corey DR. Argonaute binding within 3'-untranslated regions poorly predicts gene repression. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(13):7439-7453. DOI: 10.1093/nar/gkaa478.

Croce N, Bernardini S, Caltagirone C, Angelucci F. Lithium/Valproic acid combination and L-glutamate induce similar pattern of changes in the expression of miR-30a-5p in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neuromolecular Med.* 2014;16(4):872-7. DOI: 10.1007/s12017-014-8325-7.

Culum A.A. An Investigation on the Association of Certain Polymorphisms in Neurogulin 1 Gene with Schizophrenia. İnönü Üniversitesi. Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. (Danışman Doç. Dr. M. M. Sözen) Malatya. 2016.

Donegan J.J, Lodge D.J. Cell-based therapies for the treatment of schizophrenia. *Brain Res.* 2017;1655:262-269. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.08.010.

Frydrych Capelari É, da Fonseca GC, Guzman F, Margis R. Circular and Micro RNAs from *Arabidopsis thaliana* Flowers Are Simultaneously Isolated from AGO-IP Libraries. *Plants (Basel).* 2019;8(9):302. DOI:10.3390/plants8090302.

Gibbons A, Udawela M, Dean B. Non-Coding RNA as Novel Players in the Pathophysiology of Schizophrenia. *Noncoding RNA.* 2018;4(2):11. DOI:10.3390/ncrna4020011.

Girdler S.J, Confino J.E, Woesner M.E. Exercise as a Treatment for Schizophrenia: A Review. *Psychopharmacol Bull.* 2019;49(1):56-69.

Golov A.K, Kondratyev N.V, Kostyuk G.P, Golimbet A.V.E. Novel Approaches for Identifying the Molecular Background of Schizophrenia. *Cells.* 2020;9(1):246. DOI: 10.3390/cells9010246.

Gothelf D, Law A.J, Frisch A, Chen J, Zarchi O, Michaelovsky E, Ren-Patterson R, Lipska B.K, Carmel M, Kolachana B, Weizman A, Weinberger D.R. Biological effects of COMT haplotypes and psychosis risk in 22q11.2 deletion syndrome. *Biol Psychiatry.* 2014;75(5):406-13. DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.07.021.

Gozukara Bag H.G. Association between COMT gene rs165599 SNP and schizophrenia: A meta-analysis of case-control studies. *Mol Genet Genomic Med.* 2018;6(5):845-854. DOI: 10.1002/mgg3.468.

Grossi I, Radeghieri A, Paolini L, Porrini V, Pilotto A, Padovani A, Marengoni A, Barbon A, Bellucci A, Pizzi M, Salvi A, De Petro G. MicroRNA-34a-5p expression in the plasma and in its extracellular vesicle fractions in subjects with Parkinson's disease: An exploratory study. *Int J Mol Med*. 2021;47(2):533-546. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4806.

Güzelgül F, Aksoy K. Bir Gen İfade Düzenleyicisi miRNA. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2015.

Hajj A, Obeid S, Sahyoun S, Haddad C, Azar J, Rabbaa Khabbaz L, Hallit S. Clinical and Genetic Factors Associated with Resistance to Treatment in Patients with Schizophrenia: A Case-Control Study. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 25;20(19):4753. DOI: 10.3390/ijms20194753

He K, Guo C, Guo M, et al. Identification of serum microRNAs as diagnostic biomarkers for schizophrenia. *Hereditas*. 2019;156:23. DOI:10.1186/s41065-019-0099-3.

He K, Guo C, He L, Shi Y. MiRNAs of peripheral blood as the biomarker of schizophrenia. *Hereditas*. 2017;155:9. DOI:10.1186/s41065-017-0044-2.

Howes O.D, McCutcheon R, Owen M.J, Murray R.M. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2017;81(1):9-20. DOI: 10.1016/j.biopsych.2016.07.014.

Hunsberger J.G, Fessler E.B, Chibane F.L, et al. Mood stabilizer-regulated miRNAs in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases: identifying associations and functions. *Am J Transl Res*. 2013;5(4):450-464.

Huo Y, Li S, Liu J. et al. Functional genomics reveal gene regulatory mechanisms underlying schizophrenia risk. *Nat Commun*. 2019; 10, 670. DOI:10.1038/s41467-019-08666-4.

Kamal MA, Mushtaq G, Greig NH. Current Update on Synopsis of miRNA Dysregulation in Neurological Disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2015;14(4):492-501. DOI:10.2174/1871527314666150225143637

Kanematsu S, Tanimoto K, Suzuki Y, Sugano S. Screening for possible miRNA-mRNA associations in a colon cancer cell line. *Gene*. 2014;533(2):520-31. DOI: 10.1016/j.gene.2013.08.005.

Karakuş G, Kocal Y, Sert D. Şizofreni: Etyoloji, Klinik Özellikler ve Tedavi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2017;251-267. DOI:10.17827/aktd.303574.

Khavari B, Cairns M.J. Epigenomic Dysregulation in Schizophrenia: In Search of Disease Etiology and Biomarkers. *Cells*. 2020;5;9(8):1837. DOI: 10.3390/cells9081837.

Kim Y.K, Choi J, Park S.C. A Novel Bio-Psychosocial-Behavioral Treatment Model in Schizophrenia. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4):734. DOI:10.3390/ijms18040734.

Kirenskaya A.V, Storozheva Z.I, Gruden M.A. et al. COMT and GAD1 gene polymorphisms are associated with impaired antisaccade task performance in schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2018;268, 571–584 DOI:10.1007/s00406-018-0881-7.

Koszła O, Targowska-Duda K.M, Kędzińska E, Kaczor A.A. In Vitro and In Vivo Models for the Investigation of Potential Drugs Against Schizophrenia. *Biomolecules*. 2020;10(1):160. DOI: 10.3390/biom10010160.

Kovalevich J, Langford D. Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology. *Methods Mol Biol*. 2013;1078:9-21. DOI: 10.1007/978-1-62703-640-5\_2.

Li M.L, Xiang B, Li Y.F, Hu X, Wang Q, Guo W.J, Lei W, Huang C.H, Zhao L.S, Li N, Ren H.Y, Wang H.Y, Ma X.H, Deng W, Li T. Morphological changes in gray matter volume correlate with catechol-O-methyl transferase gene Val158Met polymorphism in first-episode treatment-naïve patients with schizophrenia. *Neurosci Bull*. 2015;(1):31-42. DOI: 10.1007/s12264-014-1491-7.

Li Z, He Y, Han H, et al. COMT, 5-HTR2A, and SLC6A4 mRNA Expressions in First-Episode Antipsychotic-Naïve Schizophrenia and Association With Treatment Outcomes. *Front Psychiatry*. 2018;9:577.

Lim L.P, Lau N.C, Weinstein E.G, Abdelhakim A, Yekta S, Rhoades M.W, Burge C.B, Bartel DP. The microRNAs of *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev*. 2003;17(8):991-1008. DOI: 10.1101/gad.1074403.

Liu B, Li J, Cairns MJ. Identifying miRNAs, targets and functions. *Brief Bioinform*. 2014;15(1):1-19. DOI: 10.1093/bib/bbs075.

Liu S, Zhang F, Shugart Y.Y, Yang L, Li X, Liu Z, Sun N, Yang C, Guo X, Shi J, Wang L, Cheng L, Zhang K, Yang T, Xu Y. The early growth response protein 1-miR-30a-5p-neurogenic differentiation factor 1 axis as a novel biomarker for schizophrenia diagnosis and treatment monitoring. *Transl Psychiatry*. 2017;7(1):e998. DOI: 10.1038/tp.2016.268.

Macfarlane L.A, Murphy P.R. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics.* 2010;11(7):537-561. DOI:10.2174/138920210793175895.

Mato Prado M, Frampton A.E, Giovannetti E, Stebbing J, Castellano L, Krell J. Investigating miRNA-mRNA regulatory networks using crosslinking immunoprecipitation methods for biomarker and target discovery in cancer. *Expert Rev Mol Diagn.* 2016;16(11):1155-1162. DOI: 10.1080/14737159.2016.1239532.

Matsuzaka C.T, Christofolini D, Ota V.K, Gadelha A, Berberian A.A, Noto C, Mazzotti D.R, Spindola L.M, Moretti P.N, Smith M.A.C, Melaragno M.I, Belangero S.I, Bressan R.A. Catechol-O-methyltransferase (COMT) polymorphisms modulate working memory in individuals with schizophrenia and healthy controls. *Braz J Psychiatry.* 2017;39(4):302-308. DOI: 10.1590/1516-4446-2016-1987.

Noto C, Ota V.K, Santoro M.L, Gouvea E.S, Silva P.N, Spindola L.M, Cordeiro Q, Bressan R.A, Gadelha A, Brietzke E, Belangero S.I, Maes M. Depression, Cytokine, and Cytokine by Treatment Interactions Modulate Gene Expression in Antipsychotic Naïve First Episode Psychosis. *Mol Neurobiol.* 2016 Oct;53(8):5701-9. DOI: 10.1007/s12035-015-9489-3.

Obi-Nagata K, Temma Y, Hayashi-Takagi A. Synaptic functions and their disruption in schizophrenia: From clinical evidence to synaptic optogenetics in an animal model. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2019;95(5):179-197. DOI: 10.2183/pjab.95.014.

Penades R, Bosia M, Catalan R, Spangara M et al. The role of genetics in cognitive remediation in schizophrenia: A systematic review. *Schizophrenia Research:Cognition.* 2020. DOI:10.1016/j.scog.2019.100146.

Perkovic M.N, Erjavec G.N, Strac D.S, Uzun S, Kozumplik O, Pivac N. Theranostic Biomarkers for Schizophrenia. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):733. DOI:10.3390/ijms18040733.

Rey R, Suaud-Chagny M.F, Dorey J.M, Teyssier J.R, d'Amato T. Widespread transcriptional disruption of the microRNA biogenesis machinery in brain and peripheral tissues of individuals with schizophrenia. *Transl Psychiatry.* 2020;10(1):376. DOI: 10.1038/s41398-020-01052-5.

Riffo-Campos Á.L, Riquelme I, Brebi-Mieville P. Tools for Sequence-Based miRNA Target Prediction: What to Choose? *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):1987. DOI: 10.3390/ijms17121987.

Rizos E, Siafakas N, Skourti E, Papageorgiou C, Tsoporis J, Parker T.H, Christodoulou D.I, Spandidos D.A, Katsantoni E, Zoumpourlis V. miRNAs and their role in the correlation between schizophrenia and cancer (Review). *Molecular medicine reports*, 2016;14(6), 4942–4946. DOI: 10.3892/mmr.2016.5853

Sagud M, Tudor L, Uzun S, et al. Haplotypic and Genotypic Association of Catechol-O-Methyltransferase rs4680 and rs4818 Polymorphisms and Treatment Resistance in Schizophrenia. *Front Pharmacol.* 2018;9:705. DOI:10.3389/fphar.2018.00705.

Saravani R, Galavi H.R, Lotfian Sargazi M. Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Gene (Val158Met) and Brain-Derived Neurotropic Factor (BDNF) (Val66Met) Genes Polymorphism in Schizophrenia: A Case-Control Study. *Iran J Psychiatry.* 2017;12(4):265-270.

Schmidt M.J, Mirnics K. Neurodevelopment, GABA system dysfunction, and schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2015;40(1):190-206. DOI: 10.1038/npp.2014.95.

Sher L, Kahn R.S. Suicide in Schizophrenia: An Educational Overview. *Medicina (Kaunas).* 2019;55(7):361. DOI:10.3390/medicina55070361

Shorter K.R, Miller B.H. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Prog Biophys Mol Biol.* 2015;118(1-2):1-7. DOI:10.1016/j.pbiomolbio.2015.04.008.

Song H.T, Sun X.Y, Zhang L, Zhao L, Guo Z.M, Fan H.M, Zhong A.F, Niu W, Dai Y.H, Zhang L.Y, Shi Z, Liu X.P, Lu J. A preliminary analysis of association between the down-regulation of microRNA-181b expression and symptomatology improvement in schizophrenia patients before and after antipsychotic treatment. *J Psychiatr Res.* 2014;54:134-40. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2014.03.008.

Stępnicki P, Kondej M, Kaczor A.A. Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. *Molecules.* 2018;23(8):2087. DOI:10.3390/molecules23082087.

Stilo S.A, Murray R.M. Non-Genetic Factors in Schizophrenia. *Curr Psychiatry Rep.* 2019;21(10):100. DOI: 10.1007/s11920-019-1091-3.

Summakoglu D , Ertugrul B . Şizofreni ve Tedavisi. LectioSc. 2018; 2(1): 43-61.

Sun X, Zhang J. Identification of putative pathogenic SNPs implied in schizophrenia-associated miRNAs. BMC Bioinformatics. 2014;15:194.

Sun X.Y, Lu J, Zhang L, Song H.T, Zhao L, Fan H.M, Zhong A.F, Niu W, Guo Z.M, Dai Y.H, Chen C, Ding Y.F, Zhang L.Y. Aberrant microRNA expression in peripheral plasma and mononuclear cells as specific blood-based biomarkers in schizophrenia patients. J Clin Neurosci. 2015;22(3):570-4. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.08.018.

Sun X.Y, Zhang J, Niu W, Guo W, Song H.T, Li H.Y, Fan H.M, Zhao L, Zhong A.F, Dai Y.H, Guo Z.M, Zhang L.Y, Lu J, Zhang Q.L. A preliminary analysis of microRNA as potential clinical biomarker for schizophrenia. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2015;168B(3):170-8. DOI: 10.1002/ajmg.b.32292.

Swathy B, Banerjee M. Understanding epigenetics of schizophrenia in the backdrop of its antipsychotic drug therapy. Epigenomics. 2017;9(5):721-736. DOI: 10.2217/epi-2016-0106.

Tan L.P. miRNAs and their target genes in B cell lymphomas. University of Groningen, Faculty of Medical Sciences. Master Thesis. (Supervisor: Van den Beng, Anka). Groningen. 2009.

Tang X, Jin J, Tang Y, Cao J, Huang J. Risk assessment of aggressive behavior in Chinese patients with schizophrenia by fMRI and COMT gene. Neuropsychiatr Dis Treat. 2017;13:387-395. DOI: 10.2147/NDT.S126356.

Tarhan D. Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. (Danışman Doç. Dr. N. Altıntaş) Manisa. 2019.

Van den Berg M.M.J, Krauskopf J, Ramaekers J.G, Kleinjans J.C.S, Prickaerts J, Briedé J.J. Circulating microRNAs as potential biomarkers for psychiatric and neurodegenerative disorders. Prog Neurobiol. 2020;185:101732. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2019.101732.

Wang J, Wang Y, Yang J, Huang Y. microRNAs as novel biomarkers of schizophrenia (Review). Exp Ther Med. 2014;8(6):1671-1676. DOI: 10.3892/etm.2014.2014.

Wang Y, Wang J, Guo T, Peng Y, Wang K, Bai K, Huang Y. Screening of schizophrenia associated miRNAs and the regulation of miR-320a-3p on integrin  $\beta$ 1. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(8):e14332. DOI: 10.1097/MD.00000000000014332.

Warnica W, Merico D, Costain G, et al. Copy number variable microRNAs in schizophrenia and their neurodevelopmental gene targets. *Biol Psychiatry*. 2015;77(2):158-166. DOI:10.1016/j.biopsych.2014.05.011.

Wu S, Wang P, Tao R, Yang P, Yu X, Li Y, Ma J. Schizophrenia-associated microRNA-148b-3p regulates COMT and PRSS16 expression by targeting the ZNF804A gene in human neuroblastoma cells. *Molecular Medicine Reports*. 2020;22, 1429-1439. DOI: 10.3892/mmr.2020.11230.

Wysokiński A, Kozłowska E, Szczepocka E, et al. Expression of Dopamine D1-4 and Serotonin 5-HT<sub>1A-3A</sub> Receptors in Blood Mononuclear Cells in Schizophrenia. *Front Psychiatry*. 2021;12:645081. DOI:10.3389/fpsyt.2021.645081.

Xie HR, Hu LS, Li GY. SH-SY5Y human neuroblastoma cell line: in vitro cell model of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Chin Med J (Engl)*. 2010;123(8):1086-92.

Yang A.C, Tsai S.J. New Targets for Schizophrenia Treatment beyond the Dopamine Hypothesis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(8):1689. DOI: 10.3390/ijms18081689.

You X, Zhang Y, Long Q, et al. Investigating aberrantly expressed microRNAs in peripheral blood mononuclear cells from patients with treatment-resistant schizophrenia using miRNA sequencing and integrated bioinformatics. *Mol Med Rep*. 2020;22(5):4340-4350. DOI:10.3892/mmr.2020.11513.

Zhao, Z., Jinde, S., Koike, S. et al. Altered expression of microRNA-223 in the plasma of patients with first-episode schizophrenia and its possible relation to neuronal migration-related genes. *Transl Psychiatry*. 2019;9, 289. DOI:10.1038/s41398-019-0609-0.

## 9. EKLER

### EK 1. Enstitü Yönetim Kurulu Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 14/12/2020-E.94229



T.C.  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



Sayı : 74547675-302.14.01-  
Konu : Omur TONK Tez Konusu Hk.

#### SBE TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüz 09.12.2020 tarih ve 41/3 sayılı yönetim kurulu toplantısında Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Omur TONK'un 29.06.2020 tarih ve 21/22 sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile "Şizofreni Tanısı Konmuş Hastalarda Aday miRNA'ların COMT Geni ile İlişkisinin Araştırılması" olarak belirlenen tez konusunun etik kurul onayı ile birlikte (etik kurul gerekli ise) "Şizofreni İlişkili Potansiyel miRNA'ların COMT Geni ile Olaş İlişkisinin İn Vitro Model Oluşturularak Araştırılması" olarak değiştirilmesine OY BİRLİĞİ ile karar verildi.  
Gereğini ve bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalıdır  
Prof. Dr. Ömer TETİK  
Enstitü Müdürü

Adres: Tıp Fakültesi Dekanlığı Zemin Kat Uçucubonköy Kampüsü Manisa  
Telefon:(0 236) 2360989 Faks:(0 236) 2382158  
E-Posta:sağlik.evrak@cbu.edu.tr Elektronik Ağ:sağlık@cbu.edu.tr

Bilgi İçin:Çiğdem Tutun  
Ünvanı: Soraklı İyçi



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

## EK 2. Etik Kurul Kararı

T.C.  
Manisa Celal Bayar Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu  
Karar Formu

KARAR TARİH / NO	30/ 12 / 2020 / 20.478.486					
ARAŞTIRMANIN ADI	Şizofreni İlişkili Potansiyel miRNA'ların COMT Geni İle Olası İlişkinin İn Vitro Model Oluşturularak Araştırılması					
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Doç.Dr.Nuray ALTINTAŞ - Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı					
ARAŞTIRMA EKİBİ	Dr.Öğretim Üyesi Onur TOKGÜN,- Onur TONK.					
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>		YÜKSEK LİSANS--DOKTORA-TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>		AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	23 /12 / 2020 / Tarih ve 42154 Sayılı; araştırma dosyası					
KARAR BİLGİLERİ	Araştırma dosyası incelenmiş, bilimsel ve etik açıdan <b>UYGUN</b> olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma İle İlişkisi Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	Unvanı /Adı /Soyadı	Araştırma İle İlişkisi Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	
Prof. Dr. Murat DEMET Psikiyatri AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Doç. Dr. Selhan ÖZBEY Spor Bilimleri Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özge YILMAZ Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dr. Öğr. Üyesi Selim ALTAN Tıp Tarihi ve Etik AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT Halk Sağlığı AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Doç. Dr. Nurgül Güngör TAVŞANLI Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Pinar ÇELİK Göğüs Hastalıkları A.D.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mukadder YILMAZER Avukat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Sivil Üye Hüseyin TUNÇAY	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Serkan ERKAN Ortopedi AD.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Etik Kurulumuzun kararı yukarda belirtilmiştir. Araştırmanız Herhangi Bir Aşamada Etik Kurulumuzun "İzleme - Denetleme" Görevi Gereği Lüzumu Halinde Haberli / Habersiz Olarak Denetlenebilir. Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname - Bölüm E kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Murat DEMET  
BAŞKAN

## EK 3. Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu

T.C.  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

**Tez Adı:** ŞİZOFRENİ İLİŞKİLİ POTANSİYEL miRNA'LARIN COMT GENİ İLE OLASI İLİŞKİSİNİN İN VİTRO MODEL OLUŞTURULARAK ARAŞTIRILMASI

Tezime ilişkin 03/01/2022 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 10' dur.

Belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.



Tarih ve İmza  
03.01.2022

**Adı Soyadı** : Onur TONK  
**Öğrenci No** : 191353002  
**Anabilim Dalı** : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı  
**Programı** : Yüksek Lisans

**DANIŞMAN ONAYI**

UYGUNDUR

(Unvanı  
Doç.Dr.N



**Açıklamalar**

1-Tez Çalışması Orjinallik Raporu (TÇOR), TURNITIN İntihal Tespit Programı kullanımı için kişisel hesap alma hakkı bulunan tez danışmanları, Enstitülerde görevlendirilen personeller, Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı'nda görevlendirilen kütüphaneciler tarafından alınır.

2-Sayfa sayısı 400'den az olan tezler için tez savunmasından önce ve başarılı olması durumunda düzeltmelerden sonra olmak üzere 2 kez TÇOR alınır.(400 sayfadan fazla olan tezler 400 ve katları şeklinde bölünerek Turnitin veri tabanına yüklenmesi gerekmektedir. Bu gibi durumlarda benzerlik oranının hesaplanmasına ilişkin detaylı forma, kütüphane web sayfasında bulunan Turnitin kullanım kılavuzlarının altından erişilebilir.)

3-TÇOR, tezin yalnızca Kapak Sayfası, Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan kısmının tek bir dosya olarak intihal tespit programına yüklenmesi ile alınır.

Programa yükleme yapılırken Dosya Başlığı (document title) olarak tez başlığının tamamı, Yazar Adı (author's first name) olarak öğrencinin adı, Yazar Soyadı (author's last name) olarak öğrencinin soyadı bilgisi yazılır.

4- TURNITIN İntihal tespit programına yüklenen dosyanın süreçlenmesinde, ilgili programdaki filtreleme seçenekleri aşağıdaki şekilde ayarlanır: - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 5 words)

5-**İsteğe bağlı ayarlar kısmından; "Ödevleri şuraya gönder?" seçeneği mutlak DEPO YOK şeklinde işaretlenmesi gerekmektedir;** aksi durumda aynı tezin ikinci kez yüklenmesi durumunda benzerlik %100 çıkacaktır ve depodan tezi silmek çok uzun süre gerektirecektir.

6- Raporlama işlemi tamamlandıktan sonra, kaydedilmiş olan ekranın görüntüsünü sağ üst köşesinde yüzdelik sayı olarak belirtilen "benzerlik oranı," raporlamaya tabi tutulmuş olan dosyanın "toplam sayfa sayısı" ve raporlama işleminin yapıldığı "tarih" bilgisi, "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orjinallik Raporu" formuna işlenir.

7- **Benzerlik oranında tüm sorumluluk öğrenciyeye aittir.**

8-Tez savunma sınavı sonrasında başarılı bulunan öğrenci, tez savunma sınavı tarihi sonrasında tezde yapılmış muhtemel değişiklikleri içeren dosya kullanılarak alınmış ikinci bir intihal raporundaki bilgiler kullanılarak hazırlanmış ve tez danışmanı tarafından onaylanarak imzalanmış ikinci bir "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orjinallik Raporu"nu Enstitüye teslim etmekle yükümlüdür.

9-Turnitin Hakkında Bilgiler: <http://kutuphane.cbu.edu.tr/turnitin.9370.tr.html>

## 10. ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı:</b>	ONUR	<b>Soyadı:</b>	TONK
-------------	------	----------------	------

	<b>Mezun Olduğu Kurum</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Yüksek Lisans</b>	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2022
<b>Lisans</b>	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik (%100 İngilizce) Anabilim Dalı	2019
<b>Lise</b>	Rize Anadolu Lisesi	2014

### Ulusal/Uluslararası Bildiriler

- Altıntaş N, Sarıca Yılmaz Ö, Demirel Ş, Tonk O, Gül C, Esen Danacı E. Investigation of COMT Gene Expression Levels in Patients with Schizophrenia by Real Time PCR. Page: 612. 6-8 December 2019, International Medical Congress of Izmir Demokrasi University, İZMİR.
- Altıntaş N, Sarıca Yılmaz Ö, Tonk O. Genetic and Molecular Approaches in Obesity Studies. Page: 304-307. 10-12 December 2021, 3rd International Medical Congress of Izmir Demokrasi University, İZMİR.

## Ulusal/Uluslararası Yayınlanmış Makaleler

- Altıntaş, N , Oflaz, O , Sarıca, Ö , Tonk, O . (2021). The Importance of ACTN3 R577X Polymorphism in Athletic Performance and Modeling of R577X Mutant Type and Wild Type ACTN3 Protein by Bioinformatics Analysis . Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi , 6 (1) , 17-22 . DOI: 10.51754/cusbed.880707
- Altıntaş N, Tonk O, Sarıca Yılmaz Ö. (2022). Effects of microRNAs in hypertension disease. Eur Res J, 8(1):131-138. DOI: 10.18621/eurj.855796

## Kurs ve Sertifikalar

2015	Akademik Kariyer Günleri (İnönü Üniversitesi)
2017	14.Uluslararası Katılım Moleküler Biyoloji ve Genetik Kış Okulu
2019	Sınır ötesi Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu (İzmir)
2019	Kist Hidatik Hastalığı Farkındalığının Yaratılması Kapanış Toplantısı
2020	Omics Teknolojileri ve Biyoteknoloji Semineri (Ege Üniversitesi)
2020	3.Ulusal Proteomik Kongresi (Koç Üniversitesi)
2020	17.Uluslararası Katılım Moleküler Biyoloji ve Genetik Kış Okulu
2021	18.Uluslararası Katılım Moleküler Biyoloji ve Genetik Kış Okulu