



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**PRİON PROTEİN POLİMORFİZMLERİ İLE İNTİHAR
DAVRANIŞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ANALİZİ**

15-FEN-006

Yüksek Lisans Tezi

Ebru CUN

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**PRİON PROTEİN POLİMORFİZMLERİ İLE
İNTİHAR DAVRANIŞI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ANALİZİ**

Ebru CUN

Danışman: Prof. Dr. Cemal ÜN

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

Ebru CUN tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan "Prion Protein Polimorfizmleri İle İntihar Davranışı Arasındaki İlişkinin Analizi" başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 15.04.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Cemal ÜN

Raportör Üye: Doç.Dr.Efe SEZGİN

Üye : Dr.Öğr.Üyesi İnci TÜNEY KIZILKAYA

İmza



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Prion Protein Polimorfizmleri İle İntihar Davranışı Arasındaki İlişkinin Analizi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

15/04/2019

Ebru CUN



ÖZET
PRİON PROTEİN POLİMORFİZMLERİ İLE İNTİHAR DAVRANIŞI
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ANALİZİ

CUN, Ebru

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Cemal ÜN

Nisan 2019, 75 sayfa

Prion enfeksiyöz bir proteindir ve insanlar ile hayvanlarda bulaşıcı süngerimsi ensefalopatiler olarak bilinen bir grup hastalığın temel etkenidir. Prion protein geninin (*PRNP*) kodladığı protein, nörolojik hastalıklarla ve programlı hücre ölümü ile ilişkilidir ve prion geninin ekspresyonu temel olarak beyinde gerçekleşir. Bu durum prion geni polimorfizmleri ile insanlarda intihar davranışı arasında bir korelasyonun olabilme ihtimalini güçlü bir şekilde ortaya koymaktadır. İntihar olgusu, sosyolojik, tarihsel, psikolojik, kültürel, felsefi, dinsel, ekonomik, varoluşsal boyutları içermektedir. Biyolojik açıdan ise değişik proteinlerin farklı versiyonlarının intiharla ilişkili olma ihtimali vardır. Bu tezde prion protein polimorfizmleri ile intihar davranışı arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır.

İntihar eden 50 birey deney grubu; 50 sağlıklı birey ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Bireylerden alınan örneklerle DNA izolasyonu, DNA kantitasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Sekans Analizi yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda 129. kodonda anlamlı farklılık oluşturabilecek polimorfizm (M129V) saptanmıştır. Bu çalışmanın daha geniş örnek populasyonunda tekrar edilmesi genetik faktörlerin daha iyi anlaşılmasının sağlayacaktır. Bu çalışmada intihar girişiminin önceden tespitini sağlayacak genetik markırların bulunması, intihar vakalarının önlenmesi, dolayısıyla daha sağlıklı bir toplum yapısına ulaşılması amaçlanmaktadır. Prion proteinleri polimorfizmleri ve prion geni polimorfizmleri ile intihar davranışı arasındaki bağlantıyı ortaya koyacak ulusal ve uluslararası bir araştırma bilindiği kadarıyla bugüne kadar yapılmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Prion, Protein, Gen, Polimorfizm, İntihar.



ABSTRACT**ANALYSIS OF RELATIONSHIP BETWEEN PRION PROTEIN
POLYMORPHISMS AND SUICIDE BEHAVIOUR**

CUN, Ebru

MSc in Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Cemal ÜN

April 2019, 75 pages

Prion is a kind of infectious protein and it is the main causative agent of a group of disease in human and animals that is known as “Infectious Spongiform Encephalopathies”. Protein that is encoded by prion protein gene (PRNP) is related to neurologic diseases and programmed cell death and prion gene expression occurs basically in brain. This situation reveals strongly the likelihood of a correlation between prion protein gene polymorphisms and suicide behaviour. Suicide phenomenon includes sociologic, historical, psychologic, cultural, philosophic, religious, economical, existential dimensions. Biologically, there is likelihood of various variants of different proteins being associated with suicide behaviour. In this thesis it was investigated whether there is a significant relationship between prion protein polymorphisms and suicide behaviour.

Fifty suicide victims referred to Mortuary for forensic autopsy were determined as study group and fifty healthy people as controls. DNA isolation, DNA quantification, Polymerase Chain Reaction and Sequence Analysis were performed on the samples obtained from individuals. Result of the analyses studies revealed a polymorphism (M129V) that can cause significant difference at 129st codon. Repeat of this study on a larger population will provide better understanding of genetic factors. It is aimed in this study to determine genetic markers that can determine risk of suicide attempts and accordingly to prevent suicide incidents and to achieve more healthy social structure. Up to present time, there is no research published at national and international levels revealing the relationship between the prion protein polymorphisms, prion gene polymorphisms and suicide behaviour.

Keywords: Prion, Protein, Gene, Polimorphism, Suicide.



ÖNSÖZ

Tez konusunu öneren ve çalışmam sırasında kıymetli bilgilerini benimle paylaşan, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren ve destek olan danışman hocam Prof. Dr. Cemal ÜN'e, çalışmayı yapmamda tüm desteğini hissettiğim ve desteklerini göstermekten kaçınmayan İstanbul Adli Tıp Kurumu Başkanı Doç Dr. Yalçın BÜYÜK ve İzmir Adli Tıp Grup Başkanı Prof. Dr. Mehmet TOKDEMİR ile Biyoloji İhtisas Dairesi Başkanı Güven KOYUNCU'ya teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını hiç esirgemeyen, örneklerin izolasyonunu birlikte gerçekleştirdiğim, çalışmanın en başından bu güne kadar tam desteğini veren, İzmir Adli Tıp Grup Başkanlığı Biyoloji İhtisas Dairesi Adli Genetik Şube Müdürü Seyfettin SÖNMEZ'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

İntihar eden bireylerden örneklerin toplanması ve İstanbul'dan İzmir'e gönderilmesi aşamasında destek olan Malatya Adli Tıp Grup Başkanlığı'nda görev yapan değerli arkadaşım Selma DEMİRBAĞ'a, İstanbul Adli Tıp Kurumu Başkanlığı'nda görev yapan arkadaşım Nurullah KARA'ya verdiği tam destek için teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

PCR çalışmasında yaptıkları çok etkili çalışma ile sonuçların yorumlanabilir olmasını mümkün kılan Doç. Dr. Hüseyin CAN ve Doktora Öğrencisi Sedef ERKUNT ALAK ile Qiagen Türkiye Ankara Ürün Geliştirme Müdürü Melis FENERCİOĞLU'na verdiği destek için teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim. Proje destek no: 15-FEN-006

İZMİR

15 / 04 / 2019

Ebru CUN

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ	Viii
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
1.1 Prion Molekülünün Keşfine Doğru	1
1.2 Prion Molekülünün Keşfi	3
1.3 Prion Molekülü.....	6
2. PRİON GENİ	8
2.1 Prion Gen Ailesi	8
2.2 Prion Protein Geni (PRNP).....	9
2.3 Genetik Polimorfizm Kavramı.....	11
3. PRİONLARIN NEDEN OLDUĞU HASTALIKLAR	11
3.1 İnsan Prion Hastalıkları.....	11
3.1.1. Sporadik Creutzfeldt-Jakob hastalığı-sCJD	13
3.1.2. İyatrojenik Creutzfeldt-Jakob hastalığı-(iCJD)	13
3.1.3. Ailesel veya genetik Creutzfeldt-Jakob hastalığı-(fCJD-gCJD)	13
3.1.4. Yeni Tip-Variant Creutzfeldt-Jakob hastalığı-(vCJD).....	14
3.1.5. Ölümcül Ailesel Uykusuzluk (FFI)	14
3.1.6. Gerstmann-Sträussler-Scheinker hastalığı (GSS)	14
3.1.7. Kuru	15
3.2 Hayvan Prion Hastalıkları	15
3.2.1. Sığır süngerimsi ensefalopati (BSE)=deli dana hastalığı.....	15
3.2.2. Scrapie (kaşıntı veya sıçrama hastalığı).....	15
4. İNTİHAR.....	16
5. ÇALIŞMANIN AMACI.....	19
6. MATERYAL, METOT VE YÖNTEM	23

6.1	Kan Örneklerinin Toplanması	24
6.2	İzolasyon, İnsan Kanından Genomik DNA Eldesi	25
6.3	İzolasyon işleminde kullanılan cihaz ve aletler:	28
6.4	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR veya PCR)	28
6.5	Sekans Analizi	31
7.	BULGULAR VE ÖNERİLER	31
7.1	Bulgular	31
7.1.1.	Elde edilen DNA dizileri	33
7.1.2.	Allel ve genotipler	36
7.1.3.	İstatistiksel Analizler: Allel frekansları	38
7.2	Öneriler	39
8.	TARTIŞMA	40
9.	SONUÇ	46
	KAYNAKLAR DİZİNİ	48
	TEŞEKKÜR	57
	ÖZGEÇMİŞ	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Koch'un antrax basillusunun ilk yayımlanan fotoğrafı (Blevins and Bronze, 2009)	2
Şekil 2: PrPC'nin hastalığındaki fizyolojik fonksiyonu ve rolü	5
Şekil 3: Memeli prion proteininin yapısal özellikleri (Thody et al., 2018).....	7
Şekil 4: Prion gen ailesinde yer alan genlerin yerleşiminin şematik gösterimi (NCBI'dan alınmıştır).....	9
Şekil 5: İnsan PrPC molekülüne ait bir sinyal peptid geni.....	10
Şekil 6: PubMed Tarama Sonuç Ekranı (Görülme tarihi:14/04/2019)	23
Şekil 7: ScienceDirect Tarama Sonuç Ekranı (Görülme tarihi:14/04/2019)	23
Şekil 8: BioRobot M48 izolasyon cihazı.....	26
Şekil 9: İzalasyon Aşamaları.....	27
Şekil 10: PCR çalışması sonrasında elde edilen jel elektroforez görüntüsü	32
Şekil 11: MEGAX programının bir görüntüsü.....	33
Şekil 12: Homozigot GTG bir bireye ait DNA dizi sonucu.....	34
Şekil 13: Homozigot GTG bir bireye ait DNA dizi sonucu.....	35
Şekil 14: Heterozigot bir bireye ait DNA dizi sonucu	35
Şekil 15: Allel ve genotiplerin intihar grubu ve kontrol grubunda dağılımları	37

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: İnsan Prion Hastalıklarının Etiyolojiye göre Sınıflandırılması (Ritchie and Ironside, 2017)	12
Tablo 2: PCR Cycle-Döngü Koşulları	31



SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
PrP/PrPC	Normal-Hüresel Prion proteini.
PrPSc	Enfeksiyöz-Patojen Prion Proteini
PrP RES	Proteaza Dirençli PrP
PRNP	İnsan Prion Geni
Prnp	Fare Prion Geni
TSE	Transmissible Spongiform Encephalopathy
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy (Mad Cow Disease-Deli Dana Hastalığı)
gCJD/CJD	Creutzfeldt-Jakob Disease (Creutzfeldt-Jakob Hastalığı)
sCJD	Sporadik Creutzfeldt-Jakob Disease (Sporadik Creutzfeldt-Jakob Hastalığı)
fCJD	Familial Creutzfeldt-Jakob Disease (Ailesel Creutzfeldt-Jakob Hastalığı)
iCJD	Iatronic Creutzfeldt-Jakob Disease
FFI	Fatal Familial Insomnia (Ölümcül Ailesel Uykusuzluk)
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome (Gerstmann-Sträussler-Scheinker Hastalığı)
ORF	Open Reading Frame (Açık okuma bölgesi)
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
AD	Alzheimer's Disease (Alzheimer Hastalığı)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

1. GİRİŞ

1.1 Prion Molekülünün Keşfine Doğru

İnsanoğlu varolduğu süre boyunca, insanlarda ortaya çıkan hastalıkları önlemeyi ve hastalıkları tedavi etmeyi tüm kültürlerde ve tüm coğrafik sınırlarda amaç edinmiştir. Hastayı iyileştirmenin nasıl yapılacağı gerçeğinin anlaşılmasındaki anahtar, hastalığın dikkatli çalışılması, hastalığın farklı tiplerinin nedenlerinin doğru olarak tanımlanması ile tedavi ve önlemeye yönelik belirleyici metodların test edilmesidir (K.S. MacLea, 2017). Antik zamanlarda ortaya çıkan insanlar ve hayvanlarla ilgili kitlesel hastalıklarla ilgili herkesin üzerinde ortak görüşe sahip olduğu bilgi henüz yoktu. Hastalıkların nedenleri ile ilgili, bazı insanlar, doğaüstü olayları; bazıları, yakıt tüketimi ve kirli hava koşullarını; bazıları ise beslenme, yaşam koşulları ve atmosferik iklimi suçladılar. Eski yunan doktoru Galen, Hipokrat ve diğerleri bu durumu kirli hava koşulları ile ilişkilendirdiler (K.S. MacLea, 2017).

Grilamo Fracastoro hastalık bulaşmasının sporlardan kaynaklandığını Miasma Teorisi olarak 1546 yılında yayımladı. Miasmatik teori, antik Hipokratik Tıp zamanlarına dayanır (Grzybowski et al., 2015). Bu teoriye göre pandemik hastalıklar kirli hava, su veya toprak yoluyla bulaşıyordu (Kohen, 2016). 19. yüzyıla gelindiğinde Miasma Teorisi'nin yerini "Germ Teorisi" aldı. "Germ Teorisi"ne göre hastalıkların görülmeyen etmenleri vardı. Pasteur and Koch, insanlar ve hayvanlardaki hastalıklar için "Germ Teorisi"ni ortaya koydular (Kelman and Peterson, 2002). Bu teoriye göre hastalıkların kaynağı patojen mikroorganizmalardı.

Louis Pasteur'un fungal patojenleri keşfi ve Robert Koch'un hastalık etkeni olarak bir antrax bakteri türünü keşfi (Blevins and Bronze, 2009) ve daha sonraki yıllarda kolera ve tüberküloza neden olan etmenlerin patojenler olduğunun keşfi ile "Germ Teorisi" kanıtlanmış oldu. Buraya kadar bahsedilen patojenler hücreli formda ve nükleik asit içeren yapılar idi.

Şekil 1: Koch'un antrax basillusunun ilk yayımlanan fotoğrafı (Blevins and Bronze, 2009)



DNA ve RNA'nın kalıtım materyali olarak canlı organizmalar için gerekli olduğu ve enfeksiyöz ajanları ya DNA ve RNA'yı ya da yalnız RNA molekülünü kalıtım materyali olarak taşıdıkları anlaşılmıştı (Donne et al., 1997; Kingsbury, 1990). 1868 yılında Friedrich Miescher, ökaryot hücrelerde nükleik asitlerin varlığın gösterdi. Miescher, hüresel yapıların proteinlerden farklı, "nüklein" adını verdiği, yeni bir sınıfını ortaya çıkardı (Maderspacher, 2004).

Hüresel yapıda olmayan ve hastalık etmeni olarak virüsler, 26 Kasım 1898 yılında Alman mikrobiyolog ve virolog Martinus Willem Beijerinck tarafından Hollanda'da yapılan bir kongrede, tütün yapraklarından elde edilen tütün mozaik hastalığına sahip tütün yaprağında bulunan tütün mozaik virüsü bilim dünyasına ilk defa anlatıldı. Beijerinck virüslerin yapısını tam olarak açıklayamamıştı. 1935 yılında Wendell Stanley ve Cohen, virüsleri tütün yaprağından izole etmeyi başardılar ve bu çalışma Northrop ve Sumner'la birlikte 1946 Kimya dalında Nobel ödülünü kazandırdı (Bos, 2000). 25 Nisan 1953 yılında, James Watson ve Francis Crick, Nature dergisinde yayımladıkları bir makale ile nükleik asitlerden DNA'nın yapısını açığa çıkardılar (Dahm, 2005). 19. yüzyıl ve 20. yüzyılın başlarına kadar tüm hastalıkların sadece hüresel yapıdaki ajanlar veya virüslerden kaynaklandığı düşünülüyordu. 20. yüzyılda, Many, nükleik asit ve

proteinlerden oluşan inkübasyon süresi uzun olan “yavaş virüsler”den (slow virus) bahsetti.

1.2 Prion Molekülünün Keşfi

20. yüzyılda, Many tarafından tanımlanan yavaş virüsler (slow virus), inkübasyon süresi birkaç aydan birçok yıla kadar uzayan virüsleri anlatmaktadır (Fratkin ve Smith, 1977). Yavaş virüs olarak anılan prionlar aslında nükleik asit içeren yapıya sahip değildirler. Yavaş virüslerin insanda neden olduğu hastalıklardan Creutzfeldt-Jakob Disease, Gerstmann-Sträussler-Scheinker Hastalığı ve kuru ile hayvanlarda görülen scrapie ve benzeri hastalıklar spongiyofom dejenerasyonu ile genellikle beyindeki parankim hücrelerinde congofilik plaklarla olur. Bu hastalıklar hayvanlar arasında enfekte bir beyinden sağlıklı başka beyine transfer şeklinde bulaşır. Bu karakteristik plaklar prion proteini denilen özel proteinlerden yapılmışlardır (Hardy, 1989).

Hastalıkların sadece hücre sel yapıdaki ajanlar veya virüslerden kaynaklandığı görüşü prion ve benzeri hastalık etkeni moleküllerin keşfi ile değişti (MacLea, 2017). Hastalıkların kaynağını sadece bakteri, mantar ve virüslerde bulunan nükleik asitler mi oluşturuyordu? Oysaki nükleik asit içermeyen sadece proteinik yapıdaki prionlar da hastalık kaynağıydı. Tikvah Alper, I.H. Pattison ve J.S Griffith, prionların keşfedilmesine yol açan Scrapie’ye neden olan hastalık ajanının protein kaynaklı oabileceğini iddia ettiler. Bu teori biyolojinin temel bilgilerini sarsacak zıtlıklar içeriyordu. J.S. Griffith’in teorisine göre bu patojenik protein bir genetik kod olmadan kendisini çoğaltabiliyordu (Zabel and Reid, 2015).

Temel olarak PrPSc’yi enfeksiyon ajanı olarak kabul eden, “Sadece Protein Hipotezi”nin etkisi, diğer patojenlerin “Sadece Protein Değil” hipotezi ile açıklanabilir olsa da bu durum “Sadece Protein Hipotezi”nin etkisini azaltamamıştır (Gabor et al., 2008). Grifit tarafından ortaya konulan “Sadece

Protein” hipotezine göre, prion hastalıkları, normal prion proteinin (PrP^C), temasa geçerek konformasyonel değişimle; proteaza dirençli, patojenik formu olan enfeksiyöz-toksik priona (PrP^{Sc}) dönüşmesiyle gerçekleşir (Laurent, 1996).

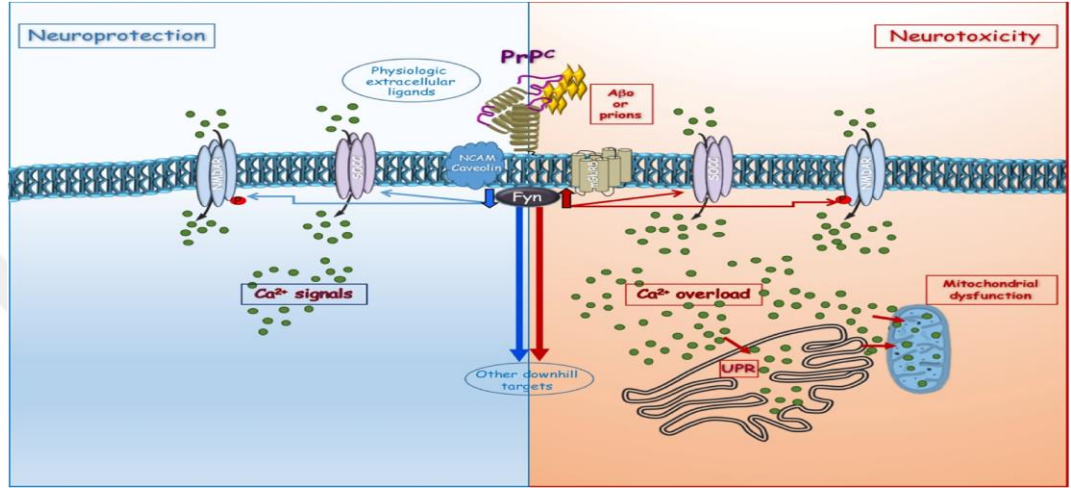
Prion molekülünün keşfi, öncelikle hasta bir koyunun beyninden alınan ve formolle muamele edilen bir dokunun bütün bakterilerin öldürülerek sağlıklı bir koyuna aktarılması ve sağlıklı koyunun da hastalandığının gözlemlenmesi, bunun üzerine virüslerin de öldürülerek dokuya aktarılması ve deneğin yine hastalandığının görülmesi, son olarak bütün proteinlerin yok edilerek doku aktarıldığında, hastalığın bulaşmadığının görülmesi ile olmuştur. Prionların keşfi ile Amerikalı nörolog ve biyokimya profesörü Stanley PRUSINER, Alzheimer ve Deli Dana Hastalığı gibi beyni etkileyen hastalıklara yol açan enfeksiyon kaynağı olan prionları keşfiyle 1997 yılında Nobel Tıp Ödülünü ödülünü almıştır.

Enfeksiyon ajan, hücrel prion proteinin yanlış katlanmış formunu içerir. Normal form, prion protein (PrP^C) hücre yüzeyinde bulunur ve baskın olarak α -heliks yapıya sahiptir; yanlış katlanmış prion protein (PrP^{Sc}) form β -yapraklı yapıdadır bu yapı proteaz degradasyonuna dirençlidir. Farklı türler arasında bulaşmanın temelinde PrP^C'nin PrP^{Sc}'ye dönüşümü rol oynar (Mok T. H. and Mead S., 2017).

Prion proteinlerinin farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip en az iki farklı izoformu bulunmaktadır. PrP^C (Prion Protein Cellular) normal hücrel proteindir. PrP^{Sc} (Prion Protein Scrapie) ise hastalık oluşturan formdur. PrP^C-hücrel prion, birçok hücrede, özellikle sinir hücrelerinde sentezlenen normal prion proteindir. Daha önce bahsedildiği gibi bu proteinin α -heliks içeriği yüksek ve β -yaprak içeriği ise azdır. Diğerleri yani hastalık oluşturan PrP^{Sc}'nin ise tam tersine β -yaprak içeriği fazla ve α -heliks içeriği ise azdır. Sadece protein hipotezine göre, PrP^{Sc} molekülleri, PrP^C'leri hastalıklı izoforma dönüştürürler yani hastalıklı forma

dönüş mekanizmasında nükleik asitler doğrudan rol almazlar. Dönüşüm proteinik yapıların formlarının değişimiyle meydana gelir.

Şekil 2: PrPC'nin hastalığındaki fizyolojik fonksiyonu ve rolü



Açık mavi tarafta, çok sayıda hücre dışı ve membran partnerinin fizyolojik koşullarda PrP^C'ye bağlanabildiğinin basit gösterimi verilmiştir. Ayrıca PrP^C'nin tüm ligantlarının tam detayları ve nöroprotektif tetikleyici pathwayler verilmiştir (Peggion et al., 2017).

Çok sayıda yanlış katlanmış zincir içeren ve prion hastalıklarının patojenik ajanı olarak düşünülen prionlar nükleik asit içermezler (Thompson et al., 2018). Prionlar bakteri, mantar, parazit ve virüsler ile kıyaslandıklarında, hem etki mekanizmaları hem de yapısal formları bakımından farklı etkiye sahip olabilen nörodejeneratif proteinlerdir. Tüm prion hastalıkları, normal hücrel prion proteininin (PrP^C) patolojik prion izoformuna dönüşmesiyle ortaya çıkar (PrP^{Sc}) (Kovacs et al., 2017) ancak bu proteinler birden fazla hastalık oluştururlar ve oluşturdukları hastalıklar çeşitlilik gösterir. Prion hastalıkları kalıtsal, sporadik ya da bulaşıcı olabilirler (Salvesen et al., 2018).

1.3 Prion Molekülü

Aynı zamanda bulaşıcı süngerimsi ensefalopatiler (TSE) olarak da bilinen prion hastalıkları nadir ve değişmeyen ölümcül beyin hastalıklarının bir ailesidir. Prion hastalıkları hayvanlarda (koyun ve keçilerde scrapie) ve insanlarda (Kuru, Creutzfeldt – Jakob hastalığı) görülür. İlk olarak iki Alman doktor, Dr. Creutzfeldt ve Dr. Jakob tarafından tarif edilen ve daha sonra Yeni Gine'deki kannibalizmle bağlantılı olan TSE'ler, 1960'larda ve 1970'lerde bilim adamları tarafından daha fazla ilgi gördü. Stanley Prusiner, prionlar (proteinaceous infectious particles) terimini kullandı ve prionların hayvan scrapie ve insan Creutzfeldt – Jakob Hastalığına (CJD) yol açtığını öne sürdü (Tanev and Yılma, 2009).

Hücrel prion proteini ilk bulunduğu yıllarda sadece prion hastalıklarına neden olan faktör olarak bilinmekteydi ancak günümüzde prion proteininin sadece sinir sisteminde değil aynı zamanda tüm sistemlerde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Mehrpour et al, 2010). Prion "nükleik asitleri değiştiren uygulamalarda inaktivasyona dirençli olan küçük protein yapısında enfeksiyöz partiküller" olarak tanımlanır. Hücrel tip prion protein (PrP^C) ve prion hastalığı ile ilişkili patolojik form (PrP^{Sc}) olmak üzere prion proteini iki konformasyona sahiptir (Roucou and LeBlanc, 2005).

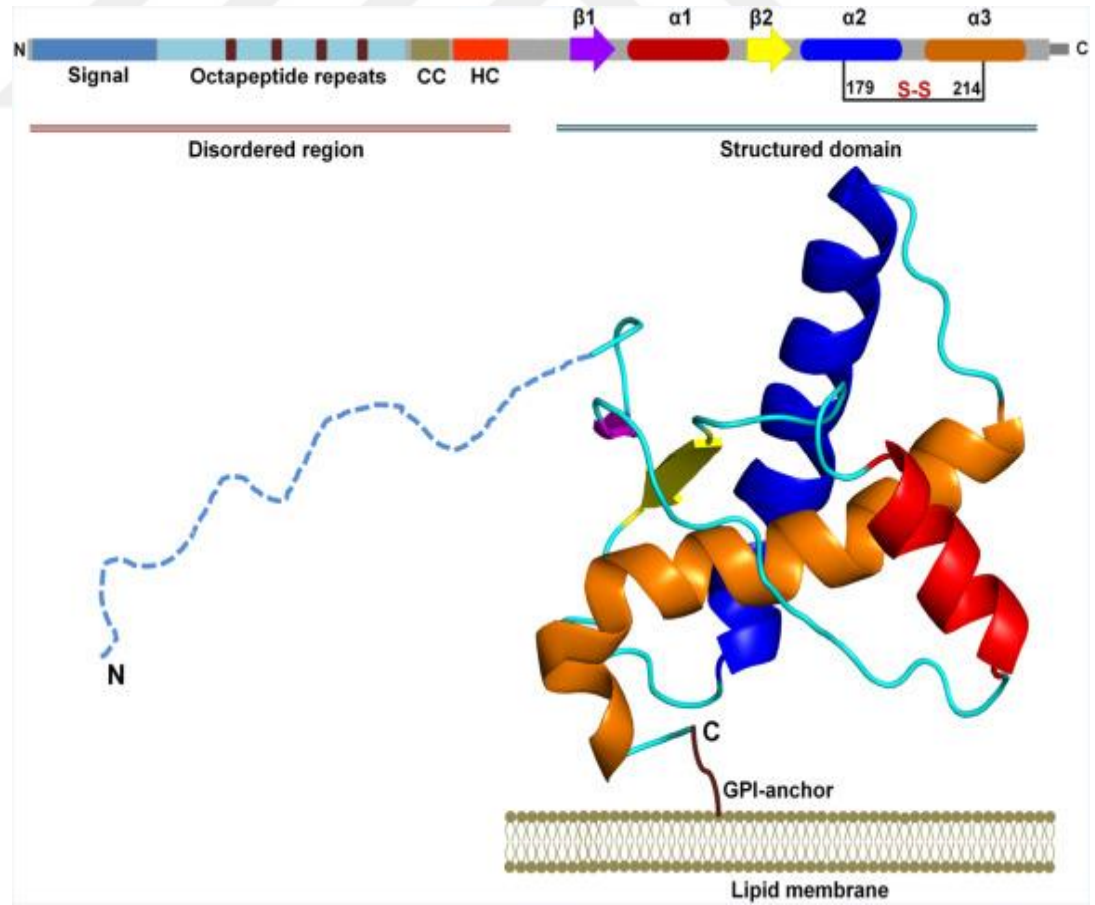
Prion proteini (PrP^C), immün sistem hücrelerinde ve merkezi sinir sisteminde, yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilen, bir membran glikoproteindir. Prion proteini memelilerde yaklaşık olarak 250 aminoasitten oluşur. İnsanda ise bu protein 253 aminoaside sahip, 30 kilo daltonluk hücrel bir proteindir ve kromozom 20'nin kısa kolunda yer alan PRNP (Prion Protein Geni) geninde üretilir (Yılmaz, 2002). Prionlar (PrP) nükleik asit içermezler (Choi et al., 2006). PrPC öncelikle memeli nöronal hücrelerinde bulunur ve hücre zarına bir glikosilfosfatidilinositol (GPI)-anchor ile bağlanır (Thody et al., 2018). Prion

proteininin moleküler yapısı N ve C terminal bölgelerinden oluşmaktadır. N-terminal ucunda bir sinyal peptidi bulunur, C-terminal ucunda ise glikofosfatidil inositol (GPI) bulunur. Prionlar kendi kendilerine çoğalabilme özelliğine sahip proteinlerdir bu nedenle sistematikteki yerleri henüz tam olarak belli değildir.

Hücredeki işlevi tam olarak aydınlatılmamış olsa da hücreyel prion proteininin önemli fonksiyonları olduğu öngörülmektedir.

Hücreyel Prion proteini ile ilgili knockout farelerle (PrP^{-/-}) yapılan çalışmalarda prion proteinin gizil (örtük) öğrenme ve uzun süreli hafızada gerekli olduğu ortaya konmuştur (Nishida et al.,1997).

Şekil 3: Memeli prion proteinin yapısal özellikleri (Thody et al., 2018)



Normal sekonder yapıya sahip hücrel prion proteininde (PrPC), N-terminal ve C-terminal bölgelerinin kendine özgü karakteristik özellikleri bulunmaktadır. N-terminal bölgesi yapısı değişkendir. Ancak çoğunlukla 37-53 residü uzatılmış poly (L-proline) II (PPII) heliks yapısı oluşturabilmektedir. C-terminal bölgesi ise N-terminal bölgesine nazaran daha rijit olup globular birime sahiptir. Bu bölge üç alfa-heliks yapısı ve iki halkalı antiparalel β -tabaka içermektedir. C-terminal bölgesinin stabilizasyonu disülfid köprüleriyle sağlanmaktadır. Ayrıca C terminal domainde N-bağlı glikozilasyon bölgesi mevcuttur (Donne et al., 1997).

2. PRİON GENİ

2.1 Prion Gen Ailesi

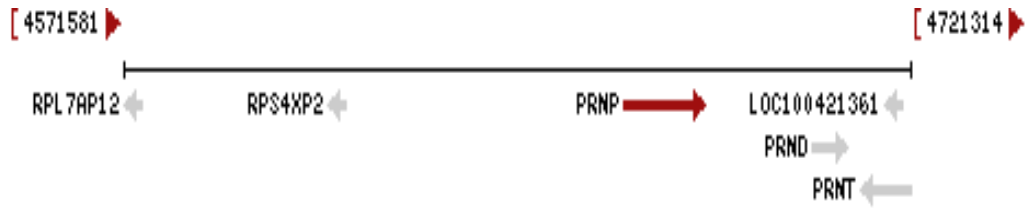
Prionlar, insanlarda ve hayvanlarda ölümcül olan nörodejeneratif hastalıklar grubundan sorumlu olan β -yapraklı izoforma dönüştürülmüş bir dönüşümle enfeksiyöz özellik kazanan kendine has özellikleri olan bir protein sınıfını temsil eder. Buna rağmen, son veriler hücrel prion proteini ve prion benzeri proteinler için farklı roller olduğunu göstermiştir. Nitekim artan kanıtlar, prion ve prion benzeri proteinlerin, yani testise spesifik primer protein (Prt), prion protein 2 (dublet) ve Shadoo'nun, erkek fertilizasyonunda spermatogenezde olduğu kadar spermde hareketliliğinde de önemli rol oynadığını desteklemektedir. Testise spesifik prion protein geni (*PRNT*), Prt proteinini kodlayan spesifik bir geni (*PRNT*) gösterir. Prion protein 2 (dublet) geni (*PRND*), Doppel ya da prion protein 2 olarak adlandırılan diğer prion-benzeri proteini kodlar (Pereira et al., 2018). PrP proteini insan kromozomunun (20. kromozom) kısa kolunda tek bir genin (*PRNP*) tek bir ekzonu ile kodlanır (Labate et al., 2007). *SPRN* geni balıklarda (zebrafish) ve memelilerde (fare, sıçan, insan) bulunur (Premzl et al., 2003). *PRNP*, *PRND*, *PRNT* ve *SPRN* genleri PrP-GF (prion gen ailesi)'yi oluşturur.

Şekil 4: Prion gen ailesinde yer alan genlerin yerleşiminin şematik gösterimi (NCBI'dan alınmıştır)

Location: 20p13

Sequence : Chromosome: 20; NC_000020.10 (4666797..4682235)

Chromosome:



2.2 Prion Protein Geni (PRNP)

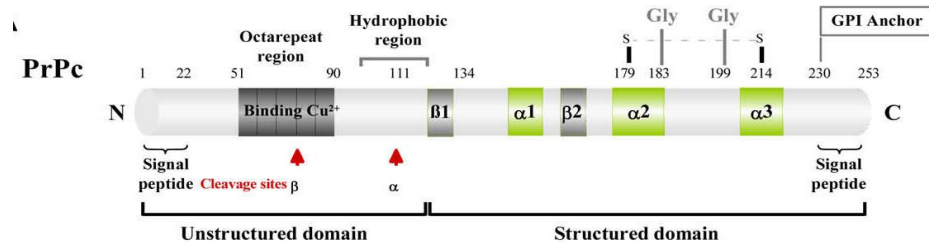
PrPC (prion proteini), memelilerde korunmuş olan PRNP geni tarafından kodlanmaktadır (Luo, 2017). Genetik Creutzfeldt-Jakob hastalığı (CJD) dahil olmak üzere genetik prion hastalıkları, prion proteinini (PrP) kodlayan PRNP genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (Cousyn L. et al, 2018). PRNP geni, bütün açık okuma çerçevesini (ORF) içeren 136 bp untranslated ekzon I, 12693 bp intron ve 2354 bp ekzon II içerir. Açık okuma çerçevesindeki birçok mutasyon, prion hastalıklarının ailesel formları ile bağlantılıdır. Metionin (ATG) veya valin (GTG) kodlayan PRNP kodon 129'da polimorfizmin sCJD ve iatrojenik CJD için asıl duyarlılık faktörü olduğuna inanılmaktadır (Wasik J. B., 2007).

Prion protein genindeki mutasyonlar tanımlanmıştır ve bunların en önemlisi kodon 129'dadır. Prion genindeki polimorfizmlerden, kodon 129'daki sporadik hastalıklarda klinik ve patolojik gösterimi etkileyen bir duyarlılık faktörüdür (Bianca et al., 2003). Yapılan çalışmalarda PRNP geninde belirlenen çeşitli polimorfizmlerin insanlarda prion hastalıklarına yatkınlık veya direnç durumunu belirlediği ortaya konmuştur. Örneğin, PRNP geni üzerindeki 129. kodonda

belirlenen V129 polimorfizminin insanlara görülen variant Creutzfeldt-Jakob hastalığına karşı direnç sağladığı bulunmuştur (Wadsworth et al., 2004).

İnsan deneklerle yapılan moleküler genetik çalışmalar, *PRNP* geninin, diğer iki genle (*PRND* ve *PRNT*) birlikte, *PRNP* lokusu olarak belirlenmiş olan kromozom 20'nin p12 / p13 bölgesinde lokalize olduğunu ortaya koymuştur. Bu üç gen, 55 kb'lik bir bölgeye yerleşmiştir. *PRNP* geni 20 kbp'ye yayılır ve iki ekzondan oluşur. *PRNP* geninde mutasyonlar prion hastalıkları ile ilişkisi olduğu anlaşılmıştır. Onbir farklı tek nokta mutasyonunun CJD ile ilişkili olduğu gösterilmiştir, on farklı nokta mutasyonun GSS ile ilişkili olduğu ve D178N mutasyonunun FFI'ye neden olduğu gösterilmiştir. Her bir mutasyon, kodon 129'da bir metiyonin veya bir valin ile ilişkilidir; bu polimorfizm, hastalığın tipini, başlangıcını ve süresini ciddi şekilde etkileyebilir (Mehrpour and Codogno, 2010).

Şekil 5: İnsan PrP^C molekülüne ait bir sinyal peptit geni



İnsan PrP^C molekülüne ait bir sinyal peptit geni (1-22), beş tane oktapeptid tekrarı (51-91), yüksek korunumlu hidrofobik alan (106-126), α -heliks yapısında üç peptit zinciri (α 1- α 2- α 3), β -heliks yapısında iki peptit zinciri (β 1- β 2) ve GPI kancası için bir sinyal zinciri içermektedir (231-254) (Mehrpour, 2010).

2.3 Genetik Polimorfizm Kavramı

İnsan genomunda yaklaşık 500-1000 bp'de bir tane meydana gelen tek bir DNA bazının varyasyonları, tek nükleotit polimorfizmi (SNP-single nucleodid polymorphisim) olarak adlandırılır. Somatik hücrelerdeki bu değişiklik kalıtsal veya kalıtsal olmayan genetik bir hastalığa yol açabilir. 1950'lerin başında Watson ve Crick tarafından tarif edildiği gibi, genetik kodun iletimi tamamen, timin (T), adenin (A) ve guanin (G) ile sitozin (C) spesifik çiftlerine bağlıdır. Purinin yanlış pirimidin ile eşleştirilmesi, farklı baz uyumsuzluk tiplerine yol açabilir (Masoud and Mehrgardi, 2019). SNP'ler genlerin kodlayan bölgelerinde olabileceği gibi, kodlamayan bölgeler üzerinde, hatta genler arası bölgelerde de bulunabilirler. SNP'ler insanlar arasında en yaygın olan genetik çeşitliliktir (milyarlarca insan vardır) ve genellikle kodlama yapmayan bölgelerde ortaya çıkarlar. Sadece genlerin içine veya düzenleyici bölgelerine yerleştirildiğinde, gen fonksiyonunu etkileyebilirler ve böylece hastalıkta daha doğrudan bir rol oynarlar (D'Errico et al., 2017).

3. PRİONLARIN NEDEN OLDUĞU HASTALIKLAR

Prionlar, hayvanlar ve insanlarda nörodejeneratif ve ölümcül hastalıklara neden olmaktadır. Nörodejeneratif hastalıklar nöronal sinaptik fonksiyonların gelişiminde kayıp olarak karakterize edilmektedir. Bununla birlikte prion proteininin prion hastalıkları dışında Alzheimer, Şizofreni, Parkinson, Epilepsi gibi diğer nörodejeneratif hastalıklarda da etkili olduğu düşünülmektedir. Alzheimer hastalığı ve prion hastalıklarında ortak nokta prion proteininin β -Amyloid form plaklarının beyinde birikmesidir (Beyreuther et al., 2006).

3.1 İnsan Prion Hastalıkları

Hücrel prion proteininin (PrPC), patolojik prion proteinine (PrPSc) form değişikliği (alfa yapıdan beta yapısına dönüşümü) hastalık etkeni olarak

düşünülmektedir (Gabor et al., 2008). Creutzfeldt-Jacob (CJD) Hastalığı, Gerstmann-Sträussler-Scheinker Sendromu, Fatal Familial Insomnia (FFI) ve Kuru önemli insan prion hastalıkları fenotipleridir. Prion Hastalıkları ya da Transmissible Encephalopathy Spongiform (TSE) genetik olarak ya da hayvanlardan orijin alarak bulaşmasıyla ve prion proteininin proteaza dirençli formunun beyinde yoğun miktarda birikmesiyle oluşan fatal nörodejeneratif hastalıklardır (Collins and Mclean, 2001).

Yaygın insan nörodejeneratif hastalıkları, beyindeki anormal hastalıkla ilişkili proteinlerin birikmesiyle ilişkilidir. Prion hastalıkları, prion proteininin normal hücrel izoformunun yanlış katlanmasıyla türetilen prion proteininin (PrP^{Sc}) anormal bir izoformunun birikmesi ile ilişkili nörodejeneratif bozukluklardır. Bireyler arasında bulaşıcıdır ve sporadik, genetik ve edinilmiş formlarda ortaya çıkabilirler (Ritchie and Ironside, 2017).

Tablo 1: İnsan Prion Hastalıklarının Etiyolojiye göre Sınıflandırılması (Ritchie and Ironside, 2017)

Etiyoloji	Hastalık
1.İdiopatik (sporadik)	Sporadik Creutzfeldt–Jakob Hastalığı (CJD)
	Sporadik ölümcül uykusuzluk
	Farklı proteaz hassasiyetli prionopati
2.Genetik (kalıtsal)	Genetik CJD
	Gerstmann–Sträussler–Scheinker hastalığı
	Prion protein serebral amiloid anjiyopati
	Ölümcül ailesel uykusuzluk
3.Enfeksiyöz	Kuru
	İatrojenik CJD
	Variant CJD

3.1.1. Sporadik Creutzfeldt-Jakob hastalığı-sCJD

Geleneksel olarak, CJD kendiliğinden ortaya çıkan sınıf olarak sınıflandırılır, sCJD bu vakaların% 85-90'ını kapsar (Tanev and Yilma, 2009). Klinik özellikler, görsel anormallikler ve hareket bozuklukları (özellikle ataksi ve miyoklonus) dahil olmak üzere, hastalığın başlamasından yaklaşık 4 ay sonra ölümle sonuçlanan bir dizi başka nörolojik anormalliğe sahip, hızlı bir şekilde ilerleyen demansın özellikleridir. 2004 yılına kadar, CJD'nin kan transfüzyonu ile bulaşmadığı genel olarak kabul edildi. Hem vaka kontrol çalışmaları hem de geriye dönük incelemeler gibi küçük çalışmalar sCJD ve kan transfüzyonu arasında herhangi bir bağlantı olmadığını tespit etmiştir (Hewitt, 2006).

3.1.2. İyatrojenik Creutzfeldt-Jakob hastalığı-(iCJD)

CJD'nin enfeksiyöz formları arasında, iatrojenik CJD (iCJD) en temsilidir. Bu hastalıkta, uygun olmayan sterilize kortikal ve derinlik elektrotları, transplante kornealar, kadavra hipofizinden türetilmiş insan büyüme hormonu / gonadotropin ve dura graft enfeksiyon için çeşitli kaynaklar olarak bildirilmiştir. 2000 yılına kadar, CJD hastalarından kadavra dura naklinin neden olduğu dünya çapında 114 iCJD vakası bildirilmiştir (Furuya et al., 2006). Görülme sıklığı diğer CJD'lere oranla daha düşük, yaklaşık %5'tir.

3.1.3. Ailesel veya genetik Creutzfeldt-Jakob hastalığı-(fCJD-gCJD)

CJD vakalarının %5'lik bir kısmını oluşturur. Belirtileri sporadik sCJD'ye benzer. İki hastalık arasındaki tek fark genetik CJD'nin başlama yaşının daha erken olmasıdır. Ailesel karakter taşır.

3.1.4. Yeni Tip-Variant Creutzfeldt-Jakob hastalığı-(vCJD)

Sığır Spongiform Ensefalopati (BSE) ilk olarak Kasım 1986'da Birleşik Krallık'ta (İngiltere) tanımlanmıştır.. Salgınlar, Kuzey İrlanda, İrlanda Cumhuriyeti, İsviçre, Portekiz ve Fransa dahil olmak üzere diğer Avrupa ülkelerinde de meydana gelmiştir. 1996 yılında, İngiltere hükümeti BSE ile insanlarda Creutzfeldt-Jakob hastalığının (vCJD) yeni bir çeşidi arasında olası bir bağlantı olduğunu açıkladı. vCJD'nin BSE'nin etiyolojik ajanına maruz kalmanın doğrudan bir sonucu olduğu hipotezini destekleyen bilimsel kanıtlar güçlendirilmiştir (Ghani et al., 2002)

3.1.5. Ölümcül Ailesel Uykusuzluk (FFI)

Fatal Familial Insomnia (FFI) ilk olarak Lugaresi ve ark. (1986) tarafından PRNP geni üzerindeki D178N mutasyonu ile 129. kodonda metiyonin bulunması ile karakterize otozomal dominant ve değişmeyen ölümcül hastalık olarak tanımlanmıştır. Fatal Familial Insomnia (FFI), prion-protein geninin 178 kodonunda bir mutasyonun neden olduğu kalıtsal bir prion hastalığıdır. FFI, yalancı bir uyku dalgası kaybı gibi görünen fizyolojik uyku kaybı ve hiperaktivasyon ile karakterizedir. Otonomik fonksiyonların değiştirilmesi, aşırı sempatik aktivasyon, fizyolojik tepkilerinin düzensizliği ve sirkadiyen ritimlerin bozulmasından oluşan belirtiler FFI hastaları için büyük bir yüküdür (Baldelli and Provini, 2019).

3.1.6. Gerstmann-Sträussler-Scheinker hastalığı (GSS)

Hastalık ilk olarak 1930'larda bildirilmiştir. Bu hastalık PRNP geni üzerindeki 102 ve 198. kodonlardaki mutasyonlar ile ilişkilidir. Hastalığın belirtileri bacaklarda güçsüzlük, dengesizlik hali, bunama, ataksiadır.

3.1.7. Kuru

İlk kez 1900'lü yıllarda Yeni Gine'deki kabilelerde ortaya çıkmıştır. Sadece Papua Yeni Gine'deki Güney Fore kabilelerinde görülen bir prion hastalığı olan kuru, yamyam mortuary ayinlerinde enfekte beyin dokusunun içilmesinden kaynaklanmaktadır. Yamyamlığın ortadan kaldırılması ve daha iyi bir eğitim ile görülme sıklığı azalmaktadır. Kadınlar tarihsel olarak erkeklerden daha fazla enfekte olmuştur, çünkü muhtemelen kadınlar ayinlere katılanlar arasındaydı (Leemans, 2016).

3.2 Hayvan Prion Hastalıkları

Hayvan prion hastalıklarından en sık görülenler koyunlarda scrapie hastalığı ve sığırlarda sığır süngerimsi ensefalopatileridir. Bunlar dışında kedi, geyik, aslan, kaplan, ceylan, çita gibi hayvanlarda da bu hastalık görülmektedir.

3.2.1. Sığır süngerimsi ensefalopati (BSE)=deli dana hastalığı

Sığır süngerimsi ensefalopatileri veya Bovine Spongiform Encephalopathy veya Transmissible Spongiform Encephalopathy= TSE) adı verilir. Sığırlarda gözlenen bu hastalık beyin ve omurilikte süngerimsi yapılar oluşturarak birtakım bozukluklara yol açar ve diğer prion hastalıkları gibi hastalığın ölümle sonlanmasına neden olur. BSE hastalığı deli dana hastalığı (mad cow disease) olarak bilinmektedir, bu isimle popüler olmuştur.

3.2.2. Scrapie (kaşıntı veya sıçrama hastalığı)

Hayvanlarda görülen ilk bulaşıcı süngerimsi ensefalopati hastalığıdır. Hastalık sığırlara geçer, insanlara geçmez. Hasta koyunlarda sinir sistemine ilişkin belirtiler görülür.

4. İNTİHAR

Yaşamın sonlanması açısından intihar, bireyin hür iradesi ile ölümüne karar vermesi ile diğer ölüm şekillerinden ayrılır. İnsanlık tarihi kadar eski bir geçmişe sahip olan intihar eylemi bir davranış bozukluğudur ve en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir.

Tüm toplumlarda geçmişten günümüze kadar farklı sıklıklarda intihar davranışı görülmüştür. Bu davranış, dünyadaki en önemli ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Yaş sınırlaması yapılmaksızın tüm ölüm nedenleri arasında (kalp hastalıkları, kanser, serebrovasküler hastalıklar, kazalar, pnömoni, diyabet ve siroz gibi) onuncu sırada yer alırken, 15-44 yaş arası bireyler için tüm ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır.

İntihar eğilimi intihar düşüncesi ve intihar davranışını kapsar. İntihar düşüncesi intihar etmeyi hissetmek ve düşünmektir, bir intihar eylem planı geliştirmek, ölümü düşünmek bu davranışı gerçekleştirmeye yönelik düşüncelerdir. İntihar davranışı ise bir kişinin yaşamına son vermesidir. İntihar girişimi ve intihar davranışı farklı davranışlardır. İntihar olgusundaki öğelerin karmaşıktır, içlerinde çok fazla bilinmeyen vardır, bu nedenle intiharı tanımlamak zordur.

İntiharın sosyolojik, psikolojik, biyolojik, tarihsel, kültürel, dini, felsefi, ekonomik boyutları vardır. İntiharın nedenleri topluma, yaş grubuna, cinsiyete ve bunun gibi nedenlere bağlı olarak farklılık gösterir. Genel nedenler arasında psikiyatrik risk etmenleri, stresli yaşam olayları, bireysel özellikler, ailesel risk etmenleri, taklit ile bulaşma ve cinsel yönelim yer alır.

İntihar olgusu nedenleri, sonuçları ve önlenabilirliği açısından çok boyutlu bir biçimde ele alınmalıdır. Tarihsel, psikolojik, sosyolojik, kültürel, felsefi,

dinsel, ekonomik ve varoluşsal boyutlarıyla ayrıntılı olarak incelenmesi gereken bir konudur. Daha öncede bahsedildiği gibi intihar çok boyutlu, karmaşık bir olgudur ve intihar olayları sanıldığından çok daha yüksek düzeylerde seyretmektedir. Her ne kadar Türkiye’de intihar oranları dünya oranlarına göre daha düşük düzeyde ise de son on iki yıl içinde %37,7 oranında artış göstermiştir. 2000 yılında 1802 kişi intihar etmişken, 2012 yılında sayı 3225’e ulaşmıştır (TÜİK-Türkiye İstatistik Kurumu 2007-2013).

İntiharın biyolojisini anlamak için yapılan çalışmalar, beyindeki kimyasal ileticilerden birisi olan serotoninin düşük işlevinin intihar davranışında etkili olabileceği üzerinde durmaktadır. İntihar eyleminde bulunan bireylerin beyin omirilik sıvılarında serotoninin yıkım ürünü olan 5-HIAA düzeyleri düşük olarak saptanmıştır. Bu çalışmada prion geni aday gen olarak seçilmiştir. Prion geni, insan ve hayvanlarda oluşturduğu hastalıklar, bu hastalıkların sadece beyinde eksprese olan genlerle ilişkili olması, oluşan hastalıkların nörodejeneratif olması nedeniyle intihar için risk faktörü olabilir.

Genetik polimorfizm ve intihar davranışı arasında korelasyon olup olmadığına dair bir çalışma Danimarka’da yapılmıştır. Serotonerjik sistemdeki aday genlerde yer alan polimorfizmler ile intihar davranışı arasındaki ilişki ile ilgili yapılan çalışmada 2000-2007 yılları arasında Danimarka’da otopsisini yapılmış 572 vaka ve 1049 intihar etmemiş kontrol grubu bireylerinden psöas kası veya kalpten doku örnekleri alınmış bu örnekler izole edilmiş, örnekler PCR ve genotipleme yapılarak istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir. *SLC6A4*, *MAOA*, *TPH1* ve *TPH2* genleri aday genler olarak belirlenmiştir ve bu genler üzerinde yer alan polimorfizmler ile intihar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sonuç olarak *TPH1* geninde bulunan rs1800532’deki minör allelin 35 yaştan küçük erkek ve 50 yaşından büyük bayanlarda intihara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda *SLC6A4* üzerindeki 5HTTLPR ve yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Orta yaş grubunda uzun allel ya da yüksek ekspresyonun olmasının

intihara karşı koruyucu etkiye eğilimi sağladığı gösterilmiştir (Buttenschön et al., 2013).

Genetik polimorfizm ve intihar davranışı üzerine Japonya’da yapılan bir meta-analiz çalışmada ise beyin nöronal gelişiminde önemli bir faktör olan *BDNF* faktörü oluşturan *BDNF* geni polimorfizmi ve intihar ilişkisi araştırılmıştır. Gen üzerinde yer alan 66. kodonda tek nükleotid polimorfizmi (SNP=single nucleotid polymorphisim) (Val66Met) araştırılmıştır. Araştırma için 307 intihar eden birey ve 380 sağlıklı birey seçilmiştir. Asya popülasyonunda, Met-... allel, intihar girişimi ile ilişkili bulunmuştur fakat tamamlanmış intihar ile ilişkisi tespit edilememiştir. Kodon 66 (Val66Met) depresif hastalarda intihar davranışı ile ilişkili bulunmuştur. Bipolar bozukluk ve şizofren hastalarında ise intihar davranışı ile ilgili değil intihar girişimi ile ilişkili bulunmuştur (Woraphat Rattapha ve ark., 2013).

Prion proteinin enfeksiyöz formu çoğunlukla nöronal sistemde eksprese olan ve bu proteinin beyinde birikmesi ile oluşan prion hastalıklarının etkeni olarak bilinmektedir. Ancak prion proteininin normal formunun sadece nöronal sistemlerde değil insan vücudunun tamamında etkili olabileceği yapılan son çalışmalarda bildirilmiştir. Prion proteinin, hücre yaşamı ve ölümü, oksidatif stres, farklılaşma, iyon alışverişi, hücre adhezyonu ve zar-içi sinyalizasyonda görev alabileceğine yönelik çalışmalar mevcuttur. Prion proteinin apoptosis, kanser hücrelerinin çoğalması ve yayılmasına karşı dirençli olabileceği düşünülmektedir. Hücredeki önemli birtakım işlevler için hayati önem taşıyabileceği düşünülen prion proteinin oluşmasından sorumlu gen prion genidir ve bu gen üzerinde kırktan fazla polimorfizm yer almaktadır. Bu polimorfizmlerin bazı hastalıklar ile ilişkisi yapılan çalışmalarla araştırılmıştır.

5. ÇALIŞMANIN AMACI

Bu tezde Prion proteinini kodlayan *PRNP* geni polimorfizmleri- intihar davranışı ilişkisi analiz edilecektir. İntihar davranışının farklı birçok aday gen üzerinde yer alan polimorfizm ile ilişkisi incelenmiş fakat kesin bir sonuca ulaşılamamıştır. İntihar davranışının *PRNP* geni üzerinde yer alan yaklaşık kırk kadar polimorfizmden hiçbiri ile ilişkisi araştırılmamıştır. Bilindiği kadarıyla projede hedeflenen çalışma ulusal ve uluslararası alanda bu konuda yapılacak ilk çalışma olacaktır. Proje kapsamında elde edilecek veriler intihar davranışının nedeninin prion geni polimorfizmiyle bağlantılı olup olmadığının tespit edilmesiyle intihara davranışına eğilimi olabilecek kişilerin erken tespit edilmesi sağlanacak ve olası tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlanacaktır.

İntihar girişiminin önceden tespitini sağlayacak genetik markırların bulunması ve tüm dünyada her yıl gittikçe artan intihar vakalarının önüne geçilmesi dolayısıyla daha sağlıklı bir toplum yapısına ulaşılması amaçlanmaktadır. İntihar davranışı ve prion geni üzerinde yer alan polimorfizmler arasında herhangi bir ilişki bulunmaması durumunda ise prion protein polimorfizmleri ile intihar davranışı arasında ilişki olmadığının kanıtlanmış olacaktır. Ayrıca prion geni üzerinde yer alan polimorfizmler ile bu polimorfizmlerin hangi mekanizmalar üzerinde etkili olduğu araştırılmaktadır. Bu gen üzerinde yapılan araştırmalardan elde edilen verilere göre 129. kodonda belirlenen V129 polimorfizminin insanlarda görülen varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığına karşı direnç sağladığıdır. Türk toplumunun varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığına karşı direnç/yatkınlık durumunu belirleyen ve prion geni üzerinde yer alan V129 polimorfizmi ile ilgili Türkiye’de sadece bir çalışma RFLP yöntemi ile yapılmıştır (Erginel-Unaltuna N. Et al, 2001). Bu proje ile Türk toplumunun Creutzfeldt-Jakob hastalığına karşı direnci ile ilgili veriler elde edilmiş olacak ve ilk kez bu çalışma yöntem olarak sekans analizi kullanması dolayısıyla *PRNP*

geninde bulunan diğ er polimorfizmlerinde toplumda yaygı nlı ğ ını g rmemizi sağ layacaktır.

Ç alış ma intihar davranış ının genetik boyutunun genetik polimorfizmler aracılı ğ ıyla araş tırılmasına dayanmaktadır. İ ntihar davranış ının prion protein geni uzerinde yer alan polimorfizmler ile korelasyonu analiz edilecektir. İ ntihar davranış ı genetiğ i son zamanlarda sık ç alış ılan konulardan biridir. Ancak intihar davranış ı ve genetik arasındaki iliş ki henu z tam olarak ortaya konamamış tır ancak ç alış malarda intiharın genetik boyutu olduğ una dair sonuç lar elde edilmiş tir.  rneğ in Yeni Zellanda'da yapılan bir genetik polimorfizm ve intihar davranış ı iliş kisinin araş tırıldı ğ ı bir ç alış mada intihar davranış ı, bipolar bozukluk teş hisi konulmuş bireylerde araş tırılmış tır. Bu ç alış mada 130 bipolar bozukluk yaşayan birey ile 795 sağ lıklı bireylerin 32 single n kleotid polimorfizmi karş ılaş tırılarak sonuca ulaş ılmış tır. Kiş ilerden alınan kan  rneklerinden izolasyon, PCR ve sekanslama ile HapMap programı ile genotipleme yapılmış ve 32 single n kleotid polimorfizmi aç ısından istatiks el analizler yapılmış tır. Sonuç ta 32 SNP'ten 5 *BDNF* (Brain Derived Neurotrophic Factor- beyin kaynaklı sinir geliş tirici fakt r) ve 12 CCKBR (cholecystokinin B receptor) SNP'le iliş ki bulunmuş diğ erlerinde ise bulunmamış tır (Sears et al., 2013).

İ ntihar davranış ı multifakt riyel bir durumdur ve t m boyutlarıyla incelenmelidir. İ ntiharın  zellikle biyolojik ve genetiksel boyutunun anlaş ılması dolayısıyla intiharla ilgili t m lokusların tespit edilmesi  nemlidir. Yapılacak olan ç alış ma ise prionlarla intihar davranış ı arasındaki iliş kiyi genetiksel olarak kurmaya y neliktir. İ ntihar davranış ı ve prion geni uzerinde yer alan polimorfizmler arasında anlamlı iliş ki olduğ unun tespit edilmesi ile gerekli genetik testlerin yapılabilirliğ ine, varsa genetik olarak ailesel geç iř in tespit edilmesine ve  zellikle intihar geç miş i olan aile bireylerinde davranış ın  nlenebilirliğ ine  nc olunacaktır. B ylelikle toplumda her geç en yıl sayısında

artış olan ve erken görülme yaş sıklığı artan intihar davranışının önlenmesi hedeflenmektedir.

Ayrıca intihar davranışını yeterli düzeyde açıklayacak genetiksel bilgilere henüz ulaşılmamış olması ancak intiharın genetik boyutunun olduğuna yönelik yapılan çalışmalarda anlamlı sonuçların elde edilmiş olması, prion protein geni üzerinde yer alan polimorfizmlerin intihar davranışı ile de bağlantısı olabileceğini düşündürmektedir. İntihar davranışı ve genetik polimorfizmle ilgili yapılan çalışmalar son on yılda maksimum seviyeye ulaşmıştır ancak intiharla ilgili yapılan genetik çalışmalarda henüz marjinal bir sonuca ulaşamamıştır. Belirlenmiş bir aday gen üzerinde yer alan polimorfizmler ve intihar arasındaki ilişkiyi araştırmak üzerine çalışmalar yapılmaktadır

Bir çalışmada *BDNF* (Brain Derived Neurotrophic Factor- beyin kaynaklı sinir geliştirici faktör) geninin SNP varyasyonu ve metilasyonu ile intihar arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılmıştır. 600 kişide Val66Met rs6265 polimorfizmi incelenmiştir. Bu polimorfizmle ilişki tespit edilmemiştir. Ancak araştırmaların farklı aday genlerde yer alan farklı polimorfizmler açısından araştırılmasının intiharın genetik boyutunun ortaya konmasında çok önemli olduğunu vurgulamak gerekir. Bu çalışmada farklı bir metot kullanılarak genetiksel olarak yapılan bir metilasyon analizinde 44 kişide *BDNF*'nin intiharda önemli olabileceği sonucuna varılmıştır (Paska et al., 2013).

İntihar davranışında genetik bir çalışma *BDNF* geni üzerinde yapılmıştır. *BDNF* geni ve intihara girişim davranışı ilişkisi araştırılmıştır. 108 bireyden kan örnekleri alınmış, kan örneklerine izolasyon-PCR ve CpG adası yüzdesi belirleyen Pro-Q-CpG programı ile analizler yapılmıştır. *BDNF* geninde promotor metilasyonu yüzdeleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda *BDNF* geni ile intihara girişim arasında yüksek düzeyde ilişki saptanmıştır (Hee-Ju Kang et al.,

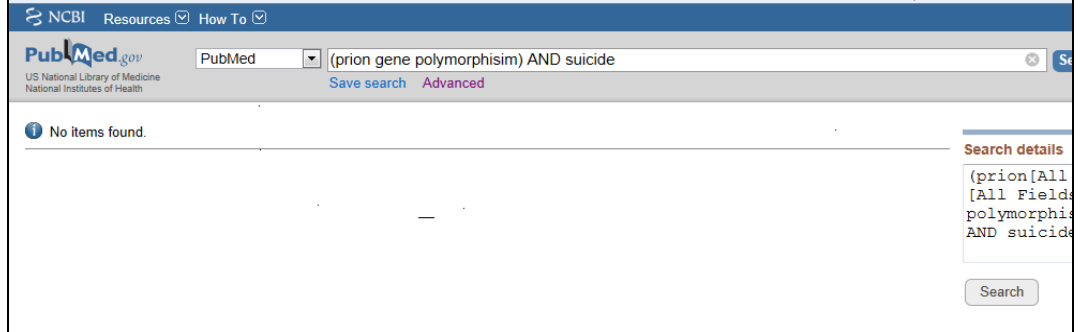
2013) İntiharın genetiğine özellikle polimorfizmlerle olan ilişkisine yönelik çalışmalar son yıllarda oldukça hız kazanmıştır.

Bu çalışma genetik polimorfizm-intihar ilişkisini araştıran bir çalışma olacaktır. Bu ilişkiyi araştırırken seştiğimiz aday gen prion genidir. Prion geninin ürettiği prion proteininin anormal formunun beyinde birikmesi sonucunda nörodejeneratif hastalıklara neden olması, bu proteinin normal formunun görevlerinin henüz tam olarak bilinmemesi ve canlı için çok önemli görevleri olabileceği görüşü, intihar ve prionun bitkiler ve mantarlar gibi canlılarda görülmemesi, intiharın genetik boyutu olması gibi nedenlerden dolayı aday gen olarak prion geni seçilmiştir. Aday gen olarak seçilen prion geni ve bu gen üzerinde yer alan polimorfizmler ile intihar davranışı arasında bağlantı araştırılacaktır.

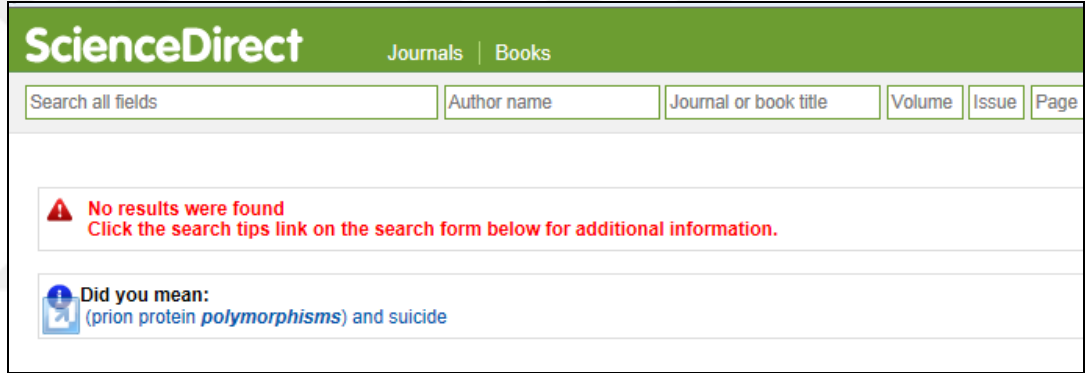
İntihar davranışı ile prion protein polimorfizmleri arasında ilişki tespit edilmesi ile bu konuyla ilgili yapılacak çalışmalara öncü olabilecek bir araştırma ortaya konmuş olacaktır. Bu tez ile aday gen olan prion geni üzerinde yer alan polimorfizmler ve davranış arasında ilişki olduğu sonucuna ulaşılırsa bu çalışma intiharla ilgili olduğu düşünölen özellikle serotonerjik sisteme ait diğer genlerle birlikte çalışılarak kapsam daha genişletilebilecektir. Bu çalışma sonucunda herhangi bir ilişkiye ulaşılmaması durumunda ikinci amaç olan nvCJD hastalığına yatkınlık/dirençlik durumunu ortaya koyan bir çalışma sunulmuş olacaktır. Prion geni üzerinde yer alan polimorfizmler ile intihar davranışı arasındaki ilişkiyi araştıran bir proje daha önce yurt içi ve yurt dışında yapılmamıştır.

Bu tezin konusu ile ilgili Pubmed ve ScienceDirect veritabanlarında yapılan araştırmalarda “prion protein polymorphisim and suicide” anahtar sözcükleri ile **yapılan taramalarda hiçbir kayıt bulunamamıştır.**

Şekil 6: PubMed Tarama Sonuç Ekranı (Görülme tarihi:14/04/2019)



Şekil 7: ScienceDirect Tarama Sonuç Ekranı (Görülme tarihi:14/04/2019)



6. MATERYAL, METOT VE YÖNTEM

Çalışma için 50 (elli) kişilik intihar grubu ve 50 (elli) kişilik kontrol grubu seçilmiştir. Denekleri oluşturan grup için Adli Tıp Kurumu'nun bilimsel kurul kararıyla intihar oldabileceği ihtimali yüksek olan ası yöntemi ile intihar ettikleri düşünülen ve otopsi işlemi yapılmış yüz kişiden kan örnekleri alınmıştır.

Kontrol grubu için ise cinsiyet açısından en az 25'er erkek ve bayandan oluşan 20 ile 65 yaş arasındaki daha önce intihar girişiminde bulunmadığını bildiren 50 (elli) kişilik grup oluşturulmuştur. Kişilerden alınan kan örnekleri üzerinde moleküler genetik inceleme yapılabilmesi için her bireyden onamı alınmıştır. Bireylerden alınan kanlar 2 ml'lik EDTA'lı kan tüplerine alınmıştır. Elde edilen kan örneklerine 1) İzolasyon: DNA'nın hücrelerden elde edilmesi, 2)

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu): DNA'nın çoğaltılması ve 3) Sekans Analizi: Çoğalmış bölgedeki DNA'nın dizi analizi uygulanmıştır.

Çalışmanın yürütülmesine bireylerden kan örnekleri alınması işlemi ile başlanmış olup Adli Tıp İzmir Grup Başkanlığı'nda görevli personelden onam formu ile onayları alınarak 2 ml.'lik EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınmıştır, bu kan örneklerine sırasıyla izolasyon, PCR, sekans analizi işlemleri uygulanmış olup izolasyon aşamasından sonraki PCR, sekans analizi işlemleri ve bilgisayar programına dayalı verilerin yorumlanması ile çalışma tamamlanmıştır.

6.1 Kan Örneklerinin Toplanması

Kan örneklerinin deney grubunu oluşturan intihar etmiş olduğu düşünülen bireyler ve kontrol grubu olan yaşayan bireyler olduğundan daha önce bahsedilmişti. Deney grubunu oluşturan intihar etmiş bireyler, İstanbul Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi'ne savcılık veya mahkemelerden otopsi yapılmak üzere gönderilmiş ası nedeniyle öldüğü düşünülen bireylerdir. Adli Tıp Kurumu Bilimsel Kurulu'ndan verilen karar doğrultusunda, kan örnekleri, otopsi esnasında adli tıp uzmanı gözetiminde otopsi teknisyenleri ve asistanlar tarafından 2 ml'lik kanın pıhtılaşmasını önleyici mor kapaklı EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit)'li tüplere alınmıştır. Alınan tüpler izolasyon işlemine kadar -20 °C'de numaralandırılmış şekilde ve otopsi salonunda bireye özgü verilerin doldurulduğu formlarıyla birlikte muhafaza altına alınmıştır. Daha sonra bu kan örnekleri buz aküleriyle desteklenerek İzmir Ege Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir ve örnekler -20 °C'de muhafaza altına alınmıştır. Kontrol grubu için ise elli kişiden, deney grubu ile aynı özellikteki tüplere aynı miktarda kan, Ege Üniversitesi Etik Kurulu'ndan alınan kararla toplanmıştır. Alınan kan örneklerine uygulanacak ilk işlem DNA'nın hücreden ayrılması işlemi yani izolasyondur.

6.2 İzolasyon, İnsan Kanından Genomik DNA Eldesi

Hücrenin çekirdek DNA'sının elde edilebilmesi için öncelikle hücre duvarının parçalanması gerekmektedir. Parçalama işlemi fiziksel veya kimyasal yolla yapılabilir. Fiziksel olarak ısıya maruz kalan hücrelerin duvarları kimyasal maddelerinde yardımıyla parçalanır. Bu kimyasal maddelerin içeriğindeki tuz, hücre duvarından geçer, proteinlerin DNA'dan ayrılmasını sağlar. Deterjanlar ise hücre duvarına ait geçirgenliğini arttırmaları böylece hücre içeriği serbest kalmış olur. EDTA ise magnezyumun bağlanmasını, DNaz aktivitesinin durdurulmasını sağlar. Bu sayede DNA kararlı halde kalabilir. (EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit): 2+ değerlikli iyonları bağlayıcı özelliği sahiptir. Bunun yanında Proteinaz K ve deterjanlar kullanılarak hücrelerin parçalanması ve inhibitörlerin tutulması sağlanır. Lizis aşamasında kullanılan kimyasalların nükleaz aktivitesini inhibe eden bir moleküldür). Protein parçalanmasını sağlayan enzimler ise hücre içeriğindeki proteinleri parçalarlar, sonraki basamaklar açısından heterojen olmayan bir karışım meydana gelmiş olur. Bunun dışında hücre içinde bulunan RiboNükleikAsitlerinde bu ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Bunu sağlayabilmek için ise RNaz enzimi kullanılmaktadır. DNA'nın hücreden eldesi yani izolasyondan sonrasındaki aşama DNA'nın çoğaltılması aşaması olan Polimeraz Zincir Reaksiyonudur. İzolasyon Aşamasında Adli Tıp İzmir GRUP Başkanlığı Biyoloji İhtisas Dairesinde bulunan BioRobot M48 cihazı ve MagAttract DNA Blood Mini M48 Kit kullanılmıştır.

Şekil 8: BioRobot M48 izolasyon cihazı



BioRobot M48, 6 ile 48 örnekten otomatik DNA izolasyonu yapabilen bir sistemdir. Hücrelerin parçalanması, nükleik asitlerin silika kaplı MagAttract partiküllerine bağlanması, mıknatıs kullanarak kontaminantların uzaklaştırıldığı yıkama basamağı ve DNA'nın partiküllerden ayrılarak saf halde elde edilmesini sağlayan elüsyon basamakları otomatik olarak gerçekleştirilir. Bu sistemde 20 dakikada 6 örnek ve 2.5 saatte 48 örnek çalışılabilmektedir.

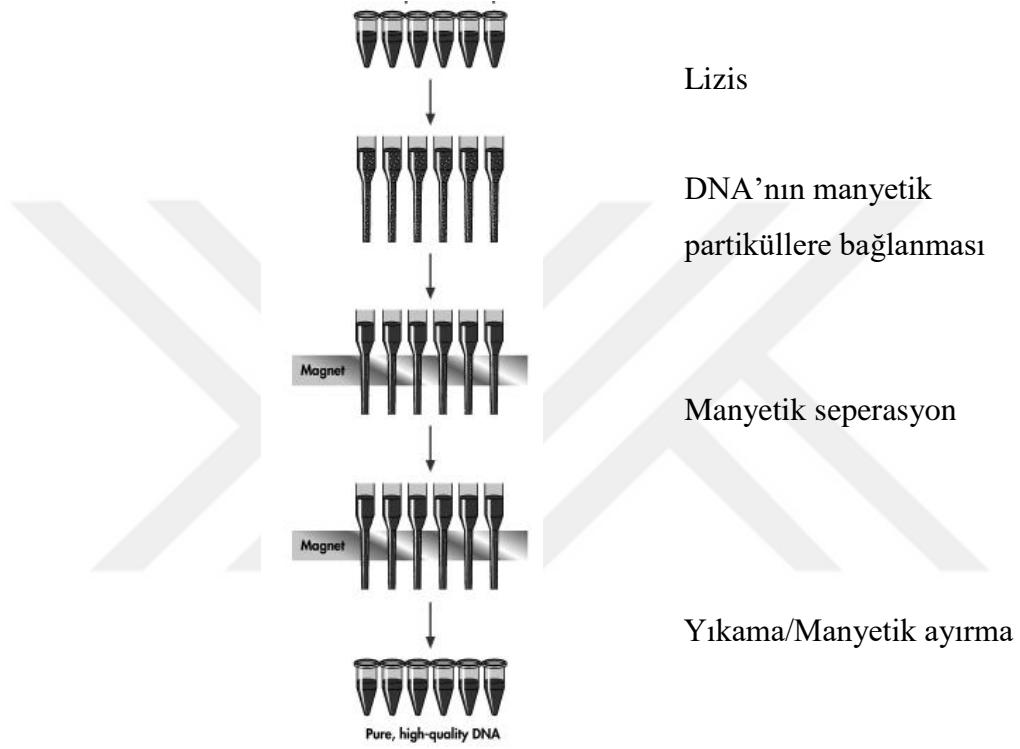
a) Liziz aşaması: Örnekteki hücrelerin kullanılan proteaz enzimleriyle parçalanması aşamasıdır. Proteinaz K proteinleri yapıtaşları olan amino asitlere indirgeyen proteolitik bir enzimdir. Özellikle DNA'yı sıkı bir şekilde hücre içinde bağlı tutan histon gruplara etki eder. Proteinaz K'nın enzim aktivitesi yaklaşık 2 saat sürer ve sonrasında kendi kendini sindirir.

b) Bağlanma: Lizat içersindeki DNA moleküllerinin kit içeriğindeki silika kaplı manyetik partiküllere bağlanmasıdır.

c) Yıkama: Manyetik partiküllere bağlı DNA molekülü dışındaki tuz ve kimyasalların uzaklaştırılmasıdır.

d) Elüsyon: DNA molekülünün su içerisinde çözünerek manyetik partiküllerden ayrılması ve yüksek kalitede saf DNA'nın temiz bir tüp içerisinde aktarılmasıdır.

Şekil 9: İzolasyon Aşamaları



Biorobot M-48 İzolasyon Cihazında izolasyon işlemi uygulanırken kullanılan reaktif maddeler:

MagAttrac Kit: MW1 Buffer, MTL Buffer, RNase-free Water, MagAttract Suspension-B, Proteinaz-K, G2 Buffer, Proteinaz-K (10 ml ambalaj), DTT, Distile su, Etanol.

G2 Buffer: Buffer guanidin temelli bir çözeltilidir. Guanidin DNA'nın kolon membranına bağlanması için gerekli şartların oluşmasına yardım eder.

Proteinaz-K: Proteinaz K hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasındaki glikozidik bağları hidroliz etmektedir. Proteinaz K'nın enzim aktivitesi yaklaşık 2 saat sürer ve sonrasında kendi kendini sindirir.

MW1 Buffer: Kit içerisinde çıkan MW1 buffer içerisine 26 ml etanol eklenir. Kit harici satın alınan 10 ml ambalajdaki Proteinaz-K 1,5–2 ml olarak tüplere dağıtılır oda sıcaklığında saklanır.

6.3 İzolasyon işleminde kullanılan cihaz ve aletler:

BioRobot M48, Filtreli, steril otomatik pipet ucu 1000 µl, Vorteks cihazı, Santrifüj cihazı, Buzdolabı +4°C,-20 °C, Isıtıcı blok ya da Thermo Mikser cihazı, Otomatik Pipet ve filtreli, steril otomatik pipet ucu; M48 Starter Pack sarf malzemeleri: Reagent Containers, 1000 µl Filter Tip, 1,5 ml. kapaklı tüp, 1,5 ml. kapaksız tüp, 42 well Sample Preparation Plates.

İnceleme esnasında kullanılacak cihazların kullanıma hazır olup olmadığı kontrol edilmiştir, reaktifler ile sarf malzemelerin eksiksiz ve miat problemi olup olmadığı kontrol edilmiştir. Çalışma esnasında örnek aktarılmasında ve reaksiyon aşamasında kullanılacak tüplerin karşılaştırması yapılmıştır ve kontrollü bir şekilde üzerleri yazılmıştır. Cihaz üzerinde kontaminasyona sebep olabilecek her türlü etken düşünülerek temizlik yapılmıştır, çalışmanın kontrolü için, deneyin doğruluğunu test etmek amacı ile pozitif, negatif kontrol çalışmaları yapılmıştır.

6.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR veya PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction) DNA içerisinde yer alan, dizisi bilinen iki dizi arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan tepkimelere verilen isimdir. Nükleik asitlerin tüp içerisinde uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanmaktadır. 3 aşamadan oluşur;

Denatürasyon (Ayrılma): İlk aşama olan denaturasyon aşamasında DNA molekülünün çift zincirli yapısı yüksek ısı yardımıyla birbirinden ayrılır. Çoğunlukla 94°C- 97°C sıcaklığında 15-60 saniye süresince uygulanır. İlk denatürasyon tek döngü olarak 15 dakikaya kadar uygulanır. Bu sıcaklık ve süreler birbirinden farklılıklar gösterebilir.

Annealing (Bağlanma): Denatürasyondan sonraki aşama Annealing aşamasıdır. Denaturasyon aşamasını takiben oligonükleotit primerler, daha düşük ısılarda, ayrılmış olan tek zincirli DNA üzerinde kendilerine eş olan bölgelere bağlanırlar. Bu olay genellikle 47°C- 60°C arasında 30-60 saniyede gerçekleşir.

Elongasyon (Uzama): Son aşama ise Elongasyon aşamasıdır. Isı 72°C'ye kadar artırılır. Böylece DNA polimeraz enzimi tamamlayıcı DNA zincirini uzatır. Elongasyon basamağının süresi kullanılan polimerazın cinsine ve amplifiye edilecek DNA'nın uzunluğuna göre 30 saniye ile 3 dakika arasında değişir. Böylece PCR tamalanmış olur.

Bu çalışmada PCR işlemiyle PrP kodlama bölgesinin çoğaltılmasında aşağıda belirtilen primer dizileri kullanılmıştır. Enzim olarak Thermo fisher markasının Dreamtaq PCR Master Mix karışımı kullanılmıştır.

Human PRNP primer

03.2019

GenBank: BC022532.1

Product length 864

Forward primer 5'-AGAGCAGTCATTATGGCGAA-3' (Dizide sarı renk ile gösterilmiştir)

Reverse primer 5'-AGACACCACCACTAAAAGGG-3' (Dizide yeşil renk ile gösterilmiştir)

```

1  agtcgctgac agccgcggcg ccgcgagctt ctctctcct caccaccgag agcagtcatt
61  atg'gcgaacc ttggctgctg gatgctgggt ctctttgtgg ccacatggag tgacctgggc
121 ctctgcaaga agcgcgccgaa gcctggagga tggaaactg ggggcagccg ataccggggg
181 cagggcagcc ctggaggcaa ccgctaccca cctcagggcg gtggtggctg ggggcagcct
241 catggtggtg gctgggggca gcctcatggt ggtggctggg ggcagcccca tgggtggtgc
301 tggggacagc ctcatggtgg ttgctggggt caaggaggtg gcaccacag tcagtggaac
361 aagccgagta agccaaaaac caacatgaag cacatggctg gtgctgcage agctggggca
421 gtggtggggg gccttggcgg ctacgtgctg ggaagtcca tgagcaggcc catcatacat
481 ttcggcagtg actatgagga ccgttactat cgtgaaaaca tgcaccgtta cccaaccaa
541 gtgtactaca ggcccatgga tgagtacagc aaccagaaca actttgtgca cgactgcgct
601 aatatcacia tcaagcagca cacggtcacc acaaccacca aggggggagaa cttcaccgag
661 accgacgtta agatgatgga gcgcgtggtt gagcagatgt gtatcaccca gtacgagagg
721 gaatctcagg cctattacia gagaggatcg agcatgttcc tcttctctc tccacctgtg
781 atctctctga tetctttcct catcttctg atagtgggat gaggaaggte ttctgtttt
841 caccatcttt ctaatcttt tccagcttga gggaggcggg atccacctgc agcccttta
gtggtggtg ctcaactttt

```

atg-Başlangıç kodonu

tga-Bitiş kodonu

Tablo 2: PCR Cycle-Döngü Koşulları

Aşama	Sıcaklık	Zaman	Döngü (Cycle)
Başlangıç Denaturasyonu	95 °C	3 dk	1
Denaturasyon	95 °C	30 sn	35
Annealing	55 °C	30 sn	
Elongasyon	72 °C	1 dk	
Son Elongasyon	72 °C	1 dk	1
Bekleme	4 °C	∞	-

6.5 Sekans Analizi

Elektroforez, %1'lik agaroz jel elektroforezinde PCR ürünleri yürütülmüştür ve çoğaltılan gen bölgelerinin doğruluğu belirlenmiştir. PCR örnekleri Sanger ABI 3730XL sekans cihazıyla sekanslanmıştır. Dizilemede 864 bp'lik ürün çoğaltılmıştır. Sadece Forward primer kullanılarak tek yönlü dizileme yapılmıştır.

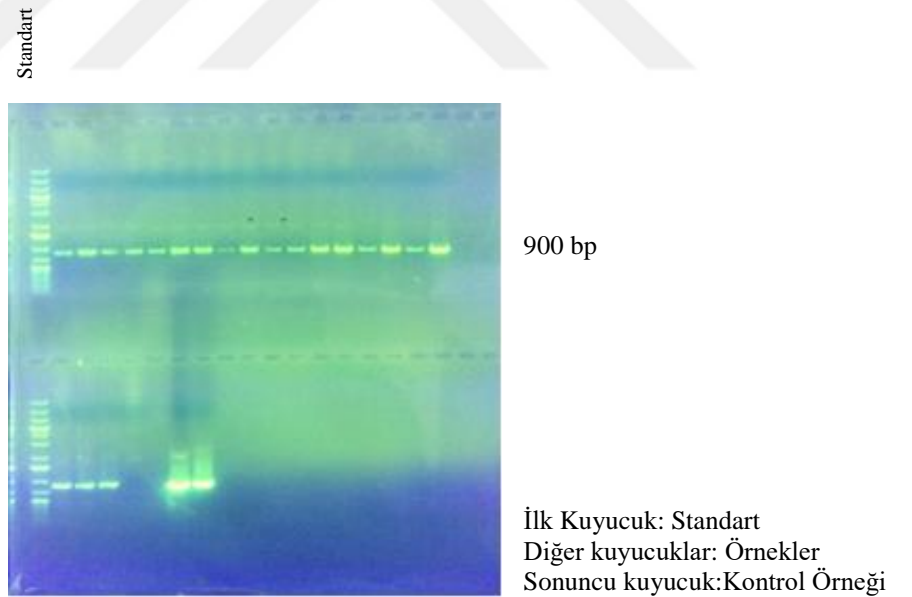
7. BULGULAR VE ÖNERİLER

7.1 Bulgular

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), istenen bölgenin spesifik olarak ardışık reaksiyonlarla defalarca kopyalanmasını sağlayan etkili bir yöntemdir. PCR'nin başarısında kaliteli ve temiz bir DNA örneği, kullanılan DNA polimerazın kalitesi ve tamponun oranlarının iyi ayarlanmasının yanı sıra, primerlerin seçici bağlanması önemlidir. Primerler hedeflenen bölgelerle seçici şekilde bağlanmalı ve genomun diğer bölgelerine bağlanmamalıdır. Bu çalışmada kullanılan primerler 55 derecede sağlıklı olarak çalışmış, PCR programı aşağıdaki gibi uygulanmıştır; 95 °C de 3 dk başlangıçta DNA'nın denatüre edilmesi için, ardışık

olarak 30 döngü içerisinde yer alacak şekilde yine DNA'nın denatürasyonu için 95 °C de 30 saniye, ardından primerin DNA'ya bağlanmasını sağlamak üzere 55°C de 30 saniye, ardından DNA polimeraz için çalışma ısısı olan 72 °C de 1 dakika ve PCR'yi tamamlamak üzere yine 72 °C de 10 dakikalık bir son uzatma süresi verilmiştir. PCR'nin döngüsü ilk başta 30 döngü olarak belirlenmiştir. Bu PCR ürünlerinin %1 lik agaroz jel üzerinde görüntülenmesi sonucu DNA bantlarının istenen düzeyde belirgin olmadığı görülmüş ve bir sonraki programda PCR döngü sayısı 35'e çıkarılmıştır. Bu deneme sonucunda istenen kalitede DNA bantları elde edilmiş ve DNA dizilemesine uygun olan PCR ürünlerinin saptandığı görülmüştür. Elde edilmiş olan kaliteli ve DNA dizi analizine uygun PCR ürünlerinin %1 lik agaroz jel üzerindeki görüntüsü Şekil 10: PCR çalışması sonrasında elde edilen jel elektroforez görüntüsü'nde görülmektedir.

Şekil 10: PCR çalışması sonrasında elde edilen jel elektroforez görüntüsü



Elde edilen PCR ürünleri agaroz jel üzerinde görüntüledikten ve kaliteli oldukları belirlendikten sonra PCR sırasında oluşmuş olan nükleotid kalıntıları arındırılmış ve dizileme işlemine gönderilmiştir.

7.1.1. Elde edilen DNA dizileri

PCR sonrasında elde edilen insan prion geni kodlama yapan bölgesine ait DNA kısımları kapiller sistemle çalışan DNA dizileme cihazı ile dizilenmiştir. Elde edilen DNA dizilerinin kalitesi FİNCH TV (Version 1.5.0) programıyla yapılmıştır. Diziler arasındaki polimorfizm farklarını görmek için MEGAX programı kullanılmıştır. MEGAX programı ikili ve çoklu karşılaştırmalar yaparak diziler arasındaki tek nükleotid farklılıklarını, delesyonları ve insersiyonları gösterme özelliğine sahip bir biyoinformatik programdır. Şekil 11: MEGAX programının bir görüntüsü görülmektedir.

Şekil 11: MEGAX programının bir görüntüsü

Species/Abbrev	Group Name
1. 14_21290_FRNF	
2. 13_21290_FRNF	
3. 11_21290_FRNF	
4. 10_21290_FRNF	
5. 9_21290_FRNF	
6. 8_21290_FRNF	
7. 7_21290_FRNF	
8. 6_21290_FRNF	
9. 5_21290_FRNF	
10. 4_21290_FRNF	
11. 3_21290_FRNF	
12. 2_21290_FRNF	
13. 1_21290_FRNF	
14. 27_21290_FRNF	
15. 26_21290_FRNF	
16. 25_21290_FRNF	
17. 24_21290_FRNF	
18. 23_21290_FRNF	
19. 22_21290_FRNF	
20. 21_21290_FRNF	
21. 20_21290_FRNF	
22. 19_21290_FRNF	
23. 18_21290_FRNF	
24. 16_21290_FRNF	
25. 15_21290_FRNF	
26. k3_21290_FRNF	
27. k2_21290_FRNF	
28. k1_21290_FRNF	

MEGAX programı ile çalışma sırasında intihar grubu ve kontrol grubundan ikişer örneğin değerlendirilmek için gerekli kaliteye sahip olmadığı görülerek değerlendirme dışı bırakılmıştır. Bu örneklerde gerek PCR ile çoğaltılan diğer dizi kısımlarını ve gerekse 129. kodondaki dizileri okumak mümkün olmamıştır. Elde edilen diziler temel olarak üç grup altında sınıflandırılabilir. Bunlar;

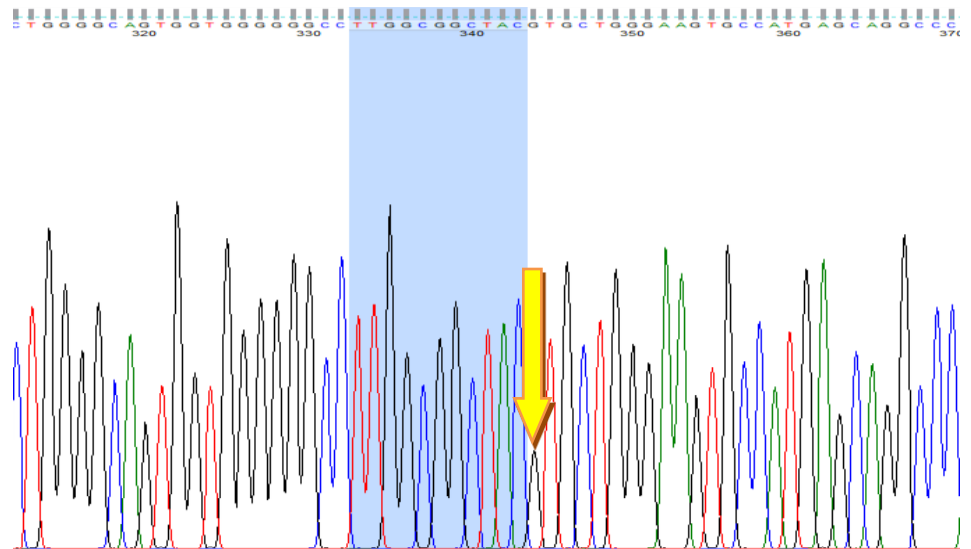
1. 129. kodonunda ATG bulunan ve Methionin şifreleyen diziler. Bu DNA dizilerine sahip bireyler hem annelerinden hem de babalarından 129. kodon için ATG almış bireylerdir.

2. 129. kodonunda GTG bulunan ve Valin şifreleyen diziler. Bu DNA dizilerine sahip bireyler hem annelerinden hem de babalarından 129. kodon için GTG almış bireylerdir.

3. grupta ise heterozigot olan bireyler olup 129. kodonda hem ATG hem de GTG bulunduran bireylerdir. Bu bireyler 129 kodon bakımından heterozigot özellik taşımaktadırlar. Her üç tip DNA dizisi; Şekil 12: Homozigot GTG bir bireye ait DNA dizi sonucu, Şekil 13: Homozigot ATG bir bireye ait DNA dizi sonucu ve Şekil 14: Heterozigot bir bireye ait DNA dizi sonucu'nda gösterilmiştir. Ayrıca 129. kodonu kodlayan dizileri figür üzerinde görmek mümkündür. DNA dizileri üzerinde yeşil renk A (adenin), kırmızı renk T (Timin), siyah renk G (Guanin) ve mavi renk C (sitozin)'yi temsil eder.

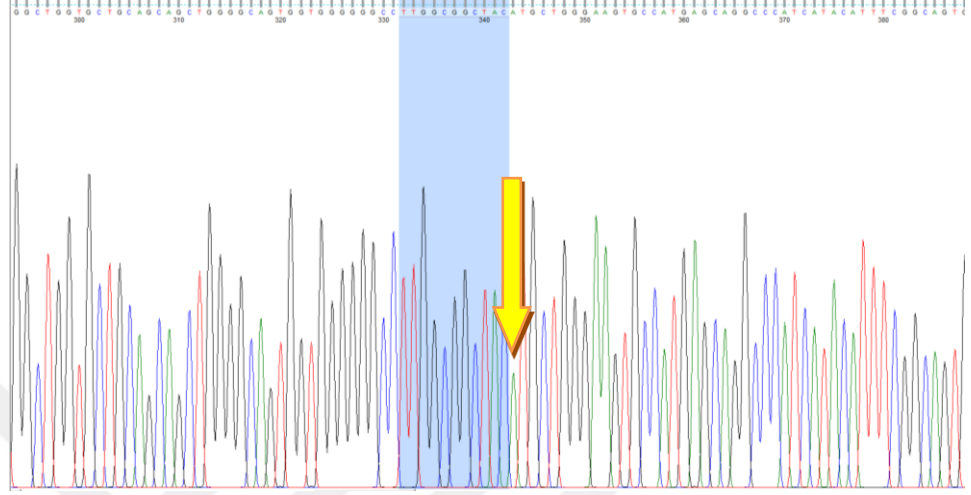
İntihar ettiği düşünülen deney grubunda yer alan örneklerden ikisine ait aşağıdaki sekans analizi elektroforegramında 129. kodonda sırasıyla GTG ve ATG homozigotluk görülmektedir.

Şekil 12: Homozigot GTG bir bireye ait DNA dizi sonucu



Açıklama: Finch TV programında kromotogram görüntüsü

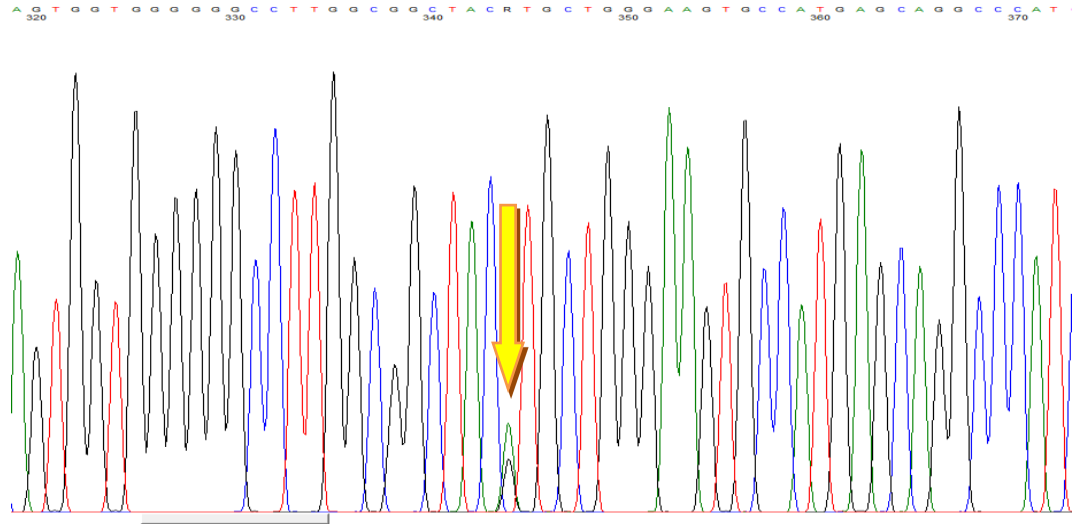
Şekil 13: Homozigot ATG bir bireye ait DNA dizi sonucu



Açıklama: Finch TV programında kromotogram görüntüsü

Kontrol grubunda yer alan örneklerden birisine ait aşağıdaki sekans analizi elektroforegramında 129. kodonda heterozigotluk görülmektedir.

Şekil 14: Heterozigot bir bireye ait DNA dizi sonucu



Açıklama: Finch TV programında kromotogram görüntüsü

7.1.2. Allel ve genotipler

MEGAX programı ile karşılaştırılıp analiz edilen intihar grubu ve kontrol grubu bireylere ait insan *PRNP* geni kodlama yapan dizi bölgelerinin ortaya çıkardığı farklı allel ve genotipler doğrudan sayım yöntemiyle saptanmıştır. MEGAX programı ile karşılaştırılıp analiz edilen intihar grubu ve kontrol grubu bireylere ait insan *PRNP* geni kodlama yapan dizi bölgelerinin analizi sonucu elde edilen farklı allel ve genotipler farklı renklendirilmiş olarak Şekil 15: Allel ve genotiplerin intihar grubu ve kontrol grubunda dağılımları'nda gösterilmiştir. Tabloda homozigot Valin yapısı gösteren örnekler pembe, homozigot Methionin yapısı gösteren bireyler yeşil, heterozigot olan bireyler ise sarı zeminle belirgin hale getirilmişlerdir. Ayrıca araştırmada değerlendirmeye alınmayacak kadar kalitesiz olan örnekler kırmızı zemin üzerine yazılarak belirgin hale getirilmişlerdir.

Dizileme sonuçlarında sadece M129V değişimi gözlemlenmiştir. Geri kalan tüm kısımların tamamının korunmuş olduğu görülmüştür.

Şekil 15: Allel ve genotiplerin intihar grubu ve kontrol grubunda dağılımları

Samples_case	129.codon (387.nucleotide)	Samples_control	129.codon (387.nucleotide)
1_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k1_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)
2_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k2_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
3_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k3_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
4_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)	k4_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
5_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k5_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
6_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k6_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
7_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k7_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
8_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k8_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
9_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k9_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
10_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k10_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)
11_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k11_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)
13_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k12_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
14_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k13_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
15_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k14_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
16_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k15_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
17_21290_PRNP	Problem in sequence (No information)	k16_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
18_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k17_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)
19_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k18_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
20_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k19_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
21_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k20_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)
22_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k21_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
23_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k22_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
24_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k23_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
25_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k24_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
26_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k25_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
27_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k26_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
29_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k27_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
30_21290_PRNP	Problem in sequence (No information)	k28_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
31_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k29_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
32_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)	k30_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
33_21290_PRNP	Homozygous (GTG) (V)	k31_21290_PRNP	Problem in sequence (No information)
34_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k32_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
36_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k33_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
37_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k34_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
38_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k35_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
39_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k36_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
40_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k37_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
41_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k38_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
43_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k39_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
44_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k40_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
45_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)	k41_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
46_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k42_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
47_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k43_21290_PRNP	Problem in sequence (No information)
48_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k44_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
49_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k45_21290_PRNP	Heterozygous (ATG/GTG) (M/V)
50_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)	k46_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)
51_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)		
52_21290_PRNP	Homozygous (ATG) (M)		

7.1.3. İstatistiksel Analizler: Allel frekansları

Deney grubunda dizi analizi sonucunda kalitesiz olan diziler çıkarıldıktan sonra toplam 48 değerdirebilir dizi elde edilmiştir. Bu gruba ait toplam 96 allel sayılmıştır. Toplam 96 allelin 81 adeti Methionin kodlayan diziler iken 15 adeti Valin kodlayan dizilerden oluşmuştur (M=81, V=15). Deney grubunda (intihar ederek yaşamına son vermiş bireylerden oluşan grup) Methionin alleli için frekans 84.37 olarak hesaplanmıştır (M=%84.37). Aynı grupta Valin alleli için ise frekans 15.63 olarak hesaplanmıştır (V=%15.63).

Kontrol grubunda dizi analizi sonucunda kalitesiz olan diziler çıkarıldıktan sonra toplam 44 değerdirebilir dizi elde edilmiştir. Bu gruba ait toplam 88 allel sayılmıştır. Toplam 88 allelin 59 adeti Methionin kodlayan diziler iken 29 adeti Valin kodlayan dizilerden oluşmuştur (M=59, V=29). Kontrol grubunda (rastgele seçilmiş sağlıklı bireylerden oluşan grup) Methionin alleli için frekans 67.04 olarak hesaplanmıştır (M=%67.04). Aynı grupta Valin alleli için ise frekans 32.96 olarak hesaplanmıştır (V=%32.96).

Genotip frekansları, Deney grubunda toplam 48 adet genotip saptanmıştır. Toplam 48 adet genotipin 3 adedi Val129Val olarak gözlemlenmiştir. Yine aynı grupta Met129Met bireylerin sayısı 36 olarak saptanmıştır. Deney grubunda heterozigot bireylerin (Val129Met) sayısı ise 9 olarak saptanmıştır. Deney ve kontrol grubunun genotip frekansları aşağıdaki gibi saptanmıştır.

Deney Grubu (İntihar Eden Bireyler):

VV+MV=12 (%25),

MM=36 (%75)

Kontrol Grubu (Sağlıklı Bireyler)

VV+MV=24 (%54.54),

MM=20 (%45.46)

	Deney Grubu (İntihar Edenler)	Kontrol Grubu (Sağlıklı Bireyler)	(Hardy-Weinberg) P değeri
Allel			0.006
M	81	59	
V	15	29	
Genotip			0.014
MM	36	20	
MV	9	19	
VV	3	5	

7.2 Öneriler

Bu çalışmada ilk kez Prion geninin 129. Kodonunda var olan Met/Val varyasyonunun intihar etme davranışıyla ilişkisi incelenmiştir. İnceleme sonucunda Prion geninin 129. Kodonundaki Met/Val varyasyonunun intihar etme davranışıyla ilişkili olma ihtimali görülmüştür. Elde edilen sonuç önemli olmakla beraber örnek sayısının sınırlı olması kesin bir yargıya varmayı da sınırlamaktadır.

Bu çalışmanın daha geniş örnek popülasyonunda tekrar edilmesi genetik faktörlerin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Ayrıca intihar davranışının nedenleri ve önlenmesi açısından farklı aday genleri ile bağlantısının olup olmadığını ortaya koyacak çalışmalar intihar konusunda daha çok veri ortaya koyacaktır.

8. TARTIŞMA

Bu çalışmada ilk kez literatürde adı geçen genler dışında bir gen olan Prion geni intihar grubunda analiz edilmiş ve allel ile genotip frekanslarında önemli farklılık bulunmuştur. Bu çalışma Prion geninin de intihar araştırmalarında diğer genlerin yanı sıra önemli bir gen olduğunu ortaya koymaktadır.

Bugüne kadar intihar etme davranışının genetiği ile ilgili yapılan çalışmalar sonucu SLC6A4, MAOA, TPH1 ve TPH2 gibi genler aday genler olarak belirlenmiştir ve bu genler üzerinde yer alan polimorfizmler ile intihar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sonuç olarak TPH1 geninde bulunan rs1800532'deki minör allelin 35 yaştan küçük erkek ve 50 yaşından büyük kadınlarda intihara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda SLC6A4 üzerindeki 5HTTLPR ve yaş arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Orta yaş grubunda uzun allel ya da yüksek ekspresyonun olmasının intihara karşı koruyucu etkiye eğilimi sağladığı gösterilmiştir (Buttenschön et al., 2013).

Genetik polimorfizm ve intihar davranışı üzerine Japonya'da yapılan bir çalışmada ise beynin nöronal gelişiminde önemli bir faktör olan BDNF faktörü oluşturan BDNF geni polimorfizmi ve intihar ilişkisi araştırılmıştır. Gen üzerinde yer alan 66. kodonda Met/Val (Val66Met) araştırılmıştır. Araştırma için 307 intihar eden birey ve 380 sağlıklı birey seçilmiştir. Asya popülasyonunda, Met-... allel, intihar girişimi ile ilişkili bulunmuştur fakat tamamlanmış intihar ile ilişkisi

tespit edilememiştir. Kodon 66 (Val66Met) depresif hastalarda intihar davranışı ile ilişkili bulunmuştur. Bipolar bozukluk ve şizofren hastalarında ise intihar davranışı ile ilgili değil intihar girişimi ile ilişkili bulunmuştur (Woraphat Rattapha et al., 2013).

Prion geninin 129. kodonunda da *BDNF* geninin 66. kodonda olduğu gibi Met/Val (Val66Met) varyasyonu söz konusudur. Ve benzer şekilde Met alleli intiharla ilişkili görünmektedir. Türkiyede bu çalışmanın daha yüksek sayıda örnekle tekrar edilmesi intihar genetiğinin deşifre edilmesinde önemli rol oynayacaktır.

İntihar girişimi ve oksitosin ile ilişkili gen polimorfizmleri başlıklı çalışmada oksitosin reseptör genindeki bir tek nükleotid polimorfizmi, rs53576, ve oksitosin salgılanmasını düzenleyen CD38 genindeki tek nükleotid polimorfizmi, rs3796863, depresyon ve intihara girişim ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmada bu iki SNP'nin intihar girişimi tarihi ile ilişkisi araştırılmıştır. Denekleri majör depresif bozukluğu olan depresif erişkinlerden ya da bipolar hastası kişilerden seçmişlerdir. Sonuç olarak rs53576'nın A allelinin intihar girişimi geçmişi ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. rs3796863 genotipinin intihar girişimi riski üzerindeki ayırıcı etkisini tanı ile tespit etmişlerdir. Bipolar bozukluk hasta gruplarında, CC ve AC genotipleri, AA'ya kıyasla daha yüksek intihar girişimi olasılığı ile ilişkilendirilirken, majör depresif bozukluğu olan depresif erişkinlerde, AC deneklerinin CC deneklerinden daha fazla teşebbüse yatkın olduğu görülmüştür.

Japonya'da yapılan bir çalışmada Japon popülasyonunda intihar eden bireyler ile EP1 gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hem çevresel hem de genetik faktörlerin intihar davranışlarında rol oynadığı bildirilmiştir. Dikkat çekici kanıtlar, itici saldırganlığın intihara katkıda bulunan önemli risk faktörlerinden biri olduğunu göstermektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmanın, prostaglandin E2 tip 1 reseptörü (EP1) sinyalinin, hem sosyal hem de

çevresel stresler altında farelerde dürtüsel-agresif davranışları düzenlediğini gösterdiği belirtilmiştir. EP1 geninin intihara olası katılımını test etmek için, Japon populasyonunda intihar tamamlayıcılarla EP1 gen polimorfizmlerinin birleşme çalışmasını yapılmıştır. 374 sağlıklı kontrol grubu ve 287 intihar eden bireyde ekson 2'de bir SNP (rs3745459) ve EP1 geninin potansiyel promotor bölgesinde (rs3810255, rs3810254, rs3810253 ve rs10416814) Taqman 3700 standart testinde kullanılan 5 SNP incelenmiştir. Sonuç olarak kontroller ile intihar eden bireyler arasında genotipik dağılım, allel frekans veya haplotip dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Cinsiyete dayalı analizlerin rs3810255, rs3810254, rs3810253 ve rs10416814 SNP'lerin genotipik, alelik ve haplotipik dağılımlarının, kadın kontrol grubu ile kadın intihar grupları arasında önemli ölçüde farklı olduğunu ortaya koyduğu belirtilmiştir.

Japonya'da yapılan bir başka çalışmada Noradrenerjik sistem anomalilerinin intiharla ilişkili olduğunun öne sürüldüğü belirtilmiştir. Postmortem beyin çalışmaları, α 2A-adrenerjik reseptör kaynaklı sinyal iletiminde moleküler ve fonksiyonel değişikliklerin, intihar ve depresyon ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Çalışmanın amacının, ADRA2A geninin genetik varyantlarının bir Japon populasyonunda intihar ile ilişkili olup olmadığını tespit etmek olduğu belirtilmiştir. ADRA2A geninde üç SNP, C-1291G, N251K ve rs3750625 polimorfizmi, 184 tamamlanmış intihar eden bireyde ve 221 kontrol deneğinde polimeraz zincir reaksiyonu ve RFLP metodu ile genotiplenmiştir. Çalışma sonuç olarak, ADRA2A genindeki promotor genetik polimorfizminin kadınlarda intihar veya şiddetli intihar ile ilişkili olma olasılığını arttırmıştır.

Bir başka çalışma Interleukin (IL)-8 genindeki üç tek nükleotit polimorfizmleri ile intihar davranışı arasındaki ilişkiyi araştırmak üzerine yapılmıştır. İnterlökin (IL) -8, nöroprotektif etkileri olan intihar etmiş bireylerde düşük serum konsantrasyonları saptanmış olan bir kemokindir. Yapılan çalışmada soft intihar yöntemleriyle intihar girişiminde bulunan 229 kişi, 235 intihar eden birey ve herhangi bir psikiyatrik bozukluk ya da intihar girişimi olmayan 290

kişide IL-8 geni içinde üç tek nükleotid polimorfizmi (SNP) (rs4073, rs2227306 ve rs1126647) araştırılmıştır. rs4073'ün T aleli, hem kontrol hem de tamamlanmış intihar gruplarına kıyasla intihar girişimi grubunda anlamlı olarak fazla tespit edilmiştir. Bu SNP hem dominant hem de kodominant modellerde intihar girişimi ile ilişkilendirilmiştir. Diğer SNP'lerin genotip ve allel frekansları üç çalışma grubu arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Tamamlanmış intihar grubunda, intihar girişimi grubu ile karşılaştırıldığında, TCA haplotipi (sırasıyla rs4073, rs2227306 ve rs1126647), anlamlı şekilde daha az saptanmıştır. Ayrıca, ATA haplotip kontrolleri ile karşılaştırıldığında soft intihar girişiminde bulunan bireylerde anlamlı düşük sıklığa sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, bu haplotipin, soft yöntemlerle denenmiş olanlara kıyasla hard yöntemler deneyen bireylerde anlamlı olarak daha yaygın olduğu görülmüştür. Bu çalışma, IL-8 geni ile intihar davranışındaki rolü hakkında daha fazla kanıt sağlamıştır.

Bir başka çalışmada intihar ve MAOA-uVNTR polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırma üzerine yapılmıştır. Bu çalışmada intiharın, iyi tanımlanmış bir halk sağlığı problemi ve genetik olanlar da dahil olmak üzere çeşitli risk faktörlerinden etkilenen karmaşık bir olgu olduğundan bahsedilmiştir. Çok sayıda çalışma serotonin sistemi genlerini incelemiştir. Monoamin oksidaz A (MAOA) da serotonin ile ilgili bir enzimdir ve serotonin bozulmasının metabolik yolunda yer alan bir dış mitokondriyal membran enzimidir. MAOA geninin promotor bölgesindeki yukarı akış değişken sayıdaki tandem tekrarları (uVNTR), transkripsiyon aktivitesini etkilediği bildirilmiştir. Çalışmada, 266 intihar eden bireyde MAOA-uVNTR polimorfizmini ve Avrupa ve dünya nüfusu arasında en yüksek intihar oranına sahip 191 Slovenya popülasyonu çalışmaya alınmıştır. Genotipleme polimeraz zincir reaksiyonu ve agaroz jel elektroforezi ile yapılmıştır. Kadın ve erkek denekler için ayrı bir istatistiksel analiz kullanarak, çalışılan gruplar arasındaki MAOA-uVNTR polimorfizminin genotip dağılımlarındaki farklılıkları belirlenmiştir. Çalışmada istatistiksel analizlerin, 3R allel ve intihar arasında bir eğilim olduğunu gösterdiği belirtilmiştir. Bu

çalışmanın, intihar eğilimi yüksek Slovenya popülasyonunu MAOA-uVNTR polimorfizmiyle ilişkilendiren ilk çalışma olduğu vurgulanmıştır.

Farklı bir çalışma serotonin genleri polimorfizmleri ve intihar arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelik yapılmıştır. İntiharın önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu ve bu çalışmanın amacının, kan örnekleme ile intihar girişimi öyküsü olan hastalarda serotonin reseptörü gen polimorfizmlerinin (rs6313 ve rs6314) görülme sıklığını belirlemek ve gen polimorfizmi ile intihar arasında nedensel bir ilişki olup olmadığını değerlendirmek olduğu belirtilmiştir. Çalışma için gerekli onayları aldıktan sonra, 14 Aralık 2016 ile 31 Temmuz 2016 tarihleri arasında acil servise başvuran intihar girişimi olan 178 hastayı; 174 kontrol denek çalışmaya dahil edilmiştir. Kan örnekleri, rs6313 ve rs6314 polimorfizmleri için test edilmiştir. İntihar öyküsü olan 178 olgunun 116'sı (% 65.2) kadın, 62'si (% 35.8) erkektir. Olgu grubundaki rs6313 polimorfizmleri ile ilgili olarak 40 vakada AA genotipi, 99'unda AG genotipi ve 39'unda GG genotipi tespit edilmiştir. Kontrol grubunda 38 denekte AA genotipi, 91 hastada AG genotipi ve 45 hastada GG genotipi tespit edilmiştir. rs6314 polimorfizmi ile ilgili olarak, vaka grubundaki 176 olguda AG genotip, iki olguda GG genotip, kontrol grubundaki 171 olguda AG genotip ve üç olguda kontrol grubunda GG genotip görülmüştür. Bu çalışma, rs6313 ve rs6314 polimorfizmleri ile intihar davranışı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını göstermiştir.

Bir çalışmada MTHFR C677T polimorfizminin (rs1801133) sayısız psikiyatrik durumla ilişkili olduğu, ancak tamamlanmış intihara yatkın olup olmadığına dair bir araştırma yapılmadığı belirtilmiştir. 692 intihar eden bireyde rs1801133 ve Polonyalı yetişkin nüfusunu temsil eden 3257 kontrol grubu çalışılmıştır. MTHFR 677T allelinin prevalansında veya TT genotipi için intihar edenler ve kontroller arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. MTHFR C677T polimorfizminin tamamlanmış intihar için bir risk faktörü olmadığı sonucuna varılmıştır. rs1801133 ile ölüm yaşı ve kan etanol konsantrasyonu arasındaki

ilişkilerde cinsiyete özgü eğilimlerin daha fazla incelenmesi gerektiği belirtilmiştir.

Serotonin taşıyıcı promotor polimorfizmi ve intihar üzerine bir çalışma Fransa'da yapılmıştır. Serotonerjik disfonksiyonun, duygudurum bozukluklarında ve intihar patofizyolojisinde rol oynadığı belirtilmiştir. Serotonin taşıyıcıyı (5-HTTLPR) kodlayan genin promotorunda, duygudurum bozukluklarıyla ilişkili, fonksiyonel bir polimorfizm intihar ile tutarsız bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Ek olarak, 62 intihar mağduru ve yaş, cinsiyet ve etnik kökene uygun 72 kontrol içeren bir vaka kontrol çalışması tasarlanmıştır. Tüm olgulara adli soruşturma yapıldığı belirtilmiştir. 5-HTTLPR polimorfizmi ile intihar arasında bir ilişki bulunamadığı tespit edilmiştir. Bu sonucun, farklı genlerin umutsuzluk ve intihar davranışında veya depresif hastalıkta yer alması önerisiyle tutarlı olduğu bildirilmiştir.

İntihar ettiği düşünülen bireyler ile sağlıklı bireylere ait materyallerden elde edilen sekans analizi sonuçları ile polimorfizmleri karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar prion geninde 129. kodondaki polimorfizmde (rs1799990) intihar eden bireyler ve kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğunu ortaya koymuştur. Ancak intihar davranışı multifaktoriyeldir, farklı boyutları vardır. Farklı birçok mekanizma intihar davranışı üzerine etkili olabilir.

Yapılan çalışmada sadece M129V polimorfizmi ve geri kalan tüm kısımların konservatif olduğu tespit edilmiştir. Türkiye'de sadece 129. kodonda var olup olmadığı ve nedeni araştırılmalıdır.

9. SONUÇ

İntihar davranışı üzerine özellikle serotonerjik sistemde yer alan genler üzerinde birçok çalışma yapılmış olsa da bugüne kadar etkili bir sonuca ulaşılamamıştır.

Bu çalışmada intihar ettiği düşünölen deney grubunu oluşturan 50 bireyden elde edilen sekans analizi sonuçları ile kontrol grubunu oluşturan 50 sağlıklı bireye ait materyallere prion geni polimorfizmlerini karşılaştırmak amacı ile uygulanan izolasyon, PCR ve sekans analizi sonuçlarında elde edilen veriler karşılaştırıldığında prion geni üzerinde yer alan 129. kodondaki polimorfizmler (rs1799990) kıyaslandığında deney ve kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğu belirlendi.



KAYNAKLAR DİZİNİ

Atan, Y., Akbaba, M., Kul, S., Tataroğlu, Z., Temiz, E., Nacarkahya, G., Arslan A., 2018, Does the serotonin receptor gene (rs6313 and rs6314) polymorphism have a role in suicidal attempts?, *Journal of Forensic and Legal Medicine*, Volume 56, Pages 32-36.

Baldelli, L., Provini F., 2019, Fatal familial insomnia and Agrypnia Excitata: Autonomic dysfunctions and pathophysiological implications, *Autonomic Neuroscience*, Volume 218, May 2019, Pages 68-86.

Beyreuther, K., Masters, C. L., Hill, A. F., 2006, Delineating Common Molecular Mechanisms in Alzheimer's and Prion Diseases. *Trends in Biochemical Sciences*, Vol.31 No.8.

Bianca, M., Bianca, S., Vecchio, I., Raffaele, R., Ingegnosi, C., Nicoletti, F., 2003, Gerstmann–Sträussler–Scheinker disease with P102L–V129 mutation: a case with psychiatric manifestations at onset, *Annales de Génétique*, Volume 46, Issue 4, Pages 467-469.

Blevins, S., M., Bronze, Michael, S., 2010, *International Journal of Infectious Disease*, Robert Koch and the 'golden age' of bacteriology, Volume 14, Issue 9, Pages e744-e751.

Bos, L., 2000, 100 years of virology: from vitalism via molecular biology to genetic engineering, *Trends in Microbiology*, Volume 8, Issue 2, Pages 82-87.

Buttenschøn, H. N., Flint, T. J., Foldager, L., Qin, P., Christoffersen, S., Hansen, N. F., Kristensen, I.B., Mortensen, P.B., Børglum, A. D., Mors,

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

O., 2013, An association study of suicide and candidate genes in the serotonergic system, *Journal of Affective Disorders*, Volume 148, Issues 2–3, Pages 291-298.

Chojnicka, I., Sobczyk-Kopciol, A., Fudalej, M., Fudalej, S., Wojnar, M., Waśkiewicz, A., Broda, G, Strawa, K., Pawlak, A., Krajewski, P., Płoski, R., 2012, No association between MTHFR C677T polymorphism and completed suicide, *Gene*, Volume 511, Issue 1, Pages 118-121.

Choi, S. H., Kim, I.C., Kim, D.S., Kim, D.W., Chae, S.H., Choi, H.H., Choi, I., Yeo, J.S., Song, M.N., Park, H.S., 2006, Comparative genomic organization of the human and bovine PRNP locus, *Genomics*, Volume 87, Issue 5, Pages 598-607.

Collins, S., Mclean, C. A., 2001, Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome, fatal familial insomnia and kuru: a review of these less common human transmissible spongiform encephalopathies, *Journal of Clinical Neuroscience*, Volume 8, Issue 5, Pages 387-397.

Cousyn, L., Grabli, D., Seilhean, D., Azuar, C., Huiban, C., Epelbaum, S., Amar, E. B., Brandel, J. P., Galanaud, D., Ménereta, A., 2018, Cortex, first European case of Creutzfeldt-Jakob disease with a *PRNP* G114V mutation.

Cui, H., Supriyanto, I., Sasada, T., Shiroiwa, K., Fukutake, M., Shirakawa, O., Asano, Yasuhiro Ueno M., Nagasaki, Y., Hishimoto A., 2011, Association study of EP1 gene polymorphisms with suicide completers in the Japanese population, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, Volume 35, Issue 4, Pages 1108-1111.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Dahm, R., 2005, Friedrich Miescher and the discovery of DNA, *Developmental Biology*, Volume 278, Issue 2, 15 February 2005, Pages 274-288.

D'Errico, M., Parlanti, E., Pascucci, B., Fortini, P., Baccarini, S., Simonelli, V., Dogliotti, E., 2017, Single nucleotide polymorphisms in DNA glycosylases: From function to disease, *Free Radical Biology and Medicine*, Volume 107, Pages 278-291.

Erginel-Unaltuna, N1., Peoc'h, K., Komurcu, E., Acuner, TT., Issever, H., Laplanche, JL., 2001, Distribution of the M129V polymorphism of the prion protein gene in a Turkish population suggests a high risk for Creutzfeldt-Jakob disease, *Eur J Hum Genet.* 9(12):965-8.

Fratkin, J. D. and Smith, A. G., 1977, Slow virus infections, *Survey of Ophthalmology*, Volume 21, Issue 4, Pages 356-365.

Fukutake, M., Hishimoto, A., Nishiguchi, N., Nushida, H., Ueno, Y., Shirakawa, KiyoshiMaeda, O., 2008, Association of $\alpha 2A$ -adrenergic receptor gene polymorphism with susceptibility to suicide in Japanese females, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, Volume 32, Issue 6, Pages 1428-1433.

Furuya, K., Kawahara, N., Yamakawa, Y., Kishida, H., Hachiya, N. S., Nishijima, M., Kirino, T., Kaneko, K., 2006, Intracerebroventricular delivery of dominant negative prion protein in a mouse model of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease after dura graft transplantation, *Neuroscience Letters*, Volume 402, Issue 3, Pages 222-226.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Gabor, G., Kovacs, S., Budka, H., 2008, Prion diseases: from protein to cellpathology, The American Journal Of Pathology, volume 172, issue 3, pages 555–565.

Ghani, A. C., Donnelly, C. A., Ferguson, N.M., Anderson, R. M., 2002, The transmission dynamics of BSE and vCJD, Comptes Rendus Biologies, Volume 325, Issue 1, Pages 37-47.

Grzybowski, A., Sak, J., Suchodolska, E., Virmond, M., 2015, Lepra: Various etiologies from miasma to bacteriology and genetics, Clinics in Dermatology, Volume 33, Issue 1, Pages 3-7.

Hardy, J., 1989, Slow virus' dementias: prion gene holds the key, Trends In Neurosciense, Volume 12, Issue 5, Pages 168-169.

Hewitt, P., 2006, vCJD and blood transfusion in the United Kingdom Variant de la maladie de Creutzfeldtt-Jakob et transfusion sanguine au Royaume-Uni, Transfusion Clinique et Biologique, Volume 13, Issue 5, Pages 312-316.

Helbecque, N, Sparks, D. L., HunsakerIII, J. C., Amouyel, P., 2006, The serotonin transporter promoter polymorphism and suicide, Neuroscience Letters, Volume 400, Issues 1–2, Pages 13-15.

Kang, H., Minkim, J., Yeonlee, J., Youngkim, S., Yeolba, K., Wankim, S., Seonshin, I., Rankim, H., Geunshin, M., Yoon, J., 2013, BDNF Promoter Methylation and Suicidal Behavior in Depressive Patients, Journal of Affective Disorders, 151679–685.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Kelman A., Peterson, P. D., 2002, Contributions of plant scientists to the development of the germ theory of disease, *Microbes and Infection*, Volume 4, Issue 2, Pages 257-260.

Kovacs, G. G. and Budka, H., 2008, Prion Diseases: From Protein to Cell Pathology, *The American Journal of Pathology*, Volume 172, Issue 3, Pages 555-565.

Laurent, M., 1997, Autocatalytic processes in cooperative mechanisms of prion diseases, *FEBS Letters*, Volume 407, Issue 1, P.1-6.

Labate, A., Manna, I., Gambardella, A., Le Piane, E., La Russa, A., Condino, F., Cittadella, R., Aguglia, U., Quattrone, A., 2007, Association between the M129V variant allele of PRNP gene and mild temporal lobe epilepsy in women, *Neuroscience Letters*, Volume 421, Issue 1, 21 Pages 1-4.

Leemans, M., 2016, Prion diseases, *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, Volume 17, Issue 12, Pages 641-644.

Luo, X. N., Song, Q., Yu, J., Juan, Song, J., Wang, X., Xia, D., Sun, P., Han, J., 2017, Identification of the internal ribosome entry sites (IRES) of prion protein gene, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Volume 93, Pages 46-51.

MacLea, K.S., 2017, What Makes a Prion: Infectious Proteins From Animals to Yeast, *International Review of Cell and Molecular Biology*, Volume 329, U.S.A., Pages 227-276.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Masoud, H. M., Mehrgardi, A., 2019, Spectrofluorometric genotyping of single nucleotide polymorphisms using carbon dots as fluorophores, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Volume 206, Pages 154-159.

Maderspacher, F., 2004, Rags before the riches: Friedrich Miescher and the discovery of DNA, Volume 14, Issue 15, Page R608

Mehrpour, M., Codogno, P., 2010, Prion protein: From physiology to can

Mok, T. H., and Simon, M., 2017, Prion diseases, *Medicine*, Volume 45, Issue 11, Pages 674-677.

Nishida, N., Katamine, S., Shigematsu, K., Nakatani, A., Sakamoto, N., Hasegawa, S., Nakaoke, R., Atarashi, R., Kataoka, Y. and Tsutomu, M., 1997, Prion Protein is Necessary for Latent Learning and Long-Term Memory Retention, *Cellular and Molecular Neurobiology*. 1997; Vol. 17, No.5.

Noroozi, R., Omrani, M. D., Ayatollahi, S. A. Sayad, A. Ata, A., Fallah, H., Taheri, M., Ghafouri-Fard, S., 2018, Interleukin (IL)-8 polymorphisms contribute in suicide behavior, *Cytokine*, Volume 111, Pages 28-32.

Parris, M. S., Grunebaum, M. F., Galfalvy H.C., Andronikashvili, A., Burke, A. K., Yin, H., Min, E., Huang, Y., Mann, J. J., 2018, Attempted suicide and oxytocin-related gene polymorphisms, *Journal of Affective Disorders*, Volume 238, Pages 62-68.

Paska, A. V., Zupanc, T., Komel, R., 2013, Association Of Methylation Status And Snp Variation Of BDNF And Suicide, *European Psychiatry*, Volume 28, Supplement 1, Page 1.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Peggion, C., Bertoli A., Sorgato, M. C., 2017, Almost a century of prion protein(s): From pathology to physiology, and back to pathology, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 483, Issue 4, Pages 1148-1155.

Pereira, R. M., Mesquita, P., Pires, V. M. R., Baptista, M.C., Barbas, J. P., Pimenta, J., Horta, A. E. M., Prates, J. A. M., Marques, C. C., 2018, Prion protein testis specific (PRNT) gene polymorphisms and transcript level in ovine spermatozoa: Implications in freezability, fertilization and embryo production, *Theriogenology*, Volume 115, 15 July 2018, Pages 124-132.

Premzl, M., Sangiorgio, L., Strumbo, B., Graves, J.A.M., Simonic, T., Gready, J.E., 2003, Shadoo, a new protein highly conserved from fish to mammals and with similarity to prion protein, *Gene*, Volume 314, Pages 89-102.

Ratta, W., Hishimoto, A., Yoshida, M., Ueno, Y., Asano, M., Shirakawa, O., Sora, I., 2013, Association Study Of BDNF With Completed Suicide In The Japanese Population, *Psychiatry Research*, 209, pages:734–736.

Ritchie, D. L., Ironside, J. V., 2017, Chapter Fourteen - Neuropathology of Human Prion Diseases, *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Volume 150, Pages 319-339.

Roucou, X., LeBlanc, A. C., 2005, Cellular Prion Protein Neuroprotective Function: Implications in prion disease. *J Mol Med.*, 83.3–11.

Salvesen, Ø., Tatzelt, J., Tranulis, M. A., 2018, The prion protein in neuroimmune crosstalk, *Neurochemistry International*.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Sears, C., Wilson, J., Fitches, A., 2013, Investigating the Role of BDNF and CCK System Genes in Suicidality in a Familial Bipolar Cohort, *Journal of Affective Disorders* , 151611–617.

Tanev, K. S., Yilma, M., 2009, An unusually presenting case of sCJD—The VV1 subtype, *Clinical Neurology and Neurosurgery*, Volume 111, Issue 3, Pages 282-291.

Thody, S. A., Mathew, M.K., Udgaonkar, J. B., 2018, Mechanism of aggregation and membrane interactions of mammalian prion protein, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, Volume 1860, Issue 9, Pages 1927-1935.

Thompson, A. G. B., Mead, S. H., 2018, Review: Fluid biomarkers in the human prion diseases, *Molecular and Cellular Neuroscience*.

Uršič K., Zupanc T., Paska A. V., 2018, Analysis of promoter polymorphism in monoamine oxidase A (MAOA) gene in completed suicide on Slovenian population, *Neuroscience Letters*, Volume 673, Pages 111-115.

Wadsworth, J.D.F., Asante, E.A., Desbruslais, M., Linehan, J.M., Joiner, S., Gowland, I., Welch, J., Stone, L., Lloyd, S.E., Hill, A.F., Brandner, S., Collinge, J., 2004, Human prion protein with valine 129 prevents expression of variant CJD phenotype, *Science*, Volume 306, Issue 5702, Pages 1793-1796.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Wasik, J. B., Liberski, P. P., Golanska, E., Jansen, G.H., Wasik, T.J., 2007, Regulatory sequences of the *PRNP* gene influence susceptibility to sporadic Creutzfeldt–Jakob disease, *Neuroscience Letters*, Volume 411, Issue 3, Pages 163-167.

Yılmaz, H., 2002, Prion Hastalıkları-Bulaşabilen Süngerimsi Ensefalopatiler, *Ankem Derg* 16 (No.3):161-166 (2002).

Zabel, M. D. and Reid, C., 2015, A brief history of prions, *Pathogenes and Disease*.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bugünlere gelmemi sağlayan maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan değerli ailem ve çalışmam süresi boyunca tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan, eşim ve hayat ışığım kızım Lina'ya sabır ve fedakarlıkları için sonsuz teşekkür ederim.

İstanbul Adli Tıp Kurumu ve İzmir Adli Tıp Grup Başkanlığı'nda görev yapan ve desteklerini her zaman hissettiğim arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

Ebru CUN, 10.11.1979 tarihinde Sivas ilinde doğmuştur. Orta öğretimini ve lise öğretimini Vali Nevzat Ayaz Lisesi'nde tamamlamıştır. 1997 yılında bu liseden mezun olduktan sonra, Ege üniversitesi Biyoloji Bölümü'nü kazanmıştır. 2003 yılında mezun olduktan sonra 2007 yılında İstanbul Adli Tıp Kurumu'na biyolog olarak atanmıştır. 2009 yılında İzmir Adli Tıp Grup Başkanlığı Biyoloji İhtisas Dairesi'ne atanmıştır. 2010 yılında Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır.