

**İKİ UÇLU DUYGUDURUM BOZUKLUĞU OLGULARINDA
DOPAMİN ve SEROTONİN İLİŞKİLİ BAZI mikroRNA (miRNA)
EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

SEVİNÇ TEKİN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
AĞUSTOS- 2018**

**İKİ UÇLU DUYGUDURUM BOZUKLUĞU OLGULARINDA
DOPAMİN ve SEROTONİN İLİŞKİLİ BAZI mikroRNA (miRNA)
EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

SEVİNÇ TEKİN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

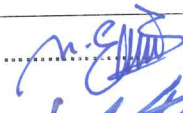
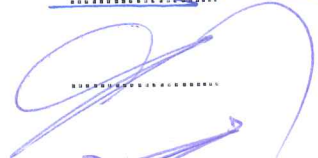
**Danışman
Prof. Dr. Mehmet Emin ERDAL**

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TBB (ST) 2013-3 DR nolu proje olarak desteklenmiştir.

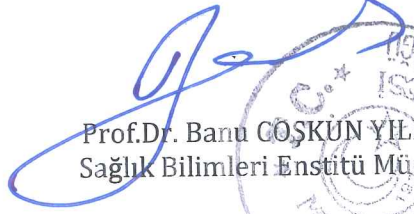
**MERSİN
AĞUSTOS - 2018**

ONAY

Sevinç TEKİN tarafından PROF.Dr. Mehmet Emin ERDAL danışmanlığında hazırlanan "İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu Olgularında Dopamin ve Serotonin İlişkili Bazı mikroRNA (miRNA) Ekspresyon Düzeylerinin Araştırılması" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 28 Ağustos 2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği/çokluğu ile Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof.Dr. Mehmet Emin ERDAL	
Üye	Prof.Dr. Yasemin KAÇAR	
Üye	Prof.Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI	
Üye	Doç.Dr. Hilmi İSİ	
Üye	Dr.Öğr.Üyesi M.Ertan AY	

Yukarıdaki Jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13.09/2018 tarih ve 13/239 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof.Dr. Banu COŞKUN YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
 - Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi
- beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientificethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific Works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of there ferred works as the references.
- I did not do anytampering in theuseddata.
- I did not presentany part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer allcopyrights of this thesis to the Mersin University.

28 Ağustos 2018 / 28 August 2018

İmza / Signature


Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname

ÖZET

İKİ UÇLU DUYGUDURUM BOZUKLUĞU OLGULARINDA DOPAMİN ve SEROTONİN İLİŞKİLİ BAZI mikroRNA (miRNA) EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İki uçlu duygudurum bozukluğu (bipolar bozukluk) (manik depresif hastalık), bir düzen içinde olmaksızın tekrarlayan, depresif, manik ya da her ikisini de kapsayan karma dönemlerin görüldüğü, kronik seyirli bir duygu durum bozukluğudur. Yapılan araştırmalar sonucunda hastalığın etiyolojisinde genetik faktörlerin etkili olduğunun netlik kazanması ile bipolar bozuklukta genetik, özellikle de moleküler genetik çalışmalar oldukça ilgi görmektedir. Aday gen çalışmaları sonucunda dopamin ve serotonin metabolizmasında görevli olan genler oldukça dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, dopamin ve serotonin metabolizmasında kritik rolleri olan 5 geni, en yüksek skorla hedefleyen 6 miRNA'nın (hsa-miR-145-5p, hsa-miR-376a-3p, hsa-miR-3680-5p, hsa-miR-4253-5p, hsa-miR-4482-3p, hsa-miR-4725) ekspresyon profilinin Real-Time PCR (RT-PCR) sistemi araştırılması hedeflenmiştir. 56 hasta ve 52 sağlıklı grupları ile yapılan çalışmada TaqMan Prob Yöntemi kullanılmıştır. Bulgularımız doğrultusunda 4 miRNA'nın (hsa-miR-376a-3p, hsa-miR-3680-5p, hsa-miR-4253-5p, hsa-miR-4482-3p) ekspresyon düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmış bulunmuştur ($p<0,05$). Bir miRNA'nın (hsa-miR-145-5p) ekspresyon düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış bulunmuştur ($p<0,05$). Bir miRNA'nın (hsa-miR-4725) ise hastalıkla arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Bulgularımız, miR-376a, miR3680-5p, miR-4253-5p, miR-4482-3p ve miR145-5p' nin bipolar bozukluk için aday biyomarkerlar olabileceğini ve hastalığın tanı ve tedavi dönemine ışık tutabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Bipolar Bozukluk, Dopamin, Ekspresyon, miRNA, Serotonin (5 adet).

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Emin ERDAL, Mersin Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SOME DOPAMINE and SEROTONIN RELATED MICRORNA (miRNA) EXPRESSION LEVELS IN BIPOLAR DISORDER

Bipolar disorder (also known as manic-depressive illness) is a chronic mood disorder in which there is a recurrent, depressive, manic or mixed episodes that is not observed in any order. Previous studies shows that dopamine and serotonin releated genes are involved in bipolar disorder pathophysiology. Recent studies suggest that microRNA (miRNA) levels in brains of bipolar disorder patients are significantly altered, and these changes may offer insight into bipolar disorder pathology or etiology. In this study we aimed to investigate 6 miRNA's (hsa-miR-145-5p, hsa-miR-376a-3p, hsa-miR-3680-5p, hsa-miR-4253-5p, hsa-miR-4482-3p, hsa-miR-4725) expression levels. This miRNA's target 5 genes which have critical roles on biogenesis and metabolism of dopamine and serotonin. 56 case and 52 control groups were included in the study and real-time PCR (RT-PCR) was performed and TaqMan probe method was used to evaluate the expression of selected miRNAs. The four miRNAs (hsa-miR-376a-3p, hsa-miR-3680-5p, hsa-miR-4253-5p, hsa-miR-4482-3p) were all up-regulated in case group according to control group ($p < 0,05$). One miRNA (hsa-miR-145-5p) was down-regulated in case group according to control group ($p < 0,05$). And no significant alteration was found for miR-4725 between case and control groups. Our findings suggest that miR-376a, miR3680-5p, miR-4253-5p, miR-4482-3p and miR145-5p may be candidate biomarkers for bipolar disorder and may illuminate the diagnosis and treatment period of the disease.

Keywords: Bipolar Disorder, Dopamine, Expression, miRNA, Serotonin (5 keywords).

Advisor: Prof. D. Mehmet Emin ERDAL, Department of Medical Biology, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca, deneyimlerini ve bilgi birikimlerini paylaşan, bilimsel alt yapımda çok önemli katkısı olan, beni pek çok konuda aydınlatan ve doktora tezimin her aşamasında benden desteğini esirgemeyen danışman hocam ve Ana Bilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mehmet Emin ERDAL'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Benim için çok kıymetli olan ve lisansüstü eğitimim boyunca bilimsel anlamda çok şey öğrendiğim bölüm hocalarım sayın Öğretim Üyesi. Dr. M. Ertan AY'a, Doç. Dr. Özlem İZCİ AY'a ve Prof. Dr. İ. Ömer BARLAS'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Diğer bölüm hocalarım Prof. Dr. Etem AKBAŞ'a ve Prof. Dr. Nurcan ARAS'a tez çalışmaları süresince birlikte aynı laboratuvarı paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, tezin istatistik analizlerinin yapılmasındaki bilimsel katkısından dolayı Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan Öğretim Üyesi Dr. Didem DERİCİ YILDIRIM'a, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, hayatımın her anında bana destek olan aileme sonsuz sevgilerimi sunar teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	4
2.1. İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu (Bipolar Bozukluk) Tarihçe	2
2.2. Bipolar Bozukluk Tanımı ve Epidemiyolojisi	2
2.3. Bipolar Bozukluğun Çekirdek Semptomları	3
2.3.1. Mani/Hipomani Dönemleri	3
2.3.2. Depresyon Dönemi	4
2.4. Bipolar Bozukluğun Alt Tiplerinin Tanımlanması	4
2.4.1. Bipolar I ve Bipolar II Bozukluk	4
2.4.2. Hızlı Döngü	5
2.4.3. Siklotimi	5
2.5. Bipolar Spektrum Bozukluklar	5
2.6. Bipolar Bozuklukta Hastalığın İlerleme Sürecinin Olası Biyobelirteçleri	7
2.6.1. Nörotrofik Faktörler	7
2.6.2. İnflamatuar Biyobelirteçler	8
2.6.3. Oksidatif Stres Biyobelirteçleri	8
2.6.4. Hipotalamik-Pitüiter-Adrenal Aks	8
2.7. Bipolar Bozukluğun Etiyolojisi	9
2.7.1. Psikososyal Nedenler	9
2.7.2. Genetik Nedenler	9
2.7.2.1. İkiz, Evlat Edinme, Aile Çalışmaları	9
2.7.2.1.1. İkiz Çalışmaları	10
2.7.2.1.2. Evlat Edinme Çalışmaları	10
2.7.2.1.3. Aile Çalışmaları	10
2.7.2.2. Moleküler Genetik Çalışmalar	11
2.8. Bipolar Bozuklukta Anormal Beyin Yapısı ve Fonksiyonu	12
2.9. Bipolar Bozuklukta Nörobiyolojik Değişiklikler	14
2.10. Serotonerjik Sistem	14
2.10.1. Serotonin Transporter	16
2.10.2. Serotonin Reseptörleri	18
2.11. Dopaminerjik Sistem	18
2.12. miRNA ve Bipolar Bozukluk	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM	27
3.1. Çalışmada Kullanılan Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	27
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	28
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	28
3.2.2. Sarf ve Kimyasal Malzemeler	29
3.3. Periferik Kandan RNA Eldesi	30
3.3.1. Periferik Kandan RNA Etme Yöntemi	30

	Sayfa
3.4. Bipolar Bozukluk Hastalığı İle İlişkili miRNA' ların Seçimi	30
3.5. Real Time PCR Yöntemi İçin Primer Prob Tasarımı	31
3.6. Real Time PCR ile Ekspresyon Analizi	35
3.6.1. RNA Materyalinden cDNA eldesi	35
3.6.2. PCR Ürünlerinin Saptanması	36
3.6.3. Veri Analizi	36
3.7. İstatistiksel Analiz	37
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	38
4.1. Hasta-Kontrol Grubunun Yaş, Cinsiyet Bakımından Değerlendirilmesi	38
4.1.1. Hasta Grubu	38
4.1.2. Kontrol Grubu	39
4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Ekspresyon Verilerinin Analizi	39
4.2.1. hsa-miR-145-5p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi	41
4.2.2. hsa-miR-376a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi	41
4.2.3. hsa-miR-3680-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi	42
4.2.4. hsa-miR-4253-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi	43
4.2.5. hsa-miR-4725 Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi	44
4.2.6. hsa-miR-4482-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi	45
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	77

TABLÖLER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. DSM-V kriterleri	6
Tablo 2.2. Bipolar bozuklukla ilgili olabilecek aday genlerin bulunduğu kromozom lokasyonları	12
Tablo 2.3. Serotonin reseptör ailesi, alt tipleri, dağılımı, mekanizması ve hücresel görevi	18
Tablo 2.4. miRNA'ların hedefledikleri genlerin kromozom lokasyonları ve görevleri	26
Tablo 2.5. Çalışmada Araştırılan miRNA' lar hedef genleri ve hedefleme skorları	26
Tablo 3.1. miRNA RT-PCR (Reverse Transcription PCR) ve Real-Time PCR primer-prob dizileri	34
Tablo 4.1. Tablo 4.1. Kontrol ve hasta gruplarına ait yaş ortalamalarının değerlendirilmesi	38
Tabo 4.2. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet bakımından değerlendirilmesi	39
Tablo 4.3. Kontrol ve hasta gruplarının minimum, maksimum ve p değerleri.	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Bipolar bozukluklu hastalarda etkilenen beyin bölgeleri	13
Şekil 2.2. Serotonerjik sistemlerin beyindeki dağılımı	16
Şekil 2.3. Serotonerjik sinir iletimi	17
Şekil 2.4. Santral sinir sistemindeki dopaminerjik yollar.	20
Şekil 2.5. Dopaminin biyosentez basamakları	21
Şekil 2.6. Dopaminerjik sinaps	22
Şekil 2.7. mikroRNA (miRNA) biyogenezi	24
Şekil 4.1. Kontrol ve hasta gruplarına ait mikroRNA'ların grafiği	40
Şekil 4.2. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-145-5p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği	41
Şekil 4.3. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-376a-3p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği	42
Şekil 4.4. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-3680-3p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği	43
Şekil 4.5. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-4253-3p-miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği	44
Şekil 4.6. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-4725 miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği	45
Şekil 4.7. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-4482-3p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği	46

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simg	Tanım
AADC	Aromatik L-aminoasit dekarboksilaz
ACN	Beyin ödöl merkezi
AMY	Amigdala
ATP	Adenozin trifosfat
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BHQ	Kara Delik Soğurucu
BP	Bipolar bozukluk
Bp	Baz çifti
CAT	Bilgisayar Bağlantılı Eksenel Tomografi
CACNA1C	Kalsiyum Voltaj Kapılı Kanal Alt Ünitesi Alpha 1C
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CC	Korpus Kollozum
cDNA	Tamamlayıcı Deoksiribo nükleik asit
Ce	Serebellum
CNV	Kopya Sayısı Varyasyonu
COMT	Katekolamin-O-Metiltransferaz
CPu	Kuardat putaman
Cx	Korteks
DAT	Dopamin taşıyıcı
DDC	Dopa dekarboksilaz
DGCR8	Di George Syndromu Kritik Bölge 8
DH	Dorsal spinal kord
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
DRN	Dorsal rafe
DSM-IV	Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, Dördüncü Baskı
DSM-V	Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, Beşinci Baskı
Fcx	Frontal korteks
GABA	γ -aminobüritik asit
GDNF	Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör
Hip	Hipokampus
HPA	Hipotalamic pituiter adrenal aks
Hyp	Hypotalamus
IL	İnterlökin
IPN	Interpedunküler
LC	Lokus koeruleus
LS	Lateral septum
LSD	Liserjik asit dietilamid
MAOA	Monoamin oksidaz A
MRE	miRNA algılayan element
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRN	Orta rafe
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
MUSK	Kasla ilişkili reseptör tirozin kinaz
NGF	Nöral büyüme faktörü
NT	Nörotropin
PPIEL	Pseudogene benzeyen Peptidylproliyl isomerase E
Pro	Raphe noktacıları
qRT-PCR	Kantitatif ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu
REST	Repressor elemanı-1 susturma transkripsiyon faktörü

Kısaltma/Simge	Tanım
RISC	RNA-indüklü sessizleştirme kompleksi
RNA	Ribonükleik asit
Rpa	Rafe pallidus
RT	Ters transkriptaz
SEC24C	SEC24 homolog C
SERT	Serotonin taşıyıcı
SN	Substantia nigra
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
SSRI	Seçici serotonin geri alım inhibitörü
SLC6A3	Çözücü taşıyıcı ailesi 6 üye 3
SLC6A4	Çözücü taşıyıcı ailesi 6 üye 4
TH	Tirozin hidroksilaz
Tha	Talamus
TNF- α	Tümör nekroz faktör α
TPOH	Triptofan hidroksilaz
VGLUT3	Veziküler glutamat taşıyıcı 3
VMAT2	Veziküler monoamin taşıyıcı 2
VH	Ventral boynuz
VNTR	Değişken sayıda tekrar dizileri
VTA	Ventral tegmental alan
3'UTR	3' çevrilmez bölge
5'UTR	5' çevrilmez bölge
5-HT	5-hydroxytryptamine

1. GİRİŞ

Bipolar bozukluk manik/depresif hastalık olarak da tanımlanan genellikle duygulanım ve davranış bozukluklarının eşlik ettiği, aşırı depresyon veya maniden ağır depresyona kadar değişen patolojik bir rahatsızlık olmakla birlikte kompleks bir genetik bozukluktur [1]. Tipik olarak dönemleri arasında iyileşmelerin de gözlemlendiği epistotik bir hastalık olan bipolar bozukluk için, modern operasyonel tanı ölçütleri hastalığın yaşam boyu prevelansının erkeklerde ve kadınlarda benzer oranlarda olduğunu, bu oranın %0,5-1,5 arasında değiştiğini ve hastalık başlangıç yaşının ortalama 21 civarında olduğunu göstermektedir [2]. Türkiye’de ise yaklaşık 2 milyon insanın hayatlarının bir döneminde bipolar bozukluk tanısı aldığı ve ülkemizde hastalığın başlangıç yaşının 25 yaş altı olarak bildirildiği görülmektedir [3].

Bipolar bozukluğun patogenezinin tam olarak anlaşılamamış olması tanı ve tedavi sürecine olumsuz yansımaktadır. Hastalığın görüldüğü bireyin ailesine yönelik yapılan çalışmaların tanı sürecinde aydınlatıcı olduğu bilinse de, böylesine kompleks bir bozukluğun altında yatan mekanizmaları tek başına açıklamaya yeterli değildir. Hastalığın nörobiyolojisinin aydınlatılmasının yanında, hastalığın altında yatan genetik mekanizmaların açıklanabilmesi için yapılan ve yapılacak olan çalışmalar tanı ve tedavi sürecini olumlu yönde etkileyecektir [4].

Bipolar bozukluğun nörobiyolojisine bakıldığında biyojenik aminlerin önemi birçok araştırma tarafından vurgulanmaktadır. Dopaminerjik ve serotinerjik sistemlerde yer alan genler bipolar bozukluk olgularında gerek polimorfik varyasyonlar açısından gerekse ekspresyon düzeylerinin araştırılması açısından önemli genler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu çalışmaların sorunun nedenine ve çözümüne yönelik net bulgu ve bilgi veremiyor oluşu, araştırmacıların mikroRNA üzerine yoğunlaşmalarına neden olmaktadır [5,6].

mikroRNA (miRNA) yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda tek iplikli RNA molekülüdür. miRNA’lar gen ekspresyonunun düzenlenmesinde post transkripsiyonal aşamada rol oynayan kodlamayan RNA molekülleridir [7]. Pri-miRNA olarak adlandırılan primer transkript işlenerek önce pre miRNA adlı kısa sap-ilmek yapılarına, sonra da fonksiyonel miRNA’lara dönüşürler. Olgun miRNA molekülleri, bir ya da daha fazla mRNA (mesajcı RNA) ile kısmen tamamlayıcı etkileşim kurarak gen ekspresyonunu down regüle eder [8]. miRNA’lar, pek çok dokuda ifade edilirler ve ifade düzeyleri doku tipine bağlıdır. Bilinen tüm miRNA’ların üçte biri dokuya özel olmalarının yanında bazıları organizmanın tüm hücrelerinde ifade edilebilir. Bugüne kadar tespit edilen miRNA’ların yarısından fazlası beyin dokusunda sentezlendiği bilinmektedir [7].

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu (Bipolar Bozukluk) Tarihçe

Duygudurum bozukluklarından, ilk kez Hipokrat M. Ö. 400 senesinde mani ve melankoli terimlerini kullanarak bahsetmiştir. Daha sonra melankoli hastalığının kara safradan meydana geldiği üzerinde durulmuş, takip eden yıllarda Areatus ise manik depresif bozuklukların birbirleriyle alakalı durumlar olduğu üzerinde durmuştur. 1854 senesinde Falret mani melankoli hastalığını aynı hastalığın değişik görölüş şekilleri olarak tarif ederken, 1863 yılında Kahlbaum ise mani-melankoli hastalığını; paranoya durumu dışındaki akıl hastalıklarının farklı bir hali olarak tarif etmiş ve “Siklotimi” terimini kullanmıştır. Baillarger ise hastalığı değişik duygudurum ve düşünce bozukluğunun oluşturduğu üzerinde durarak hastalığa “folie a double forme” (çifte delilik) adını vermiştir [9,10].

Depresyon insanlık tarihinin başlangıcından beri her yaşta, her dinde, her ırkta kendini gösteren bir sağlık problemi olmuştur. Depresyonun bir çok alt tipi bulunmakla birlikte “İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu” (Bipolar Bozukluk-BP) en kompleks tipi olarak gösterilmektedir. Kraepelin 1921 yılında bipolar bozukluk hastalığının gelişimi ve evrimi ile ilgili ilk bilgileri ileri süren araştırmacıdır. Hastalığın seyir ve belirtiler bakımından “Demantia Preacox” tan farklı oluşu üzerinde durmuştur. Kreaplin hastalığın tanımlanmasında birçok farklı yol kullanmıştır. İki uçlu duygudurum bozukluğunun seyrini dikkatli bir şekilde izlemiş ve grafiklerle bu durumu betimlemeye çalışmıştır. Kreaplin değişen duygudurum tekrarlamalarının zaman içinde hızlandığını ve bunun zaman içinde ardışık olarak tekrarladığını gözlemlemiştir [11]. Kreaplinden sonra hastalıkla ilgili değişik tanı ve tanımlamalar geliştirilmiş ve DSM-IV (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı 4. baskı) kriterlerine göre son halini almıştır [12].

2.2. Bipolar Bozukluğun Tanımı ve Epidemiyolojisi

DSM-V (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı 5. baskı) kriterleri bipolar bozukluğun ayrı bir zihinsel hastalık kategorisinde sınıflandırmaktadır. Bipolar bozukluk; tekrarlayan ve kronik bir durumdur ve genellikle mani, hipomani, depresyon ve karışık duygulanım halleri ve atakları ile karakterizedir. Bipolar bozukluk, dünya çapında %2-5 sıklıkla rastlanan bir hastalık olarak karşımıza çıkmakla birlikte hastalık tipl ve tiplII olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Tipl BP manik durumun gözlemediği tip olup görölme sıklığı %1-2 iken tiplII BP manik durumun gözlenmediği tip olup görölme sıklığı %3-4 tür. Hastalık süreci, hasta ve hasta yakınları için çok sancılı bir süreç olup hastaların % 10-20 sinde intihar eylemi görölmektedir. Hastalığın kadınlarda görölme oranıyla erkeklerde görölme oranı hemen hemen eşittir [13].

2.3. Bipolar Bozukluğun Çekirdek Semptomları

2.3.1. Mani/Hipomani Dönemleri

Bipolar bozuklukta klasik manik dönem özellikleri DSM-V kriterlerine göre çok iyi tanımlanmıştır.

Manik dönemde olan hastalarda gözlemlenebilecek davranış bozuklukları sıralanmıştır;

- aşırı efor sarf edilen egzersiz durumu
- artmış enerji
- artmış özsaygı
- uyku ihtiyacında azalma
- konuşma baskısı veya daha konuşkan olma
- dikkat dağınıklığı
- hedefe yönelik davranışlarda artış, psikomotor ajitasyon,
- kötü ve/veya akılsızca karar verme

gibi durumlar söz konusudur. Bu tahrip edici davranışlar para harcama, cinsel aktivitelerde uygunsuzca artış ve uygun olmayan kişiler arası davranış alanlarında sık görülür.

Manik semptomların hastada en az bir hafta sürmesi gerekirken tedavi edilmemiş manik atağın ortalama uzunluğu üç aydır [14,15]. Manik dönemin yarısından fazlası sanrılar ve halisünasyonlarla karakterizedir. Psikotik içerik her zaman ve sürekli olmamakla birlikte manik dönemim özelliklerindendir. Grandiyözite (kişinin kendini aşırı bir güven içerisinde birçok yönden üstün görmesine neden olan sanrı) ve kendini eşsiz zannetme bu dönemde sık gözlenir [16]. Manik dönemde gözlenen uyku bozukluğu insomnia değildir sadece bu dönemde uyku isteğinde azalma gözlenir. Kişi gecede birkaç saatlik uykuyu yeterli olarak algılar ve buna rağmen gün boyunca enerjisi çok yüksek seyreder. Klasik görkemli öforik ruh durumu her zaman manide gözlenmez. Bu dönemdeki olguların %70 inde ruh hali öfkeden ziyade sinirlilik ile karakterizedir [17].

Hafif manik ataklarla seyreden döneme hipomani denir. DSM-V kriterlerine göre hipomani semptomları manik semptomları ile aynıdır. Fakat dört gün gibi bir sürede başlayıp bitmesi bu dönemin en dikkat çekici özelliğidir. Mani ve hipomani arasındaki ayrım fonksiyonel bozulmanın şiddetiyle alakalıdır [18]. Mani iş ve/veya sosyal ilişkilerde önemli bozulmaların olduğu yıkıcı bir dönemdir. Örneğin hastanın geçirdiği dönemde işten kovulma, sevdiği kişilere zarar verme, bir ilişkinin zarar görmesine neden olma veya dikkat çekici düzeyde sağlıksız para harcama gibi durumlar gözleniyorsa; hasta mani döneminde olduğu şeklinde tanımlanır. Yine kişi psikotik durumdaysa ve hastanede tedaviye ihtiyacı varsa atak hipomanik değil manik atak şeklinde tanımlanır. Tüm bunlara karşılık hipomani döneminde, kişinin ilişkileri gergin olabilir ancak ciddi hasar görmez. Hipomani dönemindeki hastalarda artmış cinsel ilginin yanı sıra

artan yaratıcılık veya üretkenlik gibi olumlu sonuçlar da gözlemlenebilir. Bu dönemdeki hastada oluşan duygudurum bozuklukları kişinin yakın çevresi tarafından fark edilemeyebilir [14,17,19].

2.3.2. Depresyon Dönemi

İki uçlu duygudurum bozukluğu ile ilintili depresif dönem semptomları genel olarak bipolar olmayan depresyonla benzer şekilde seyreder. Depresif dönem sırasında gelişen davranış bozuklukları;

- Depresif ruh hali ya da apati
- Uykusuzluk ya da aşırı uyuma hissi
- İştah ve kilo durumunda gözle görülür azalma/artma
- Yorgunluk
- Psikomotor gerilik veya ajitasyon
- Değersizlik ya da suçluluk hissi
- Azalmış konsantrasyon
- İntihar düşüncesi
- Niyeti ve planları içeren morbid düşünceler

şeklinde tanımlanabilir. Bazı depresif durumlarda manik dönemde olduğu gibi sanrılar ve halisünasyonlar görülebilir. Psikotik semptomlar manik dönemde depresif döneme göre yaklaşık %30 düzeyinde daha yaygındır. Depresif dönemde sanrılar halisünasyonlardan daha sık görülür. İki uçlu duygudurum bozukluğunda intihar girişimlerinin yüksek çoğunluğu depresif dönemde karşımıza çıkmaktadır [20,21].

2.4. Bipolar Bozukluklarının Alt Tiplerinin Tanımlanması

2.4.1. Bipolar I Ve Bipolar II Bozukluk

Bipolar I bozukluk en az bir manik dönemle karakterizedir. Bipolar II bozuklukta ise hastalığın tüm seyri hipomanik şekilde ilerler, manik semptom gözlenmez. Bu nedenden dolayı bipolar II bozukluk bipolar I bozukluk içinde değerlendirilebilir ancak bipolar I bozukluk asla bipolar II bozukluk içinde değerlendirilmez. Eğer kişide hipomanik ataklar dizisi gözlemleniyorsa hasta muhtemelen bipolar II bozukluk içinde ele alınacaktır. Üç ve daha fazla hipomanik atak geçiren hastaların sadece %15 i bipolar I bozukluk olarak değerlendirilebilmektedir [22]. Bundan dolayı bipolar II bozukluk tüm bireyler için daha stabil bir tanıdır. Karma dönem ya da karışık manik dönem, hem manik hem hipomanik hem de depresif dönemin simultane olarak birlikte gözlemlendiği dönemi ifade eder.

DSM-V kriterleri bu dönemi "tanımlayıcı" olarak değerlendirir. Ve bunun ayrı bir dönem olmadığını, manik ve hipomanik dönemlere eklenen bir tanımlayıcı dönem olarak geliştiğini belirtmektedir. DSM-V kriterleri karma dönemin tanısını manik veya hipomanik fazların tüm belirtileri karşılandığında ve majör depresyon ölçütlerinden (iştah ve konsantrasyon değişimleri hariç) üç depresif belirti gözlemlendiğinde koyar [22,23].

2.4.2. Hızlı Döngü

Hızlı döngü, bipolar bireylerin %15-35 inde rastlanan alışılmışı göre daha sık görülen ataklarla karakterize bir alt tipi tanımlar [22,23]. DSM-V kriterlerine göre hızlı döngü, bipolar bozukluk için bir belirteçtir ve üç ve daha fazla dönemin tam zamanlı olarak hastada gözlenmesi ve bu üç dönemin 12 aylık bir zaman dilimi içinde gerçekleşmesi gerekir. Bu dönemler aşağıdaki gibidir:

- Bir hafta manik dönem (tedavi ile kesintiye uğramaksızın)
- Dört günlük hipomanik dönem
- İki hafta ve daha fazla süren depresif dönem

Klasik hızlı döngü dönemi bipolar I ve bipolar II bozukluğu olan hastalarda eşit derecede yaygındır. Bu durumun, hastalığın başlangıç aşamasında gelişebileceği gibi, birkaç yıl veya birkaç hastalık dönemi sonrasında da gözlemlenebildiği belirtilmektedir [24,25].

2.4.3. Siklotimi

Siklotimi klinik olgularda nadir rastlanan bir durumdur ancak epidemiyolojik örneklerde daha sık görülmektedir. Siklotiminin DSM-V teki tanımı; "kronik (en az iki yıl) ve düşük sıklıkta görülen bir bipolar bozukluk varyantı" şeklinde yapılmaktadır. Siklotimli bireylerin ruh hali değişkenlikleri tüm dönemlerde meydana gelebilir ve hiçbir zaman manik/hipomanik atak veya depresyonla tutarlı semptom sayısını ve süresini göstermez. DSM-V teki tanıma göre iki yıl içinde semptom göstermeyen dönem (mani, hipomani, depresyon) iki aydan fazla sürmez. Yani en fazla iki ay içinde hasta bipolar bozukluk için tanımlanmış fazlardan birini geçirir [26].

2.5. BİPOLAR SPEKTRUM BOZUKLUKLAR

DSM-V kriterlerine göre bipolar I ve bipolar II bozukluklar hastalığın ilerleyişindeki yoğunluk baz alınarak açıkça tanımlanmıştır. Bununla birlikte neredeyse tüm psikopatolojilerde ruh halleri bir süreklilikte ortaya çıkar yani boyutsaldır, kategorik değildir. Bundan dolayı hipomani ve mani arasındaki ayrım bile klinisyenden klinisyene göre değişiklik gösterebilir.

Bazı hastalar için fonksiyonel bozukluk düzeyini bir klinisyen manik dönem olarak değerlendirirken bir diğeri hipomanik dönem olarak tanımlayabilir [27].

Son yıllarda ruhsal değişimlerin boyutsal doğasını klasik alt tiplerin (bipolar I, bipolar II, siklotimi) hiçbirine açıkça uymayan ruh hali ile karakterize bir bozukluğu olan bireyleri kapsayacak şekilde genişletmeye yönelik düşünceler gittikçe artmaktadır. Farmakolojik olarak indüklenen mani/hipomani durumu bipolar spektrum bozukluklar arasındaki en çok tartışılan konulardan biridir [28]. Sadece depresyondan muzdarip ama ilaç tedavisi ile hipomanik ya da manik durumun geliştiği hastaların nasıl değerlendirileceği hala tartışmalıdır. DSM-V e göre antidepresan tedavi sırasında ortaya çıkan manik/hipomanik ataklar yalnızca tam manik/hipomanik semptomlarının (yalnızca sinirlilik ya da ajitasyon değil) fizyolojik etkilerinin ötesinde devam ettiği taktirde bipolar bozukluk olarak kabul edilir. Örneğin antidepresan tedavisi uygulanan depresif dönemdeki bir hasta hipomani durumuna geçerse ve bu semptomlar antidepresan tedavi kesildikten sonra en az bir hafta devam ederse artık hasta bipolar II tanısı almış olmalıdır. Eğer antidepresan tedavi bırakıldıktan birkaç gün sonra hasta hipomaniden tekrar depresif duruma geçerse hasta için tanı "majör depresyon" olmalıdır [29,30]. Ancak, hastaya uygulanan antidepresan tedavi kesilirken yine aynı hastaya anti manik bir tedavi başlandığında hastanın hipomanik semptomları azalır ya da sonlanırsa bu duruma neyin neden olduğunu anlamak mümkün olmayabilir.

Bu gibi durumlarda tanı koymak ve tedavi yolu belirlemek zor ve karmaşıktır [30,31]. Bipolar spektrum bozuklukların tanımlanmasında oluşagelen karmaşıklıkları gidermek amacıyla DSM-V in oluşturduğu kriterler tablo 2.1. de verilmektedir:

Tablo 2. 1. DSM-V kriterleri (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Criteria-V) [32].

Bipolar Spektrum Bozuklukları ile İlgili Olduğu Önerilen Bipolar Varyantları ve Klinik Özellikleri
Bipolar Varyantlar
•Dört günden kısa süren hipomanik ataklar
•Hiperaktivitenin eşlik ettiği ancak duygu durum semptomlarının dışlandığı hipomanik dönem
•Farmakolojik manya/hipomanya
Bipolar Spektrum Bozukluklarında Önerilen Klinik Özellikler
•Bipolar aile öyküsünün eşlik ettiği majör depresyon
•Karma depresif sendromlar
•Erken yaşta başlayan depresyon
•Sık tekrarlayan depresyon
•Psikotik depresyon
•Atipik depresif özellikler
•Tedaviye dirençli depresyon
•Tekrarlayan depresif tolerans

2.6. Bipolar Bozuklukta Hastalığın Progresyonunun Olası Biyobelirteçleri

Bir biyobelirteç, doğru ve tekrarlanabilir şekilde ölçülen normal biyolojik süreçlerin, potansiyel süreçlerin, patojenik süreçlerin veya terapötik bir müdahaleye verilen farmakolojik tepkilerin bir göstergesidir. Tıpta, biyobelirteçler, hastalığın ilerlemesini (prognostik biyobelirteçler) izlemek, terapötik müdahaleleri (tedavi biyobelirteçleri) ölçmek ve belirli bir hastalığın başlangıcını tahmin etmek, belirli bir hastalığın (teşhis biyobelirteçleri) varlığını desteklemek için kullanılır [32]. Günümüzde bipolar bozukluk tanısı esas olarak objektiflik ve biyolojik doğrulamalardan yoksun hasta görüşmeleri ve öz bildirim anketlerine dayanmaktadır [33].

Bipolar bozukluk için artan kanıtlar, semptomik yineleme sıklığının hastalığın ilerlemesi üzerinde bilişsel olarak olumsuz bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Bu fonksiyonel bozukluklar; farmakolojik ve psikolojik tedaviye daha düşük yanıt verme ve kardiyometabolik ve nörolojik hastalıkların görülme sıklığında artışlara neden olmaktadır [34]. Tüm bu nedenlerden dolayı hastalığın patofizyolojisinin doğru anlaşılması için periferik biyobelirteçlerin saptanması ve hastalığın tanımlanmasında kullanılması hayati önem taşımaktadır. Bu biyobelirteçler:

- Nörotrofik Faktörler
- İnflamatuar biyobelirteçler
- Hipotalamik-pitüiter-adrenal (HPA) aks
- Oksidatif stres biyobelirteçleri şeklinde değerlendirilebilir.

2.6.1. Nörotrofik Faktörler

Nörotrofinler, nöronal gelişim, plastisite ve bağlantılarda çok önemli yeri olan proteinlerdir [35,36]. Yapılan çalışmalar, bipolar bozukluklu hastalarda periferik kanda beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4/5 (NT-4/5), glial hücre derive nörotrofik faktör (GDNF), büyüme faktörü (NGF) gibi nörotrofik faktörlerin seviyelerinde değişimler olduğunu göstermektedir [34,37]. BDNF; nöronal büyüme ve sinaptik aktivite/plastisitesinde anahtar regülatör olarak görev yapan bir nörotrofin olarak sinir sistemine geniş olarak dağılmıştır [35,36]. Preklinik çalışmalar ruh hali ve duygulanım durumlarından sorumlu hipokampal ve kortikal bölgelerdeki BDNF ekspresyon seviyeleri ile serum BDNF düzeyleri arasında bir korelasyon olduğundan söz etmektedir. Periferik olarak BDNF, vasküler endotelial hücreler, lenfositler ve düz kasta nispeten yüksek seviyelerde eksprese edilir [35,38]. BDNF val66met polimorfizminin bipolar bozuklukta prefrontal kortikal morfometrik ve metabolik değişimlerle bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Birçok çalışma BDNF

serum düzeylerinin manik veya depresif dönemde anlamlı şekilde düştüğünü göstermektedir [39,40].

Diğer nörotrofik faktörlerden NGF ve bipolar bozukluk üzerine yapılan bir çalışmada manik atakların şiddeti ile NGF arasında negatif bir korelasyon olduğu düşünülmektedir [41]. BDNF ile aynı sinyal yolağında görevli NT-3'ün seviyesinde, bipolar bozukluklu hastaların manik ve depresif döneminde ötimik döneme ve kontrol grubuna göre belirgin bir artış olduğu bildirilmektedir [42].

2.6.2. İnflamatuar Biyobelirteçler

Bipolar bozukluğun patofizyolojisinde inflammatuar mekanizmaların, özellikle sinaptik iletim/plastisite ve nöronal hayatta kalma regülasyonu yolu ile kritik bir rolü olabileceği görüşü son yıllarda giderek artmıştır. Bipolar bozuklukta immün disfonksiyon, duygulanım dönemlerinin sıklığı ve sayısı ile ilintilidir. Birçok çalışma, interlökinleri (IL-2, IL-4, IL-6 ve IL-1) ve Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)' yı içeren proinflammatuar sitokinlerin manik dönemde artış gösterdiğini bildirmektedir [43].

2.6.3. Oksidatif Stres Biyobelirteçler

Yüksek oksijen tüketimi neticesinde fazla miktarda serbest radikallerin oluşması ve düşük antioksidan kapasitesi nedeni ile beyin oksidatif stres hasarına yatkındır. Oksidan/antioksidan mekanizmalar arasında oluşabilecek bir dengesizlik, proteinler, lipidler, mitokondri ve nükleik asit gibi hücre bileşenleri ile reaksiyona giren nöronal degradasyon ve disfonksiyonel nörojeneze neden olan serbest radikallerin birikmesine neden olur [44].

2.6.4. Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksı (HPA)

Bipolar bozuklukla ilgili yapılan ilk çalışmalar, erken dönem ataklarının stres tarafından tetiklendiğini ve buna bağlı olarak hastalarda stres hassasiyeti geliştiğini göstermektedir [34]. Bu hassasiyet allostatik aşırı yüklenmenin de etkisiyle, bipolar bozukluk seyrinde stresin ve modülasyonunun önemli yeri olduğunu göstermektedir. Kortizol allostatik aşırı yüklemenin ana mediyatörlerindendir. Kortizol salınımı stres hormonu eksenini olarak bilinen hipotalamus-pituitar adrenal (HPA) aksı tarafından kontrol edilir. HPA aksının duygudurum bozukluklarında net bir şekilde değiştiği ve kortizol düzeylerinde bipolar bozukluk ve majör depresyon olgularında anormallikler olduğu rapor edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, belirli bir psikiyatrik ya da nörodejeneratif hastalık durumunda, hastalığın şiddetini yansıtan HPA aksı fonksiyon ölçümleri hastalık progresyonunun olası biyobelirteçleri olabilir [45].

2.7. Bipolar Bozukluğun Etiyolojisi

2.7.1. Psikososyal Nedenler

Duygudurum bozukluklarında, ilk dönemlerin genellikle bir çevresel stres sonrası ortaya çıktığı, ancak daha sonraki dönemlere stresli yaşam olaylarının eşlik etmesinin daha az olduğu gözlemlenmektedir. Duygudurum bozukluklarının geliştirilmesine neden olmuştur. İlk atağı genellikle önemli bir yaşam olayı kamçılar, fakat bu yaşam olaylarının çoğu özgül değildir. Sosyal, davranışsal ve travmatik deneyimlerin belirli genlerin ekspresyonunda değişimlere neden olduğu bildirilmektedir. Manik ve depresif dönemlerin yinelenmesi, beyin biyokimyasını değiştirebilir, kişi çevresel stres faktörlerine ve tetikleyicilere hassas hale getirebilir, böylece takip eden dönemlerin mani/hipomani dönemlerinin ya da depresif dönemin oluşmasını kolaylaştırabilir. Böylece ataklar, psikososyal bir tetikleyici olmaksızın kendiliğinden yinelenir ve hastalık kronikleşebilir [46,47].

2.7.2. Genetik Nedenler

2.7.2.1. İkiz, Evlat Edinme, Aile Çalışmaları

Aile, ikiz, evlat edinme çalışmaları ailesel ve genetik etkilerin bir bozukluk üzerindeki olası rolünü tahmin etmek amacıyla farklı yaklaşımlar sunar. Bu etkilerin bipolar bozukluğa olan katkısının incelenmesi hastalığa neden olabilecek olası genleri de tanımlayabilmek için çaba sarf etmektedir. Bu çalışmalar hastalığın genetik epidemiyolojisinin tanımlanmasının yanı sıra klinisyenlere, hastalara ve ailelere önemli bilgiler sunmaktadır [48]. Bipolar bozukluk ailesel ve genetik açıdan incelenen en yaygın psikiyatrik bozukluk olarak karşımıza çıkmaktadır. Çalışma metodolojisi, örnek tespiti ve tanısal sözleşmeler arasındaki farklılıklara rağmen mevcut aile, ikiz, evlat edinme çalışmaları bipolar bozukluğun ailesel olarak kalıtıldığının kanıtlanmasında ve bu ailesel agregasyonun genler tarafından kuvvetle etkilendiğinin belgelenmesinde tutarlı olmuştur [49].

2.7.2.1.1. İkiz Çalışmaları

Bipolar bozukluğun genetik eğilimi ile ilgili en çarpıcı sonuçlara ikiz çalışmalarının sonucunda elde edilmiştir [50,51]. Eğer bir hastalık çevre etkisinden bağımsız olarak tamamen genetik nedenlere bağlı olarak gelişmiş ise, tek yumurta ikizlerinin her ikisinde birden aynı hastalığın ortaya çıkma olasılığının %100'e yakın olması beklenir. Ancak etiyojide hem genetik hem de çevresel faktörler birlikte rol oynuyorsa bu yüzde oranı azalacaktır. İkiz bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda ikiz tasarımı benzer şartlarda yetişen monozigotik ikizler, dizigotik ikizler farklı ortamlarda yetişen monozigotik ve dizigotik ikizlerin karşılaştırılması

şeklinde yapılır. Monozigotik ikizlerde dizigotiklere göre hastalığın tanısı ve seyri bakımından görülen uyumluluk genetik etkinin bir kanıtıdır [52]. Mitchel ve ark (1993), monozigotik ikizlerde hastalığın görülme uyumluluğunu %60-70 olarak belirlemişken dizigotik ikizlerde bu oran %20 olarak saptanmıştır. Bu durum bipolar bozukluğun etiolojide genetik bir biyolojik bozukluk olduğu fikrini desteklemektedir. Ancak genetik faktörlerin hastalığın patogenezindeki tek neden olduğunu söylemek doğru değildir [53].

2.7.2.1.2. Evlat Edinme Çalışmaları

Evlat edinenler üzerinde yapılan çalışmalar hastalığın genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucunda ortaya çıktığı üzerinde durmaktadır. Bu tip çalışmalarda iki farklı çalışma tasarımı söz etmek mümkündür: 1)Biyolojik aile ve evlat edinenlerde hastalığın görülme oranının belirlenmesi ve karşılaştırılması, 2) Hastalıktan etkilenen ve etkilenmeyen evlat edinmiş ebeveynlerin karşılaştırılması. Eğer hastalık hem genetik hem de kalıtım moduyla taşınan bir hastalıksa hastalığın görülme sıklığının biyolojik ebeveynlerde daha yüksek olması beklenir [54,55].

2.7.2.1.3. Aile Çalışmaları

Aile çalışmaları hastalığın genetik sorumluluğunun yanı sıra genetik kalıtım modunu ortaya çıkarabilir [56]. Hastalığın kalıtım modunun saptanması hastalığa neden olabilecek gen ya da genlerin keşfedilmesinde ilk adımdır. Hastalığın başlangıç yaşı, farklı psikiyatrik hastalıkların aile içinde dağılımı, kuşaklar arasında hastalığın başlama yaşının daha erken olması ve hastalığın şiddetinin artmasıyla giden antisipasyon (erkenleşme) olguları, hastalığın bazı bireylerde ifade bulmadan bir sonraki kuşağa kalıtılabilirliği (penetrans eksikliği) gibi kavramlar aile ağacı metodu kullanıldığında izlenebilir [57,58]. Özetle bipolar bozukluklu hastaların akrabalarında benzer hastalık görülme riskinin topluma göre 5-10 kat arttığı bildirilmiştir. Genetik epidemiolojik araştırmaların sonuçları bipolar bozukluğu olan bir hastanın akrabalarındaki eş hastalanma oranının monozigotik ikizlerde % 60, dizigotik ikizlerde % 20, çocuklarında % 15, birinci derece akrabalarda (anne, baba, kardeş) % 5-10, ikinci derece akrabalarda % 5, kuzenlerde ise % 3.5 olduğunu göstermektedir [59].

2.7.2.2. Moleküler Genetik Araştırmalar

Moleküler genetik araştırmalar; belirli bir hastalıktan sorumlu genin ya da lokusun kromozom üzerindeki yerini tespit etmek için tasarlanmış gen haritalama çalışmalarını kapsamaktadır [60]. Gen haritalama yönteminde kromozom üzerinde yeri bilinen genetik belirleyiciler (polimorfik markerlar) kullanılarak hastalık genlerinin kromozomlar üzerindeki yerleri bulunmaya çalışılır. Araştırmada kullanılacak olan belirleyicilerin seçiminde aday gen

çalışmaları ve tüm genom taraması olmak üzere iki yaklaşımdan bahsedilir. Aday gen yaklaşımında hastalığın patofizyolojisi ile ilgili varsayımlardan yola çıkılarak etiyolojide rol oynayabileceği düşünülen bölgelere özgü genetik belirleyiciler seçilirken, genom taramasında aday gen olup olmamasına bakılmaksızın tüm kromozomlar belli aralıklarla seçilen genetik belirleyiciler ile taranır [61,62,63]. Esas olarak iki tip moleküler genetik araştırma söz konusudur:

1-Bağlantı (Linkage) Analizleri (Parametrik Yöntemler)

Bağlantı çalışmalarında hastalığa neden olabilecek majör tek bir genin ailede incelenmesine dayanmaktadır. Kalıtım modunun belirlenebilmesi için birden fazla aile üyesinin hastalıktan etkilendiği en az üç neslin incelenmesi gerekir. Bu yöntem hastalığın patofizyolojisiyle ilgili hiçbir bilgiye sahip olmayı gerektirmez ve tamamen genetik bir yaklaşım olarak kabul edilir. Patogenezinin iyi anlaşılamadığı psikiyatrik bozukluklarda bu yöntem oldukça başarılı sonuçlar vermektedir [64,65].

2- İlişkilendirme Çalışmaları (Non-parametrik Yöntemler)

Bu yaklaşımda ise hastalığın biyolojisiyle ilgili varsayımlardan yola çıkarak aday genlerde olası mutasyonlar belirlenmeye çalışılır [64]. Bu tip analizler için kalıtım kalıbının bilinmesine ve geniş ailelere gerek yoktur. Vakalar ve kontrollerin karşılaştırılması, ana-baba çocuk üçlülerinin birbirlerine göre değerlendirilmesi, kardeş çiftlerinin toplanması ya da hasta bireylerin normal akrabaları ile karşılaştırılması ilişkilendirme analizlerde kullanılacak örneklem tiplerini oluşturur. Her iki yöntemin de kendisine göre avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Bu nedenle hangi yöntemin seçileceği tamamen geniş aile bulunup bulunmamasına, kalıtım kalıbının anlaşılıp anlaşılamayacağına ve ailelerin iyi örneklenip örneklenmemesine göre değişir [65,66]. Bipolar bozukluk ile ilgili yapılmış olan moleküler genetik araştırma sonuçları aday genler, kromozomlar ve kromozom bölgeleri bakımından tablo 2.2. de verilmektedir:

Tablo 2.2. Bipolar bozuklukla ilgili olabilecek aday genlerin bulunduğu kromozom lokasyonları [64]

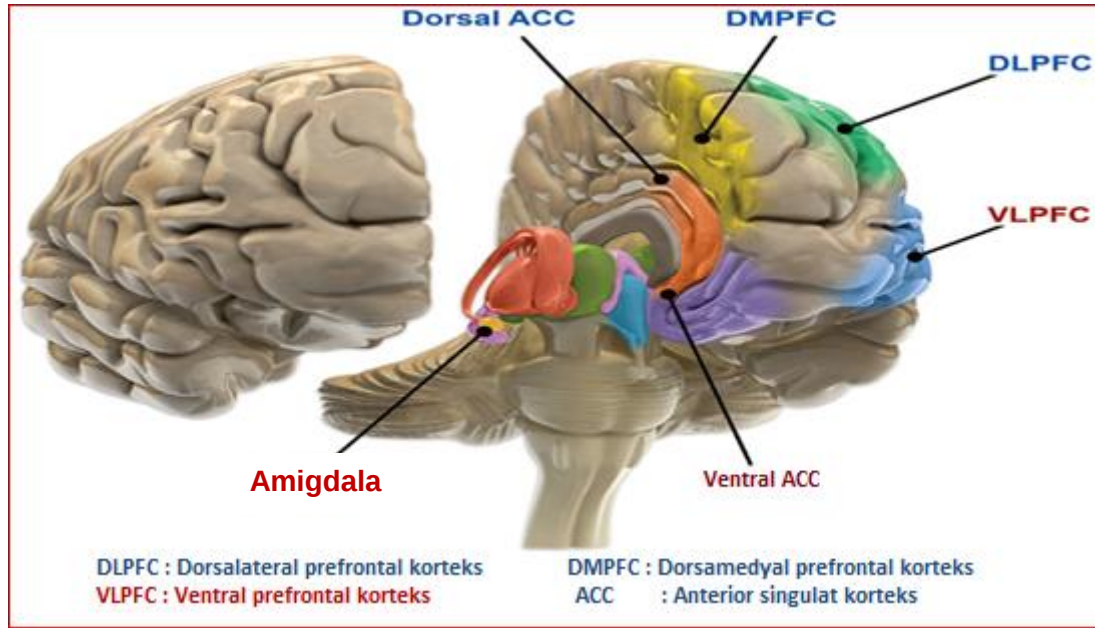
Kromozomal Bölge	Çalışma	Bozukluk Tipi	Lod Skoru
1q31	Nurnberg ve ark. 2001	Unipolar depresyon	5.12
1q31-q32	Detera-Wadleigh ve ark. 1999	Bipolar bozukluk	2.67
4p16	Blackwood ve ark. Asherson ve ark. 1998	Bipolar bozukluk Unipolar bozukluk	4.8 1.12
9q	Wilson ve ark. 1989	Unipolar bozukluk	1.68
10q25-26	Cichon ve ark. 2001	Bipolar bozukluk	NPL=3.12
10p13 2001	Maziade ve ark.	Bipolar bozukluk	MOD=2.44
10p14 2000	Farraud ve ark.	Bipolar bozukluk	2.5

12q23-24	Craddock ve ark.1994 Arranz ve ark. 1995 Ewald ve ark. 1998	Unipolar ve Bipolar bozukluk Bipolar Bozukluk Bipolar Bozukluk	2.1 2.0 3.4
13q321999	Detera-Wadleigh ve ark.	Bipolar bozukluk	3.5
16p13	Ewald ve ark. 1995	Bipolar bozukluk	2.2
18p11.2	Detera- Wadleigh ve ark. 1999	Bipolar bozukluk	2.32
18q12	Maziade ve ark. 2001	Bipolar bozukluk	MOD=4.03
18q22	McInnes ve ark. 1996	Bipolar bozukluk	4.06
20p11.2-q11.2	Radhakrishna ve ark. 2001	Bipolar bozukluk	4.34
21q22	Straub ve ark. 1994 Smyth ve ark. 1997 Vallade ve ark. 1996 Maziade ve ark. 2001	Bipolar bozukluk Bipolar bozukluk Bipolar bozukluk Bipolar bozukluk	3.4 3,4 1,3 1,2
22q11-q13	Detera-Wedleigh ve ark. 1999	Bipolar bozukluk	2.1

2.8. Bipolar Bozuklukta Anormal Beyin Yapısı Ve Fonksiyonu

Psikiyatrik bozuklukların beyinle olan ilişkisini anlayabilmek için beyinin yapısal olarak incelemek gerektiği uzun yıllardan beri vurgulanmaktadır [67]. Beyin görüntüleme teknolojilerinin gelişmesiyle bilim adamları bipolar bozukluğu olan hastalarla sağlıklı bireylerin beyin yapısının birbirinden farklı olduğunu keşfetmiştir. MRI (Manyetik Rezonans Imaging) ve CAT (computerized axial tomography) gibi beyin görüntüleme cihazları ile yapılan araştırmalarda, bipolar bozukluğu olan kişilerde amigdalanın hacminde artış ve prefrontal korteksin hacminde küçülmeler olduğunu gösterilmektedir. Amigdala ve prefrontal korteks yapılar beyinde duygusal durumun proseslenmesinden sorumlu merkezlerdir.

Bazı çalışmalar, hastalığın progresyonunun hipokampusun düşmüş hacmi ile bağlantılı olabileceğini göstermektedir. Bunun tam tersi olarak bipolar bozukluk olgularında lateral ventriküllerde artmış hacimden söz etmek mümkündür. Buna ek olarak orbital ve medial prefrontal korteks, ventral striatum ve mezotemporal kortekste gri maddedeki hacimsel indirgenme birden fazla atak geçirmiş olgularda daha belirgin şekilde gözlemlenmektedir. [68,69,70,71,72,73]. Diğer görüntüleme teknolojileri ile yapılan beyin görüntüleme çalışmalarında yine aynı beyin yapılarında bipolar bozukluğu olan hastalarda anormallikler olduğunu saptanmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Bipolar bozukluklu hastalarda etkilenen beyin bölgeleri. Ötimik bipolar hastalarla ilgili görüntüleme çalışmaları, duygusal düzenlemede yer alan limbik ve para-limbik beyin bölgelerinin artan yanıt vermesiyle birlikte, bilişsel kontrolün bir kanıtıdır. Bilinçli tepki veren, bilişsel kontrol ile ilişkili beyin bölgeleri mavi (dorsal ACC, DMPFC ve DLPFC) olarak etiketlenmiştir. Buna karşılık, duygusal düzenlemede yer alan limbik ve para-limbik beyin bölgeleri, daha fazla yanıt vermeyeyle ilişkili olarak kırmızı (amigdala, VLPFC ve ventral ACC) olarak etiketlenir [74].

Bipolar bozuklukta fonksiyonel görüntüleme çalışmaları heterojen ve bazen çelişkili bulgulara da sahip olabilmektedir. Ancak özellikle manik ataklar sırasında amigdala, hipokampus ve bazal gangliyonlar gibi subkortikal yapılarda aşırı aktivite gözlemlendiği konusunda fikir birliği bulunmaktadır. Ayrıca prefrontal korteks ve diğer bazı kortikal yapılarda artmış aktivite gözlemlendiği bazı çalışmalarca bildirilmektedir [75]. Sonuç olarak bipolar bozukluğun tanısında beynin anatomik yapısı ve nörobiyolojik yapısındaki değişiklikler çok önemli bir yer tutmaktadır.

2.9. Bipolar Bozukluk ve Nörobiyolojik Değişiklikler

Nörobiyolojik değişiklikler bipolar bozuklukta önemli yer tutmaktadır. Nöroprogresyon terimi hastalığın ilerlemesi bağlamında klinik ve bilişsel bozulma olduğunda ortaya çıkan patolojik durumlar için kullanılmaktadır [76]. Genetik faktörler hastalığın etiyolojisinde önemli yer tutsa da, biyokimyasal anormallikler bipolar bozukluk olgularında asla göz ardı edilmemelidir.

Erken biyolojik teoriler bipolar bozukluğun patofizyolojisinde birçok nörotransmitterin özellikle de monoaminler (biyogenik aminlerin) önemli bir yeri olduğunu belirtmektedir. Bununla birlikte nöronal iletişimin altında yatan hücresel mekanizmaların anlaşılmasına başlanmasıyla araştırmalar moleküler yollar üzerinde yoğunlaşmıştır [77]. Bipolar bozukluğun patofizyolojisine limbik, santral ve fronto-kortikal nörotransmitter nöronal

devreler ağı eşlik eder. Gen ekspresyonu düzeyinde oluşan anormallikler bipolar bozukluğun nörobiyolojisini açıklamada önemli yer tutmaktadır [78,79].

Bipolar bozukluklu hastalarda biyojenik aminlerin çalışılması konusundaki teşvik, depresyon ve mani dönemleri için etkili farmakolojik tedavilerin keşfi ile sağlanmıştır. Bu karmaşık farmakolojik verilere ek olarak, biyojenik amin nörotransmitter sistemleri uyku, iştah, uyarılma, cinsel aktivite, endokrin işlev, korku ve öfke gibi duygusal durumların düzenlenmesinden sorumlu limbik sistemde yaygın şekilde dağılmıştır [37]. Bipolar bozukluğun klinik tablosu davranış bozukluklarını, sirkadyan ritimleri, uyku nörofizyolojisini ve beyindeki biyokimyasal ve nöroendokrin düzenlemeyi içerir. Bu noktada bu bölgelerle sürekli iletişim halinde bulunan kolinerjik, katekolaminerjik ve serotonerjik nörotransmitter sistemler hastalığın altında yatan nedenlerin aydınlatılmasında cazip adaylar olarak görülmektedir [80].

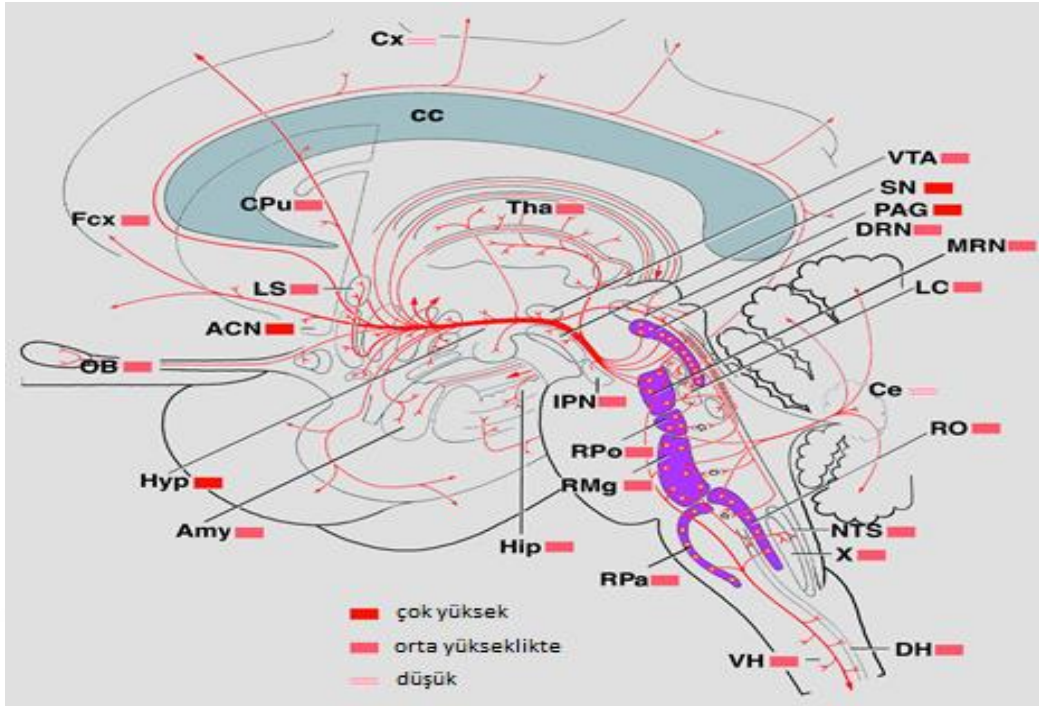
2.10. Serotonerjik Sistem

Serotonin veya 5-hidroksitriptamin (5-HT) hayvan ve bitki türlerinde yaygın olarak bulunan küçük bir indolamindir. Memelilerde, 1940'da P maddesinden farklı enteramin olarak adlandırılan bağırsak uyarıcı bir faktör bildirilmiştir. Bu bulgudan sekiz yıl sonra serotonin adlı bir vazokonstriktör faktör izole edilmiştir. Daha sonra, enteramin ve serotoninin aynı kimyasal madde olduğu yani 5-HT olduğu gösterilmiştir [81,82].

Periferik sinirler ve beyindeki 5-HT'nin biyolojik aktivitesi birkaç yıl sonra açıklanmıştır. Ayrıca, gelişimsel çalışmalar, 5-HT'nin fetal yaşamın erken döneminde sentezlendiğini ve nöral trafikte olduğu kadar morfogenezinde de rol oynadığını ortaya koymaktadır [83]. Sinir hücresi sinyalizasyonunda görevli çeşitli kimyasal haberciler arasında, 5-HT, hemen hemen her fizyolojik fonksiyonda (yemek yeme, ödüllendirme, termoregülasyon, kardiyovasküler düzenleme, hareket, ağrı, üreme, uyku-uyanıklık döngüsü, hafıza, biliş, agresiflik, stres faktörlerine yanıt oluşturma ve duygudurum değişiklikleri) ve birçok patolojik olguda rol aldığı gözlenmektedir. Bu patolojik bozukluklar arasında; irritable barsak sendromu, huzursuz bacak sendromu, ani yenidoğan ölümleri, otizm, kronik baş ağrısı, uykusuzluk, anksiyete, depresyon, anoreksiya, şizofreni, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı bulunmaktadır [84,85,86]. Trisiklik ve tetrasiklik antidepressanlar, seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'ler) gibi anksiyolitik/antidepresan bileşiklerin çoğu, setron antiemetik, anksiyete, azapirons ve migreni rahatlatmak için kullanılan triptanların hepsi serotonerjik sistemleri hedef alır. Bunlara ek olarak, LSD (liserjik asit dietilamid), meskalin, kokain ve amfetaminler de dahil olmak üzere psikotropik ilaçlar 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} reseptörleri ve monoaminerjik taşıyıcılar vasıtasıyla 5-HT' nin fonksiyonunu güçlü bir şekilde değiştirir [87,88,89].

5-HT gastrointestinal sistemde (esasen enterokromafin hücrelerinde) yoğun şekilde sentezlenirken, sinir sistemi içinde sadece küçük bir yüzdesi sentezlenir. 5-HT'nin sentezinin, kalsiyum-bağımlı ekzositoz yoluyla salınımı, bir membran taşıyıcı tarafından seçici geri alınımı, metabolizması ve veziküllere geri alınımının 5-HT nöronlarının tüm nöronal elementleri (soma hücreleri, dendritler, aksonlar ve terminaller) ile birlikte 5-HT homeostazına katıldığına dair kanıtlar vardır. Nöralis boyunca 5-HT aksonlarının ve terminallerinin yaygın olarak dağılımı, yaygın non-sinaptik sinir iletimi (yaygın veya hacimsel sinir iletimi şeklinde tanımlanır) ve 5-HT reseptörlerinin bolluğu 5-HT ve diğer nörotransmitter arasındaki karmaşık ilişkileri ve nöro hormonal sistemleri açıklamaktadır (Şekil 2.2.) [88, 90,91].

Beyinde 5-HT sentezi, esansiyel bir amino asit olan triptofandan iki aşamalı olarak gerçekleşir. Triptofanın beyinde tüketiminin fizyolojik fonksiyonlara yansması hafıza, bilişsellik, duygudurum, duyguların yüze yansması ve uyku dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte bildirilmektedir [92]. Periferik glandular serotonerjik sistemde kullanılan birinci triptofan hidroksilaz (TPOH1)' a zıt olarak beyinde 5-HT'i sentezleyen nöronlar başka bir triptofan hidroksilaz formu olan TPOH2'yi eksprese ederler. 5-HT ile ilgili nöropsikiyatrik bozuklukların TPOH2'nin genetik polimorfizmiyle korele olduğu gösterilmektedir. Buna ek olarak son yıllarda yapılan analiz sonuçları TPOH1 polimorfizmlerinin şizofreni ve intihar davranışına yatkınlık oluşturabileceğini bildirmektedir [93]. 5-hidroksitriptofan TPOH1 ve TPOH2 tarafından oluşturulur ve sonra katekolaminerjik nöronlarda bulunan L-aminoasit dekarboksilaz (AADC) vasıtasıyla 5-HT'ye dönüştürülür [92,93,94]. İnsanlarda bildirilen AADC nokta mutasyonları katekolamin ve serotonin eksikliğine neden olarak, ciddi nöropsikiyatrik semptomlar doğurur [95].



Şekil 2.2. Serotonerjik sistemlerin dağılımını gösteren insan beyninin şematik sagittal görünüşü. Serotonerjik hücre cisimlerinin yoğunluğunu içeren raphe çekirdeği mor renktedir. Bu çekirdeklerin sadece beyin sapında bulunduğu görülmektedir. Raphe çekirdeğinden çıkan aksonlar kırmızı renkle gösterilmektedir. Ana terminal alanlarına kadar aksonların yörüngeleri ve geniş dallanması gösterilmektedir. Bu terminal alanlarındaki serotonerjik aksonal ağların yoğunlukları renkli kutular tarafından temsil edilmektedir. X: vagus sinirinin dorsal motoru, ACN: beyin ödül merkezi, AMY: amigdala, cc: korpus kollozum, Ce: serebellum, CPu: kaudat putamen, Cx: korteks, DH: dorsal spinal kord, DRN: dorsal raphe, Fcx: frontal korteks, Hip: hipokampus, Hyp: hipotalamus, IPN: interpedunkular, LC: lokus koeruleus, LS: lateral septum, MRN: median raphe, Rpa: raphe pallidus, Pro: raphe noktacıları, SN: substantia nigra, Tha: talamus, VH: ventral boynuz, VTA: ventral tegmental alan [91].

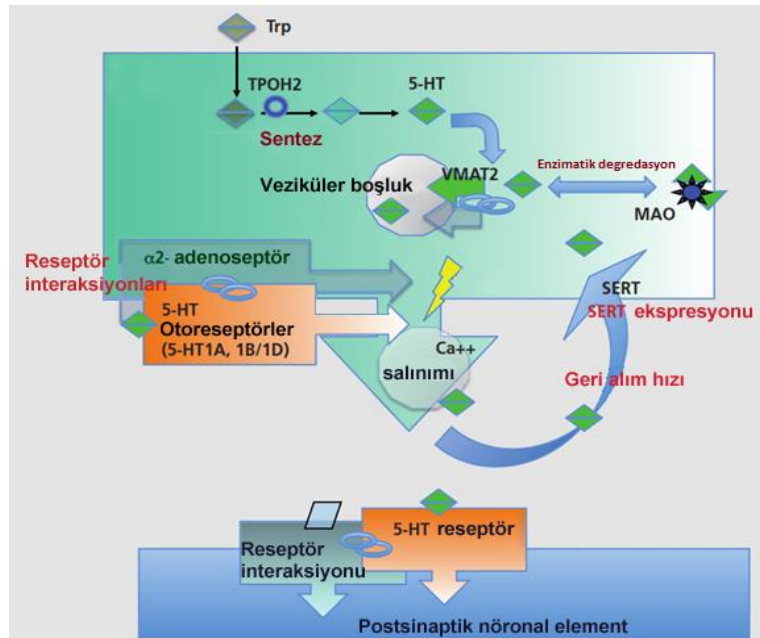
Sinir sisteminde 5-HT, monoamin oksidaz A (MAOA) enzimi tarafından metabolize edilir. 5-HT'nin yarılanma ömrünün sadece birkaç dakika olduğu bilinmektedir. Bu nedenle santral sinir sistemi ile diğer dokular arasındaki resiprokal 5-HT değişimi sınırlı düzeyde gerçekleşir. 5-HT metabolitlerindeki özellikle de 5-hidroksiindolasetik asit (5-HIAA)'te oluşabilecek fonksiyon bozukluklarına intihar girişimleri ve birtakım agresif davranışsal özellikler eşlik etmektedir [96].

2.10.1. Serotonin Taşıyıcı (SERT)

5-HT transporter ana fizyolojik rolü, salınan 5-HT'nin hücre dışı boşluklardan uzaklaştırılması ve böylece 5-HT reseptörleri aracılığıyla sinirsel iletimin süresi ve büyüklüğünün kontrolü şeklinde tanımlanabilir [97]. Bundan yaklaşık 30 yıl önce nörotransmitter sodyum simporterlerin geniş bir aile olduğu moleküler klonlama yöntemiyle tanımlanmıştır. Yedi transmembran domain gösteren metabotropik reseptörlere zıt olarak; monoamin taşıyıcıların korunumlu topolojisi on iki transmembran domain, geniş bir ekstrasellüler ilmek ve intrasellüler N ve C terminal uçlardan oluşmaktadır. 1993'te serotonin transporter (SERT) bir antidepresan ve bir kokain-duyarlı taşıyıcı olarak tanımlanmadan

hemen önce γ -aminobüritik asit (GABA) ve noradrenalin taşıyıcılarının sekansları tanımlanmıştır. 14 ekzondan oluşan SERT geni 17 nolu kromozomun q11.2 bölgesinde lokalizedir [98,99,100].

SERT geninin özellikle promotor bölgesinde bildirilen birçok polimorfizminin psikiyatrik bozukluklarla ilintili olduğu bildirilmektedir. Bunun da ötesinde SERT geni ekspresyon düzeyini miR-16'nın regüle ettiği kanıtlanmıştır [101,102]. Diğer monoamin transporterlarda olduğu gibi 5-HT'nin SERT tarafından geri alınımı ATP (Adenozin Trifosfat)-bağımlı gerçekleşir [103,104]. SERT tarafından nöronal elementlere alınımını takiben 5-HT mitokondriyal membranla bağlantılı olarak MAO (monoamin oksidaz) enzimi tarafından degrede olur. Buna alternatif olarak 5-HT bir H^+ bağımlı taşıyıcı olan veziküler monoamin transporter 2 (VMAT2) enzimi ile veziküller içine paketlenir. VMAT2 tüm monoaminlerjik nöronlarda bulunmaktadır [104,105]. SERT'in bulunmadığı 5-HT nöronal elementlerin neokortikal ve hipokampal alt gruplarının yarısı hem VMAT2'yi hem de veziküler glutamat transporter 3 (VGLUT3)'ü aynı veziküllerde birlikte eksprese eder. Veziküler glutamatın VGLUT3 aracılığıyla alınımı VMAT2 tarafından 5-HT'nin veziküllere dolmasına izin verir. VMAT2 anfetaminler, tetrabenzoinler ve reserpinler gibi birçok psikoaktif ilaç tarafından hedeflenir. Böylece 5-HT'nin nöronlarda tüketilmesi sağlanmış olur (şekil 2.3.). VMAT2 genindeki spesifik haplotiplerin depresyon semptomlarıyla bağlantılı olabileceği düşünülmektedir [106].



Şekil 2.3. Serotonerjik sinir iletimi, hücre dışı boşlukta bulunan serotonin (5-HT) seviyelerine ve komşu nöronal elemanlardaki fonksiyonel değişiklikleri tetikleyen membran reseptörüne bağlıdır. 5-HT sentezi, salınımını ve geri alınması 5-HT1A, 5-HT1B / 1D otoresptörleri ve α -2 adrenoseptörler tarafından geri bildirim inhibisyonu da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla düzenlenir [91].

2.10.2. Serotonin Reseptörleri

1957’de Gaddum, serotoninin düz kaslarda ve sinir dokusunda bulunan iki tip reseptör çeşidi üzerinden etki ettiğini düşünmüştür. Düz kaslarda bulunan reseptörlere dibenzilin seçici antagonistik etkisi nedeni ile ‘D’ reseptörleri, sinir dokusundaki reseptörlere morfin seçici etkisi nedeni ile ‘M’ reseptörleri adı verilmiştir. Günümüzde santral sinir sistemi ve periferde yedi adet serotonin reseptör tipi tanımlanmış ve daha sonra bunların alt tipleri olduğu belirlenmiştir (Tablo 2.3.). Bunlardan 5-HT₃ hariç hepsi G protein kenetli adenilat siklaza, fosfoinositole veya K⁺ kanallarına kenetli membran reseptörleridir. 5-HT₃ iyon kanalı niteliğindedir [107,108].

Tablo 2.3. Serotonin reseptör ailesi, alt tipleri, dağılımı, mekanizması ve hücresel görevi [106].

Reseptör Ailesi	Alt Tipi	Dağılımı	Mekanizması	Hücresel Görevi
-HT ₁	A,1B,1D,1E,1F	Santral sinir sistemi, kan damarları	Adenilat siklaz	İnhibitör
-HT ₂	A,2B,2C	Santral sinir sistemi, periferel sinir sistemi, plateletler, kan damarları, düz kaslar	Fosfolipaz C	Uyarıcı
-HT ₃	A,3B	Santral sinir sistemi, periferel sinir sistemi, gastrointestinal sistem	Ligan-kapılı iyon kanalı	Uyarıcı
-HT ₄		Santral sinir sistemi, periferel sinir sistemi	Adenilat siklaz	Uyarıcı
-HT ₅		Santral sinir sistemi	Adenilat siklaz	Uyarıcı
-HT ₆		Santral sinir sistemi	Adenilat siklaz	Uyarıcı
-HT ₇		Santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem, kan damarları	Adenilat siklaz	Uyarıcı

2.11. Dopaminerjik Sistem

Merkezi sinir sistemindeki katekolaminlerin yaklaşık %80’nini oluşturan dopamin (DA), 1959 da Arvid Carlsson tarafından tanımlanmış bir nörotransmitterdir. Yaklaşık on milyar beyin hücresinden bir milyarı dopamin içeren nöronlardan oluşur. Carlsson, rezerpin verilmiş ve L-Dopa ile tedavi edilmiş hayvanların beyinlerinde yeni geliştirilmiş bir cihaz olan spektrofotofluorimetriyi kullanarak dopamini keşfetmiş, beynin normal bir bileşeni olduğunu söylemiş ve özellikle bazal ganglionlarda yoğunlaştığını belirtmiştir [99].

Dopamin (3-hidroksitriptamin) norepinefrinin sentezine öncülük eden bir katekolamin nörotransmitterdir. Dopamin sentezi bir amino asit olan tirozinden iki aşamalı olarak gerçekleşir. Dopaminin norepinefrinin öncüsü olarak sentezlenen bir nörotransmitter olması

nedeniyle kendine ait bir sinyal yolağı olmadığı düşünülse de Carlsson ve arkadaşları dopaminin de kendine ait bir sinyal yolağı olduğunu göstermişlerdir [109,110]. Beyinde dört ana dopaminerjik yolak bulunmaktadır. Bunlar:

- 1.Nigrostriatal yolak
- 2.Mezolimbik yolak
- 3.Mezokortikal yolak
- 4.Tuberoinfundibular yolak olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.4.).

Bilişsel birleştirme, alışma, duyuusal-motor koordinasyon ve hareketlerin başlatılması nigrostriatal yolaktaki dopamin metabolizması ile ilişkilidir. Nigrostriatal yolak, substantia nigradan orijinlenen ve dorsal striatumda son bulan nöronlardan oluşur.

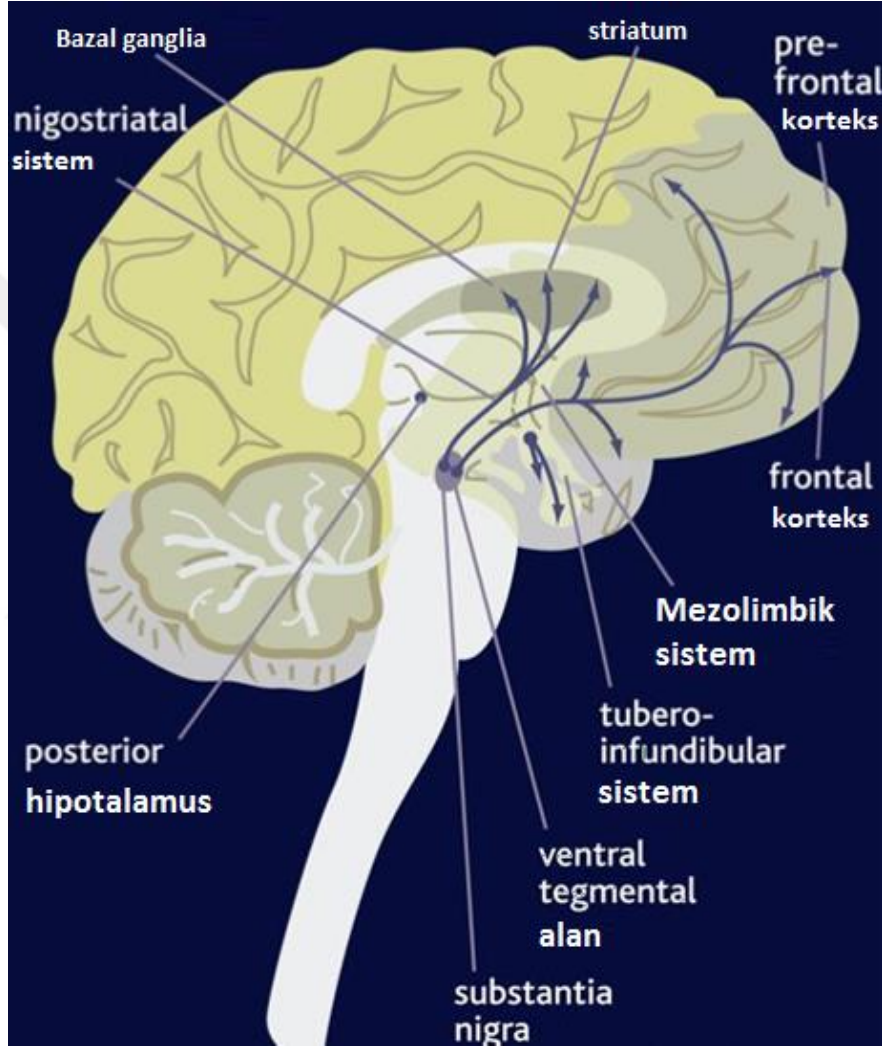
Ventral tegmental alan (VTA) ve ventral striatum, hipokampus ve amigdala arasındaki mezolimbik yolak haz duyguları, ödül ve istek ile ilişkilidir. Buradan kaynaklanan farkında olma hali (saliency) duygusal durumların oluşturulmasını sağlar. Mezokortikal yolak VTA'dan başlar ve prefrontal, dorsolateral prefrontal, temporal, parietal ve anterior singulat yapılarına uzanır. Mezokortikal yolak özellikle çalışma belleği gibi bilişsel işlevlerde devreye girmektedir. Tuberoinfundibular yolak; mezobazal hipotalamusun ('tuberal bölge' diye adlandırılır) arkuat çekirdeğinden median eminense ('tuberoinfundibular bölge') uzanan dopaminerjik nöron topluluğunu temsil etmektedir. Bu bölgeden salınan dopamin hipofiz bezinin ön bölgesinden prolaktin salınımını düzenler [111,112].

Dopamin, birçok fizyolojik ve davranışsal süreçte görevli bir katekolamindir. Bunların başında biliş, motivasyon, duygudurum ve ödül gelmektedir. Merkezi dopaminerjik sistemde oluşabilecek anormallikler birçok nöropsikiyatrik bozukluğa eşlik edebilir. Bu bozukluklar arasında; Parkinson's Hastalığı, Bipolar Bozukluk, Dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu, Şizofreni, Yeme bozukluğu ve Bağımlılık sayılabilir. Tüm bu bilgilerin ışığında dopamin düzensizliğinin nörolojik ve nöropsikiyatrik bozukluklara neden olabileceği açıktır [113].

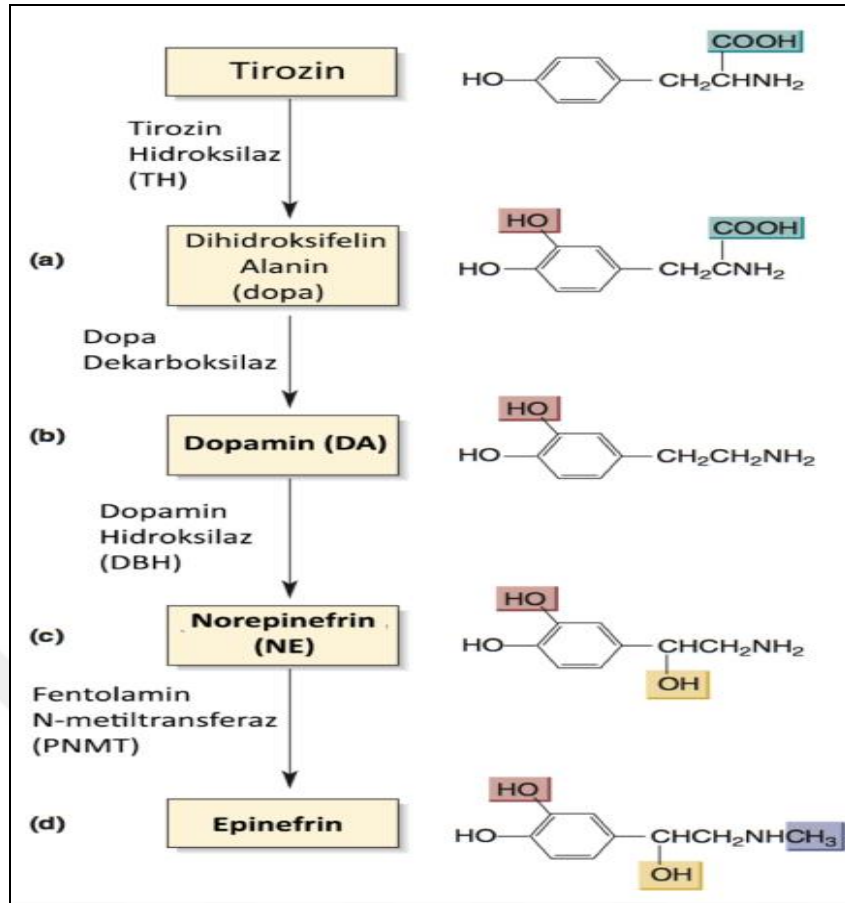
Etkili farmakoterapötik yaklaşımlar geliştirebilmek için dopaminerjik nörotransmisyonu ve onu düzenleyen düzenleyici faktörleri ve dopaminerjik sistemdeki bozuklukları anlamak, bu durumun belirli hastalıklara nasıl yansıtacağını belirlemede oldukça kritiktir [114,115].

Sentezlenen ve salınan dopamin miktarı, sinaptaki dopamin reseptörlerinin sayısı, ve dopaminin sinaptik boşlukta harcadığı zaman gibi faktörler dopaminerjik nörotransmisyonu etkiler [101, 116]. Dopaminin sentezi için bir seri enzimatik reaksiyonun gerçekleşmesi gerekir. Bunun için birinci basamak bir esansiyel amino asit olan tirozinin tirozin hidroksilaz (TH) enzimi aracılığı ile DOPA' ya dönüşmesidir. Daha sonra DOPA' dan aromatik amino asit dekarboksilaz (DOPA-dekarboksilaz) aracılığı ile dopamin üretilir (Şekil 2.5.). Daha sonra

transmitter vasküler monoamin transporter (VMAT) enzimi aracılığı ile dopamin veziküllerde paketlenir. Sinir uçlarına sitimülasyonun gelmesiyle dopamin veziküllerden sinapslara salınır. Salınan dopamin daha sonra reseptörlerine bağlanarak postsinaptik hücrelerde sinyalizasyonu başlatır. Dopamin nörotransmisyonu sona erdikten sonra salınan dopamin ilk önce sinapslardan dopamin transporter (DAT) enzimi ile uzaklaştırılır akabinde presinaptik nöronlara tekrar geri alınımı sağlanır ve tekrar veziküllerde paketlenir (116,117).

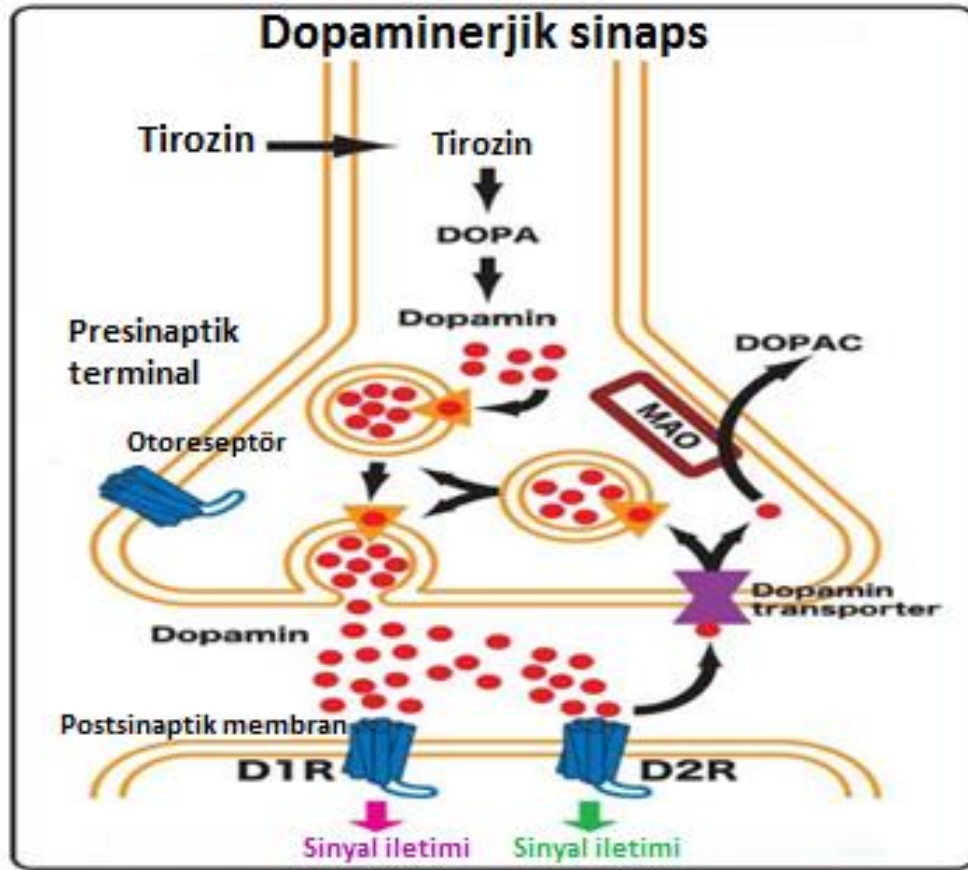


Şekil 2.4. Santral sinir sistemindeki dopaminerjik yollar. Nigrostriatal yolak substantia nigradan orijinlenir ve dorsal striatuma uzanır. Mesolimbik ve mesokortikal yollar, ventral tegmental alandan orijinlenir ve hem ventral striatum hemde prefrontal korteks bölgelerine kadar aktiftir. Son yolak ise, hipotalamustan hipofize kadar devam eden tuberoinfundibular yolaktır [113].



Şekil 2.5.: Dopaminin biyosentez basamakları [117].

Dopamin sinyal yolağının en önemli komponentleri dopamin reseptörleridir. Dopamin reseptörleri G-protein kenetli reseptör ailesi üyeleridir. Dopamini iki gruba ayrılan beş reseptör alt tipi bulunmaktadır. D1-tipi reseptörler D1 ve D5 reseptörlerinden oluşur. Bunlar G-protein kenetli reseptörler olup adenil siklaz ve siklik adenosin monofosfatın (cAMP) üretimini uyarırlar. D2-tipi reseptörler D2, D3, D4 reseptörleridir. Bunlar Gi/o protein kenetli reseptörlerdir. Gi/o protein kenetli reseptörler, G protein bağımlı ya da bağımsız yollar aracılığı ile sinyal başlatan reseptörlerdir ve kalsiyum sinyallemesini düzenlerler (şekil 2.6.). D2-tipi reseptörler adenil siklazın inhibisyonu ve cAMP' nin baskılanmasından sorumludur [118,119].



Şekil 2.6. Dopaminergic Sinaps [112].

Dopaminergic sistemde dopaminin sentezi ve norotransmisyonunun başlatılması kadar yıkımı ve norotransmisyonunun sonlanması da çok önemlidir. Dopaminin enzimatik degradasyonu monoamin oksidaz B (MAOB) ve katekolamin-o-metil transferaz (COMT) enzimlerinin aktivasyonu ile gerçekleşir. Sinapslarda dopaminin inaktivasyonundan ise Dopamine transporter (DAT) enzimi sorumludur [107,119].

Dopamine disfonksiyonunun bipolar bozukluk üzerine etkisinin olabileceğine dair hipotezler 1970'lerden beri ileri sürülmektedir. Mani üzerinde odaklanan çalışmalar ve amfetamin alımının davranışsal sonuçları ile antidopaminergic ilaçların antimanik etkileri arasında bir paralellik olduğundan bahsedilmektedir. Hiper dopaminergic manik semptomların gelişimine neden olurken, hipodopaminergic hastalığın depresif döneminde gözlenen bir durum olarak karşımıza çıkabilmektedir. Bu nedenle hastalığın manik fazında hiperdopaminergic cevap veren hatalı homeostatik mekanizmaların, dopaminergic fonksiyonda aşırı azalmaya neden olması ile hızlı bir hipodopaminergic durumun gelişmesine ve depresif dönemin tetiklenmesine sebep olabilmektedir [116,120,121].

Klinik psikiyatride kullanılan güncel antimanik antipsikotik ilaçların hepsi, dopamine D2 reseptör blokörleridir. Manik dönem için kullanımları uzun sürelidir ve dopamine fonksiyon bozukluklarının manik dönem içinde değerlendirilebileceğini desteklemektedir. Ayrıca son

yıllarda yapılan fonksiyonel ve moleküler nörogörüntüleme çalışmaları bipolar bozuklukta dopaminin rolüne ilişkin kanıtlar ortaya koymaktadır [122,123]. Ölüm sonrası yapılan çalışmalar dopaminerjik mekanizmada görevleri genlerin ekspresyon değişimlerinin bipolar bozuklukla ilişkili olabileceğini öne sürmektedir. Neredeyse tüm tutarlı bulgular D2 reseptör geni ekspresyonundaki değişimleri işaret etmekle birlikte yine aynı çalışmalar Dorsolateral prefrontal kortekste D2 reseptör upregülasyonunun bipolar bozuklukta aydınlatıcı olabileceğini göstermektedir [124,125].

2.12. mikroRNA ve Bipolar Bozukluk

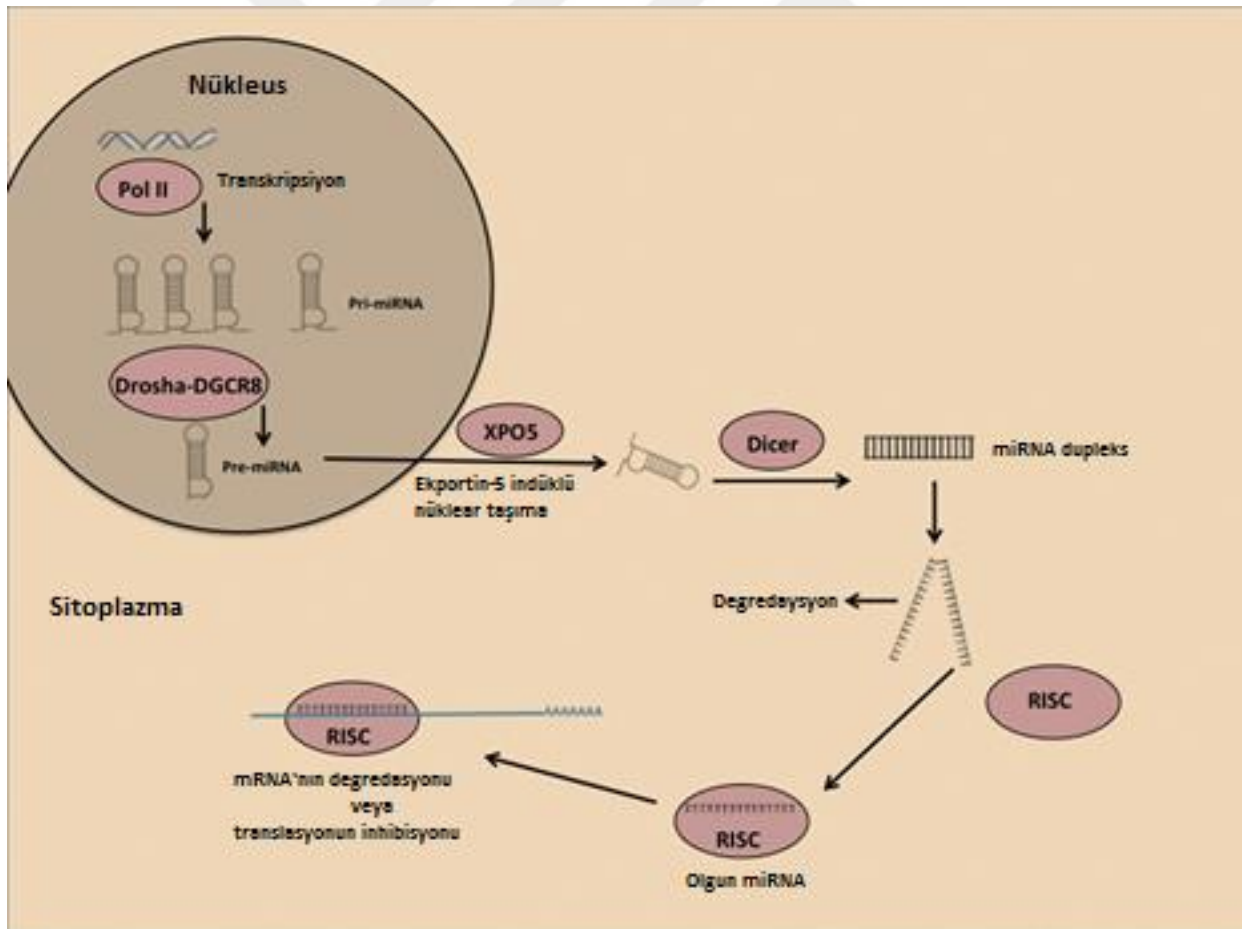
Yetişkin insan beyni, birçok farklı hücre tipini içeren şaşırtıcı biçimde mükemmel hücreler arası bağlantı yeteneği olan oldukça karmaşık bir organdır. Bu devreleri oluşturmak, muhafaza etmek ve modifiye etmek için sinapsis ve sinaptik plastisite yoluyla sinirsel girdiyi entegre etme kapasitesine sahip, oldukça karmaşık ağlar üretmek için beyindeki hücreler arası bağlantı kapasitesi kullanılmaktadır. Bu devreler; duygu, biliş, hafıza ve motivasyon için nöral temeli sağlar. Bu düzenlenmelerin moleküler düzeydeki organizasyonu da oldukça karmaşıktır ve birçok gen regülasyonu beyinin sinirsel iletim yollarında rol oynamaktadır [126].

Transkripsiyonel düzeyde DNA metilasyonu ve histon modifikasyonlarını da içeren kromatin yapısındaki birçok epigenetik mekanizma RNA sentezini modifiye etmektedir. Bu mekanizma mRNA' nın nükleustan sitoplazmaya kadar olan transkripsiyonel ve translasyonel sürecin başlangıcıdır [127]. Hücreler arası trafik ve RNA' nın gen ekspresyonu düzeyinde regülasyonu ribonükleoprotein kompleksleri ve küçük kodlamayan RNA molekülleri tarafından organize edilir. Bu küçük kodlamayan RNA moleküllerine mikroRNA (miRNA) adı verilmektedir. miRNA' lar yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda moleküller olup RNA'yı post-transkripsiyonel düzeyde modüle ederek gen ekspresyonunu baskılar. miRNA' lar insan beyinde bol miktarda bulunur ve merkezi siniri sisteminin düzenlenmesinde kritik rol oynar. miRNA' ların sinir sistemindeki en önemli görevi strese karşı hücrel yanıt oluşturmak denilebilir. Bu moleküller ve onların geniş gen ağları hem gelişimin ilk basamağı için hem de sistem homeostazının yönetilmesinde önemli bir mekanizma sağlarlar [128,129].

miRNA biyogenezi nükleusta başlayan iki basamaklı bir süreç olup RNA polimeraz II enzimi aracılığıyla primer miRNA (pri-miRNA)' nın oluşturulması ile başlar. Pri-miRNA lar 5' başlıklı poliadenile moleküller olup birkaç kilobaz uzunluğunda olabilmekte ve bir (monosistronik) veya birkaç (polisistronik) miRNA öncüsünden oluşabilmektedir. Oluşan pri-miRNA formu saç tokası (hairpin) yapısındadır. Bu yapı, DGCR8 (Di George Syndrome Critic Region 8) tarafından algılanır ve daha sonra bir RNase-III enzimi olan Drosha enzimi ile kenetlenerek mikroprokürsör kompleksi (pre-miRNA) denen yapıyı oluşturur. DGCR8 rehberliğinde, Drosha yaklaşık 70 nükleotid uzunluğundaki pre-miRNA' nın hairpin yapısını 3'

uç, 3' hidroksil ve 5' fosfat gruplarından yıkımını sağlayarak pre-miRNA'nın nükleustan sitoplazmaya taşınır hale gelmesini sağlar [130,131].

Pre-miRNA'nın sitoplazmaya taşınması exportin-5 enzimi tarafından gerçekleştirilir. Sitoplazmada başka bir RNase-III enzim ailesi üyesi olan Dicer enzimi ile olgun yaklaşık 18-25 nükleotid uzunluğunda çift iplikli bir dupleks oluşturulur. Bu çift iplikli dupleksin bir ipliği antisens iplik olarak isimlendirilerek miRNA'yı oluştururken diğer iplik sense iplik olarak isimlendirilir. Antisense iplik Argonat (Ago) ailesi üyesi proteinlere entegre olarak RNA-bağımlı Sessizleştirme Kompleksi (RNA-induced Silencing Complex, RISC)' ni oluşturur (Şekil 2.7.). RISC' e bağlanarak aktif hale gelmiş miRNA, daha sonra hedef mRNA' nın 3'-UTR (3' Untranslated Region) bölgesine kendisinin 5' ilk 2-8 nükleotidlik pozisyonundan Watson-Crick baz eşleşmesi esasına uygun olarak bağlanır ve mRNA' yı baskılar. miRNA-RISC kompleksinin hedef mRNA'nın tanıma elemanına (miRNA recognition element, MRE) bağlanması mRNA'nın sitoplazmada işlenmesinde destabilizasyona yol açar ve böylece ribonükleoprotein granüllerinde translasyonun baskılanması (protein sentezinin inhibisyonu) gelişir [132].



Şekil 2.7. mikroRNA (miRNA) biyogenezi [126].

Hem in vivo hem de in vitro çalışmalar, strese karşı yanıtta miRNA biyogenezinde değişmiş gen ekspresyonu düzeylerini bildirmektedir [132]. Hayvan stres modelleri, beyin gelişimi ve plastisitesi gibi önemli nöral fonksiyonlarda hem pre-miRNA hem de olgun miRNA'nın regülasyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörü olan REST (Repressor element-1 silencing transcription factor) proteininin düzeyinde azalma gözlemlenmiştir [133,134].

miRNA insan beyinde oldukça fazla miktarda bulunmakta ve nörojenez, migrasyon, farklılaşma/özelleşme, morfogenezin regülasyonu, aksonogenez, sinaptogenez, dendritik omurganın gelişimi gibi merkezi sinir sisteminin fonksiyonlarını düzenleyen birçok hayati süreçte görev almaktadır [135,136,137]. miRNA base release 21.0 veritabanına göre şimdiye kadar 1800 ün üzerinde insan miRNA'sı tanımlanmıştır ve kolektif olarak transkriptomun yaklaşık üçte ikisi miRNA'lar tarafından düzenlenmektedir.

Gen ekspresyonunun regülasyonunu sağlamak suretiyle miRNA'lar, tüm biyolojik süreçlerden sorumlu olmaktadır. Böylece miRNA'ların ekspresyon profilinde çok küçük değişimlerin bile, biyolojik ağın içerisinde birçok genin ifadesini değiştirebilmesi ve hastalıkların patogenezinde önemli bir yeri olabilmesi mümkündür [126]. miRNA'ların beyindeki hayati rollerine bakıldığında, birçok nörolojik kondüsyonun patofizyolojisinde rol aldığı anlaşılmaktadır. Psikiyatrik sendromlarda, miRNA'nın microarray ve kantitatif tersine transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) analizlerini, tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP), ve kopya sayısı varyasyonlarını (CVNs) belirleyen genetik ilişkilendirme çalışmalarını kullanan ekspresyon analizlerinde, miRNA'nın disregülasyonunu destekleyen önemli çalışmalar vardır. Ekspresyon çalışmalarında, yaygın olarak ölüm sonrası beyin dokusu veya periferik kan mononükleer hücreleri gibi diğer doku örnekleri kullanılmaktadır. Her ne kadar ölüm sonrası beyin dokusu ile yapılan çalışmalar miRNA disregülasyonu için daha sağlam kanıtlar sağlasa da; periferik doku örnekleri ile yapılan çalışmalar da teşhis amaçlı kullanılabilecek biyobelirteçleri tespit etme potansiyeline sahiptir. Genom boyu ilişkilendirme çalışmaları, miRNA ekspresyon seviyelerini değerlendirmez, sadece psikiyatrik hastalıklarda miRNA'nın nedensel rolü için kanıtlar sunar. Ekspresyon çalışmalarında ise miRNA'lar ile hastalık arasında bir ilişki olup olmadığı gösterilir [138]. Yapılan birçok çalışma, hastalıktan etkilenmiş bireylerde ölüm sonrası kortikal beyin dokusunda miRNA ekspresyon düzeylerinde önemli değişiklikler olduğunu öne sürmektedir [139]. Her ne kadar miRNA disregülasyonunun bipolar bozukluk üzerinde direk bir etkisinin olduğu net olarak kanıtlanmamış olsa da; valporik asidin Dicer enziminin proteosomal degradasyonunu indüklediği ve genel olarak miRNA ekspresyonunda downregülasyona neden olduğu gösterilmiştir [140]. Bu bulgu duygudurum düzenleyicisi olarak kullanılan valporik asidin bipolar bozukluğun patofizyolojisini miRNA biyogenezini modifiye etmek suretiyle etkilediğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalar ışığında miR-29c, miR-132 ve miR-106b dahil olmak üzere bazı miRNA'ların hem şizofreni hem bipolar bozukluk olguları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu da psikotik sendromlarda, miRNA disfonksiyonundan etkilenen ortak yolaklar olduğunu düşündürmektedir. Özellikle miR-132'nin bipolar bozuklukta önemli bir yeri olan sirkadyan saat mekanizmasında rol oynadığı bildirilmektedir [141].

Sonuç olarak bipolar bozuklukta miRNA'ların ve hedef genlerinin daha fazla araştırılması, hastalığın gelişimi hakkında bilgi sağlamak için önemlidir. Bunun da ötesinde ekspresyon çalışmaları ışığında miRNA'lar potansiyel biyobelirteçler olabilir ve yeni ilaç hedefleri olarak hastalığın tedavi sürecine hizmet edebilir. Biz bu çalışmada iki uçlu duygudurum bozukluğu olgularında dopamin ve serotonin biyogenezinde ve metabolizmasında görevli tablo 5'te isimleri, kromozom lokasyonları ve kodladıkları proteinlerin görevleri verilen genleri www.mirdatabase.org miRNA veri tabanına göre en yüksek skorla hedefleyen miRNA'ların ekspresyon profillerini araştırdık (tablo2.4. tablo2.5.).

Tablo2.4. miRNA'ların hedefledikleri genlerin kromozom lokasyonları ve görevleri [142].

No	Genin adı	Kromozom lokasyonu	Kodladığı Proteinin Görevi
1	DDC(Dopa dekarboksilaz)	7p12.1	L-3,4 dihidrofenilalaninin dopamine karboksilasyonunu katalizler.
2	SLC6A3 (solute carrier family 6 member 3)	5p15.33	Sodyum-bağımlı dopamin transporter olarak görev yapar.
3	COMT (Catechol-O-Methyltransferase)	22q11.21	Dopamin, epinefrin ve nor epinefrin gibi nörotransmitterlere S-adenozilmetiyoninden metil grubu transfer eder.
4	SLC6A4 (solute carrier family 6 member 4)	17q11.2	Serotonin sinaptik boşluktan presinaptik nöronlara transferini sağlar.
5	MAOA (monoamine oxydase type A)	Xp11.3	Dopamin, serotonin gibi aminlerin oksidatif deaminasyonunu katalizler.

Tablo2.5. Çalışmada araştırılan miRNA lar, hedef genleri ve hedefleme skorları [143,144,145].

NO	miR Adı	Kromozom lokasyonu	Hedef Gen	Hedefleme Skoru
1	miR-145-5p	5q32	DDC (Dopa dekarboksilaz)	77
2	miR-4725-3p	17q11.2	SLC6A3 (dopamin transporter)	99
3	miR-376a-5p	14q32.31	COMT (catechol-O-metiltransferaz)	87
4	miR-4482-3p	10q25.1	COMT	85
5	miR-4253	1p36.12	SLC6A4 (solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, serotonin) member 4)	84
6	miR-3680-3p	16p12.2	MAOA (monamine oksidaz A)	82
7	miR-26b		Kontrol miR	

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **BAP-SBE TBB (ST) 2013-3 DR** nolu proje olarak desteklenmiştir. Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanan; “İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu Olgularında Dopamin ve Serotonin İlişkili Bazı mikroRNA (miRNA) ekspresyon düzeylerinin araştırılması” adlı doktora tez projesidir. Çalışmada hasta ve kontrol gruplarının oluşturulması, Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları (Psikiyatri) Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilmiştir. Moleküler biyolojik analizler ise Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarı’nda yapılmıştır.

Çalışmada; hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden RNA izolasyonu için, 10 ml’lik venöz kan 1 ml % 2 ‘lik etilendimetiltetraasetik asit (EDTA) içeren, 15 ml’lik santrifüj tüplerine konulmuştur. RNA izolasyonu ve cDNA eldesine kadar -20°C de saklandı. Hastalardan alınan periferik kan örneklerinden total RNA izolasyonu için asit guanidinyum – fenol kloroform (AGPC) yöntemi kullanılmıştır. Dopamin ve serotonin metabolizması için COMT (catechol-O-metiltransferaz), MAOA (monoamine oxydase type A), SLC6A4 (solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, serotonin) member 4), SLC6A3 (Solute Carrier Family 6 (Neurotransmitter Transporter, Dopamine), Member 3), DDC (Dopa decarboxylase), anahtar genleri ile ilgili miRNA’ lar çalışmaya dahil edilmiştir. miRDB (microRNA Target Prediction and Functional Study Database) www.mirdb.org ve mirbase 21 mikroRNA veri tabanına göre seçilen genleri en yüksek skorla hedefleyen miRNA’larının ekspresyon analizleri “**ABI Prism 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)**” cihazında yapılmıştır. Analizler için “SDS 2.0.6 software for allelic discrimination (Applied Biosystems)” programı kullanıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.1. Çalışmada Kullanılan Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Bu araştırma, T.C. Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş olup **22.02.2018** tarihinde alınan ve **2018/97** sayılı kararla uygun bulunmuştur. Hasta grubu Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı’na başvuran ve takibi yapılan, İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu (Bipolar Bozukluk) tanısı alan bireylerden oluşturuldu. Sağlıklı kontrol grubu ise yine aynı kliniğe başvuran, İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu (Bipolar Bozukluk) da dahil olmak üzere hayatının herhangi bir döneminde herhangi bir psikiyatrik hastalık tanısı almamış bireylerin seçilmesiyle oluşturulmuştur.

Çalışmada, İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu hasta grubu içinde değerlendirilen 56 bireyden, kontrol grubu içinde değerlendirilen 52 sağlıklı bireyden olmak üzere toplam, 108

bireye ait periferik kandan izole edilen RNA materyali dahil edilmiştir. Çalışmaya katılmak isteyen gönüllü hasta ve sağlıklı bireylere, etik kurulda belirtilen yönergelerle uygun olarak hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formu okutulup imzalatılmıştır. Her bireyden 10 ml periferik kan örneği alınarak, %2'lik etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen periferik kan örneklerinden RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Hasta ve kontrol örneklerine ait moleküler analizler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (Hotpoint Ariston)
- Derin Dondurucu (Arçelik)
- Etüv (Nüve EN-500)
- Hassas Terazı (ACJ 120-4M, Kern)
- Mikropipet Seti (Thermo Electron Corporation)
- Otoklav (OT 40 L, Nüve StreamArt)
- PCR (Veriti, Applied Biosystems)
- Real-Time PCR (ABI 7500, Applied Biosystems)
- Santrifüj (NF-400, Nüve)
- Vorteks (VELP Scientifica)

3.2.2. Sarf ve Kimyasal Malzemeler

- 5 X Hot Firepol® Probe QPCR Mix Plus (ROX) (08-14-00020, Solis Biodyne)
- 5x Reaksiyon tamponu RT-PCR
- dNTPs Mix 10mM (100 ul) (SNP010-10, SNP Biyoteknoloji)
- Etanol (1009712500, Merck Millipore Corporation)
- İzopropanol (I9516, Sigma)

- Kloroform:İzoamilalkol (24:1) (X205, Amresco)
- Microamp Real Time PCR Plate kaplama Filmi (Applied Biosystems)
- Microamp Real Time PCR Plate tutucu (Applied Biosystem)
- Mikrosantrifüj tüpü 1,5 ml'lik (Axygen)
- PCR tüpü 0,2 ml'lik (Axygen)
- Pipet ucu 0,5-10 µl'lik (T-300, Axxygen)
- Pipet ucu 1-200 µl'lik (T-200-Y, Axxygen)
- Pipet ucu 1-1000 µl'lik (T-1000-B, Axxygen)
- Polipropilen Real Time PCR Plate (96'lık) (Applied Biosystems)
- RevertAid Reverse Transcriptase (200U/µl) (EP0442, Thermo Scientific)
- Ribolock RNase Inhibitor (40 U/µl)(EO0382, Thermo Scientific)
- Ribozol (N580, Amresco)
- Steril Distile Su (Polifarma)

3.3. Periferik Kandan RNA Elde Eldesi

Periferik kandan RNA eldesi için asit guanidinyum – fenol kloroform (AGPC) yöntemi kullanılmıştır [146]. Kontrol ve hasta gruplarına ait kan örnekleri, RNA elde edilene kadar -20°C'de saklanmıştır. Örnekler oda ısısına getirildikten sonra RNA izolasyonu ve elde edilen bu RNA örneklerinden ekspresyon analizi için cDNA eldesi yapılmıştır.

3.3.1. Periferik Kandan RNA Elde Etme Yöntemi

- EDTA'lı kan örneği 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 500 µl kan transfer edildi. Üzerine 500 µl trizol eklendi ve hemen vortekslenerek buz içinde 15 dakika inkübe edildi.
- 200 µl kloroform: izoamilalkol (24:1) eklendi (+4°C'de soğutulmuş) ve hemen vortekslendi.
- Mikrosantrifüj tüpleri +4°C'de 10 dk. 14.000 rpm'de santrifüj edildi.
- Santrifüjden sonra örnek üç faza ayrıldı. Üstteki açık sıvı fazda RNA, orta beyaz bulutumsu fazda DNA, alttaki kırmızı fenol fazda protein olmak üzere üç faz oluştu.

- RNA içerikli üst açık sıvı faz, etiketli tüplere transfer edildi.
- Sıvı fazın üzerine 500 µl hacimde izopropanol eklendi ve RNA'yı çöktürmek için 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- Tüpler +4°C'de 10 dk. 14.000 rpm'de santrifüj edildi.
- Süpernatant, pelletin altüst olmamasına dikkat edilerek pipetle atıldı.
- Pellet üzerine 1 ml hacimde %80'lik soğuk etanol ilave edilerek RNA yıkanması sağlandı. Daha sonra, tüpler +4°C'de 10 dk. 14.000 rpm'de santrifüj edildi.
- Pipetle yine pellete dikkat edilerek süpernatant atıldı ve kuruma için 10-15 dk inkübe edildi. Etanolün kalmamasına dikkat edildi.
- RNA pelletinin çözünmesi için üzerine 50 µl distile su ilave edildi. 15 sn kadar vorteks yapıldı ve oda sıcaklığında 10 dk. bekletildikten sonra tüpler -20°C'de saklandı.

3.4. Bipolar Bozukluk Hastalığı ile İlişkili miRNA 'ların Seçilmesi

miRNA'ların seçiminde, İki Uçlu Duygudurum Bozukluğunun etiyopatogenezinde önemli rolleri olduğu düşünülen genler tercih edilmiştir. Bu genlerin önemi hastalıkla ilgili aday gen çalışmalarında da vurgulanmaktadır. Çalışmaya dahil edilen miRNA'ların hedefledikleri genler, aynı zamanda farmakolojik tedavilerde birçok psikotik ilaç tarafından hedeflenen genler arasında bulunmaktadır. Dopamin ve Serotonin metabolizmasında görevli DDC (Dopamin decarboxylase), COMT (catechol-O-mrtiltransferaz), SLC6A3 (Solute Carrier Family 6 (Neurotransmitter Transporter, Dopamine), Member 3), MAOA (monoamin oksidaz A) ve SLC6A4 (Solute Carrier Family 6 (Neurotransmitter Transporter, Serotonin), Member 4) genleri tercih edilmiştir. Bu seçilen genleri miRBase21 www.mirbase.org ve miRbase21 ve miRDB (microRNA Target Prediction and Functional Study Database) veri tabanına göre en yüksek skorla hedefleyen 6 miRNA' nın ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol gruplarında araştırılmıştır.

3.5. Real-Time PCR yöntemi için Primer ve Prob Dizaynı

miRbase21 ve miRDB (microRNA Target Prediction and Functional Study Database) veri tabanı programları kullanılarak primer dizileri elde edilen hsa-miR-145-5p, hsa-miR-376a-5p, hsa-miR-3680-3p, hsa-miR-4253, hsa-miR-4482-3p ve hsa-miR-4725-3p çalışmaya dahil edilen miRNA'lardır. Endojen kontrol olarak ise hsa-miR-26b-5p seçilmiştir. Tüm bu miRNA'lara ait ekspresyon düzeylerini ölçmek üzere bu miRNA'lara özgün kök-halka yapısındaki primer ve prob dizileri Primer Express 3.0 (Applied Biosystems) programı kullanılarak tasarlanmıştır. Seçilen miRNA'ların dizileri ve kök-halka yapıları aşağıda belirtilmektedir.

1- hsa-miR-145-5p (Hedef geni: DDC Dopa dekarboksilaz)

>hsa-mir-145 MI0000461

CACCUUGUCCUCACG**GUCCAGUUUCCCAGGAAUCCCU**UAGAUGCUAAGAUGGGGAUUCCUGGAAA
UACUGUUCUUGAGGUCAUGGUU

>hsa-miR-145-5p MIMAT0000437

GUCCAGUUUCCCAGGAAUCCCU

c u u c **uc u c** uagau
5' acc ug ccuca **gg cagu uu ccaggaaucccu** g
||| || |||| || |||| || |||| |||| c
3' ugg ac ggagu **uc guca aa gguccuuagggg** u
u u u - **uu u a** uagaa

2- hsa-miR-376a-5p (Hedef geni: COMT)

>hsa-mir-376a-1 MI0000784

UAAAAG**GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA**CAUUAUUUAUGAUUAAUCAUAGAGGAAAAUCCACGUU
UUC

>hsa-miR-376a-5p MIMAT0003386

GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA

u g a c u --**gua** u
5' aaaa **gu gauu uccu cuauga** cau a
||| || |||| |||| |||| || || u
3' uuuu **u ca cuaa agga gauacu** gua u
c **g c a** - **aauua** u

3- hsa-miR-3680-3p (Hedef geni: MAOA)

>hsa-mir-3680-1 MI0016081

AAAUUUAAAGGAGGGACUCACUCACAGGAUUGUGCAAUUGCAAAGUUGGC**UUUUGCAUGACCCUGG**
GAGUAGGUGCCUCCUUAUUUUU

>hsa-miR-3680-3p MIMAT0018107

UUUUGCAUGACCCUGGGAGUAGG

g uc a a ug u aa
5' aaauuuuaggagg **ac acuc cagg u ugcaaa gc a**
||||||| || |||| |||| | |||| || g

3' uuuaauuccucc ug ugag gucc a acguuu cg u
g ga g c gu u gu

4- hsa-miR-4253 (Hedef geni: SLC6A4 serotonin transporter)

>hsa-mir-4253 MI0015860

CCAGCCAUCGCCCCUUGAGGGGCCUAGGACUACUUGUGCAGGGCAUGUCCAGGGGGUCCAGGUCU
GC

>hsa-miR-4253 MIMAT0016882

AGGGCAUGUCCAGGGGGU

c - --au g u g g a g uu
5' cag cc c ccu ga g gccu g ac a
||| | | ||| | | ||| | |
3' guc gg g ggga cu u cggga c ug c
c u accu g c ga - g uu

5- hsa-miR-4482-3p (Hedef geni: COMT)

>hsa-mir-4482 MI0016843

AGUGAGCAACCCAGUGGGCUAUGGAAAUGUGUGGAAGAUGGCAUUUCUAUUUCUCAGUGGGGCUC
UUACC

>hsa-miR-4482-3p MIMAT0020958

UUUCUAUUUCUCAGUGGGGCUC

a caa g cu gugg
5' gugag ccca ugga auggaaugu a
|||| | ||| | | ||| |||
3' cauuc gggu acuc uaucuuuacg a
c ucg g uu guag

6- hsa-miR-4725-3p (Hedef geni: SLC6A3 dopamin transporter)

>hsa-mir-4725 MI0017362

GUGUCUCUCUGGAGACCCUGCAGCCUCCCCACCCACCAGGGAGCUUCCAUGGGCUGUGGGGAAGGC
GUCAGUGUCGGGUGAGGGAACAC

>hsa-miR-4725-3p MIMAT0019844

UGGGGAAGGCGUCAGUGUCGGG

5' gugu cucuc **gac cug gccuuccc ac** cca gg c
||||| ||| ||| ||||| || ||| ||
3' caca gggag **cug gac cggaaggg ug** ggu cc u
a **uggg u ug** g ucg a uu

Periferik kandan total RNA izolasyonundan sonra ilgili miRNA'ları elde etmek için cDNA oluşturmak üzere RT (reverse transcriptase) primer dizileri ve miRNA'ların özgün ekspresyonlarını analiz etmek için primer ve prob dizileri "Metabion International AG, Martinsried/Deutschland" tarafından sentezlenmiştir (Tablo 3.1.). Ekspresyon için RT primerleri kök-halka yapısında tasarlanmıştır. Her prob 5' ucunda FAM ile işaretlenmiş floresan ışımaya yapabilen boya ve 3' ucunda ise bu ışımaya gerçekleştiği dalga boyuna sahip ışığın yayılmasını engelleyen Black Hole Quencher™ (BHQ) adındaki "quencher" (soğurucu) kovalent bağ ile bağlanmıştır. Ayrıca bazı miRNA'lar için sitozin nükleotid yerine sitozin analogu olan C-5 propinil-deoksiribo Sitozin (pdC) ilavesiyle prob tasarlanması sırasında floresan boya ile işaretli oligonükleotidin erime sıcaklığı (T_m) artırılarak hedefe özgüllük korunmaya çalışılmıştır. Prob dizileri tasarlanırken ilgili miRNA'nın özgün olarak elde edilmesi ve ekspresyonunun ölçülebilmesi için sıkıştırılmış nükleik asit teknolojilerinden (Zip nucleic acids-ZNA) yararlanılmıştır.

Tablo 3.1. miRNA RT-PCR (Reverse Transcription PCR) ve Real-Time PCR primer-prob dizileri

miRNA adı	*miRNA Gen Id	**miRNA Nükleotit Dizi No	Primer prob dizileri
hsa-miR-26b-5p	407017	NR_029500.1	RT-5'-GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGACACCTAT-3'
			F-5'-GCCGCTTCAAGTAATTCAGG-3'
			PR-FAM-5'-TG(pdC)ATA(pdC)GA(pdC)A(pdC)CTATCC-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa-miR-145-5p	406937	NR_029686	RT -5'-GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGAC AGGGAT-3'
			F-5'-GCCGCGTCCAGTTTTTCC-3'
			PR-FAM-5'-TG(pdC)ATA(pdC)GA(pdC) AGGGAT-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa- miR-4725-3p	100616449	NR_039878	RT-5'-GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGAC CCCGAC-3'
			F-5'-GCCGCTGGGGAAGGC-3'
			PR-FAM-5'-TG(pdC)ATA(pdC)GAC CCCGAC-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa-miR-376a-5p	494325	NR_029868	RT-5'- GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGAC TACTCA-3'
			F-5'- GCCGCGTAGATTCTCCTTCTA-3'
			PR-FAM-5'- TG(pdC)ATA(pdC)GA(pdC) TA(pdC)T(pdC)A-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa-miR-4482-3p	100616323	NR_039702	RT-5'- GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGAC GAGCCC-3'
			F-5'- GCCGCTTCTATTTCTCAGTGG-3'
			PR-FAM-5'- TG(pdC)ATA(pdC)GACGAGCCC-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa-miR-4253	100422914	NR_036214	RT-5'- GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGAC ACCCCC-3'
			F-5'- GCCGCAGGGCATGTCCA-3'
			PR-FAM-5'- TG(pdC)ATA(pdC)GACACCCCCT-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa-miR-3680-3p	100500917	NR_037451	RT-5'- GTCGTATGCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGCATACGAC CCTACT-3'
			F-5'- GCCGCTTTTGCATGACCC-3'
			PR-FAM-5'- TG(pdC)ATA(pdC)GA(pdC) C(pdC)TA(pdC)T-ZNA4-BHQ-1-3'
hsa-miR-Universal	100846991	NR_049829	R-5'-GTGCAGGGTCCGAGGTAT-3'
*www.ncbi.nlm.nih.gov/gene, **http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene, kısaltmalar: F: Forward, R: Reverse, PR: Prob, RT: Revers transkriptaz			

3.6. Real-Time PCR ile Ekspresyon Analizi

Gerçek zamanlı RT-PCR, nükleik asit çoğalmasıyla eş zamanlı olarak artış gösteren, floresan sinyalin ölçülmesiyle kısa sürede kantitatif sonuç verebilen bir PCR yöntemidir. Bu çalışmada TaqMan Prob Yöntemi ile 5' ve 3' uçlarından florokrom maddelerle işaretli prob kullanılmıştır. Periferik kan örneklerinden RNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra hem hasta hem de kontrol grubunda İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu hastalığında önemli rolleri olduğu düşünülen **DDC**, **COMT**, **MAOA**, **SLC6A3** ve **SLC6A4** genlerini en yüksek skorla hedef alan olgun miRNA'lara spesifik RT primerleri ile total RNA'dan standart PCR yöntemi ile komplementer DNA (cDNA) sentezi hem hasta hem de kontrol gruplarında gerçekleştirildi. cDNA' ları oluşturulan örneklerin ekspresyon düzeyleri miRNA'ların olgun dizilerine özgü kök-halka yapısındaki primerler ve proplar kullanılarak Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction; qRT-PCR) yöntemi ile tespit edildi.

3.6.1. RNA materyalinden cDNA Eldesi

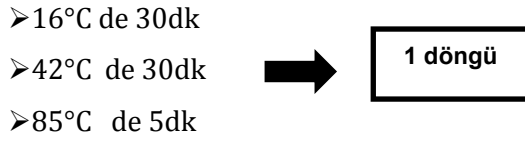
Hasta ve kontrol gruplarına ait total RNA materyalinden cDNA eldesi standart PCR yöntemi ile gerçekleştirildi. Ekspresyon analizi için, endojen kontrol olarak seçilen hsa-miR-26b-5p ve ekspresyon düzeyleri belirlenecek altı miRNA' nın spesifik RT primerleri kullanılarak her iki grupta cDNA konversiyonları aşağıdaki protokole göre yapıldı:

cDNA sentezi için kullanılanPCR karışımı ve koşulları aşağıdaki gibidir:

1x cDNA Karışımı

10mM dNTP:	1,5 µl
Reverse Transcriptase 200u/ µl:	0,25 µl
5x RT Tampon:	3 µl
RNAase inhibitör 200u/ µl:	0,2µl
dH ₂ O:	5µl
RT Primer(5 ul):	0,2µl
Total RNA:	5µl

cDNA sentezi için Thermal Cycler Koşulları Aşağıdaki Gibidir:



3.6.2. PCR Ürünlerinin Saptanması

Real- Time PCR “PCR” çoğaltımını görünür hale getiren ve monitörize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı bir çoğaltma yöntemi olması dolayısıyla gen anlatımının kuantitatif olarak belirlenmesi konusunda önemli ve başarılı bir yöntem olarak bilinmektedir. Bu çalışmada, miRNA saptamasında floresan saptama boyası olarak Taqman prob kullanılmıştır. Çalışmada, 96 kuyucuklu plaka kullanılarak her bir kuyucuğuna belirli bir miRNA’ ya ait hasta ya da kontrol grubu breylerinden cDNA örnekleri ve Real-Time PCR karışımı hazırlanarak yerleştirilmiştir. Daha sonra plakanın üzeri film ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kaplanarak ısı bloğuna yerleştirilmiştir. Başlama evresinde 50°C’de 2 dk, 95°C’de 10 dk ve döngü evresinde 50 döngü 95°C’de 15 sn, 57°C’de 90 sn olacak şekilde Real-time PCR analizi gerçekleştirildi.

1x Real-Time PCR Karışımı:

Master Mix (Solis Biodyne):	12,5 µl
Primer Universal:	2,5 µl
Primer Forward (Her miRNA için spesifik):	2,5µl
Prob (Her miRNA için spesifik):	0,2 µl
dH ₂ O:	5µl
cDNA:	5µ

3.6.3. Veri Analizi

Çalışmamızda, iki farklı örnekte bulunan (endojen kontrol ve hedef miRNA) miRNA miktarlarının miRNA miktarında meydana gelen değişiklikler tespit edildi. miRNA ekspresyon düzeyindeki bu değişimler, SDS 2.0.6 yazılımı ile $\Delta\Delta CT$ değerleri kullanılarak belirlendi. Daha sonra, $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri hesaplanarak veri normalizasyonu sağlandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışma ile ilgili istatistiksel analizler, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır. Ekspresyon düzeyleri tüm miRNA'lar için normal dağılım göstermediğinden sonuçlar, **medyan[25.persentil-75.persentil]** cinsinden özetlenmiştir. İki bağımsız grup karşılaştırılması için **Mann Whitney U** testi kullanılmıştır. Yaş ve öykü gruplarında ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılığı araştırmak için ise parametrik olmayan testlerden **Kruskal-Wallis Testi** yapılmıştır. Birden fazla gen incelendiğinden yanlış bulgu oranını kontrol altında tutmak amacıyla p değeri üzerinde **Benjamini Hochberg** düzeltmesi yapılmıştır. **p<0,05** istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir. Bazı p değerleri için <0,001 değeri kullanılmıştır. Bunun nedeni 0,001 den daha küçük sayıların istatistiksel olarak doğru ve kabul edilir yazımının <0,001 şeklinde olmasından kaynaklanmasıdır. Analizler **Statistica 13.3** programı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Hasta- Kontrol Grubunun Yaş, Cinsiyet bakımından Değerlendirilmesi

Bu çalışmada hasta grubunda 56 birey bulunurken, kontrol grubunda 52 birey olmak üzere toplam 108 birey bulunmaktadır. Çalışmamıza katılan hasta ve kontrol bireylerin 51'i kadın, 57'si erkek olup, bireylerin yaş ortalamaları $32,6 \pm 14,8$ olarak hesaplanmıştır. Cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde hasta ve kontrol gruplarında bulunan kadınların yaş ortalamaları $34,8 \pm 11,7$ olup erkeklerin ise $30,5 \pm 17,6$ olarak hesaplanmıştır. Cinsiyetler bakımından yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

4.1.1. Hasta Grubu

Bu çalışmaya, 25 (%44,64) kadın, 31'i (%55,36) erkek olmak üzere toplam 56 hasta birey dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen ve değerlendirmeye alınan 56 hasta bireye "İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu" hastalığı tanısı, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda muayene edilerek klinik bulgular doğrultusunda konulmuştur. Çalışmaya dahil edilen hastaların toplam yaş ortalamaları $30,6 \pm 12,6$ olarak hesaplanmıştır. Bununla beraber, yaş ortalamaları cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, kadın bireylerin yaş ortalaması $31,3 \pm 10,4$ iken, erkek bireylerin yaş ortalaması $30,2 \pm 18,3$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1.). Hasta bireylerin yaş ortalaması ile kontrol grubu bireylerin yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Gruplar cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde ise, kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tqblo 4.2.).

Tablo 4.1. Kontrol ve hasta gruplarına ait yaş ortalamalarının değerlendirilmesi (N=birey sayısı).

	YAŞ			
	Erkek		Kadın	
	N	Yaş ortalaması	N	Yaş ortalaması
Kontrol grubu	26	$31,5 \pm 11,2$	26	$29,4 \pm 14,4$
Hasta grubu	31	$30,2 \pm 18,3$	25	$31,3 \pm 10,4$

4.1.2. Kontrol Grubu

Bu çalışmaya, 26'si (%50) kadın, 26'i (%50) erkek olmak üzere toplam 52 kontrol birey dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen kontrollerin toplam yaş ortalamaları $32 \pm 6,13$ olarak hesaplanmıştır. Kontrol bireylerin yaş ortalaması ile hasta grubu bireylerin yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Bununla beraber, yaş ortalamaları cinsiyet açısından değerlendirildiğinde, kadın bireylerin yaş ortalaması $29,4 \pm 14,4$ iken, erkek bireylerin yaş ortalaması $31,5 \pm 11,2$ olarak hesaplandı. Kontrol grubundaki erkek ve kadın bireylerin yaş ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$). Gruplar cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde ise, kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2.)

Tablo 4.2 Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyet bakımından değerlendirilmesi (N=birey sayısı).

Grup	Cinsiyet						p
	Erkek		Kadın		Toplam		
	N	%	N	%	N	%	
Kontrol grubu	26	25	26	25	52	48,14	0,413
Hasta grubu	31	27,6	25	22,4	56	51,86	
Toplam	57	52,8	51	47,2	108	100	

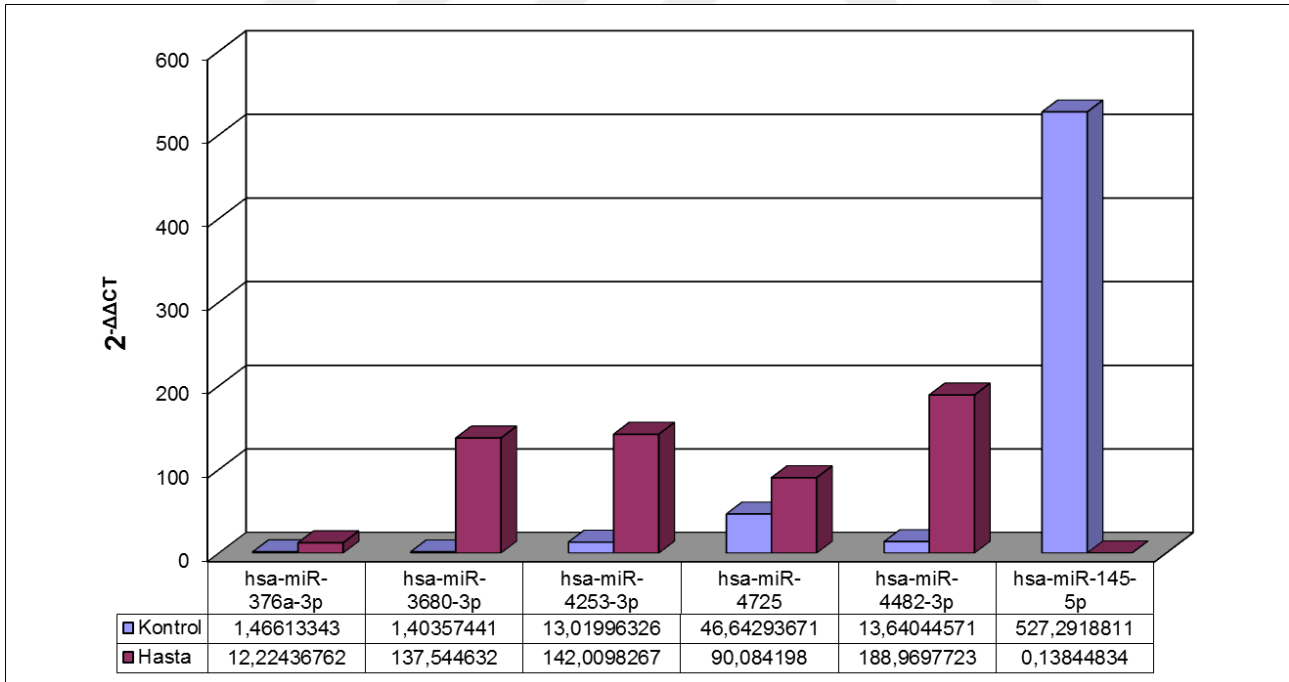
4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Ekspresyon Verilerinin Analizi

Bu çalışmada, İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu Hastalığında Dopamin ve Serotonin metabolizmasında görevli genleri ve dopamin ve serotoninin nöronal iletiminde görevli reseptör genlerin gen ekspresyonu düzeyinde regülasyonunu kontrol eden ve ilgili genleri en yüksek skorla hedefleyen hsa-miR-145-5p, hsa-miR-376a-5p, hsa-miR-3680-3p, hsa-miR-4253, hsa-miR-4482-3p ve hsa-miR-4725-3p mikroRNA'larının ekspresyon analizleri Real-Time PCR yöntemi ile kantitatif olarak analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu bireyler arasındaki kantitatif farklılıklar belirlenerek her iki grup arasında anlamlı bir fark olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirilerek p değerleri her bir miRNA için hasta ve kontrol grupları arasında hesaplanmıştır. Analizler süresince hasta ve kontrol grubuna ait bazı bireyler çalışmadan çıkarılmıştır. Bunun nedeni bazı hasta ve sağlıklı bireylere ait ekspresyon düzeylerinde sağlıklı değer alınamamasından ya da ekspresyon düzeyinin hiç ölçülememesinden kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, kontrol ve hasta grupları arasında hsa-miR-376a-3p, hsa-miR-3680-3p, hsa-miR-

4253 ve hsa-miR-4482-3p' de ekspresyon düzeyleri bakımında hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Hasta grubunun miRNA'ları, kontrol grubuna göre daha yüksek oranda eksprese olduğu tespit edilmiştir. miR-145-5p nin ekspresyon düzeyinin ise hasta grubunda kontrol grubunda göre daha düşük düzeyde eksprese olduğu belirlenmiştir. miR-4725 için ise hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). (ÇTablo 4.3.) (Şekil 4.1.).

Tablo 4.3. Kontrol ve hasta gruplarının minimum, maksimum ve p değerleri.

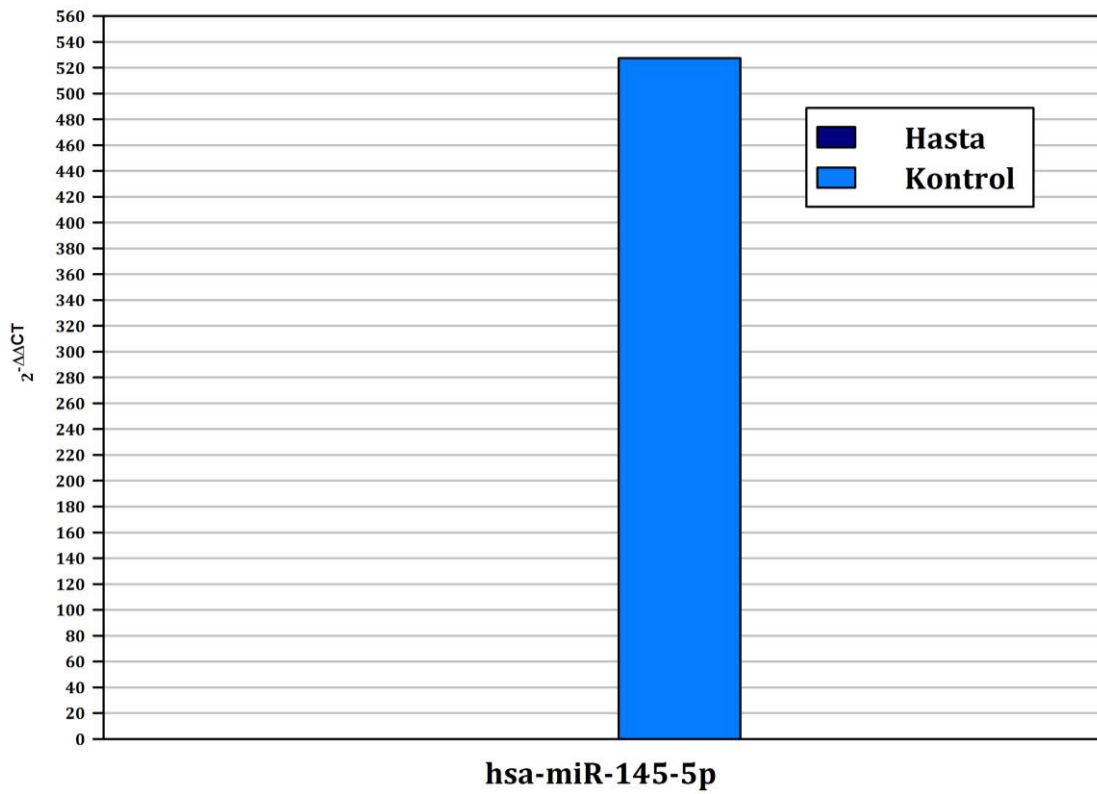
	Hasta	Kontrol	
	Medyan[25P-75P]	Medyan[25P-75P]	p
hsa-miR 145_5p	,04334413-,32978321	51,59660387-3774,88643925	<0,001
hsa-miR376a-3p	,47924544 - 63,11424256	,06107838-5,81977371	0,003
hsa-miR 3680-3p	25,21967316-538,41293335	,00290339-52,81105137	<0,001
hsa-miR 4253	19,68864537-1172,52349900	,19234589-510,35454560	0,017
hsa-miR 4482	50,52394867-4125,72851600	,35717973-129,49822238	<0,001
hsa-miR 4725	8,20787239-459,56762700	,99770355-799,59600830	0,403



Şekil 4.1. Kontrol ve hasta gruplarına ait hsa-miR-376a-3p, hsa-miR-3680-3p, hsa-miR-4253-3p ve hsa-miR-4725, hsa-miR-4482-3p, hsa-miR-145-5p miRNA'larının ekspresyon düzeylerinin veri grafiği.

4.2.1. hsa-miR-145-5p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi

Kontrol grubunda 48 birey, hasta grubunda ise 56 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin $2^{-\Delta\Delta CT} = 527,29188105$, hasta grubunda $2^{-\Delta\Delta CT} = 0,13844834$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından kontrol grubunda hasta grubuna göre ~3808 kat artış olduğu bulunmuştur (Şekil 4.6). Kontrol ve hasta grubunda hsa-miR-145-5p genine ait ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Hasta grubunun miR-145-5p geni bakımından ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış olduğu saptanmıştır.

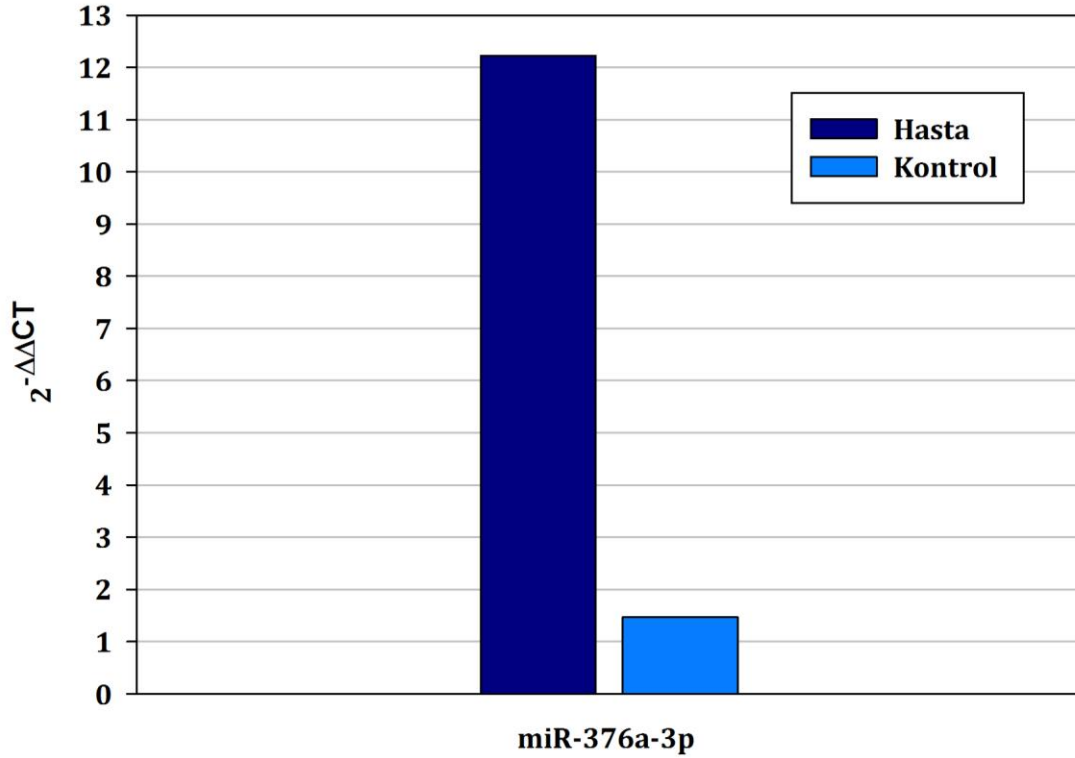


Şekil 4.2. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-145-5p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği

4.2.2. hsa-miR-376a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi

Kontrol grubunda 44 birey, hasta grubunda ise 48 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin $2^{-\Delta\Delta CT} = 1,46613343$, hasta grubunda $2^{-\Delta\Delta CT} = 12,22436762$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre ~8 kat artma olduğu bulunmuştur (Şekil 4.2). Hasta ve kontrol grupları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. ($p = 0,003$). Hasta

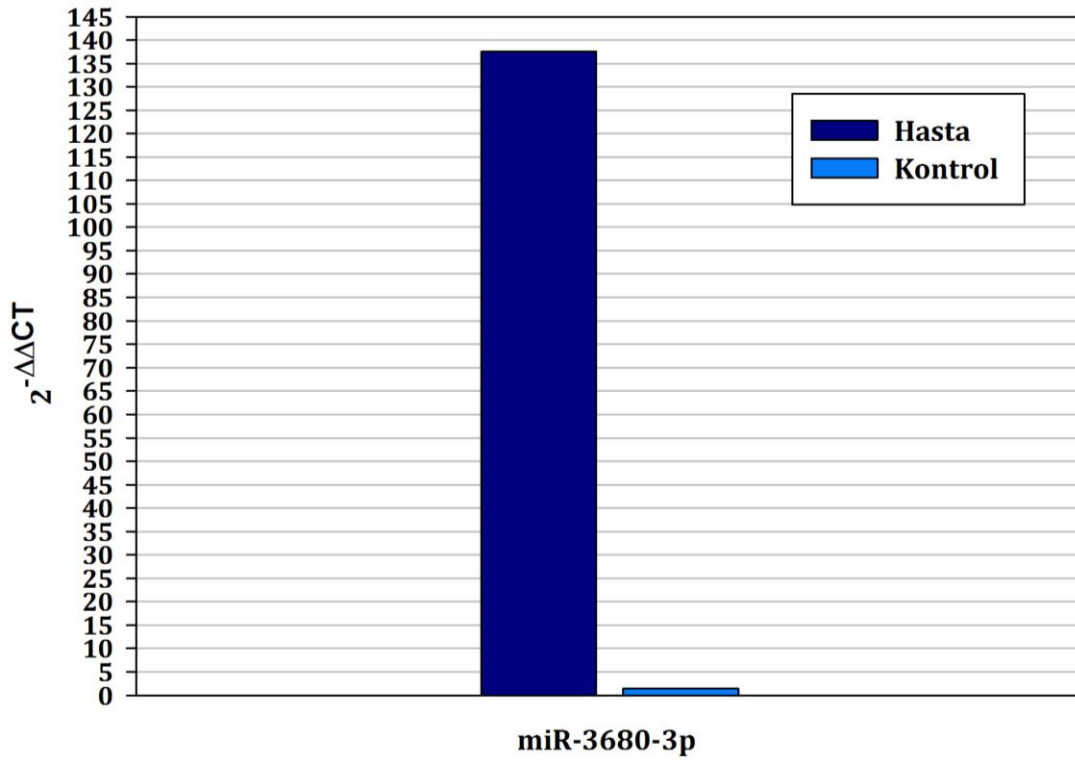
grubunun miR-376a-3p geni ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-376a-3p miRNA'sına ait ekspresyon düzey grafiği.

4.2.3. hsa-miR-3680-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi

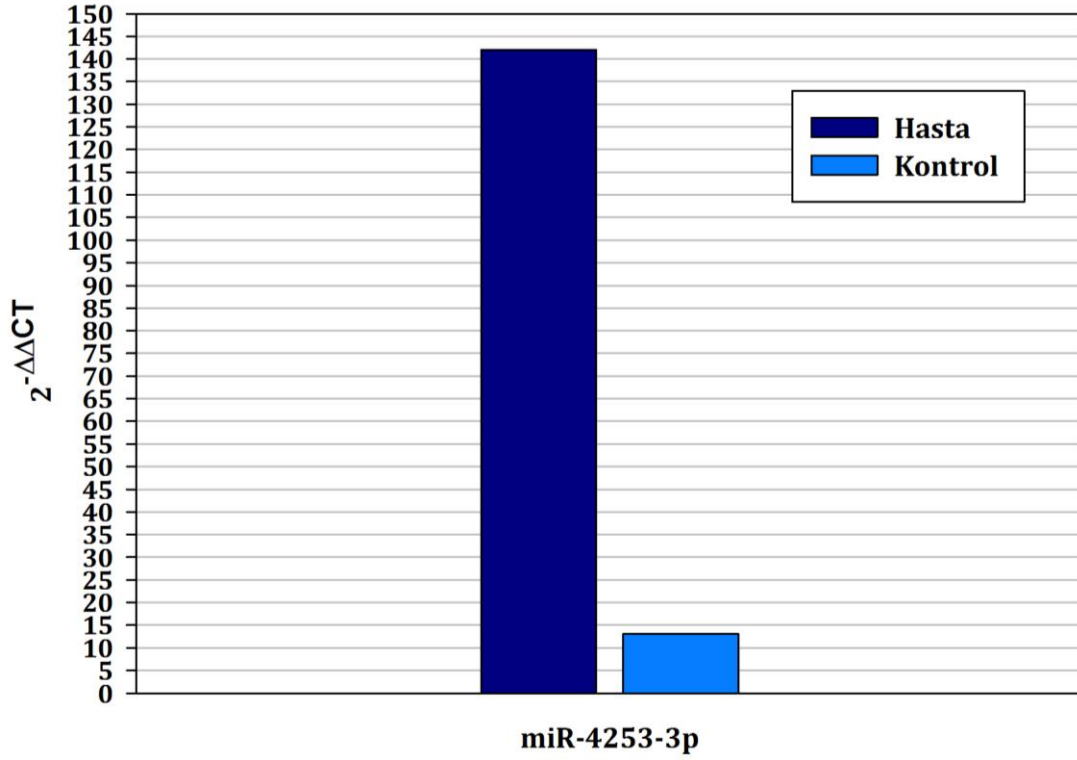
Kontrol grubunda 48 birey, hasta grubunda ise 50 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin değeri $2^{-\Delta\Delta CT} = 1,40357441$, hasta grubunda $2^{-\Delta\Delta CT} = 137,544632$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre ~97 kat artma olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3). Hasta ve kontrol grupları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. ($p = <0,001$). Hasta grubunun miR-3680-3p geni bakımından ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-3680-3p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği.

4.2.4. hsa-miR-4253-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi

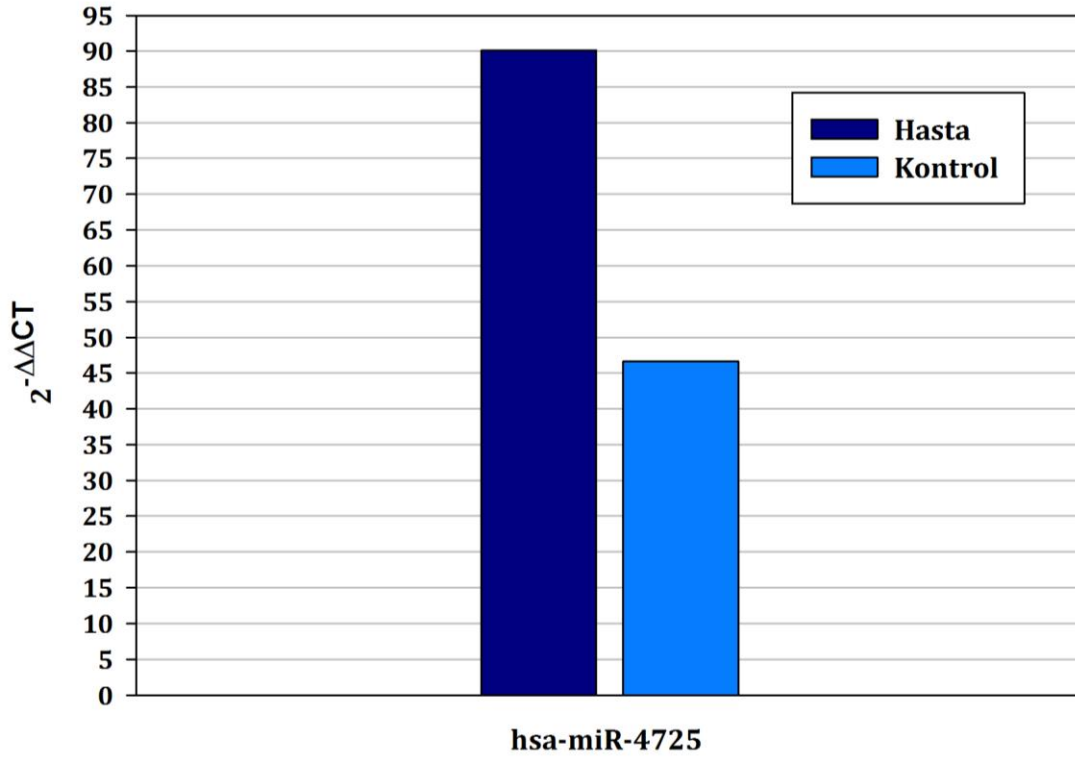
Kontrol grubunda 48 birey, hasta grubunda ise 50 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin değeri $2^{-\Delta\Delta CT} = 13,01996326$, hasta grubunda $2^{-\Delta\Delta CT} = 142,00982670$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre ~10 kat artma olduğu bulunmuştur (Şekil 4.4.). Hasta ve kontrol grupları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. ($p = 0,017$). Hasta grubunun miR-4253-3p geni bakımından ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Kontrol ve hasta grubunun hsa-4253-3p miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği.

4.2.5. hsa-miR-4725 Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi

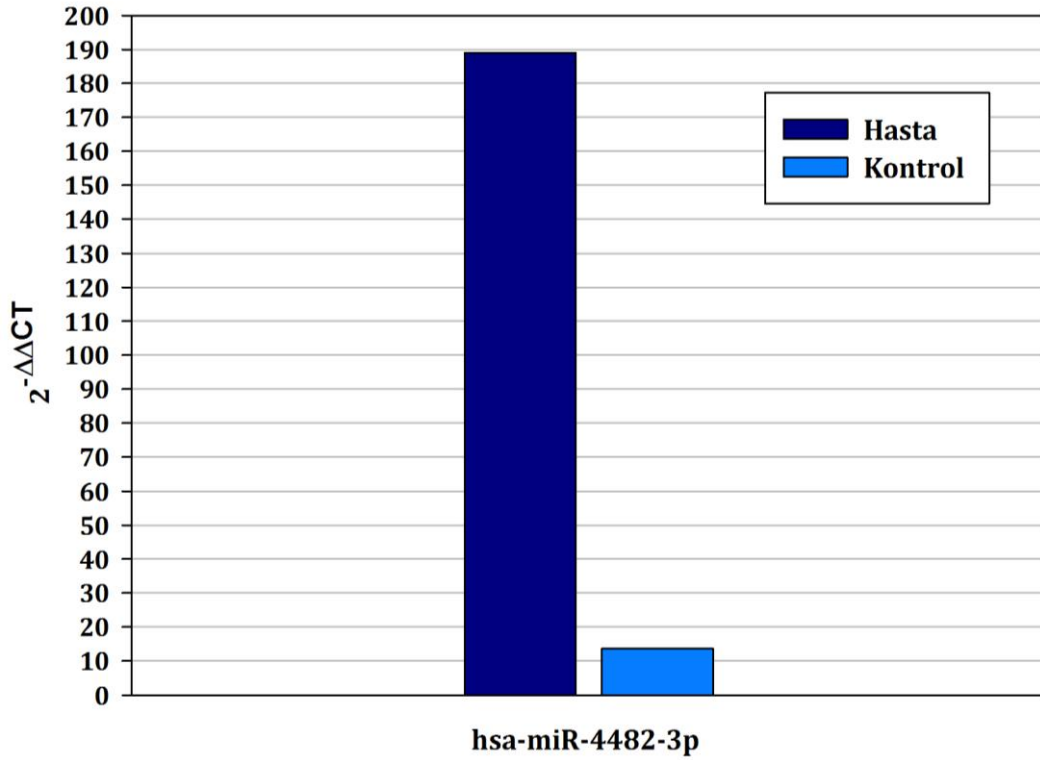
Kontrol grubunda 47 birey, hasta grubunda ise 55 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin değeri $2^{-\Delta\Delta CT} = 46,64293671$, hasta grubunda $2^{-\Delta\Delta CT} = 90,08419800$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre ~1,9 kat artma olduğu bulunmuştur (Şekil 4.5.). Hasta ve kontrol grupları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. ($p = 0,403$).



Şekil 4.6. Kontrol ve hasta grubunun hsa-4725 miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği.

4.2.6. hsa-miR-4482-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Gruplarında Değerlendirilmesi

Kontrol grubunda 52 birey, hasta grubunda ise 51 birey değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubunda ekspresyon düzeyinin değeri $2^{-\Delta\Delta CT} = 13,64044571$, hasta grubunda $2^{-\Delta\Delta CT} = 188,96977230$ olduğu gözlenirken; ekspresyon düzeyleri bakımından hasta grubunda kontrol grubuna göre ~13 kat artış olduğu bulunmuştur (Şekil 4.6). Kontrol ve hasta grubunda hsa-miR-4482-3p genine ait ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Hasta grubunun miR-4253-3p geni bakımından ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Kontrol ve hasta grubunun hsa-miR-4482 miRNA'sına ait ekspresyon düzeyi grafiği

Bipolar bozukluk manik/depresif hastalık olarak da tanımlanan genellikle duygulanım ve davranış bozukluklarının eşlik ettiği, aşırı depresyon veya maniden ağır depresyona kadar değişen, duygulanım dönemlerinde sanrılar ve halüsinasyonların da görüldüğü patolojik bir rahatsızlık olmakla birlikte kompleks bir genetik bozukluktur [1].

Tipik olarak dönemleri arasında iyileşmelerin de gözlemlendiği epistotik bir hastalık olan bipolar bozukluk için, modern operasyonel tanı ölçütleri hastalığın yaşam boyu prevalansının erkeklerde ve kadınlarda benzer oranlarda olduğunu, bu oranın %0,5-1,5 arasında değiştiğini ve hastalık başlangıç yaşının ortalama 21 civarında olduğunu göstermektedir [2]. Bipolar bozukluk, dünya çapında 30 milyondan fazla kişiyi etkilemektedir ve iş göremezlik için en yaygın görülen 20 neden arasındadır. Avrupalıların % 2'si, hayatlarının bir döneminde, bipolar bozukluk geçirmektedir ve bunların yaklaşık yarısı, bipolar I bozukluk yaşamaktadır. Son verilere göre bipolar bozukluk Amerika Birleşik Devletleri'nde 5,7 milyon insanı etkileyen önemli bir psikiyatrik bozukluktur ve bu hastalık bireylere, ailelerine ve topluma büyük bir duygusal, ekonomik ve sosyal yük getirmektedir [147]. Türkiye'de ise yaklaşık 2 milyon insanın hayatlarının bir döneminde bipolar bozukluk tanısı aldığı ve ülkemizde hastalığın başlangıç yaşının 25 yaş altı olarak bildirildiği görülmektedir [3].

Bipolar bozukluk yüksek düzeyde morbidite ile ilişkilidir ve hastaların yaklaşık %15'inin intihar girişimi sonucu yaşamına son verdiği tahmin edilmektedir. Bipolar bozukluk hastalığının

hem manik hem de depresif dönemlerinde birtakım ilaç tedavi yöntemleri mevcuttur. Bipolar bozukluk tedavisinde en konvansiyonel farmakolojik yaklaşımını lityum tedavisi oluştururken, son zamanlarda çeşitli antikonvülsanlar depresyon ve maninin akut ataklarının nüksünü azaltmak için kullanılmaktadır. Profilaktikler ise bipolar bozukluğun tedavisinde duygu durum düzenleyicileri olarak kullanılmaktadır. Ancak tüm bu mevcut tedaviler oldukça fazla yan etkilere sahiptir ve maalesef tümüyle etkili olmamakla birlikte hastalığa kesin bir tedavi sağlamamaktadır [148].

Klinik uygulamada, bipolar bozukluğun tanısında hastaların başvuru anındaki semptomları fiziksel ve mental durum muayeneleri hasta ile yapılan görüşmelerden elde edilen veriler tanımlayıcı olmaktadır. Bu durum hastalık semptomlarının kişiden kişiye değişmesi, farklı fazlarda seyreden epistotik bir hastalık oluşu ve karmaşık yapıda bir psikiyatrik bozukluk oluşu sebebiyle klinik tabloda heterojeniteye neden olmaktadır. Bipolar bozukluğun bu karmaşık yapısı hastalığın özellikle tanı konmasında biyobelirteçler gibi daha net veri ortaya koyabilecek kriterlere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir [1].

Bipolar bozukluğun patogenezinin tam olarak anlaşılamamış olması tanı ve tedavi sürecine olumsuz yansımaktadır. Hastalığın görüldüğü bireyin ailesine yönelik yapılan çalışmaların tanı sürecinde aydınlatıcı olduğu bilinse de, böylesine kompleks bir bozukluğun altında yatan mekanizmaları tek başına açıklamaya yeterli değildir. Hastalığın nörobiyolojisinin aydınlatılmasının yanında, hastalığın altında yatan genetik mekanizmaların açıklanabilmesi için yapılan ve yapılacak olan çalışmalar tanı ve tedavi sürecini olumlu yönde etkileyecektir [4].

Bipolar bozukluğun nörobiyolojisinin anlaşılmasında önemli ilerlemeler olmasına rağmen, zamanında tanı ve etkin tedavi klinik olarak netlik kazanmamıştır. Hastalığın klinik gözlemlerinde karşımıza çıkan dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğunun yanı sıra anksiyete, kişilik, yeme-içme ve madde kullanım bozuklukları da dahil çoklu psikiyatrik komorbidite tanı ve tedaviye müdahale eder ve genel olarak hastalığın morbidite ve mortalitesine artmış intihar riski eşlik eder. Artan intihar riskine ek olarak, bipolar bozukluk birçok kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar, metabolik ve endokrin bozukluklar da dahil olmak üzere birçok tıbbi komorbidite ile ilişkili bulunmuştur. Tüm bunlara nöropsikiyatrik sendromlar da eşlik ettiğinde bipolar bozukluk olgularında yaşam prevelansı oldukça azalmaktadır [149].

Ne yazık ki, açıkça tanımlanmış nedensel mekanizmalardan ziyade tanımlayıcı terminolojiye dayanan yaklaşımlar birçok hasta için fonksiyonel iyileşme sağlayan tedavilere yol açmamıştır. Ayrıca mevcut farmakolojik tedaviler, hasta bireylerin bilişsel bozulmaları daha da uzatan yan etkilere maruz kalmalarına neden olmaktadır. Bu kısır döngüden çıkmanın en önemli yolu genetik, nörogörüntüleme, histolojik ve biyokimyasal çalışmaların üstünlüğüne dayanmaktadır. Bu çalışmaların sonuçları, bipolar bozukluğun biyolojik olarak farklı bir hastalık kategorisinde incelenmesine olanak verir ve hastalığa farklı bir bakış açısı getirir [150,151].

Bu bilgilerden yola çıkarak, bipolar bozukluğun patofizyolojisinin aydınlatılmasında genetik yaklaşımlar oldukça değerli görülmektedir. Özellikle aday gen çalışmaları hastalığa neden olabilecek olası gen düzeyindeki fonksiyon bozuklukları açısından aydınlatıcı düzeydedir. SNP (Single Nukleotid Polimorfizm) düzeyindeki çalışmaların hastalığın kesin tanımlanmasında çok yetersiz kalmasının anlaşılmasıyla altın standart olarak kabul edilen Genom-Boyutlu İlişkilendirme Çalışması yaklaşımı başlangıçta hayal kırıklığı yaratsa da özellikle bipolar I bozukluk için tutarlı SNP ve genetik yolak sonuçları vermeye başlamıştır [152].

Şaşırtıcı olmayan bir şekilde genetik tabanlı çalışmalar, bipolar bozukluğun oldukça heterojen bir kondisyon olduğunu göstermiştir. SNP yaklaşımının yanı sıra CNV' lerin (copy number variation)' ve epigenetik varyasyonlar gibi yapısal genomik değişimlerin de bipolar bozukluk hastalığının ortaya çıkmasında rol aldığı görülmektedir [153].

Yüzlerce genin tarandığı genom-boyutlu ilişkilendirme çalışmaları sonucu değişken ve tutarlı olmayan sonuçların çıkması da durumu iyice karmaşık hale getirmiştir. Genel olarak küçük bireysel katkılar, yetersiz örnek büyüklüğü ve hastalığın heterojen yapısı nedeni ile bipolar bozukluktan sorumlu olabilecek genlerin tanımlanmasında yetersiz kalınmıştır. Bu çalışmalarda daha çok transkripsiyon, translasyon, enerji dönüşümü ve metabolizmada görevli housekeeping genlerin tanımlanmasında başarı sağlanabilmiştir [154].

Genom boyutlu ilişkilendirme çalışmaları arasında transmisyon, hücre farklılaşması, sitoskelet oluşumu ve strese karşı yanıt gibi daha çok beyin spesifik işlevlerde rol oynayan genlerin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar mevcuttur. Bunların en dikkat çekici olanı, Bhat S ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. L-tipi voltaj kapılı Ca^{++} kanalının alfa alt birimini kodlayan CACNA1C (Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha 1C) geninin disfonksiyonunun bipolar bozukluk patofizyolojisinde önemli rol oynayan bilişsel ve dikkat problemleri ile ilişkilendirilmiştir [155].

Bipolar bozukluk patofizyolojisinin tanımlanmasında farklı bir yaklaşım olarak bazı çalışmalar, gen ağları ve protein-protein interaksiyonlarına odaklanmıştır. Örneğin bir çalışmada endoplazmik retikulumun golgi cisimciğinden veziküllerin taşınmasında rol alan SEC24C (SEC24 Homolog C, COPII Coat Kompleks Component) ve nöromusküler bağlantılarda reseptör düzeneğinden sorumlu proteinleri kodlayan MUSK (Muscle Associated Receptor Tyrosine Kinase) genlerini de içeren bir dizi genin bipolar bozukluğun tanısında biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir [156].

Aday gen yaklaşımları COMT, BDNF, NRG1 (Neuregulin-1) gibi birtakım genlerdeki fonksiyon bozukluklarının şizofreni ve bipolar bozukluk için kuvvetli risk faktörleri olabileceğini göstermektedir [157].

COMT genine ek olarak, bipolar bozukluk hastalığı; MAOA (Monoamin oksidaz A), dopamin taşıyıcı, serotonin taşıyıcı (5HTT) de dahil olmak üzere sentetik ve katabolik enzimleri kodlayan diğer birçok gendeki polimorfizmler ile ilişkilendirilmiştir [158].

Beyinde, COMT, nörotransmitterler olarak adlandırılan bazı kimyasal habercileri parçalamaya yardımcı olur. Bu kimyasallar, bir sinir hücresinden diğerine sinyaller iletir. COMT beynin ön kısmındaki, beynin diğer bölümlerinden bilgi düzenleyen ve koordine eden prefrontal korteks olarak adlandırılan bir alanda özellikle önemlidir. Bu bölge kişilik, planlama, davranışların engellenmesi, soyut düşünme, duygu ve çalışma (kısa süreli) hafıza ile ilgilidir. Etkili bir şekilde işlev görmek için, prefrontal korteks, dopamin ve norepinefrin gibi nörotransmitterler tarafından sinyallemeyi gerektirir. COMT, beynin bu kısmında bu nörotransmitterlerin uygun seviyelerini korumaya yardımcı olur [159].

Epigenetik değişimlerin de gen ekspresyonu düzeyinde bipolar bozukluğun farklı evrelerinde rol alabileceği düşüncesi farklı çalışmalarla öne sürülmüştür [160]. Örneğin Abdol Malekey HM ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmalarında COMT geni promotor bölge hipermetilasyonunun şizofreni ve bipolar bozukluk için majör bir risk faktörü olduğu vurgulanmıştır [161]. Hipermetile bir genin ekspresyon düzeyinin azaldığı bilinmektedir. Bu bilgiden yola çıkarak; çalışmamızdaki bulgularımızda, COMT genini hedefleyen hsa-miR-376a-5p ve hsa-miR-4482-3p miRNA'larının hasta grubunda kontrol grubuna göre oldukça anlamlı bir şekilde yüksek düzeyde eksprese oluşu; COMT geninin ekspresyon düzeyinde azalma ile sonuçlandığını göstermekte ve her iki çalışmanın bulgusu birbirini desteklemektedir.

Zhang HS ve arkadaşlarının COMT ve PPIEL (Peptidylprolyl Isomerase E Like Pseudogene) genleri ile yaptıkları epigenetik metilasyon çalışmalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hasta grubundaki COMT ve PPIEL gen metilasyon seviyelerinin anlamlı olarak daha yüksek ($p < 0.05$) olduğunu göstermişlerdir. Ancak 12 aylık tedavi süreci sonrası bu düzeylerin istatistiksel olarak anlamlı derecede değişmediğini vurgulamışlardır [162].

Liang-Jen Wang ve arkadaşları COMT ve MTHFR gen polimorfizmlerini bipolar II bozukluk olgularında değerlendirmişlerdir. Bulgularında, COMT geni Val158Met genotipi ile MTHFR geni C677T polimorfizminin korele bir şekilde hastalıkla güçlü bir bağlantısının olduğunu göstermişler ve bu iki genin etkileşiminin bipolar II bozukluk patogeneziinde hem dopaminerjik yollarda hem de metilasyon yollarında oluşabilecek fonksiyon bozukluklarının hastalığa neden olabileceğini savunmuşlardır [163].

Tüm bu bilgiler ışığında, COMT genindeki olası fonksiyon bozuklukları, nöropsikiyatrik bozuklukların patogenezi için önemlidir. Yukarıda bahsedilen çalışmaların çoğu SNP düzeyinde olmakla birlikte, polimorfizm çalışmalarının hastalığın tanısında net sonuçlar veremeyeceği yaygın görüşü ile COMT geninin ekspresyonal düzeydeki regülasyonunu belirlemek amaçlı

yapılan miRNA ekspresyon çalışmamız hastalıkla gen arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarma konusunda daha aydınlatıcı niteliktedir.

Biyojenik aminlerin degradasyonundan sorumlu önemli bir enzim olan MAOA enzimini kodlayan MAOA geninin duygu durum bozukluklarından sorumlu olabileceği düşüncesi uzun yıllardır tartışılmakta ve bununla ilgili birçok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır [164]. Farmakolojik ve genetik bulgular, MAOA geninin yapısal ya da regülatör dizilerindeki varyasyonların insanlarda davranışsal ya da fizyolojik patolojilere neden olabileceği vurgulanmaktadır [165].

MAOA geni hasarlı farelerde, MAOA' nın seçici substratı olan serotonin, norepinefrin ve dopaminin beyindeki seviyelerinin anlamlı bir şekilde değiştiği ve hayvanlarda agresif davranışlar gözlemlendiği belirtilmiştir [166]. Bu bilgiler ışığında, MAOA gen polimorfizmleri bipolar bozukluk da dahil olmak üzere psikiyatrik bozukluklarda birçok çalışmacı tarafından ele alınmıştır.

Furlong ve arkadaşları tarafından 1999 yılında yapılan çalışmada, MAOA geni 941. Pozisyonundaki G/T polimorfizmi ile bipolar bozukluk arasında anlamlı bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir [167].

Liu Z. Ve arkadaşlarının, çeşitli etnik gruplardan 18.824 psikiyatrik fenotipik (şizofreni, bipolar bozukluk ve majör depresif bozukluk) ve genetik veri topladıkları çalışmalarında, SNP (rs1137070)' nin majör depresif bozukluk ($P = 0.00067$, $OR = 1.263$, T alleli) ve şizofreni ($p = 0.0039$, $OR = 1.225$) olgularında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermesiyle MAOA'nın psikiyatrik bozukluklar için bir risk geni olduğunu doğrulamışlar ve MAOA'nın karmaşık psikiyatrik bozukluk riski altında yatan genetik mekanizmanın daha iyi anlaşılmasına yönelik yararlı bilgiler sağladıklarını öne sürmüşlerdir [168].

Tüm bu bilgiler ışığında, MAOA genindeki olası fonksiyon bozulmalarının psikiyatrik bozukluklar üzerinde bir etkisinin olabileceği düşüncesi yaygındır. Bu noktada polimorfizm çalışmalarının yetersiz kaldığı ve MAOA geninin hastalıkla olan ilişkisini net bir şekilde ortaya koyamadığı görülmektedir. Bu noktada bizim çalışmamızda MAOA genini hedef alan ve genin post transkripsiyonel regülasyonundan sorumlu hsa-miR-3680-3p' nin kontrol grubunda hasta grubuna göre yüksek düzeyde eksprese olduğu gösterilmektedir. MAOA enziminin bipolar bozukluk olgularında düşük düzeylerde seyrettiğini gösteren çalışmamız gendeki fonksiyon bozukluklarının hastalığa neden olabileceğinin vurgulandığı polimorfizm çalışmaları bulguları ile de örtüşmektedir.

SLC6A3 (Dopamin Transporter 1 DAT1) geni, dopaminerjik nörotransmisyonun regülasyonunda kritik bir rolünün olmasıyla birlikte dopaminin sinapslardan aktif geri alımını da düzenlemektedir. Birçok farmakolojik data bipolar bozukluk etiyolojisinde SLC6A3 geninin rolünü vurgulamaktadır. Örneğin psikotik uyarıcılardan kokain, emfetamin ve metilferidatin

SLC6A3 geninin kodladığı proteini hedefleyerek dopaminin sinapslardan geri alınmasını bloke ettiğini ve sinaptik dopamin düzeyini hasta bireylerde arttırarak duygulanım hallerini azalttığı bildirilmektedir [169].

SLC6A3 genine bakıldığında, yine psikiyatrik bozukluklarda fonksiyon bozukluğunun risk faktörü olarak ele alındığı karşımıza çıkmaktadır. Huang CC ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yapılan çalışmada DAT1 geninin 18 farklı polimorfizmi, 492 bipolar bozukluk olgusuna ve 466 kontrol grubunda incelenmiş ve genin hastalığın patofizyolojisinde rol oynayıp oynamadığına bakılmıştır. Bulgular ışığında promotor bölge G/A, C/G haplotipinin hastalıkla kuvvetli bir ilişkisi olduğunu göstermişler, fakat diğer polimorfizmler ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki olmadığını vurgulamışlardır [170].

Tüm bu bilgilerden yola çıkarak, SLC6A3 geni polimorfizmlerinin genel olarak bipolar bozukluk olguları ile ilişkisi olduğunu söylemek zordur. Bağlantı analizleri üzerine yapılan çalışmalar ve genom-boyu ilişkilendirme çalışmaları da genin bipolar bozukluk için bir risk faktörü olup olmadığını belirtmede yetersiz kalmıştır. Bu noktada gen ekspresyonu düzeyinde yapılan ve yapılacak olan çalışmaların daha net sonuçlar ortaya koyabileceği gerçeği karşımıza çıkmaktadır. Özellikle genin transkripsiyonel düzeyde regülasyonundan sorumlu olan miRNA'lar üzerinde yaptığımız ekspresyon analizlerimizin daha net bir sonuç ortaya koyduğu düşünülmektedir.

Serotonin Transporter (SLC6A4) geni, nörotransmitter serotoninin sinaptik boşluktan presinaptik nöronlara taşıyan bir entegre membran proteinini kodlar. Kodlanan protein, serotoninin etkisini sonlandırır ve sodyum bağımlı bir şekilde geri dönüştürür. Bu protein amfetamin ve kokain gibi psikomotor uyarıcıların hedefidir ve sodyum nörotransmitter simport ailesinin bir üyesidir. Merkezi sinir sisteminde birincil işlevi olan serotonin transporter, serotonin moleküllerinin sinaptik yarıktan yeniden kullanım için presinaptik terminale aktarılması yoluyla serotonerjik sinyallemenin düzenlenmesi görevini yürütür. Bu genin promotor bölgesindeki VNTR polimorfizmlerinin serotonin alım oranını etkilediğini ve bu yolla ani bebek ölümü sendromu, Alzheimer hastalığı, depresyona yatkınlık gibi bazı patofizyolojilerde rol oynadığı gösterilmiştir [171].

Shin-ya Watanabe ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları araştırmada, SLC6A4 geni ekspresyon düzeylerinin şizofreni ve bipolar bozukluk olgularında kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış olduğu gösterilmektedir [172].

Amare AT ve arkadaşları, 2017 yılında yayımladıkları makalelerinde; şimdiye kadar duygudurum bozukluklarında tedavi etkinliğini destekleyen SNP'lerin aydınlatılması yönündeki ilerlemelerin önemli olduğunu vurgulamaktadır. Özellikle bipolar bozukluk ve majör depresif bozukluk olgularında serotonin geri alım inhibitörleri ve lityum tedavisine yanıtıyla ilişkili SNP'ler yönünden önemli gelişmeler olduğunu, fakat hastalığın altında yatan nedenlerin

aydınlatılmasında yetersiz kaldığını savunmaktadır. Aday gen çalışmaları, COMT, 5-HTR2A, SLC6A4, MAOA, BDNF gibi antidepresanların hedefindeki birtakım genler ile lityum gibi duygudurum düzenleyicilerin hedefindeki 5-HTT, TPH, BDNF gibi genlerdeki SNP'lerin hem tedavi etkinliğini düşürdüğü hem de hastalığa neden olabilecek genler olabileceğini söylemektedir [173].

2006 yılında Ikeda M ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, SLC6A4'ün iki fonksiyonel polimorfizmi (5-HTTLRP, 5-HTT), Japon hastalarda linkage dengesizliği bağlantı analizleri çerçevesinde değerlendirilmiş ve hastalıkla polimorfizmler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı kurulmamıştır [174].

SLC6A4 ile bipolar bozukluk arasında bağlantı olup olmadığını açığa çıkarmaya çalışan tüm bu polimorfizm çalışmaları, bulguların tutarlı olmaması, bipolar bozukluğun heterojen bir nörobiyolojisinin olması ve polimorfizm çalışmalarının hastalığın altında yatan genetik mekanizmaları aydınlatma konusunda yetersiz kaldığı görülmektedir. SLC6A4 ile hastalık arasında daha net veriler ortaya koyacak ve genin hastalıktaki regülasyonunu tespit edebilecek çalışmaların önemi daha da net olarak ortaya çıkmaktadır.

DDC (Dopa dekarboksilaz, aromatik-L-aminoasit dekarboksilaz) enzimi, dopaminerjik sistemde önemli bir rol oynar ve periferik dokulardan amin öncüllerinin alınması ve dekarboksilasyonuna katılır. Katekolaminlerin dışında DDC, serotonin ve eser aminlerin biyosentezini de katalizler. Eser aminlerin biyosentezindeki rolü DDC'yi merkezi nörotransmisyonun endojen modülatörü olarak da karşımıza çıkarır. Böylece DDC, çeşitli nöropsikiyatrik bozukluklar için potansiyel bir duyarlılık geni olarak kabul edilmektedir [175].

Borglum AD ve arkadaşları çalışmalarında, bipolar efektif bozukluk ile DDC geni arasında bir ilişkinin olup olmadığını göstermeye çalışmışlardır. DDC'nin kodlayan bölgedeki sekans varyasyonlarının araştırıldığı çalışmada promotör bölgedeki 1 baz çiftlik (1bp) lik bir delesyon ve 5' kodlamayan bölgedeki 4 bp lik delesyonu 10 bipolar bozukluklu bireyde saptamışlardır. Her iki delesyonun da belirli transkripsiyon faktörleri için bağlanma bölgesinde olduklarını ve bu durumun gen ekspresyonunda fonksiyonel bir değişime neden olduğunu önermişlerdir [176].

Ewald H ve arkadaşları, bipolar bozukluk olgularında yaptıkları linkage çalışmalarında 7p12.1 de lokalize DDG geni için, 7q11-p15'i de içine alan 10 mikrosatellit marker incelemişler ve hastalıkla lokus arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır [177].

Yukarıda domain ve serotonin metabolizmasında efektif rolleri olan COMT, MAOA, SLC6A4, SLC6A3, DDC genlerinin bipolar bozukluk olguları üzerinde yapılan aday gen, polimorfizm, genom boyu bağlantı ve epigenetik çalışmaları kapsayan birçok araştırma tartışılarak özetlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmalar, her ne kadar bipolar bozukluğun altında yatan genetik ve nörobiyolojik nedenleri aydınlatmaya yönelik yapılmış olsa da, bipolar

bozukluğun birden fazla faktörün bozulmasıyla ortaya çıkan bir hastalık olması, polimorfizm çalışmaları arasındaki tutarsızlık, aday gen ve bağlantı çalışmalarının net bir sonuç ortaya koyamamış olması kafa karışıklığına yol açmaktadır. Bir diğer taraftan bu çalışmaların farklı popülasyonlar üzerinde yapılmasından kaynaklı etnik gruplar arasında olabilecek genetik farklılıklardan dolayı hastalığın etiyopatogenezi hakkında net fikirler ortaya koyamamaktadır.

Bipolar bozukluk hastalığının tanı ve tedavisindeki zorluklar hastalığın genetik mekanizmasının aydınlatılamaması ile ilişkilidir. Özellikle hastalığın tanısında biyobelirteç olarak birtakım gen ya da genlerin belirlenmesi hastalığın tanısı ve buna yönelik tedavi uygulanması açısından hayati önem taşımaktadır. Bu noktada polimorfizm çalışmalarının sonuçlarının biyobelirteç olarak kullanılamayacağı açıktır. Hastalığın etiyopatogenezinde bu genlerin ekspresyon düzeylerini belirleyen ve genlerin post transkripsiyonel düzeyde regülasyonundan sorumlu miRNA çalışmaları tüm dünyada bipolar bozukluk hastalığı için ilerleme kaydetmekte ve sonuçlar dikkat çekmektedir (120).

miRNA' lar birçok organizmada mRNA' ya baz eşleşmesi yoluyla bağlanarak gen ekspresyonunun regülasyonunda rol alan yaklaşık 21-25 nükleotid uzunluğunda kodlamayan RNA molekülleridir. miRNA merkezi sinir sisteminin regülasyonunda önemli mediyatörler olarak bilinmektedir. Farklı miRNA ekspresyon süreçleri, germ hücrelerinde, nöral kök hücrelerde ve dramatik olarak değişen seviyelerde fetal beyinde görülür [178].

Proteom-boyu çalışmalar, tek bir miRNA'nın bireysel bir hücrenin moleküler kimliği üzerine yaygın etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Spesifik miRNA' ların birlikte sentezlenmesi, hücrelerin doku kimliğinin oluşturulmasına ve bu kimliği muhafaza etmesine izin verecek şekilde protein kodlayan genlerin hücre tipine göre düzenlenmesi ile sonuçlanır. [179].

Gelişmekte olan bir beyin için miRNA' ların ve biyogenezinin önemi son 10 yıldır bilinmekte olup zebra balığı üzerinde yapılan bir araştırmada Dicer enzimi non-fonksiyonel olan organizmada beyinde şiddetli gelişimsel bozuklukların ortaya çıktığı gözlemlenmiştir [180]. Bu mutant balıkların ventrikül büyüklüklerinin ciddi şekilde azaldığı, asimetrik gelişim gösterdiği ve orta beyin-ön beyin sınırının olmadığı gibi anormallikler bildirilmektedir. Benzer şekilde Dicer enzimini kodlayan geni delesyona uğratılmış farelerde, ekstitatör ön beyin nöronlarında artmış doğum sonrası hücre ölümleri, artmış dendritik dallanma, anormal uzunlukta dendritik omurga gelişimi gözlemlenmiştir. Tüm bunlara ek olarak bu kısa ömürlü farelerin mikrosefali olduğu ve hayvanlarda ataksi gözlemlendiği bildirilmektedir [181]. Striatumda dopamin D1 reseptör nöronlarında Dicer enziminin sentezlenmemesi durumunda farelerde ömür sürelerinde azalma, daha küçük beyin boyutu ve kütlesi, astrogliosis, daha küçük orta dikenli nöronlar yine aynı çalışmanın bulguları arasındadır. Tüm bu çalışmalar

göstermektedir ki miRNA' nın biyogenezi ve varlığı beyin gelişimi ve fonksiyonu için hayati önem taşımaktadır.

miRNA' ların sinir sisteminin gelişiminde de majör düzenleyiciler olduğu ve sinaptik plastisite, sirkadyan regülasyon ve hastalık-bağlantılı patolojilerde rol oynadığı birçok çalışma ile gösterilmektedir. Bunlardan en iyi bilineni dendritik dallanmanın aktivite-bağımlı regülasyonunu düzenleyen miR-134 tür [182]. miR-132, miR-219 ile birlikte sirkadyan ritimlerin düzenlenmesinde de rol oynar. Her iki miRNA da sirkadyan ritimlerin aynı yönlerine aracılık ettiği suprakiazmatik çekirdekte eksprese edilir [183].

miRNA' ların gen ekspresyonu ve fonksiyonel yollar için böyle geniş bir etkiye sahip olması psikiyatrik hastalıklar için de son yıllarda önemli görülmektedir. Psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılan mevcut tüm antipsikotikler tercihen dopamin reseptöründeki (D2R) nörotransmisyonu bloke ettiği gibi, aynı zamanda serotonerjik, adrenerjik, muskarinik ve histaminerjik sinyal yollarını da etkileyebilir [184]. Bu durum dopaminerjik sinyalin disregülasyonunda psikotik patofizyolojilerin geliştiğini tüm bu yolların ayrıntılı incelenmesi gerektiği önerisini doğurmuştur.

Son zamanlardaki birçok çalışma, miRNA'ların, postmortem beyin dokularındaki ve kandaki ekspresyon analizinden tutarlı bir şekilde miR genlerinin duyarlılık lokusu olarak öneren genetik bulgulara elde etmiştir. Bu nedenle miRNA' ların bipolar bozukluğun patofizyolojisi, riski ve tedavisindeki potansiyel rolü araştırılmaya başlanmıştır. Bazı çalışmalar daha da ileri giderek ve nöronal fonksiyonda tanımlanmış miRNA'ların bipolar bozukluk olgularındaki rolünü araştırmaktadır. Bu durum bipolar bozukluğun gen ekspresyonunun miRNA'ya bağımlı kontrolüne ilişkin birtakım anlamlı bulgular doğurmuştur.

Bipolar bozukluk olgularında ölüm sonrası beyin dokusundan yapılan araştırmaların derlendiği bir makalede, miR-17-5p, miR-22, miR-29c, miR-29c-3p miR-32, miR-34a, miR106-5p, miR-133b, miR-145, miR-145, miR-149, miR-154, miR-187, miR-188-5p, miR-196b, miR-297, miR-383, miR-449b, miR-490-5p, miR-504, miR513-5p, miR-579, miR-876-3p, and miR-889 miRNA' larının vaka grubunda artmış ekspresyon düzeyi gösterdiği belirtilmektedir. Aynı makalede, miR29a, miR-32, miR-34a, miR-34-5p, miR-132, miR-133a, miR-140-3p, miR-145-5p, miR-195, miR-212, miR-346, miR-370, miR-454, miR485-5p, miR-500a-5p, miR-520-3p, miR-573, miR-767-5p ve miR-874' ün vaka grubunda azalmış ekspresyon düzeyi gösterdiği vurgulanmaktadır [185]. Yine aynı derlemede periferik kan dokusu ile yapılan çalışmalara da yer verilmiştir.

Buna göre miR-21-3p, miR-30d-5p, miR-140-3p, miR-330-5p, miR-378a-5p, miR-720, miR-1973, miR3158-3p ve miR-4521' in vaka grubunda kontrol grubuna göre artmış ifade düzeyi gözlenirken; miR-92a, miR-134, miR146a, miR-212, miR-1915-5p, miR-1972, miR-4440

ve miR-4793-3p' nin vaka grubunda kontrole göre azalmış ekspresyon düzeyi gösteren miRNA' lar oldukları vurgulanmaktadır.

Miller ve arkadaşları 2012 de yaptıkları çalışmalarında proforantal kortikal dokudan 100 kontrol, 100 şizofreni ve 100 bipolar bozukluk olgusunda 854 miRNA ekspresyon düzeyi araştırılmıştır. Bu çalışmada, miR-132' nin şizofreni olgularında anlamlı olduğu bildirilmiştir. Bipolar bozukluk olgularında hsa-miR-338, hsa-miR-32, hsa-miR-490-5p, hsa-miR-196, hsa-miR-513-5p, hsa-miR-876-3p, hsa-miR-449b, hsa-miR-297, hsa-miR-188-5p ve hsa-miR-187' nin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir [186].

Moreau ve arkadaşları, şizofreni ve bipolar bozukluk olgularında vaka-kontrol karşılaştırılması yoluyla ölüm sonrası beyin dokusunda bazı miRNA ekspresyon düzeylerini belirlemişlerdir. Bulgular doğrultusunda 6 miRNA' nın (miR-504, miR-145, miR-22, miR-133b, miR-154 ve miR-889) up regüle olduğu gösterilmiştir. 9 miRNA' nın (miR-454, miR-29a, miR-520c3p, miR-140-3p, miR-767-5p, miR-874, miR-145-5p, miR-32 ve miR-573) ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda down regüle olduğu gösterilmiştir. Bizim bulgularımızla karşılaştırıldığında tek bir ortak miRNA olan miR-145-5p nin bizim çalışmamızın popülasyonunda hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmış ekspresyon düzeyi belirlendiği ve iki çalışmanın birbirini desteklediği görülmektedir [187].

Smalheiser ve arkadaşları, yine ölüm sonrası beyin dokusundan çalıştıkları 15 bipolar bozukluk olgusunda 9 miRNA' nın (miR-17-5p, miR-145-5p, miR-579, miR-106b-5p, miR-485-5p, miR-370, miR-500a-5p, miR-34a-5p, miR29c-3p) ekspresyon düzeylerinin hasta kontrol grubunda karşılaştırmışlardır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuşlardır. miR-145-5p' nin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde eksprese oluşu bizim bulgularımızla örtüşmektedir [188].

Nöronlarda glutaminerjik sinaps fonksiyonunda görevli genleri hedefleyen miR-1908-5p' nin bipolar bozukluk olgularındaki ekspresyon düzeylerinin araştırıldığı başka bir çalışmada, lityum ve valporik asit tedavisi öncesi, sonrası ve sırasında miR-1908-5p' nin ekspresyon seviyesinde tedaviye dayalı istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olduğu gösterilmiştir. Bu durum miRNA' ların hastalığın tedavisinde terapötik hedefler olabileceğini ve hastalığın iyileşme sürecine katkıda bulunabileceğini göstermektedir [189].

Bipolar bozukluğun manik döneminde tedavi öncesi ve sonrası miR-134' ün plazma düzeylerinin araştırıldığı çalışmada ilaçsız, iki haftalık ilaçlı ve dört haftalık ilaçlı bipolar manialı hastalarda kontrol grubu ile kıyaslandığında miR-134' ün plazma düzeylerinin düşük olduğu ve tedaviyi takiben seviyenin tekrar arttığı gözlemlenmiştir. Yine bu çalışma da miRNA' ların tedavi için önemli hedefler ve tanı için anlamlı biyobelirteçler olabileceğini göstermektedir [190].

Banach ve arkadaşlarının 2017' de yaptıkları çalışmalarında, bipolar bozukluklu depresyon atağında olan hastalardan TaqMan yöntemi ile miR-499, miR-708 ve miR-1908

miRNA' larının ekspresyon düzeyi ölçülmüştür. Depresyon döneminde manik ve hipomanik döneme göre bu miRNA' ların daha düşük bir ekspresyon düzeyi gösterdikleri bildirilmiştir [191].

Issler ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmalarında, serotonerjik (5HT) nöron aktivitesini düzenleyen mikroRNA'ların rolünü araştırmışlardır. 5HT nöronların spesifik mikroRNA "parmak izini" belirledikleri araştırmada miR-135 ve serotonin taşıyıcı (SLC6A4) ve serotonin reseptör-1a (5-HTR-1A) transkriptleri arasında güçlü bir mikroRNA-hedef etkileşimi tespit etmişlerdir. Aynı zamanda antidepresanların uygulanmasından sonra miR-135a seviyelerinde artış gözlemlenmiştir [192].

Choi ve arkadaşları ölüm sonrası anterior singulat korteks dokusunda beş bipolar bozukluk ve altı sağlıklı grup olgusunda miR-149'un hasta grupta sağlıklı gruba göre daha yüksek düzeyde eksprese olduğunu göstermişlerdir [193].

Walker ve arkadaşları miR-15b, miR-132 ve miR-652 nin bipolar bozukluk olgularında kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde eksprese olduğunu göstermişlerdir [194].

Bipolar bozukluğun manik döneminde tedavi öncesi ve sonrası miR-134' ün plazma düzeylerinin araştırıldığı çalışmada ilaçsız, iki haftalık ilaçlı ve dört haftalık ilaçlı bipolar manialı hastalarda kontrol grubu ile kıyaslandığında miR-134' ün plazma düzeylerinin düşük olduğu ve tedaviyi takiben seviyenin tekrar arttığı gözlemlenmiştir. Yine bu çalışma da miRNA' ların tedavi için önemli hedefler ve tanı için anlamlı biyobelirteçler olabileceğini göstermektedir [195].

Benigan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarında şizofreni ve bipolar bozukluk olgularında, prefrontal kortekste eksprese olan eksosomal miRNA' ların ifade düzeyi vaka kontrol karşılaştırması yoluyla mikro array tekniği ile ölçülmüştür. Çalışmanın sonucunda miR-497' nin şizofreni olgularında miR-29c' nin bipolar bozukluk olgularında vaka grubunda kontrole göre anlamlı derecede yüksek eksprese olduğu belirlenmiştir [196].

Maffioletti ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 20 major depresyon, 20 bipolar bozukluk olgusuna karşılık 20 sağlıklı kontrol grubunda 1733 olgun miRNA' nın mikro array tekniği ile ekspresyon düzeyini araştırmışlardır. Bunlardan hsa-miR-140-3p, hsa-miR-30d-5p, hsa-miR-330-5p, hsa-miR-378a-5p and hsa-miR-21-3p' nin bipolar bozukluk olgularında artmış ekspresyon düzeyine sahip olduklarını sağlamışlardır. hsa-miR-330-3p and hsa-miR-345-5p' nin ise her iki vaka grubunda da kontrol grubuna göre disregüle olduğu bulunmuştur [197].

Chen ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, lityumun bipolar bozukluğun tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı fakat moleküler mekanizmasının net olarak henüz anlaşılamadığı vurgulanmaktadır. Lityumun etkinliğinde miRNA'ların rolünü araştırmak için, lenfoblastoid hücre hattından, kültürde lityum tedavisi olan ve olmayan 20 lenfoblastoid hücre hattında 13 miRNA'nın ekspresyon profili analiz edilmiştir. Bunlardan dördünün (miR-34a,

miR-152, miR-155 ve miR-221) lityum tedavisi sonrası artmış ekspresyon düzeyi gösterdiği vurgulanmıştır [198].

Lim ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, asenapin ve risperidon tedavisi sonrası bipolar mani hastalarında miRNA ekspresyonundaki değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bir miRNA mikrodizisi kullanarak, asenapin veya risperidon ile 12 haftalık tedaviyi takiben 10 bipolar mani hastasının kanındaki miRNA ekspresyonunu analiz edilmiştir. Asenapin grubunda tedaviden sonra toplamda 16 miRNA'nın ekspresyon düzeylerinde değişimler gösterilmiştir. Bunların 14'ünde önemli ölçüde artmış ekspresyon düzeyi gözlenirken diğer ikisinde önemli ölçüde azalmış ekspresyon düzeyi belirlenmiştir [199].

Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda bazı miRNA'ların hasta olgularında artmış regülasyonundan bahsedilirken, bazı miRNA'ların ise azalmış regülasyonu hasta grubunda anlamlı görülmektedir. Bu durum miRNA'ların farklı beyin dokularında sentezlenmelerinin yanı sıra, farklı hedef genlerinin olması ile ve böylece farklı yolların hastalık üzerine etkili olduğu ile açıklanabilir. Bir diğer taraftan tedavi sırası ve sonrasında bazı terapötiklere karşı değişen miRNA düzeyleri, miRNA'ların bipolar bozukluk olgularının hem patofizyolojisinde hem de tedavide etkin rol oynadıkları konusunu vurgulamaktadır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

"İki Uçlu Duygudurum Bozukluğu Olgularında Dopamin ve Serotonin İlişkili Bazı miRNA Ekspresyon Düzeylerinin Araştırılması" isimli çalışmamızda; dopaminerjik ve serotonerjik yollarda görevli bazı genleri hedefleyen miRNA'ların ekspresyon düzeyleri vaka-kontrol karşılaştırması yoluyla analiz edilmiştir. COMT genini %87 skor ile hedefleyen miR-376a-5p ve %85 skor ile hedefleyen miR-4482-3p, MAOA genini %82 skor ile hedefleyen miR-3680-3p, DAT1 (SLC6A3) genini %99 skor ile hedefleyen miR-4725, SLC6A4 genini %84 skorla hedefleyen miR-4253-5p ve DDC genini %77 skorla hedefleyen miR-145-5p miRNA' ları çalışmamıza dahil edilmiştir.

Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda COMT genini hedefleyen miR-376a-5p nin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. ($p=0,003$). Yine COMT genini hedefleyen miR-4482-3p nin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. ($p<0,001$). COMT geninin kodladığı enzim dopaminin de aralarında bulunduğu nörotransmitterlerin parçalanmasında rol oynamaktadır. COMT enziminin beyin özellikle proforontal kortekste aktif olduğu ve dopamin ve norepinefrinin bu bölgedeki düzeylerini kontrol altında tuttuğu bilinmektedir. Bu bilgiden yola çıkarak COMT geninin up regülasyonu veya down regülasyonu ile sonuçlanan ekspresyonel değişimlerin, bu bölgenin sorumlu olduğu kişilik, planlama, davranışların engellenmesi, soyut düşünme, duygu ve çalışma (kısa süreli) bellek gibi durumlarda değişimlere yol açabileceği açıktır. Bulgularımız doğrultusunda; hasta bireylerde COMT genini hedefleyen bu iki miRNA' nın anlamlı düzeyde artışının COMT geninin ekspresyon düzeyinin olması gerekenin altında kalmasına ve dopamin ve norepinefrinin seviyelerindeki kontrolsüz artışın bipolar bozukluk hastalığının patogenezinde rol oynayabileceğine vurgu yapmaktadır.

Çalışmamızda, MAOA genini hedefleyen miR-3680-3p miRNA' sının ekspresyon düzeyi hasta ve kontrol gruplarında araştırıldı. Yine hasta grubunda kontrol gurubuna göre ekspresyon düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. ($p<0,001$). MAOA geninin kodladığı MAOA enzimi biyogenik aminlerin degradasyonundan sorumlu bir diğer önemli enzim olmasıyla bilinmektedir. Spesifik olarak, MAOA, serotonin, epinefrin, norepinefrin ve dopaminin parçalanmasında rol oynar. MAOA geninin ekspresyon düzeyindeki azalma beyinde sinir hücrelerinde kesintisiz sinyal iletimi ile sonuçlanır. Bulgularımız doğrultusunda miR-3680-3p' nin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek oluşu, MAOA enziminin down regülasyonuna neden olmaktadır. Serotonin tarafından iletilen sinyaller; duygudurum, duygu, uyku ve iştahı düzenler. Epinefrin ve norepinefrin, vücudun strese tepkisini kontrol eder. Dopamin, pürüzsüz fiziksel hareketler üretmek için beyindeki sinyalleri iletir. Tüm bu bilgiler ışığında, MAOA geni down regüle olmuş bir bireyde tüm bu davranışsal durumların fonksiyonel

olarak bozulmalara uğrayacağı ve bipolar bozukluğun patogeneğinde miR-3681-3p nin önemli bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.

Amfetamin ve kokain gibi psikomotor uyarıcıların hedefinde bir protein olan SLC6A4, serotoninin sinaptik boşluktan presinaptik nöronlara taşıyan bir entegre membran proteindir. Çalışmamızda SLC6A4 genini hedefleyen miR-4253-5p miRNA' sının hasta grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. ($p=0,017$). Bulgularımız doğrultusunda, hedef miRNA sının ekspresyon düzeyinin hasta grubunda yüksek olmasından dolayı hasta bireylerde SLC6A4 geninin yeterli oranda eksprese edilmediği görülmektedir. Serotonin transpoterin beyinde serotoninin etkisini sonlandırarak sodyum bağımlı bir şekilde geri dönüşümünü sağlaması bilgisi ışığında, bu genin miktarındaki azalış serotoninin sinapslardan presinaptik boşluğa doğru oranda geri alınamadığını ve beyinde sürekli sonlanmayan serotonin sinyallenmesinin geliştiğini göstermektedir. Serotoninin duygulanım hallerinde çok önemli bir nörotransmitter oluşu ve serotonin sinyallemesinin beyinde olması gerektiğinden fazla oluşu bipolar bozukluğunun etiyopatogenezi için önemlidir. SLC6A4 genini hedefleyen miR-4253-5p miRNA'sının da SLC6A4 geninin hasta bireylerde aşırı baskılanması yoluyla hastalığa neden olabileceği ve yine hastalık için önemli bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.

SLC6A3 (DAT1) geni, dopaminin sinapstan geri alımına aracılık eden membran boyunca uzanan bir proteini kodlar. SLC6A3, dopamin nörotransmisyonunun birincil düzenleyicisidir ve merkezi sinir sisteminde, özellikle striatum ve nükleus akümbens gibi dopaminerjik devrelerin bulunduğu beyin bölgelerinde ifade edilir. Çalışmamızda SLC6A3 genini hedefleyen miR-4725 miRNA'sının ekspresyon düzeyinin hasta grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gösterilmektedir. ($p=0,403$). Bu durum SLC6A3 geni ekspresyon düzeyinin çalışma grubumuzdaki bipolar bozukluk hastalarında ve sağlıklı bireylerde birbirine yakın oranlarda olabileceği bilgisini doğrulamaktadır. Yukarıda tartışıldığı gibi polimorfizm çalışmaları da SLC6A3 geninin bipolar bozukluk hastalığında efektif bir gen olduğunu ve bu gende oluşabilecek fonksiyonel bozulmaların hastalığa neden olabileceğini vurgulamakta yetersiz kalmıştır. Bulgularımızla örtüşen polimorfizm çalışmaları olmasına rağmen; SLC6A3 geninin bipolar bozukluk olgusunun patogeneğinde yeri olmadığını söylemek doğru değildir. SLC6A3 genini hedefleyen başka bir miRNA'nın seçilmesi ve ekspresyon düzeyinin araştırılması ile bu gen için bipolar bozukluk olguları tekrar değerlendirilebilir. Ayrıca, SLC6A3 geni çalışma grubumuzdaki diğer genlerden farklı olarak VNTR bölgelerince zengin bir gendir. Bu durum, farklı bireylerde genin farklı davranmasına neden olabilecek farklı tekrar sayıları içerebilir. Hasta bireylerde gendeki olası VNTR bölge polimorfizmleri geni hedefleyen miRNA'ların tam bir baz eşleşme yolu ile gene bağlanamamasına ve efektif bir ekspresyonel baskılanma oluşmamasına yol açmış olabilir. Bu noktada SLC6A3 geni VNTR bölge

polimorfizmleri, miRNA ekspresyon çalışmalarıyla eş zamanlı yürütülerek çıkan sonuçlar bipolar bozukluk olgularında tekrar değerlendirilmelidir. Bir diğer taraftan miR-4725' in ekspresyon düzeyi, hasta grubunda kontrol grubuna oranla yaklaşık 1,9 kat artmıştır. Bu farkın daha geniş örneklem büyüklüğü ile çalışılması durumunda daha da artabileceği ve bu miRNA'nın da bipolar bozukluk için istatistiksel anlamlılık kazanabileceği düşünülmektedir.

DDC, aromatik amino asitlerin aminlerine dönüşümünü katalize eder. DOPA dekarboksilaz, sırasıyla L-DOPA ve L-5-hidroksitriptofandan dopamin ve serotoninin sentezlenmesini katalizler. Çalışmamızda DDC genini hedefleyen miR-145-5p miRNA'sı diğer miRNA'lerden farklı olarak hasta grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşüktür. ($p<0,001$). Bu bulgu, bipolar bozukluk hastalığında DDC geni ekspresyon düzeyinin sağlıklı bireylere göre çok daha yüksek olduğu bilgisini doğurmaktadır. Bu noktadan bakıldığında, DDC geni diğer genlerden metabolizmadaki görevi açısından farklıdır. COMT, MAOA, SLC6A4 genleri dopamin ve serotonin sinyallemesini durdurucu görevini, gerek sinaptik boşluktan presinaptik boşluğa geri alınımını sağlayarak gerekse biyojenik aminlerin ve nörotransmitterlerin degradasyonunu gerçekleştirerek beyindeki ve periferel dokulardaki miktarını düzenleyici görev yaparlar. DDC geni ise dopamin ve serotoninin sentezinden sorumludur. Bulgularımız doğrultusunda, sağlıklı bireylerde DDC geni olması gereken seviyesini miR-145-5p aracılığı ile DDC geni mRNA'sının post transkripsiyonel regülasyonu yoluyla sağlarken hasta bireylerde genin olması gereken düzeyde baskılanması gerçekleşmediği için bipolar bozukluk olgularında kontrolsüz bir şekilde dopamin ve serotonin sentezlenmesi ve buna bağlı sinyallemesi devam etmektedir. Bir diğer taraftan hasta grubunda DDC geni tam olarak transkripsiyonal regülasyona miR-145-5p yolu ile uğramazken, miR-376a-5p, miR-4482-5p, miR-3680-3p ve miR-4253-5p, hasta bireylerde dopamin ve serotonin düzeylerini kontrol eden genleri aşırı derecede baskılayarak yine bu moleküllerin beyinde sürekli sinyallenmesine neden olmaktadır. Çalışmamız bu bulgular ile kendi içinde de birbirini destekler niteliktedir.

Bu çalışmada, Bipolar bozukluğun karmaşık nörobiyolojisini dopamin ve serotonin metabolizması yönünden açıklanmaya ve aydınlatılmaya çalışılmıştır. Böylece tanı ve tedavi süreci hastadan hastaya değişen sadece ailesel yaklaşımlarla, polimorfizm çalışmaları ile ya da aday gen çalışmaları ile tam olarak netliğe kavuşamamış bipolar bozukluk hastalığına yeni bir bakış açısı getirmeye çalıştık. Nöropsikiyatrik bir hastalık olarak kabul edilen bipolar bozukluğun hasta bireylerde beyinde nasıl bir bozukluk sonucu ortaya çıktığını göstermek toplumun önemli bir kesimini etkileyen bir hastalık olması ve topluma sosyal, duygusal, ekonomik açıdan ciddi olumsuz etkilerinin olması açısından oldukça önemlidir. Bipolar bozukluğun epistotik bir hastalık oluşu ve hastanın ne zaman hangi faza gireceğinin tam olarak belirlenememesi tedavi sürecini de zora sokan bir durumdur. Depresif dönemdeki bir hastaya verilen uyarıcı ilaçlar hastayı iyileşme düzeyine getirmeden manik döneme sokabilir. Yine

manik dönemdeki hastaya verilen psikotik ilaçlar hastayı birden depresyon dönemine götürebilir. Klinik uygulamalarda ilaç dozunun doğru ayarlanamaması da hastalığın tanı sürecinin doğru ilerlemediğini gösterirken hangi yolda nasıl bir bozulma sonucu hastalığın geliştiğinin aydınlatılması konusu bipolar bozukluk için oldukça yetersiz kalmaktadır. Bir de üstüne farmakolojik tedavilerin beraberinde getirdikleri ağır yan etkiler bindiğinde durum iyice içinden çıkılmaz bir hal almaktadır.

Bipolar Bozukluk hastalığının altında yatan genetik mekanizmaların aydınlatılması noktasında, son yıllarda gen ekspresyonunun post transkripsiyonel regülasyonunda çok önemli bir yeri olduğu anlaşılan ve yukarıda da belirtildiği gibi bir hücreye ve beraberindeki dokuya moleküler kimliğini kazandıran önemli bir faktör oluşu nedeni ile miRNA ekspresyonu çalışmaları kıymetli görülmektedir. Ayrıca miRNA'ların kanser ve nöropsikiyatrik bozukluklar gibi tanı ve tedavi süreci oldukça heterojen ve sancılı bazı hastalıkların tanısı açısından biyobelirteç olarak kullanılabileceği düşüncesi birçok çalışmada kuvvetli bir şekilde savunulmaktadır.

Literatürde Bipolar Bozukluk olgularında miRNA ekspresyon analizi çalışmaları oldukça sınırlıdır. Ayrıca çalışmamız, dopamin ve serotonin metabolizmasında görevli COMT, MAOA, SLC6A4, SLC6A3 ve DDC genlerini en yüksek skorla hedefleyen miRNA ekspresyon analizi içerikli olmasıyla dünyada yapılan ilk çalışmadır. miR-145-5p hariç çalıştığımız diğer miRNA'ların ekspresyon düzeyleri bipolar bozukluk olgularında ilk defa bu çalışma aydınlatılması hedeflenmiştir.

Bulgularımız doğrultusunda hasta grubunda istatistiksel olarak kuvvetli bir şekilde yüksek ekspresyon düzeyi ölçülen hsa-miR-376a-5p, hsa-miR-4482-5p, hsa-miR-3680-3p, hsa-miR-4253-5p miRNA'larının hastalığın etiyopatogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Yine hasta grubunda anlamlı bir şekilde düşük ölçülen hsa-miR-145-5p de hastalık için önemli bir faktör olabileceği öngörülmektedir. Bu miRNA'lar bipolar bozukluğun tanı sürecinde biyobelirteç olarak önerilebilir. Tedavi sürecinde de özellikle ilaç dozu ayarlanması açısından ve dopamin ve serotoninin düzeyinin ayarlanması için çalışmamızın sonuçları hem bilgi verici hem de umut vaat edici niteliktedir.

Bu çalışmanın devamında, daha geniş örneklem büyüklüğü ile çalışmak önemlidir. Ayrıca hastalığın epistotik fazlarının (depresyon, mani, hipomani) daha net ayrımı yapılarak hangi fazda hangi miRNA seviyesinin değiştiği tespit edilmelidir. Bir diğer taraftan ilaç alım dönemi ilaçsız dönem ve ilaç alımı akabindeki dönemler göz önünde bulundurularak yapılacak yeni çalışmalar tedaviye yönelik ışık tutacak nitelikte olabilecektir.

KAYNAKLAR

- [1].Craddock, N., Jones, I. (1999). Genetics of bipolar disorder. *Journal of medical genetics*, 36(8), 585-594.
- [2].Budde, M., Forstner, A. J., Adorjan, K., Schaupp, S. K., Nöthen, M. M., Schulze, T. G. (2017). Genetische Grundlagen der bipolaren StörungGenetics of bipolar disorder. *Der Nervenarzt*, 88(7), 755-759.
- [3].Gultekin, B. K., Kesebir, S., Tamam, L. (2014). Bipolar Disorder in Turkey. *Psikiyatri Guncel Yaklasimlar*, 6(2), 199-209.
- [4].Barnett, J. H., Smoller, J. W. (2009). The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience*, 164(1), 331-343.
- [5].Miller, B. H., Wahlestedt, C. (2010). MicroRNA dysregulation in psychiatric disease. *Brain research*, 1338, 89-99.
- [6].Beveridge, N. J., Tooney, P. A., Carroll, A. P., Gardiner, E., Bowden, N., Scott, R. J., ... Cairns, M. J. (2008). Dysregulation of miRNA 181b in the temporal cortex in schizophrenia. *Human molecular genetics*, 17(8), 1156-1168.
- [7].Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *cell*, 136(2), 215-233.
- [8].Ameres, S. L., Martinez, J., Schroeder, R. (2007). Molecular basis for target RNA recognition and cleavage by human RISC. *Cell*, 130(1), 101-112.
- [9].Zarate, C. A., Manji, H. K. (Eds.). (2009). *Bipolar depression: molecular neurobiology, clinical diagnosis, and pharmacotherapy*. Birkhäuser.
- [10].Kapczinski, F., Vieta, E., Magalhães, P. V., Berk, M. (Eds.). (2015). *Neuroprogression and staging in bipolar disorder*. OUP Oxford.
- [11].Berk, M., Hallam, K. T., McGorry, P. D. (2007). The potential utility of a staging model as a course specifier: a bipolar disorder perspective. *Journal of affective disorders*, 100(1-3), 279-281.
- [12].Kapczinski, F., Dias, V. V., Kauer-Sant'Anna, M., Frey, B. N., Grassi-Oliveira, R., Colom, F., Berk, M. (2009). Clinical implications of a staging model for bipolar disorders. *Expert review of neurotherapeutics*, 9(7), 957-966.
- [13].Rybakowaski, J. K., (2017). Recent advances in the understanding and management of a bipolar disorder in adults. *F1000 Faculty Rev.* (6): 2033-2040.
- [14].Allen, M. H., Chessick, C. A., Miklowitz, D. J., Goldberg, J. F., Wisniewski, S. R., Miyahara, S., ... Bowden, C. L. (2005). Contributors to suicidal ideation among bipolar patients with and without a history of suicide attempts. *Suicide and Life-Threatening Behavior*, 35(6), 671-680.

- [15].Martinez-Aran, A., Vieta, E., Reinares, M., Colom, F., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., Salamero, M. (2004). Cognitive function across manic or hypomanic, depressed, and euthymic states in bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, 161(2), 262-270.
- [16].Zalsman, G., Hawton, K., Wasserman, D., van Heeringen, K., Arensman, E., Sarchiapone, M., ... Purebl, G. (2016). Suicide prevention strategies revisited: 10-year systematic review. *The Lancet Psychiatry*, 3(7), 646-659.
- [17].Chadwick, P., H. Kaur, M. Swelam, S. Ross, and L. Ellett. 2011. "Experience of Mindfulness in People with Bipolar Disorder: A Qualitative Study." *Psychotherapy Research: Journal of the Society for Psychotherapy Research* 21 (3): 277–85.
- [18].Goodwin, F. K., Jamison, K. R. (2007). *Manic-depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression*. Oxford University Books.
- [19].Miklowitz, D. J. 2008. "Adjunctive Psychotherapy for Bipolar Disorder: State of the Evidence." *The American Journal of Psychiatry* 165 (11): 1408– 19.
- [20].Nivoli, A. M., F. Colom, A. Murru, I. Pacchiarotti, P. Castro- Loli, A. Gonzalez- Pinto, K. N. Fountoulakis, and E. Vieta. 2011. "New Treatment Guidelines for Acute Bipolar Depression: A Systematic Review." *Journal of Affective Disorders* 129 (1– 3): 14– 26.
- [21].Roy, A. (1993). Genetic and biologic risk factors for suicide in depressive disorders. *Psychiatric quarterly*, 64(4), 345-358.
- [22].Cavanagh, J. T., Carson, A. J., Sharpe, M., Lawrie, S. M. (2003). Psychological autopsy studies of suicide: a systematic review. *Psychological medicine*, 33(3), 395-405.
- [23].Yang, G. H., Phililips, M. R., Zhou, M. G., Wang, L. J., Zhang, Y., Xu, D. (2005). Understanding the unique characteristics of suicide in China: national psychological autopsy study. *Biomedical and Environmental Sciences*, 18(6), 379.
- [24].Perich, T., V. Manicavasagar, P. B. Mitchell, J. R. Ball, and D. Hadzi- Pavlovic. 2013. "A Randomized Controlled Trial of Mindfulness- Based Cognitive Therapy for Bipolar Disorder." *Acta Psychiatrica Scandinavica* 127 (5): 333–43.
- [25].Scherk, H., F. G. Pajonk, and S. Leucht. 2007. "Second- Generation Antipsychotic Agents in the Treatment of Acute Mania: A Systematic Review and Meta- Analysis of Randomized Controlled Trials." *Archives of General Psychiatry* 64 (4): 442– 55.
- [26].Berk, M., Berk, L., Dodd, S., Cotton, S., Macneil, C., Daglas, R., ... Malhi, G. S. (2014). Stage managing bipolar disorder. *Bipolar disorders*, 16(5), 471-477.
- [27].Viguera, A. C., Nonacs, R., Cohen, L. S., Tondo, L., Murray, A., Baldessarini, R. J. (2000). Risk of recurrence of bipolar disorder in pregnant and nonpregnant women after discontinuing lithium maintenance. *American Journal of Psychiatry*, 157(2), 179-184.
- [28].Harlow, B. L., Vitonis, A. F., Sparen, P., Cnattingius, S., Joffe, H., Hultman, C. M. (2007). Incidence of hospitalization for postpartum psychotic and bipolar episodes in women with and

without prior prepregnancy or prenatal psychiatric hospitalizations. *Archives of General Psychiatry*, 64(1), 42-48.

[29].Munk-Olsen, T., Laursen, T. M., Meltzer-Brody, S., Mortensen, P. B., Jones, I. (2012). Psychiatric disorders with postpartum onset: possible early manifestations of bipolar affective disorders. *Archives of general psychiatry*, 69(4), 428-434.

[30].Segal, Z. V., Bieling, P., Young, T., MacQueen, G., Cooke, R., Martin, L., ... Levitan, R. D. (2010). Antidepressant monotherapy vs sequential pharmacotherapy and mindfulness-based cognitive therapy, or placebo, for relapse prophylaxis in recurrent depression. *Archives of General Psychiatry*, 67(12), 1256-1264.

[31].Sidor, M. M., & MacQueen, G. M. (2011). Antidepressants for the acute treatment of bipolar depression: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of clinical psychiatry*.

[32].American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)*. American Psychiatric Pub.

[33].Frey, B. N., Andreazza, A. C., Houenou, J., Jamain, S., Goldstein, B. I., Frye, M. A., ... Taylor, V. H. (2013). Biomarkers in bipolar disorder: a positional paper from the International Society for Bipolar Disorders Biomarkers Task Force. *Australian New Zealand Journal of Psychiatry*, 47(4), 321-332.

[34].Post, R. M., Fleming, J., Kapczinski, F. (2012). Neurobiological correlates of illness progression in the recurrent affective disorders. *Journal of psychiatric research*, 46(5), 561-573.

[35].Lang, U. E., Hellweg, R., Seifert, F., Schubert, F., Gallinat, J. (2007). Correlation between serum brain-derived neurotrophic factor level and an in vivo marker of cortical integrity. *Biological psychiatry*, 62(5), 530-535.

[36].Klein, A. B., Williamson, R., Santini, M. A., Clemmensen, C., Ettrup, A., Rios, M., Aznar, S. (2011). Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14(3), 347-353.

[37].Berk, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Dean, O. M., Giorlando, F., Maes, M., Magalhães, P. V. S. (2011). Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, 35(3), 804-817.

[38].Schmidt, H. D., Duman, R. S. (2010). Peripheral BDNF produces antidepressant-like effects in cellular and behavioral models. *Neuropsychopharmacology*, 35(12), 2378.

[39].Tang, J., Xiao, L., Shu, C., Wang, G., Liu, Z., Wang, X., ... Bai, X. (2008). Association of the brain-derived neurotrophic factor gene and bipolar disorder with early age of onset in mainland China. *Neuroscience letters*, 433(2), 98-102.

[40].de Oliveira, G. S., Ceresér, K. M., Fernandes, B. S., Kauer-Sant'Anna, M., Fries, G. R., Stertz, L., Kapczinski, F. (2009). Decreased brain-derived neurotrophic factor in medicated and drug-free bipolar patients. *Journal of Psychiatric Research*, 43(14), 1171-1174.

- [41].Barbosa, I. G., Huguet, R. B., Sousa, L. P., Abreu, M. N. S., Rocha, N. P., Bauer, M. E., Teixeira, A. L. (2011). Circulating levels of GDNF in bipolar disorder. *Neuroscience letters*, 502(2), 103-106.
- [42].Kapczinski, F., Dal-Pizzol, F., Teixeira, A. L., Magalhaes, P. V., Kauer-Sant'Anna, M., Klamt, F., Gama, C. S. (2011). Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *Journal of psychiatric research*, 45(2), 156-161.
- [43].Leboyer, M., Soreca, I., Scott, J., Frye, M., Henry, C., Tamouza, R., Kupfer, D. J. (2012). Can bipolar disorder be viewed as a multi-system inflammatory disease?. *Journal of affective disorders*, 141(1), 1-10.
- [44].Zhang, X. Y., Yao, J. K. (2013). Oxidative stress and therapeutic implications in psychiatric disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 197-199.
- [45].Teixeira, A. L., Barbosa, I. G., Machado-Vieira, R., Rizzo, L. B., Wieck, A., Bauer, M. E. (2013). Novel biomarkers for bipolar disorder. *Expert opinion on medical diagnostics*, 7(2), 147-159.
- [46].Frank, E., Swartz, H. A., Kupfer, D. J. (2000). Interpersonal and social rhythm therapy: managing the chaos of bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 48(6), 593-604.
- [47].MacQueen, G. M., Young, L. T., Joffe, R. T. (2001). A review of psychosocial outcome in patients with bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 103(3), 163-170.
- [48].Lam, D., Wong, G. (1997). Prodromes, coping strategies, insight and social functioning in bipolar affective disorders. *Psychological Medicine*, 27(5), 1091-1100.
- [49].Jones, I., Craddock, N. (2002). Do puerperal psychotic episodes identify a more familial subtype of bipolar disorder? Results of a family history study. *Psychiatric genetics*, 12(3), 177-180.
- [50].Kendler, K. S. (2002). Hierarchy and heritability: the role of diagnosis and modeling in psychiatric genetics. *American Journal of Psychiatry*, 159(4), 515-518.
- [51].MacKinnon, D. F., Zandi, P. P., Cooper, J., Potash, J. B., Simpson, S. G., Gershon, E., DePaulo, J. R. (2002). Comorbid bipolar disorder and panic disorder in families with a high prevalence of bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, 159(1), 30-35.
- [52].Cardno, A. G., Rijsdijk, F. V., Sham, P. C., Murray, R. M., McGuffin, P. (2002). A twin study of genetic relationships between psychotic symptoms. *American Journal of Psychiatry*, 159(4), 539-545.
- [53].Mitchell, P., Mackinnon, A., Waters, B. (1993). The genetics of bipolar disorder. *Australian and New Zealand journal of psychiatry*, 27(4), 560-580.
- [54].Bertelsen, A., Harvald, B., Hauge, M. (1977). A Danish twin study of manic-depressive disorders. *The British Journal of Psychiatry*, 130(4), 330-351.
- [55].Griswold, K. S. (2000). Management of bipolar disorder. *American family physician*, 62(6).
- [56].Mendlewicz, J., Rainer, J. D. (1977). Adoption study supporting genetic transmission in manic-depressive illness. *Nature*, 268(5618), 327.

- [57].Wender, P. H., Kety, S. S., Rosenthal, D., Schulsinger, F., Ortmann, J., Lunde, I. (1986). Psychiatric disorders in the biological and adoptive families of adopted individuals with affective disorders. *Archives of general psychiatry*, 43(10), 923-929.
- [58].Akarsu, N. (1999). The importance of pedigree analysis in the detection of genes leading to genetic disorders. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 30(1): 85-91.
- [59].Weissman, M. M., Gershon, E. S., Kidd, K. K., Prusoff, B. A., Leckman, J. F., Dibble, E., Guroff, J. J. (1984). Psychiatric disorders in the relatives of probands with affective disorders: The Yale University—National Institute of Mental Health collaborative study. *Archives of General Psychiatry*, 41(1), 13-21.
- [60].Gershon, E. S., Hamovit, J., Guroff, J. J., Dibble, E., Leckman, J. F., Sceery, W., Bunney, W. E. (1982). A family study of schizoaffective, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. *Archives of General psychiatry*, 39(10), 1157-1167.
- [61].Gandini, E. (1992). Genetics of affective Disorders. *J Psychiatry Res*, 26(4), 271-277.
- [62].Savas, H. A., Yumru, M. (2006). Genetic Studies in Bipolar Disorder. *Journal of Internal Medical Sciences*, 2(29), 10-16.
- [63].Schumacher, J., Cichon, S., Rietschel, M., Nöthen, M. M., Propping, P. (2002). Genetics of bipolar affective disorders. Current status of research for identification of susceptibility genes. *Der Nervenarzt*, 73(7), 581-92.
- [64].Tsuang, M. T., Taylor, L., Faraone, S. V. (2004). An overview of the genetics of psychotic mood disorders. *Journal of psychiatric research*, 38(1), 3-15.
- [65].Jones, I., Hamshere, M., Nangle, J. M., Bennett, P., Green, E., Heron, J., Owen, M. (2007). Bipolar affective puerperal psychosis: genome-wide significant evidence for linkage to chromosome 16. *American Journal of Psychiatry*, 164(7), 1099-1104.
- [66].Geschwind, D. H., & Flint, J. (2015). Genetics and genomics of psychiatric disease. *Science*, 349(6255), 1489-1494.
- [67].Badner, J. A., Gershon, E. S. (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular psychiatry*, 7(4), 405.
- [68].Serap, M. E., Malhi, G. S., Soares, J. C. (2005). Anatomical MRI abnormalities in bipolar disorder: do they exist and do they progress?. *Australian New Zealand Journal of Psychiatry*, 39(4), 222-226.
- [69].Lopez-Larson, M. P., DelBello, M. P., Zimmerman, M. E., Schwiers, M. L., Strakowski, S. M. (2002). Regional prefrontal gray and white matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 52(2), 93-100.
- [70].Sassi, R. B., Brambilla, P., Hatch, J. P., Nicoletti, M. A., Mallinger, A. G., Frank, E., Soares, J. C. (2004). Reduced left anterior cingulate volumes in untreated bipolar patients. *Biological psychiatry*, 56(7), 467-475.

- [71].Strakowski, S. M., DelBello, M. P., Zimmerman, M. E., Getz, G. E., Mills, N. P., Ret, J., Adler, C. M. (2002). Ventricular and periventricular structural volumes in first-versus multiple-episode bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, 159(11), 1841-1847.
- [72].Moorhead, T. W. J., McKirdy, J., Sussmann, J. E., Hall, J., Lawrie, S. M., Johnstone, E. C., McIntosh, A. M. (2007). Progressive gray matter loss in patients with bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, 62(8), 894-900.
- [73].Javadapour, A., Malhi, G. S., Ivanovski, B., Chen, X., Wen, W., Sachdev, P. (2010). Hippocampal volumes in adults with bipolar disorder. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 22(1), 55-62.
- [74].Bora, E., Fornito, A., Yücel, M., Pantelis, C. (2010). Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 67(11), 1097-1105.
- [75].Kato, T. (2008). Molecular neurobiology of bipolar disorder: a disease of 'mood-stabilizing neurons'?. *Trends in Neurosciences*, 31(10), 495-503.
- [76].Pomarol-Clotet, E., Alonso-Lana, S., Moro, N., Sarro, S., Bonnin, M. C., Goikolea, J. M., Blanch, J. (2015). Brain functional changes across the different phases of bipolar disorder. *The British Journal of Psychiatry*, 206(2), 136-144.
- [77].López-Jaramillo, C., Lopera-Vásquez, J., Gallo, A., Ospina-Duque, J., Bell, V., Torrent, C., Vieta, E. (2010). Effects of recurrence on the cognitive performance of patients with bipolar I disorder: implications for relapse prevention and treatment adherence. *Bipolar Disorders*, 12(5), 557-567.
- [78].Manji, H. K., Quiroz, J. A., Payne, J. L., Singh, J., Lopes, B. P., Viegas, J. S., Zarate, C. A. (2003). The underlying neurobiology of bipolar disorder. *World Psychiatry*, 2(3), 136.
- [79].Vawter, M. P., Freed, W. J., Kleinman, J. E. (2000). Neuropathology of bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 48(6), 486-504.
- [80].Ikononov, O. C., Manji, H. K. (2001). Molecular Mechanisms Underlying Mood Stabilization in Manic-Depressive Illness: The Phenotype Challenge. *The Science of Mental Health: Bipolar disorder*, 156(10), 194.
- [81].Chase, D. L., Koelle, M. R. (2007). Biogenic amine neurotransmitters in *C. elegans*.
- [82].Barbas, D., DesGroseillers, L., Castellucci, V. F., Carew, T. J., Marinesco, S. (2003). Multiple serotonergic mechanisms contributing to sensitization in *aplysia*: evidence of diverse serotonin receptor subtypes. *LearningMemory*, 10(5), 373-386.
- [83].Herlenius, E., Lagercrantz, H. (2001). Neurotransmitters and neuromodulators during early human development. *Early human development*, 65(1), 21-37.
- [84].Wang, L., Zhou, C., Zhu, D., Wang, X., Fang, L., Zhong, J., Lian, B. (2016). Serotonin-1A receptor alterations in depression: a meta-analysis of molecular imaging studies. *BMC psychiatry*, 16(1), 319.

- [85].Garvin, B., Wiley, J. W. (2008). The role of serotonin in irritable bowel syndrome: implications for management. *Current gastroenterology reports*, 10(4), 363.
- [86].Strac, D. S., Pivac, N., Mück-Šeler, D. (2016). The serotonergic system and cognitive function. *Translational neuroscience*, 7(1), 35-49.
- [87].Olivier, B. (2015). Serotonin: a never-ending story. *European journal of pharmacology*, 753, 2-18.
- [88].Sucic, S., Dallinger, S., Zdrazil, B., Weissensteiner, R., Jorgensen, T. N., Holy, M., Newman, A. H. (2010). The amino terminus of monoamine transporters is a lever required for the action of amphetamines. *Journal of Biological Chemistry*, jbc-M109.
- [89].Tsalik, E. L., Niacaris, T., Wenick, A. S., Pau, K., Avery, L., & Hobert, O. (2003). LIM homeobox gene-dependent expression of biogenic amine receptors in restricted regions of the *C. elegans* nervous system. *Developmental biology*, 263(1), 81-102.
- [90].Lesurtel, M., Soll, C., Graf, R., Clavien, P. A. (2008). Role of serotonin in the hepatogastrointestinal tract: an old molecule for new perspectives. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(6), 940-952.
- [91].Puig, M. V., Gener, T. (2015). Serotonin modulation of prefronto-hippocampal rhythms in health and disease. *ACS chemical neuroscience*, 6(7), 1017-1025.
- [92].Charnay, Y., Leger, L. (2010). Brain serotonergic circuitries. *Dialogues in clinical neuroscience*, 12(4), 471.
- [93].Silber, B. Y., Schmitt, J. A. J. (2010). Effects of tryptophan loading on human cognition, mood, and sleep. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 34(3), 387-407.
- [94].Daly, E., Deeley, Q., Hallahan, B., Craig, M., Brammer, M., Lamar, M., ... Toal, F. (2010). Effects of acute tryptophan depletion on neural processing of facial expressions of emotion in humans. *Psychopharmacology*, 210(4), 499-510.
- [95].Dorotea M. S., Pivac, N. (2011). Serotonin. *Periodicum biologorum*, 113(1), 29-41.
- [96].Manegold, C., Hoffmann, G. F., Degen, I., Ikonomidou, H., Knust, A., Laass, M. W., Hörster, F. (2009). Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, drug therapy and follow-up. *Journal of inherited metabolic disease*, 32(3), 371-380.
- [97].Seyedabadi, M., Fakhfouri, G., Ramezani, V., Mehr, S. E., Rahimian, R. (2014). The role of serotonin in memory: interactions with neurotransmitters and downstream signaling. *Experimental brain research*, 232(3), 723-738.
- [98].Lin, S. H., Lee, L. T., Yang, Y. K. (2014). Serotonin and mental disorders: a concise review on molecular neuroimaging evidence. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 12(3), 196.
- [99].Steiner, J. A., Carneiro, A. M., Wright, J., Matthies, H. J., Prasad, H. C., Nicki, C. K., Blakely, R. D. (2009). cGMP-dependent protein kinase α associates with the antidepressant-sensitive

serotonin transporter and dictates rapid modulation of serotonin uptake. *Molecular brain*, 2(1), 26.

[100].Ramamoorthy, S., Bauman, A. L., Moore, K. R., Han, H., Yang-Feng, T., Chang, A. S., Blakely, R. D. (1993). Antidepressant-and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(6), 2542-2546.

[101].Willeit, M., Praschak-Rieder, N. (2010). Imaging the effects of genetic polymorphisms on radioligand binding in the living human brain: a review on genetic neuroreceptor imaging of monoaminergic systems in psychiatry. *Neuroimage*, 53(3), 878-892.

[102].Baudry, A., Mouillet-Richard, S., Schneider, B., Launay, J. M., Kellermann, O. (2010). miR-16 targets the serotonin transporter: a new facet for adaptive responses to antidepressants. *Science*, 329(5998), 1537-1541.

[103].Hoffman, B. J., Hansson, S. R., Mezey, E., Palkovits, M. (1998). Localization and dynamic regulation of biogenic amine transporters in the mammalian central nervous system. *Frontiers in neuroendocrinology*, 19(3), 187-231.

[104].Amilhon, B., Lepicard, E., Renoir, T., Mongeau, R., Popa, D., Poirel, O., Hamon, M. (2010). VGLUT3 (vesicular glutamate transporter type 3) contribution to the regulation of serotonergic transmission and anxiety. *Journal of Neuroscience*, 30(6), 2198-2210.

[105].Lin, Z., Walther, D., Yu, X. Y., Li, S., Drgon, T., Uhl, G. R. (2005). SLC18A2 promoter haplotypes and identification of a novel protective factor against alcoholism. *Human molecular genetics*, 14(10), 1393-1404.

[106].Nichols, D. E., Nichols, C. D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical reviews*, 108(5), 1614-1641.

[107].McCorvy, J. D., Roth, B. L. (2015). Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors. *Pharmacology & therapeutics*, 150, 129-142.

[108].Celada, P., Puig, M., Artigas, F. (2013). Serotonin modulation of cortical neurons and networks. *Frontiers in integrative neuroscience*, 7, 25.

[109].Iversen, S. D., Iversen, L. L. (2007). Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in neurosciences*, 30(5), 188-193.

[110].Neve, K. A., Seamans, J. K., Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine receptor signaling. *Journal of receptors and signal transduction*, 24(3), 165-205.,

[111].Kienast, T., Heinz, A. (2006). Dopamine and the diseased brain. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 5(1), 109-131.

[112].Meisenzahl, E. M., Schmitt, G. J., Scheuerecker, J., Möller, H. J. (2007). The role of dopamine for the pathophysiology of schizophrenia. *International Review of Psychiatry*, 19(4), 337-345.

- [113].Hardy, J. C. (2007). *Behavioral correlates of unilateral dopamine depletion in the MPP+ rat model of Parkinson's Disease*(Doctoral dissertation, Lethbridge, Alta.: University of Lethbridge, Faculty of Arts and Science, 2007).
- [114].Berk, M., Dodd, S., Kauer-Sant'anna, M., Malhi, G. S., Bourin, M., Kapczinski, F., Norman, T. (2007). Dopamine dysregulation syndrome: implications for a dopamine hypothesis of bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 116, 41-49.
- [115].Salamone, J. D., Correa, M., Mingote, S., Weber, S. M. (2003). Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305(1), 1-8.
- [116].Pavlov, K. A., Chistiakov, D. A., Chekhonin, V. P. (2012). Genetic determinants of aggression and impulsivity in humans. *Journal of applied genetics*, 53(1), 61-82.
- [117].Namrata C. (2014). Clinical cases biochemistry for medics. 15.04.2018 tarihinde [http://usmle.biochemistryformedics.com/co-factor-for-gaba-dopamine-and histamine/](http://usmle.biochemistryformedics.com/co-factor-for-gaba-dopamine-and-histamine/) adresinden erişildi.
- [118].Grando, S. A., Pittelkow, M. R., Schallreuter, K. U. (2006). Adrenergic and cholinergic control in the biology of epidermis: physiological and clinical significance. *Journal of Investigative Dermatology*, 126(9), 1948-1965.
- [119].Jin, L. Q., Wang, H. Y., Friedman, E. (2001). Stimulated D1 dopamine receptors couple to multiple G α proteins in different brain regions. *Journal of neurochemistry*, 78(5), 981-990.
- [120].West, A. R., Floresco, S. B., Charara, A. L. I., Rosenkranz, J. A., Grace, A. A. (2003). Electrophysiological interactions between striatal glutamatergic and dopaminergic systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003(1), 53-74.
- [121].Cousins, D. A., Butts, K., Young, A. H. (2009). The role of dopamine in bipolar disorder. *Bipolar disorders*, 11(8), 787-806.
- [122].Howes, O. D., Egerton, A., Allan, V., McGuire, P., Stokes, P., Kapur, S. (2009). Mechanisms underlying psychosis and antipsychotic treatment response in schizophrenia: insights from PET and SPECT imaging. *Current pharmaceutical design*, 15(22), 2550-2559.
- [123].Ashok, A. H., Marques, T. R., Jauhar, S., Nour, M. M., Goodwin, G. M., Young, A. H., Howes, O. D. (2017). The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: the state of the art and implications for treatment. *Molecular psychiatry*, 22(5), 666.
- [124].Kaalund, S. S., Newburn, E. N., Ye, T., Tao, R., Li, C., Deep-Soboslay, A., ... Kleinman, J. E. (2014). Contrasting changes in DRD1 and DRD2 splice variant expression in schizophrenia and affective disorders, and associations with SNPs in postmortem brain. *Molecular psychiatry*, 19(12), 1258.

- [125].Glantz, L. A., Gilmore, J. H., Overstreet, D. H., Salimi, K., Lieberman, J. A., Jarskog, L. F. (2010). Pro-apoptotic Par-4 and dopamine D2 receptor in temporal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Schizophrenia research*, 118 (13), 292-299.
- [126].Hollins, S. L., Cairns, M. J. (2016). MicroRNA: Small RNA mediators of the brains genomic response to environmental stress. *Progress in neurobiology*, 143 (31), 61-81.
- [127].Christian, K. M., Miracle, A. D., Wellman, C. L., Nakazawa, K. (2011). Chronic stress-induced hippocampal dendritic retraction requires CA3 NMDA receptors. *Neuroscience*, 174 (22), 26-36.
- [128].Baek, D., Villén, J., Shin, C., Camargo, F. D., Gygi, S. P., Bartel, D. P. (2008). The impact of microRNAs on protein output. *Nature*, 455(7209), 64-68.
- [129].Cook, S. C., Wellman, C. L. (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Journal of neurobiology*, 60(2), 236-248.
- [130].Du, T., Zamore, P. D. (2005). microPrimer: the biogenesis and function of microRNA. *Development*, 132(21), 4645-4652.
- [131].Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *cell*, 116(2), 281-297.
- [132].Gregory, R. I., Chendrimada, T. P., Cooch, N., Shiekhattar, R. (2005). Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*, 123(4), 631-640.
- [133].Wiesen, J. L., Tomasi, T. B. (2009). Dicer is regulated by cellular stresses and interferons. *Molecular immunology*, 46(6), 1222-1228.
- [134].Uchida, S., Hara, K., Kobayashi, A., Funato, H., Hobara, T., Otsuki, K., Watanabe, Y. (2010). Early life stress enhances behavioral vulnerability to stress through the activation of REST4-mediated gene transcription in the medial prefrontal cortex of rodents. *Journal of Neuroscience*, 30(45), 15007-15018.
- [135].Maiorano, N. A., Mallamaci, A. (2009). Promotion of embryonic cortico-cerebral neuronogenesis by miR-124. *Neural development*, 4(1), 40.
- [136].Mehler, M. F., Mattick, J. S. (2007). Noncoding RNAs and RNA editing in brain development, functional diversification, and neurological disease. *Physiological reviews*, 87(3), 799-823.
- [137].Dugas, J. C., Cuellar, T. L., Scholze, A., Ason, B., Ibrahim, A., Emery, B., Barres, B. A. (2010). Dicer1 and miR-219 Are required for normal oligodendrocyte differentiation and myelination. *Neuron*, 65(5), 597-611.
- [138].Geaghan, M., Cairns, M. J. (2015). MicroRNA and posttranscriptional dysregulation in psychiatry. *Biological psychiatry*, 78(4), 231-239.
- [139].Kim, A. H., Reimers, M., Maher, B., Williamson, V., McMichael, O., McClay, J. L., Vladimirov, V. I. (2010). MicroRNA expression profiling in the prefrontal cortex of individuals affected with schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophrenia research*, 124(1-3), 183-191.

- [140].Zhang, Z., Convertini, P., Shen, M., Xu, X., Lemoine, F., de la Grange, P., Stamm, S. (2013). Valproic acid causes proteasomal degradation of DICER and influences miRNA expression. *PLoS One*, 8(12), 182-189.
- [141].Etain, B., Jamain, S., Milhiet, V., Lajnef, M., Boudebessé, C., Dumaine, A., Kahn, J. P. (2014). Association between circadian genes, bipolar disorders and chronotypes. *Chronobiology international*, 31(7), 807-814.
- [142].GeneCards Human Genetics Database web sayfası. <http://www.genecards.org>. Erişim Tarihi 20 Nisan 2018.
- [143].miRbase. microRNA database internet sayfası <http://www.base.org>. Erişim tarihi 15 Mayıs 2018
- [144].Home-Pubmed-NCBI internet sayfası <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Erişim tarihi 18 Haziran 2018
- [145].miRDB - MicroRNA Target Prediction And Functional Study Database internet sayfası <http://www.mirdb.org>. Erişim tarihi 12 Haziran 2018
- [146].Chomczynski, P., Sacchi, N. (2006). The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nature protocols*, 1(2), 581.
- [147].Fagiolini, A., Coluccia, A., Maina, G., Forgione, R. N., Goracci, A., Cuomo, A., Young, A. H. (2015). Diagnosis, epidemiology and management of mixed states in bipolar disorder. *CNS drugs*, 29(9), 725-740.
- [148].Borch-Jacobsen, M. (2010). Which came first, the condition or the drug. *London Review of Books*, 32(19), 31-33.
- [149].McIntyre, R. S., Konarski, J. Z., Yatham, L. N. (2004). Comorbidity in bipolar disorder: a framework for rational treatment selection. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 19(6), 369-386.
- [150].Gitlin, M. (2006). Treatment-resistant bipolar disorder. *Molecular psychiatry*, 11(3), 227.
- [151].Maletic, V., Raison, C. (2014). Integrated neurobiology of bipolar disorder. *Frontiers in psychiatry*, 5, 98.
- [152].Kerner, B. (2014). Genetics of bipolar disorder. *The application of clinical genetics*, 7, 33.
- [153].McMahon, F. J., Akula, N., Schulze, T. G., Muglia, P., Tozzi, F., Detera-Wadleigh, S. D., Mattheisen, M. (2010). Meta-analysis of genome-wide association data identifies a risk locus for major mood disorders on 3p21. 1. *Nature genetics*, 42(2), 128.
- [154].Chang, C. W., Cheng, W. C., Chen, C. R., Shu, W. Y., Tsai, M. L., Huang, C. L., Hsu, I. C. (2011). Identification of human housekeeping genes and tissue-selective genes by microarray meta-analysis. *PloS one*, 6(7), 22-28.

- [155].Bhat, S., Dao, D. T., Terrillion, C. E., Arad, M., Smith, R. J., Soldatov, N. M., Gould, T. D. (2012). CACNA1C (Cav1. 2) in the pathophysiology of psychiatric disease. *Progress in neurobiology*, 99(1), 1-14.
- [156].Lee, S. A., Tsao, T. T. H., Yang, K. C., Lin, H., Kuo, Y. L., Hsu, C. H., Kao, C. Y. (2011, December). Construction and analysis of the protein-protein interaction networks for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. In *BMC bioinformatics*, 12(2), 2-9
- [157].Tiwary, B. K. (2012). The severity of mental disorders is linked to interaction among candidate genes. *Integrative Biology*, 4(9), 1096-1101.
- [158].de Aguiar Ferreira, A., Neves, F. S., da Rocha, F. F., e Silva, G. S., Romano-Silva, M. A., Miranda, D. M., Correa, H. (2009). The role of 5-HTTLPR polymorphism in antidepressant-associated mania in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 112(1-3), 267-272.
- [159].Home-Pubmed-NCBI internet sayfası <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/COMT>. Erişim tarihi 15 Haziran 2018.
- [160].Machado-Vieira, R., Ibrahim, L., Zarate, Jr, C. A. (2011). Histone deacetylases and mood disorders: epigenetic programming in gene-environment interactions. *CNS neuroscience & therapeutics*, 17(6), 699-704.
- [161].Abdolmaleky, H. M., Cheng, K. H., Faraone, S. V., Wilcox, M., Glatt, S. J., Gao, F., Pan, H. (2006). Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Human molecular genetics*, 15(21), 3132-3145.
- [162].Zhang, H. S., Ke, X. Y., Hu, L. L., Wang, J., Gao, L. S., Xie, J. (2018). Study on the epigenetic methylation modification of bipolar disorder major genes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22(5), 1421-1425.
- [163].Wang, L. J., Lee, S. Y., Chen, S. L., Chang, Y. H., Chen, P. S., Huang, S. Y., Yang, Y. K. (2015). A potential interaction between COMT and MTHFR genetic variants in Han Chinese patients with bipolar II disorder. *Scientific reports*, 5, 8813.
- [164].Miskowiak, K. W., Kjaerstad, H. L., Støttrup, M. M., Svendsen, A. M., Demant, K. M., Hoeffding, L. K., Vieta, E. (2017). The catechol-O-methyltransferase (COMT) Val158Met genotype modulates working memory-related dorsolateral prefrontal response and performance in bipolar disorder. *Bipolar disorders*, 19(3), 214-224.
- [165].Preisig, M., Ferrero, F., Malafosse, A. (2005). Monoamine Oxidase A and Tryptophan Hydroxylase Gene Polymorphisms. *American Journal of Pharmacogenomics*, 5(1), 45-52.
- [166].Shih, J. C. (2004). Cloning, after cloning, knock-out mice, and physiological functions of MAO A and B. *Neurotoxicology*, 25(1-2), 21-30.
- [167].Furlong, R. A., Ho, L., Rubinsztein, J. S., Walsh, C., Paykel, E. S., Rubinsztein, D. C. (1999). Analysis of the monoamine oxidase A (MAOA) gene in bipolar affective disorder by association

studies, meta-analyses, and sequencing of the promoter. *American Journal of Medical Genetics*, 88(4), 398-406.

[168].Liu, Z., Huang, L., Luo, X. J., Wu, L., Li, M. (2016). MAOA variants and genetic susceptibility to major psychiatric disorders. *Molecular neurobiology*, 53(7), 4319-4327.

[169].Home-Pubmed-NCBI internet sayfası <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/DAT1>. Erişim tarihi 16 Haziran 2018.

[170].Huang, C. C., Lu, R. B., Yen, C. H., Yeh, Y. W., Chou, H. W., Kuo, S. C., Liang, C. S. (2015). Dopamine transporter gene may be associated with bipolar disorder and its personality traits. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 265(4), 281-290.

[171].Home-Pubmed-NCBI internet sayfası <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SLC6A4>. Erişim tarihi 1 Hsziran 2018.

[172].Watanabe, S. Y., Numata, S., Iga, J. I., Kinoshita, M., Umehara, H., Ishii, K., Ohmori, T. (2017). gene expression-based biological test for major depressive disorder: an advanced study. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 13, 535.

[173].Amare, A. T., Schubert, K. O., Baune, B. T. (2017). Pharmacogenomics in the treatment of mood disorders: strategies and opportunities for personalized psychiatry. *EPMA Journal*, 8(3), 211-227.

[174].Ikeda, M., Iwata, N., Suzuki, T., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Ozaki, N. (2006). No association of serotonin transporter gene (SLC6A4) with schizophrenia and bipolar disorder in Japanese patients: association analysis based on linkage disequilibrium. *Journal of neural transmission*, 113(7), 899-905.

[175].GeneCards Human Genetics Database web sayfası <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DDC>. Erişim tarihi 8 Haziran 2018

[176].Borglum, A. D., Bruun, T. G., Kjeldsen, T. E., Ewald, H., Mors, O., Kirov, G., Kruse, T. A. (1999). Two novel variants in the DOPA decarboxylase gene: association with bipolar affective disorder. *Molecular psychiatry*, 4(6), 545.

[177].Ewald, H., Mors, O., Eiberg, H., Flint, T., Kruse, T. A. (1995). No evidence of linkage between manic depressive illness and the dopa decarboxylase gene or nearby region on chromosome 7p. *Psychiatric genetics*, 5(4), 161-169.

[178].Fineberg, S. K., Kosik, K. S., Davidson, B. L. (2009). MicroRNAs potentiate neural development. *Neuron*, 64(3), 303-309.

[179].Xu, B., Karayiorgou, M., & Gogos, J. A. (2010). MicroRNAs in psychiatric and neurodevelopmental disorders. *Brain research*, 1338, 78-88.

[180].Giraldez, A. J., Cinalli, R. M., Glasner, M. E., Enright, A. J., Thomson, J. M., Baskerville, S., Schier, A. F. (2005). MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science*, 308(5723), 833-838.

- [181].Davis, T. H., Cuellar, T. L., Koch, S. M., Barker, A. J., Harfe, B. D., McManus, M. T., Ullian, E. M. (2008). Conditional loss of Dicer disrupts cellular and tissue morphogenesis in the cortex and hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 28(17), 4322-4330.
- [182].Tai, H. C., Schuman, E. M. (2006). MicroRNA: microRNAs reach out into dendrites. *Current biology*, 16(4), R121-R123.
- [183].Cheng, H. Y. M., Papp, J. W., Varlamova, O., Dziema, H., Russell, B., Curfman, J. P., Obrietan, K. (2007). microRNA modulation of circadian-clock period and entrainment. *Neuron*, 54(5), 813-829.
- [184].Meltzer, H. Y., Huang, M. (2008). In vivo actions of atypical antipsychotic drug on serotonergic and dopaminergic systems. *Progress in brain research*, 172, 177-197.
- [185].Fries, G. R., Carvalho, A. F., Quevedo, J. (2017). The miRNome of bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 233(8), 110-116.
- [186].Miller, B. H., Zeier, Z., Xi, L., Lanz, T. A., Deng, S., Strathmann, J., Roth, R. H. (2012). MicroRNA-132 dysregulation in schizophrenia has implications for both neurodevelopment and adult brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(8), 3125-3130.
- [187].Moreau, M. P., Bruse, S. E., David-Rus, R., Buyske, S., Brzustowicz, L. M. (2011). Altered microRNA expression profiles in postmortem brain samples from individuals with schizophrenia and bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 69(2), 188-193.
- [188].Smalheiser, N. R., Lugli, G., Zhang, H., Rizavi, H., Cook, E. H., Dwivedi, Y. (2014). Expression of microRNAs and other small RNAs in prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and depressed subjects. *PLoS One*, 9(1), e86469.
- [189].Kim, Y., Zhang, Y., Pang, K., Kang, H., Park, H., Lee, Y., Han, K. (2016). Bipolar disorder associated microRNA, miR-1908-5p, regulates the expression of genes functioning in neuronal glutamatergic synapses. *Experimental neurobiology*, 25(6), 296-306.
- [190].Rong, H., Liu, T. B., Yang, K. J., Yang, H. C., Wu, D. H., Liao, C. P., Xu, D. (2011). MicroRNA-134 plasma levels before and after treatment for bipolar mania. *Journal of psychiatric research*, 45(1), 92-95.
- [191].Banach, E., Dmierzak-Weglarz, M., Pawlak, J., Kapelski, P., Szczepankiewicz, A., Rajewska-Rager, A., Hauser, J. (2017). Dysregulation of miR-499, miR-708 and miR-1908 during a depression episode in bipolar disorders. *Neuroscience letters*, 654, 117-119.
- [192].Issler, O., Haramati, S., Paul, E. D., Maeno, H., Navon, I., Zwang, R., Awatramani, R. (2014). MicroRNA 135 is essential for chronic stress resiliency, antidepressant efficacy, and intact serotonergic activity. *Neuron*, 83(2), 344-360.
- [193].Choi, J. L., Kao, P. F., Itriago, E., Zhan, Y., Kozubek, J. A., Hoss, A. G., Cabral, H. (2017). mir-149 and mir-29c as candidates for bipolar disorder biomarkers. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 174(3), 315-323.

- [194].Walker, R. M., Rybka, J., Anderson, S. M., Torrance, H. S., Boxall, R., Sussmann, J. E., Evans, K. L. (2015). Preliminary investigation of miRNA expression in individuals at high familial risk of bipolar disorder. *Journal of psychiatric research*, 62, 48-55.
- [195].Rong, H., Liu, T. B., Yang, K. J., Yang, H. C., Wu, D. H., Liao, C. P., ... & Xu, D. (2011). MicroRNA-134 plasma levels before and after treatment for bipolar mania. *Journal of psychiatric research*, 45(1), 92-95.
- [196].Banigan, M. G., Kao, P. F., Kozubek, J. A., Winslow, A. R., Medina, J., Costa, J., Vanderburg, C. R. (2013). Differential expression of exosomal microRNAs in prefrontal cortices of schizophrenia and bipolar disorder patients. *PloS one*, 8(1), e48814.
- [197].Maffioletti, E., Cattaneo, A., Rosso, G., Maina, G., Maj, C., Gennarelli, M., Bocchio-Chiavetto, L. (2016). Peripheral whole blood microRNA alterations in major depression and bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 200, 250-258.
- [198].Chen, H., Wang, N., Burmeister, M., & McInnis, M. G. (2009). MicroRNA expression changes in lymphoblastoid cell lines in response to lithium treatment. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(7), 975-981.
- [199].Lim, C. H., Zainal, N. Z., Kanagasundram, S., Zain, S. M., & Mohamed, Z. (2016). Preliminary examination of microRNA expression profiling in bipolar disorder I patients during antipsychotic treatment. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 171(6), 867-874.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı:Sevinç TEKİN

Doğum Tarihi :06.11.1984

E-mail:surersevinc@gmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Ege Üniversitesi	2003-2007
Yüksek Lisans	Tıbbi Biyoloji	Mersin Üniversitesi	2007-2010
Doktora	Tıbbi Biyoloji	Mersin Üniversitesi	2010-2018

Görevler:

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Mersin Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2007-2015
Uzman Araştırmacı	ALATA Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	2015-halen

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

1. Ö. İZCİ AY, M. E. AY, M. E. ERDAL, F. E. ÇAYAN, **S. TEKİN**, F. SÖYLEMEZ, M. A. SUNGUR & D. DERİCİ YILDIRIM, Folate Metabolism Gene Polymorphisms And Risk For Down Syndrome Offspring In Turkish Women, GENETIC TESTING AND MOLECULAR BIOMARKERS, 2015, 1945-0265, 19, 4, 191-197.
2. M. BALKAN, M. ATAR, M. E. ERDAL, İ. YILDIZ, N. K. HATİPOĞLU, N. BODAKÇI, Ö. İZCİ AY, **S. TEKİN**, H. AKBAŞ, N. ALP & T. BUDAK, The Possible Association Of Polymorphisms In Mthfr, Mtrr, And Mthfd1 Genes With Male Infertility, INTERNATIONAL MEDICAL JOURNAL, 2013, 1341-2051, 20, 4, 404-408.
3. S. TEKİN, Ö. İZCİ AY, M. E. AY, F. E. ÇAYAN, T. U. K. DİLEK, H. ŞENLİ, Ş. GÖRÜCÜ YILMAZ, S. KARAKAŞ ÇELİK, Z. ALTINTAŞ, G. DOĞRU, D. DERİCİ YILDIRIM & M. E. ERDAL, In Situ Kiilti.ir Yontemi Ile 2200 Amniyosentez Materyalinin Sitogenetik Degerlendirilmesi, Poster Sunumu, Xii. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 204 - 204.
4. **S. TEKİN**, M. E. AY, F. E. ÇAYAN, Ö. İZCİ AY, M. A. SUNGUR & M. E. ERDAL, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Death Receptor 4 Gen Polinorfizmlerinin Araştırılması, Poster Sunumu, Xii. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 217 - 217.
5. **S. TEKİN**, Ö. İZCİ AY, M. E. AY, F. E. ÇAYAN, T. U. K. DİLEK, H. ŞENLİ, Ş. GÖRÜCÜ YILMAZ, S. KARAKAŞ ÇELİK, Z. ALTINTAŞ, G. DOĞRU, D. DERİCİ YILDIRIM & M. E. ERDAL, In Situ Kiilti.ir Yontemi Ile 2200 Amniyosentez Materyalinin Sitogenetik Degerlendirilmesi, Poster Sunumu, Xii. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 204 - 204.
5. M. E. AY, S. TEKİN, Ö. İZCİ AY, T. U. K. DİLEK, D. DERİCİ YILDIRIM & M. E. ERDAL, Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Bcl-2 Ve Bax Gen Polinorfizmlerinin Arastılması, Poster Sunumu, Xii. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 215 - 215.
6. Ü. KARAKAŞ, Ö. İZCİ AY, M. E. AY, T. U. K. DİLEK, F. E. ÇAYAN, **S. TEKİN**, H. ŞENLİ, G. DOĞRU & M. E. ERDAL, Prenatal Tamda Saptanan De Novo Perisentrik Inversiyon 6 Olgusu, Poster Sunumu, Xii. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 204 - 204.

7. K. ÇEVİK, M. E. AY, Ö. İZCİ AY, T. U. K. DİLEK, F. E. ÇAYAN, **S. TEKİN**, H. ŞENLİ, G. DOĞRU, Ü. KARAKAŞ & M. E. ERDAL, Prenatal Tamda Saptanan Perisentrik Inversiyon 12 Olgusu, Poster Sunumu, Xıı. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 205 - 205.
8. G. DOĞRU, Ö. İZCİ AY, M. E. AY, **S. TEKİN**, H. ŞENLİ, F. E. ÇAYAN, T. U. K. DİLEK & M. E. ERDAL, Prenatal Tamda 2;8 Translokasyon Olgusu, Poster Sunumu, Xıı. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 203 - 203.
9. M. E. AY, **S. TEKİN**, Ö. İZCİ AY, Ş. GÖRÜCÜ YILMAZ, F. E. ÇAYAN, Ö. ÇOBAN, D. DERİCİ YILDIRIM & M. E. ERDAL, Fas-fas Ligand Gen Polimorfizmlerinin Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olgusu Uzerine Etkisi, Poster Sunumu, Xıı. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 227- 227.
10. G. DOĞRU, Ö. İZCİ AY, M. E. AY, **S. TEKİN**, T. U. K. DİLEK, F. E. ÇAYAN, M. A. SUNGUR & M. E. ERDAL, 105 Gebelik Kaybı Olgusunda Saptanan Sitogenetik V Erilerin Degerlendirilmesi, Poster Sunumu, Xıı. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi, 27 Ekim 2011, 30 Ekim 2011, 1300-0292, 31, 6, 201 - 201.

