

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI**

**KATEKOL-O-METİLTRANSFERAZ (COMT) VE
SEROTONİN TAŞIYICI GENLERİNİN OBSESİF
KOMPULSİF BOZUKLUK İLE OLAN İLİŞKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TIBBİ BİYOLOG
SAİDE NUR OKUTAN**

**DANIŞMAN
PROF.DR. MÜJGAN CENGİZ**

İSTANBUL 2013

İstanbul, 30 Temmuz 2013

**İ.Ü.ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA**

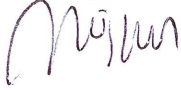
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 36.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın yüksek lisans öğrencisi Saide Nur OKUTAN'ın,

“Katekol-O-Metil Transferaz (Comt) ve Serotonin Taşıyıcı Genlerinin Obsesif Kompulsif Bozukluk İle Olan İlişkisi”


Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.

Yukarıda adı geçen tezin ve tez savunmasının kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.

Prof.Dr.Müjgan CENGİZ
Jüri Başkanı
Danışmanı



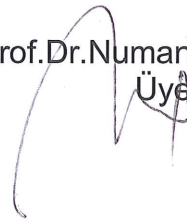
Prof.Dr.Salih CENGİZ
Üye



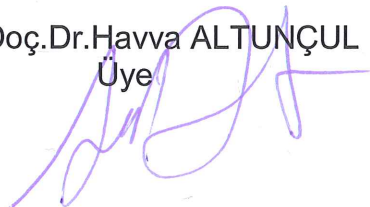
Prof.Dr.İlhan ONARAN
Üye



Prof.Dr.Numan KONUK
Üye



Yard.Doç.Dr.Hayva ALTUNÇUL
Üye



İTHAF

Sevgili Annem, Babam, Eşim ve Çocuklarıma ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tıbbi Biyoloji A.B.D’da, tez çalışmam sürecinde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, hoşgörüsünü her zaman ve her koşulda hissettiren, birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. Müjgan Cengiz’e ve Psikiyatri A.B.D hocalarımızdan Prof. Dr. Neşe Kocabaşoğlu’na en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı’mız sayın Prof. Dr. Salih Cengiz’e ve yüksek lisans eğitimime katkıda bulunan anabilim dalımız tüm öğretim üyelerine teşekkür ve saygılarımı sunarım. Tez çalışmasında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, dostluklarını içtenlikle hissettiren biyolog Dr. Burcu Bayoğlu’na en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın değişik aşamalarında bana destek olan çalışma arkadaşlarıma ve hasta grubunu oluşturmam için bana çok yardımcı olan Dr. Ayşe Sakallı ve Psikiyatri kliniği başhemşire ve hemşirelerine teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmamda istatistik hesaplamaları konusundaki değerli yardımları ve desteği, sabrı ve içtenliğinden dolayı değerli eşim Dr. Ahmet Okutan’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca aldığım her önemli kararda yanımda oldukları, her konudaki sonsuz sabırları, bana olan inançları, her koşulda hissettirdikleri kayıtsız şartsız sevgileri, ilgi ve destekleri için aileme şükranlarımı sunarım.

Saide Nur OKUTAN

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	İX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Obsesif Kompulsif Bozukluk.....	3
2.1.1. Tarihçesi.....	3
2.1.2. Klinik Özellikler ve Ayırıcı Tanı	4
2.1.3. Epidemiyoloji.....	4
2.1.4. Etiyoloji.....	5
2.1.5. OKB Patofizyolojisinde Polimorfik Protein ve Aday Genler	9
2.1.6. Serotonin Taşıyıcı Gen (SLC6A4) Polimorfizmleri	12
2.1.7. COMT Enzimi.....	16
2.1.8. COMT Geni	16
2.2. MOLEKÜLER TEKNİKLER	19
2.2.1. DNA İzolasyonu	19
2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	19
2.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi	21
2.2.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time PCR).....	21
2.2.5. LightCycler Floresan PCR Yöntemi ile Polimorfizm Analizi	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
Çalışma Grubu Seçimi	24
Örneklerin Toplanması Ve Hazırlanması	24
3.1. Genotip Analizi	26

3.1.1. Örneklerden DNA İzolasyonu	26
3.1.2. İzole Edilen DNA Miktarının Ölçümü ve Saflık Tayini.....	27
3.1.3. 5-HTTLPR İnsersiyon/Delesyon Gen Polimorfizminin Belirlenmesi.....	28
3.1.4. COMT Geni rs2097063 (A/G) Polimorfizminin Belirlenmesi	31
3.1.5. SLC6A4 Geninde rs16965628 Polimorfizminin Belirlenmesi	33
3.1.6. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	62

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2. 1. 5-HTTLPR LL, LS ve SS genotipleri ile L ve S allellerinin farklı popülasyonlardaki frekansları (66)	14
Tablo 3. 1. İzole DNA Miktarının Ölçümü ve Saflık Tayini Temsili Sonuçları (H1-H4) (NanoDrop 2000).....	28
Tablo 3. 2. COMT Geni rs 2097063 Light Cyler 1.5 PCR Programı	32
Tablo 3. 3. rs16965628 Light Cyler 1.5 PCR Programı	35
Tablo 4. 1. Kontrol ve hasta grubuna ait tanımlayıcı özellikler	37
Tablo 4. 2. Kontrol ve OKB grubunda 5-HTTLPR genotip ve allel sıklığı dağılımı	38
Tablo 4. 3. Kontrol ve OKB grubunda SLC6A4 geni rs2097063 genotip ve allel sıklığı dağılımı	40
Tablo 4. 4. Kontrol ve OKB grubunda COMT rs2097063 genotip ve allel sıklığı dağılımı ..	41
Tablo 4. 5. OKB grubunda Yale Brown Skorları (YBOCS) Dağılımı	42
Tablo 4. 6. OKB grubunda Yale-Brown Skoru ile genotipler, yaş, cinsiyet arasında korelasyon analizi	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Serotonin Sinapsı.....	11
Şekil 2. 2. Serotonin taşıyıcı proteini 5-HTTLPR promotor allelik varyasyonları.....	12
Şekil 2. 3. SLC6A4 geninde ekzon/intron yapısı ve SNP leri (91).	15
Şekil 2. 4. COMT geni ve Transkriptleri	17
Şekil 3. 1. Örneklerdeki DNA'nın 260 nm dalga boyunda oluşturduğu pik	28
Şekil 3. 2. COMT Geni rs2097063 A/G polimorfizmine ait Erime Eğrileri	32
Şekil 3. 3. COMT Geni rs2097063 A/G polimorfizmine ait Erime Pikleri.....	33
Şekil 3. 4. COMT Geni rs2097063 A/G polimorfizmine ait Erime Pikleri.....	33
Şekil 3. 5. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs 16965628 polimorfizmi erime eğrileri ...	35
Şekil 3. 6. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs 16965628 polimorfizmi erime pikleri	36
Şekil 4. 1. 5-HTTLPR PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri	38
Şekil 4. 2. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs 16965628 polimorfizmi erime pikleri	39
Şekil 4. 3. COMT geni rs2097063 polimorfizmi erime pikleri	41

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Bp	: Baz çifti
COMT	: Katekol-O-Metil Transferaz
D	: Delesyon
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
g	: Gravity
5-HT	: 5-hidroksitriptamin (Serotonin)
5-HTT	: Serotonin taşıyıcı proteini (SLC6A4,SERT)
I	: İnsersiyon
L	: Uzun
MB-COMT	: Membrana bağlı Katekol-O-metiltransferaz
Met	: Metionin
mCPP	: Metil klorofenil piperazin
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
OKB	: Obsesif kompulsif bozukluk
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Rpm	: Dakikada devir sayısı
S	: Kısa
S-COMT	: Çözünmüş Katekol-O-metiltransferaz
SERT	: Serotonin Taşıyıcı
SLC6A4	: Serotonin Taşıyıcı Geni
SNP	: Tek nükleotid Polimorfizmi
SSRI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri
UTR	: Çevrilmeyen bölge
Val	: Valin
Y-BOCS	: Yale Brown Obsesyon Kompulsiyon Ölçeği
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ÖZET

Okutan, S.N. (2013). Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) ve Serotonin Taşıyıcı Genlerinin Obsesif Kompulsif Bozukluk ile Olan İlişkisi. İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, Adli Bilimler ABD. Yüksek Lisans. İstanbul.

Obsesif kompulsif bozukluk (OKB) obsesif davranışlar ve kompulsif eylemler ile karakterize bir psikiyatrik bozukluktur. OKB'nin nörobiyolojisi serotonerjik ve dopaminerjik sistemdeki işleyiş bozukluklarının güçlü bir şekilde gösterilmesi ile belirlenmiştir. Aile, ikiz, segregasyon ve bağlantı çalışmaları OKB'de serotonerjik ve dopaminerjik sisteme ilişkin genlerin rolü olduğu üzerinde durulmaktadır. Bu çalışmada obsesif kompulsif bozukluğu olan 80 hasta ve 100 kontrol denekteki Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) geninde -287A/G (rs 2097063) polimorfizmi ile Serotonin Taşıyıcı (5-HTT) geninde 5-HTTLPR ve rs16965628 polimorfizmlerin ilişkisi araştırıldı. Çalışmamızda DNA izolasyonundan sonra COMT -287 A/G (rs 2097063) ve 5-HTT geni SLC6A4 (rs16965628) polimorfizm analizi için Real-Time PCR yöntemi kullanıldı. 5-HTTLPR promotor insersiyon/delesyon polimorfizmi ise PCR yöntemi ve agaroz jel elektroforez kullanılarak tespit edildi. OKB semptomlarının şiddeti ve içerikleri Yale-Brown obsesif kompulsif bozukluk ölçeği (Y-BOCS) ile değerlendirildi. Çalışmamızda gen polimorfizmlerinin Türk toplumunda OKB, OKB semptomlarının şiddeti ve hasta bireylerin yaş, cinsiyet bilgileri ile olan ilişkisine ait veriler elde edildi. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında COMT geni -287 A/G (rs 2097063) ve serotonin taşıyıcı 5-HTTLPR gen polimorfizmi ile OKB arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p>0.05$). Türk toplumunda ilk kez araştırılan serotonin taşıyıcı geni (rs16965628) polimorfizmi hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubu G allel sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek bulundu ($p<0.05$). Bulgular sonucunda Türk toplumunda G genotipini taşıyan bireylerin OKB için risk (OR=3.43) oluşturduğu sonucu ortaya konuldu. OKB olgularında cinsiyet ve Yale- Brown skorları ile genotipler arasında herhangi bir anlamlı ilişki ve korelasyon tespit edilemedi. Sonuç olarak, bu veriler Türk toplumunda serotonin taşıyıcı geni (rs16965628) polimorfizmi ile obsesif kompulsif bozukluğun gelişimi arasında bir ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler : Obsesif Kompulsif Bozukluk, 5-HTTLPR , Serotonin Taşıyıcı Geni, COMT, Polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21850

ABSTRACT

Okutan, S.N. (2013). The Relationship Between Catechol-O-Methyltransferase (COMT) and Serotonin Transporter Genes With Obsessive Compulsive Disorder. Istanbul University, Institute of Forensic Medicine, Department of Forensic Science. Master Thesis. İstanbul.

Obsessive compulsive disorder (OCD) is a psychiatric disorder characterized by obsessive ideas and compulsive behaviours. Neurobiology of OCD became clear by indicating the functional disorders in the serotonergic and dopaminergic systems. Large evidence supported a genetic factor in OCD, based on family, twin and segregation studies. In this thesis, the relationship between Catechol-O-Methyltransferase (COMT) -287A/G (rs2097063), Serotonin Transporter (5-HTT) 5-HTTLPR and rs16965628 polymorphisms in 80 OCD patients and 100 control subjects are determined. Patients and controls are genotyped for COMT -287 A/G (rs 2097063) and 5-HTT (rs16965628) polymorphisms by means of Real-Time PCR technique after DNA isolation. 5-HTTLPR insertion/deletion polymorphism is genotyped using PCR and agarose gel electrophoresis technique. The rate and severity of symptoms are checked in OCD patients with Yale Brown obsession compulsion Scale (Y-BOCS). In this study, the relationship between candidate genes and OCD, severity of OCD symptoms and the gender of patients in the Turkish population is determined. When OCD and control group is compared, no significant difference is found between COMT gene -287 A/G (rs 2097063), serotonin transporter 5-HTTLPR gene polymorphisms and OCD. But we found significant difference between Serotonin transporter rs16965628 polymorphism and OCD ($p < 0.05$). G allele distribution is found to be higher in OCD group. Our findings suggest that subjects carrying G genotype (OR=3.43) have genetic susceptibility to OCD. No association and correlation was found between Yale-Brown score and gender of OCD patients. In conclusion, these data are the first to suggest that polymorphism in serotonin transporter (rs16965628) is associated with the development of obsessive compulsive disorder in Turkish population.

Key Words : Obsessive Compulsive Disorder, 5-HTTLPR , Serotonin Transporter gene, COMT, Polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 21850

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adli vakalarda suçlu kişinin özgür iradesiyle gerçekleştirilip gerçekleştirilmediği ve sağlıklı karar verebilme yeteneğinin belirlenmesi ve ruhsal patolojilerin kişinin işlediği eylemi ne kadar etkilediği adli psikiyatristler tarafından değerlendirilmektedir. Failin şiddet oluşturan davranışlarının sebeplerinin bilinmesi suçun değerlendirilmesi açısından önemlidir. Bireyi suça iten davranışlar ve psikiyatrik bozuklukların temelinde aile, çevre, psikolojik faktörlerin etkisi olduğu gibi, biyolojik, biyokimyasal ve genetik faktörlerin önemli bir rolü olduğu bugün kabul edilmektedir. Bu anlamda suç eylemine iten davranışlar ve psikiyatrik bozuklukların nörobiyolojik ve genetik etkenlerin daha iyi anlaşılmasına yönelik çalışmalar son yıllarda önem kazanmaya başlamıştır.

Psikiyatrik bozukluklardan biri olan obsesif kompulsif bozuklukta (OKB) kalıtımın önemi ve etkisi 20. yüzyılın başından beri vurgulanmaktadır. Obsesif kompulsif bozukluğun (OKB) Tourette Bozukluğu gibi genetik yönü ağır basan hastalıklar ile ilişkili olduğunun gösterilmesi, obsesif kompulsif bozukluk (OKB) ile serotonin arasındaki ilişkinin anlaşılması, obsesif kompulsif bozuklukta gösterilebilir beyin işlev bozukluklarının olması ve obsesif kompulsif bozukluk tanı ölçütlerinin DSM ile daha objektif hale gelmesi araştırmacıların hastalığın genetik yönünü çalışmaya yönlendirmiştir. Obsesif kompulsif bozukluğu olan bireyler arasında yapılan genetik çalışmalar, etyolojide ve belirtilerin ortaya çıkışında hem genetik hem de çevresel etmenlerin rol oynadığını da göstermektedir (1).

OKB'nin nörobiyolojisi serotonerjik ve dopaminerjik sistemdeki bozuklukların güçlü bir şekilde gösterilmesi ile belirginleşmiştir. Serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) OKB tedavisinde etkin olduğunun ortaya çıkması ile serotonin seviyesi, metabolizması ve reseptör tipleri ile ilgili çalışmalar artmış ve OKB'nin patofizyolojisinden bu serotonerjik sistemi oluşturan genlerdeki değişimlerin sorumlu olabileceği hipotezi öne sürülmüştür (2). Aile, ikiz, segregasyon ve bağlantı çalışmaları da OKB'da serotonerjik sistemdeki işlev bozukluklarına yol açan genetik varyasyonların rolü olduğu üzerinde durulmaktadır. Son yıllarda modern moleküler genetik tanı sistemlerinin kullanıma girmesiyle özellikle psikiyatrik bozukluklar için yatkınlığa neden olan işlevsel polimorfizmlerin tanımlanması büyük önem kazanmıştır.

Katekol-O-Metil Transferaz enzimi katekolamin nörotransmitterlerin (dopamin, epinefrin, norepinefrin) inaktivasyonunda rol alır. COMT genindeki keşfedilen fonksiyonel polimorfizmlerin COMT enzim aktivitesinde değişime sebep olduğu gösterilmiştir. COMT geni polimorfizmlerinin psikiyatrik hastalıklar ve özellikle OKB ile ilişkisi olduğunu vurgulayan pek çok araştırma ile kanıtlanmıştır.

Bu tez çalışmasında Türk toplumunda Katekol-O-MetilTransferaz (COMT) geni promotorunda yeni tanımlanan -287A/G (rs2097063) polimorfizmi, 5-HTT (Serotonin taşıyıcı geni) geninde bulunan 5-HTTLPR transkripsiyonel kontrol bölgesi insersiyon/delesyon polimorfizmi ile 5-HTT (rs16965628) polimorfizmi kontrol grubu ile karşılaştırılarak Obsesif Kompulsif Bozukluk ile ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmaktadır. Ayrıca bu polimorfizmlerin, OKB olgularında hastalığının şiddeti, cinsiyet ve yaşları açısından ilişkisi değerlendirilecektir. Genetik bilinmeyi oldukça fazla bir psikiyatrik hastalık olan OKB ile yapılacak olan bu perspektifteki çalışmaların hastalığa ait genetik alt yapının aydınlatılmasına katkıda bulunarak ileride psikiyatrik ve adli psikiyatrik değerlendirme açısından klinik düzeyde yararlar sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obsesif Kompulsif Bozukluk

Obsesif kompulsif bozukluk (OKB) obsesif düşünceler ve kompulsif eylemlerle karakterize psikiyatrik bir bozukluktur. Obsesyonlar istenmeden gelen, belirgin anksiyete ya da sıkıntıya neden olan, ısrarlı, yineleyici düşünce, dürtü ve imgelerdir (3). Kompulsiyonlar ise bir amacı varmış gibi görünen, anksiyete ve gerginliği azaltmaya yönelik, kişinin yapmak zorunda hissettiği motor veya mental eylemlerdir (4). Obsesif kompulsif bozukluk (OKB) kişinin olağan günlük işlerini, mesleki veya eğitimle ilgili işlevselliğini, sosyal etkinlik ve ilişkilerini önemli ölçüde bozabilen ruhsal bir sağlık sorunudur (3). Obsesif kompulsif bozukluk hastaların yaşam kalitelerinde düşme ve işlev kaybı meydana getirdiğinden dolayı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından dünya üzerinde işlev kaybı yaratan ilk 10 tıbbi durum arasında kabul edilmiştir (5).

OKB sıklıkla çocukluk çağının sonlarında ve ergenlikte ortaya çıkar ve yaşam boyunca devamlılık gösterebilmektedir. OKB'nin yaşam boyu yaygınlığı %1.9-3.0 olarak bildirilmiştir (6). OKB'nin etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte aile, ikiz, segregasyon ve bağlantı (linkaj) çalışmaları OKB'de kalıtımın rolü olduğu üzerinde durulmaktadır (5).

2.1.1. Tarihçesi

1837'de Esquriol tarafından obsesyon ve kompulsiyonlar ilk kez melankoli belirtisi olarak tanımlanmıştır (7). Obsesyon terimi Morel tarafından ilk kez 1866' da kullanılmasına rağmen 4000 yıl kadar önce Mezopotamya' da görüldüğüne dair bilgiler vardır. OKB' nin ilk modern formülasyonunu yapan Westpal fobik semptomları ve anankastik bozukluğu birbirinden ayırarak kompulsif fikirleri kişinin bilincine giren, inançlarına ters düşünceler olarak tanımlamıştır (8). 20. yüzyılın başında Pierre Janet fobi, obsesyon ve kompulsiyonları "psikastenî" başlığı altında toplamıştır. Freud ise psikoanalitik açıdan fobilerle OKB' nin ayrı bozukluklar olduğunu, obsesif durumun "bastırılmış cinsel suçluluk anılarına" karşı ortaya çıkan psikolojik savunmalar olarak açıklamıştır (9). OKB yirminci yüzyıl başlarına gelindiğinde ayrı bir klinik tablo olarak ele alınmaya başlamıştır (10).

2.1.2. Klinik Özellikler ve Ayırıcı Tanı

OKB, kişide sıkıntı ve endişe yaratan obsesyonların ya da kompulsiyonların bulunması olarak tanımlanmaktadır. Obsesyonlar ve kompulsiyonlar kendileri için sıkıntılı bir durumdur ve hastalar genellikle obsesyonlarını bastırmaya çalışmaktadırlar. Obsesyon ve kompulsiyonlar klinikte hemen hemen her zaman ikisi birden bulunmaktadır. Bir bozukluk tanısı koymak için semptomlar belirgin sıkıntı yaratmalı, günde en azından bir saatin boşa harcanmasına sebep olmalı ve işlevselliği bozmalıdır. OKB'yi diğer bozukluklardan açıkça ayırt etmek için DSM IV tanı kriterlerindeki bulgular önemlidir. Semptomlarını aşırı veya anlamsız bulmayan hastalar için, "içgörüsü az" belirleyicisini tanımlar (11). Çocuklar durumlarının anlamsızlığını kavrayacak içgörüye sahip olmadıklarından veya durumun anlamsızlığını tartışmak için çekinebileceklerinden, içgörüye ilişkin ölçüt çocuklar için geçerli değildir (12).

OKB'nin en sık görülen formu yıkama kompulsiyonlarının eşlik ettiği bulaşma obsesyonlarıdır. Bu hastaların yaklaşık % 55' ini etkiler. İkinci sırada görülen formu sıklıkla kontrol etme kompulsiyonlarının eşlik ettiği, patolojik kuşkulardır. Üçüncü en sık görülen form, özellikle saldırgan veya cinsel içerikli tekarlayan düşüncelerdir. Dördüncü en sık form ise simetri veya düzen ihtiyacıdır. Hastaların en azından % 75'inde obsesyon ve kompulsiyonlar birlikte bulunur (13). Obsesyonların; depresif içerikli tekrarlayıcı düşünceler, hezeyanlar ve patolojik kaygılardan, kompulsiyonların impulsif davranışlardan ayırt edilmesi önemlidir. Tourette ve diğer tik bozuklukları, travma, postensefalit, temporal lob epilepsisi ayırıcı tanıda dikkat edilmesi gereken tıbbi olgulardır. Tourette bozukluğunda % 90 oranında kompulsif belirtilerin olması, 2/3'lük kısmının obsesif kompulsif bozukluk tanı ölçütlerini karşılaması bu bozukluğun ayırıcı tanıda mutlak ele alınmasını işaret etmektedir (14). OKB, Amerikan Psikiyatri Birliği'nin hazırladığı DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-Fourth Edition) sınıflandırma sisteminde anksiyete bozuklukları grubunda yer almaktadır (15).

2.1.3. Epidemiyoloji

OKB'nin yaygınlığı ile ilgili ilk epidemiyolojik çalışmalar klinik verilere dayanmaktaydı ve bu sonuçlara göre hastalığın görülme sıklığı seyrekti (16). Freud, 1907 yılında yayınlanmış "obsesif davranışlar ve dini uygulamalar" adlı makalesinde; pek çok kişinin rahatsızlığını uzun yıllar sakladığından, sosyal aktivitelerini yerine

getirirken bu tekrarlayıcı davranışlarını gizlediklerinden, vakitlerinin önemli bir kısmını bu düşünce yoğunluğuna ayırdıklarından bahsetmiştir (17).

İlk defa 1957 yılında yapılan çalışmalarda psikiyatrik hasta grubunda OKB'nin çok nadir olduğu (% 1-4) saptanmıştır (18). 1980'li yıllara kadar OKB'nin seyrek görülen bir bozukluk olduğu düşünülürken, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ulusal alan tarama çalışmalarında yaşam boyu yaygınlığı % 2-3; 6 aylık yaygınlığı % 1-2 olarak saptanmış ve önceki çalışmalara göre 25-60 kat daha yüksek bulunmuştur (19, 20). Dünyada bu bozukluğun % 2 oranında olması ciddi bir problemdir (16). 2000 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün dünya genelinde bu bozukluğun yaygınlığını araştırdığı bir çalışmada, Latin Amerika, Afrika ve Avrupa'da bu bozukluğun görülme sıklığı Asya ve Okyanusya ülkelerine göre daha yaygın olduğu anlaşılmıştır (18). Türk toplumunda ayaktan gelen psikiyatrik hastalar ile yapılan bir çalışmada OKB yaygınlığı % 2.63 olarak bulunmuştur (21).

Bu oranlar OKB'nin psikiyatri hastalıkları arasında fobiler, madde kötüye kullanımı ve major depresyondan sonra gelen dördüncü büyük grubu oluşturduğunu göstermektedir (22, 23).

Retrospektif çalışmalar OKB başlangıç yaşının depresyondan daha erken, yirmili yaşların ortalarında başladığını göstermektedir. Erişkin hastaların üçte birinden fazlasında, belirtiler 15 yaşından önce başlamaktadır. Erkekler kadınlara göre daha erken başlangıç göstermektedir. 5 yaşında başlayan olgular da bildirilmiştir (24).

OKB kadınlarda erkeklere göre daha yaygındır. Bu yaygınlık depresyon ve diğer anksiyete bozukluklarındaki kadar belirgin olmamakla birlikte kadın-erkek oranı 1.5:1.0 civarındadır. (25). Bu hastalıkla beraber bazen yeme bozuklukları, fobiler, tik bozuklukları ve depresyonda hastalığa eşlik edebilmektedir (26).

2.1.4. Etiyoloji

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, OKB'nin etiyolojisinin tek bir kuramla açıklamanın yetersiz kalacağını göstermiştir. OKB'nun tek tip veya homojen bir bozukluk olmayıp, heterojen bir tablo olduğu bugün kabul edilmektedir. OKB etiyolojisinde ilk yaklaşımlar, Freud ve onu izleyen psikoanalitik kuramcılar bilinç dışındaki dürtülerin baskısı ile ruhsal ve cinsel gelişimin anal sadistlik dönemine gerilemenin obsesyon sorununu doğurduğunu ifade ederken, davranışçı görüş de

öğrenme ilkeleri üzerine yerleştirilmiştir (3). Son yıllardaki çalışmalarda ise daha çok biyolojik teoriler üzerinde durulmaktadır. OKB'nin nörobiyolojisi serotonerjik sistemdeki anormalliklerin güçlü bir şekilde gösterilmesi ile belirginleşmiştir (27).

Son yıllarda hızla gelişen moleküler analiz teknikleri ile OKB patogenezinin sorumlu olduğu düşünülen aday genler üzerinde araştırmalar hız kazanmakta ve hastalığı oluşturan genetik faktörlerden özellikle tek nükleotid polimorfizmlerinden (SNP) kaynaklanan gen varyasyonlarının etkin olduğu düşüncesi hakim olmaya başlamaktadır.

Bu bozukluğu açıklamaya yönelik bazı etkenler aşağıda irdelenmiştir.

2.1.4.1. NöroAnatomik Etkenler

Fonksiyonel beyin görüntüleme araştırmaları sonucunda OKB'nin M.S.S'de kortiko-striato-pallido-talamik devresinin yetersiz işlev göstermesinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (28). Bu model korteks ile talamus arasındaki iletim yolundaki bozukluğun obsesyon ya da obsesyon benzeri bulgulara yol açtığını, striatumdaki anormalliklerin kompulsiyon ve tekrarlayan motor hareketlere sebep olduğunu vurgulamaktadır. Araştırmalar sonucunda aynı zamanda orbitofrontal korteks, talamus, nükleus kaudatus ve singulat girusta fonksiyonel anormallikler olduğu tespit edilmiştir (29). Kaudat nükleus ya da putamende yerleşen fokal bir lezyon veya deney hayvanlarında nükleus kaudatusta oluşturulan hasarın obsesif kompulsif belirtilere neden olması, OKB'nin patogenezinde bazal gangliyonların özellikle singulat girusun önemli rol oynadığına işaret etmektedir (30). Beyinde bulunan tüm bu alanlar serotonerjik ve dopaminerjik nörotransmitterler aracılığıyla uyarılmaktadır. Ve her iki nörotransmitter sisteminin OKB ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (31). Huntington hastalığı, Sydenham koresi, Tourette sendromu gibi bazal gangliyonlardan köken alan, hareket bozuklukları ile karakterize edilen hastalıklarda obsesif kompulsif belirtilerin sık görülmesi, bu hastalıklarda ortak nöroanatomik bulgular, manyetik rezonans görüntüleri OKB etiolojisinde bazal gangliyonların rolünü de desteklemektedir. Bazal gangliyonlar, motor davranışların düzenlenmesinin yanı sıra bilişsel işlevlerin yürütülmesinde önemli rol oynamaktadır (28).

2.1.4.2. Nörobiyolojik Etkenler

Bozukluğun uzun süreden beri ağır beyin anormallikleri, biyokimyasal nörotransmisyon ve reseptör fonksiyon bozukluklarıyla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. OKB' nin nörobiyolojisi serotonerjik sistemdeki anormalliklerin güçlü bir şekilde gösterilmesi ile belirginleşmiştir (30,32). Serotoninin anksiyeteyi regüle eden önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Serotonin (5-HT ya da 5-hidroksitriptamin) insanda mutluluk, canlılık ve zindelik hissi veren bir hormondur. Eksikliğinde depresif, yorgun, sıkılgan bir ruh hali görülmektedir. Beyinde serotonin kimyasalı salındığında kan damarları kasılarak daralmakta; serotonin düzeyi düştükçe genişlemektedir (34). Serotonin bir nörondan diğerine nörotransmisyonu, komşu nöron reseptörüne bağlanarak sağlamaktadır (2). OKB bozukluğu olanlarda serotonin reseptörlerinin kısmi olarak uyarılmadığı hipotezi öne sürülmüştür. Serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) -selektif dopaminerjik ve noradrejenik geri alım inhibitörlerine- göre (2) OKB tedavisinde daha etkin olduğunun ortaya çıkması ile serotonin seviyesi, metabolizması ve reseptör tipleri ile ilgili çalışmalar artmış ve bu hipotez yoğunluk kazanmıştır (32). Örnek olarak fluoksetin, paroksetin, sertraline, sitolapram gibi ilaçların plasebo kontrollü denemelerinde OKB semptomlarını azalttığı gözlemlenmiştir (35, 36). İlaçlarla yapılan çeşitli klinik çalışmalarda, obsesif ve kompulsif semptom oluşumuna neden olan "serotonin bozukluğu hipotezi" ortaya konulmuştur (27). Verilere göre bu bozuklukta serotonerjik ilaçlar, diğer nörotransmitterler ile etkileşen ilaçlara göre daha etkin bulunmuştur (32).

2.1.4.3. Genetik ve Kişilik Özellikleri

OKB'nin genetik yönü , ortak nöroanatomik ve nörobiyolojik bulguların olduğu ve genetik yönü ağır basan Tourette sendromu ile ilişkisinin anlaşılmasıyla önem kazanmıştır. Obsesif kompulsif bozukluk heterojen bir hastalıktır. Oluşumunda pek çok genin etkisi olabilmektedir. Son yıllarda OKB'un patofizyolojisinde özellikle serotonerjik ve dopaminerjik sistemdeki işlev bozukluklarının gösterilmesi ile hastalığın oluşumunda serotonerjik ve dopaminerjik sistemle ilişkili genlerin etkisinin olabileceği öne sürülmüştür.

Kompleks bozukluklarda genetik yatkınlık;

1-Epidemiyolojik çalışmalar

2-Aile çalışmaları

3-İkiz çalışmaları

4-Evlat edinme çalışmaları

5-Kalıtım modeli çalışmaları (segregasyon analiz çalışmaları)

6-Moleküler genetik çalışmaları (Linkaj analiz çalışmaları ve asosiyasyon çalışmaları)

7-Hayvan çalışmaları ile ortaya konulmaktadır (3).

Çalışmalar gözden geçirildiğinde özellikle erken başlangıçlı ve tik bozukluğunun eşlik ettiği OKB bulgularında genetik geçişi destekleyen bulgular elde edilmiştir (37). OKB’de yapılan aile ve genetik çalışmalar hastaların akrabalarında beklenenin üzerinde psikiyatrik bozukluk oranları olduğunu göstermektedir. OKB’u olanların en azından %30’unun birinci derecede yakınında OKB olduğu, OKB’u olanlarının babalarında %25, annelerinde %9 olarak belirlendiği bildirilmektedir. Tek yumurta ikizlerinde eş hastalanma oranı (%87) çift yumurta ikizlerinden (%30) daha yüksektir (38).

Aile (38, 40) ve ikiz çalışmalarından (41) elde edilen pozitif sonuçlar ve özellikle segregasyon analizlerinden elde edilen geçiş modeline ilişkin bilgiler, araştırmaları OKB kalıtımında rol oynayabileceği düşünülen aday genlerin üzerinde odaklanma noktasına getirmiştir.

Son dönemde özellikle serotonerjik ve dopaminerjik sisteme ilişkin genler üzerinde yapılan moleküler genetik çalışmalar bu sistemlere ilişkin önceki klinik bulguları destekleyen sonuçlar sağlamıştır (42). Nörotransmitter metabolizmasına ilişkin genler ve nörogelişimsel yollar ile ilişkili genler de asosiyasyon çalışmaları ile incelenmiştir (43).

Serotonin geri alım engelleyicilerin (SSRI) obsesif-kompulsif belirtiler üzerindeki etkinliği ve serotonin agonisti mCPP (metil klorofenil piperazin) maddesinin obsesif-kompulsif belirtilere yol açması serotonerjik yollarda işlev bozukluğu olabileceğini gösteren göstergeler olarak kabul edilmektedir (43). Bu durum OKB’de serotonin metabolizmasında işlevi olan çeşitli genlerin araştırılmasına yol açmıştır.

2.1.5. OKB Patofizyolojisinde Polimorfik Protein ve Aday Genler

OKB'nin bilinen patofizyolojik ve farmakolojik etyolojisine dayanarak yürütülen genetik assosiyasyon çalışmaları serotonerjik sistem üzerinde yoğunluk kazanmıştır. Serotonin geri alım inhibitorlerinin (SSRI) OKB tedavisinde etkin olduğunun ortaya çıkması ile serotonin seviyesi, metabolizması ve reseptör tipleri ile ilgili çalışmalar artmış ve OKB'nin patofizyolojisinden bu serotonerjik sistemi oluşturan genlerdeki değişimlerin sorumlu olabileceği hipotezi öne sürülmüştür (32). Genlerdeki değişimlerden sorumlu tek nükleotid polimorfizm alleleri, direk olarak hastalığa katkısı olan gen fonksiyon veya regülasyonunda farklılığa yol açan DNA sekans varyantlarıdır. Birçok OKB ile ilişkili SNP alleli muhtemelen hastalığa küçük miktarda katkıda bulunmaktadır. Farklı tipteki SNPler, proteinin fonksiyonu veya regülasyonu ve ekspresyonunu değiştirebilmekte ve promotor bölgesinde bulunan SNP ler transkripsiyonu etkilemektedir (59).

OKB'nin patofizyolojisinden sorumlu olduğu düşünülen ve en çok çalışılmış aday genler; serotonin taşıyıcı promotor bölgesi (5- HTTLPR) (43), 5HT1-D beta serotonin reseptör geni, 5HT2A serotonin reseptör geni , 5HT2A reseptör geni promotor bölgesinde (1438 G/A, T102C, C516T) ve serotonin 5HT2C reseptör geni polimorfizmlerinin anlamlı bulgularla sonuçlandırılmış, OKB ile ilişkili aday genler arasında olabileceği bildirilmiş çalışmalardır (31,38). *Enoch ve ark.* (44) 5HT2A reseptör geni -1438 G/A promoter polimorfizminin mükemmeliyetçilik veya obsesyonelite gibi davranışlara özellikle kadınlarda yatkınlık oluşturabileceğini ileri sürmüşlerdir. Selektif olmayan serotonin reseptör agonisti mCPPnin OKB belirtilerinde kötüleşmeye neden olması 5-HT1Db reseptör geninin de OKB genetiğinde aday gen olarak incelenmesine yol açmıştır. *Mundo ve ark.* (45) 5-HT1Db reseptör geninin G861C polimorfizmi ile OKB arasında özellikle G varyantının OKB gelişme riski oluşturabileceği sonucuna varmışlardır.

Katekol-o-metil transferaz (COMT) geni varyasyonlarının da OKB'ye yatkınlığa neden olabileceği bildirilmiştir. COMT genindeki araştırılan fonksiyonel bir polimorfizmin (Val158 Met) COMT enzim aktivitesinde değişime sebep olduğu gösterilmiştir (46). COMT Val158Met polimorfizmi OKB hasta gruplarında en çok çalışılan polimorfizmlerden biridir. *Karayiorgou ve ark.* (47) erkek OKB olguları COMT geni Val158 Met polimorfizmi arasında pozitif ilişki belirlemişlerdir. Bu

çalışmaya tezat olarak, *Alsobrook ve ark.* (46) kadın OKB olguları ile COMT arasında anlamlı bir ilişki belirlemişlerdir. Daha yeni bir çalışmada COMT homozigozitesi (HH veya LL) ile OKB arasında anlamlı ilişki belirlemişlerdir (59). 2011 yılında yapılan bir araştırmada ise H/L genotipini OKB hastalarında daha yüksek olduğu bulgusunu elde etmişlerdir (48). Öte yandan bu konuda yayımlanan diğer bir çalışmada OKB ile COMT gen polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki saptamadıklarını bildirmişlerdir (49). Çin toplumunda yapılan çok yeni bir çalışmada ise COMT geni promotöründe bulunan -287A/G (rs2097063) polimorfizmi ile OKB ilişkisi araştırılmış ve GG genotipi ile OKB arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır (50).

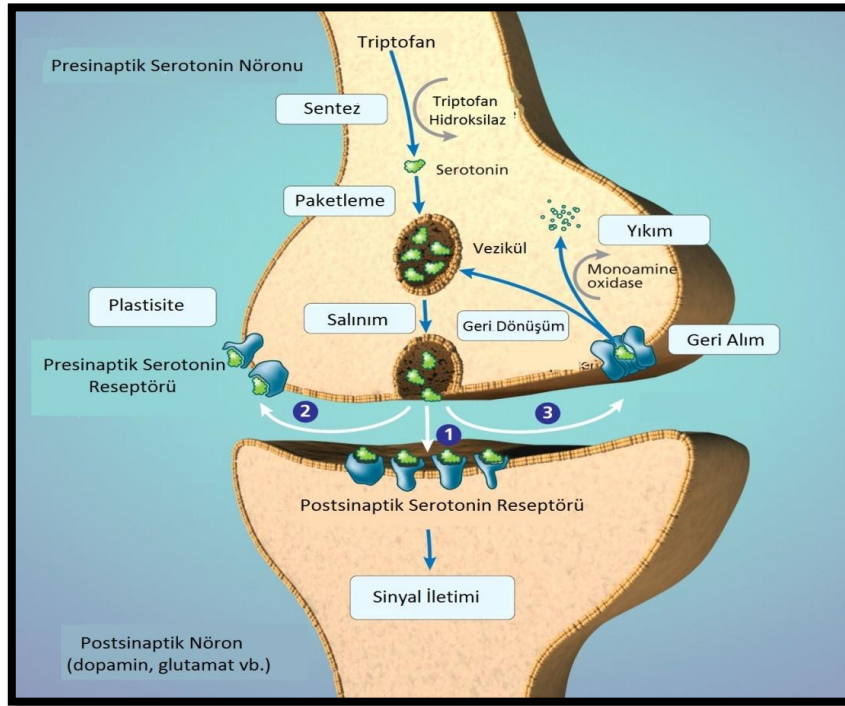
2.1.5.1. Serotonin Ve Serotonin Taşıyıcı Proteini (5-HTT, SERT)

Serotonin (5-hidroksitriptamin; 5-HT) vasküler düz kaslarda, gastrointestinal sistemde, santral ve periferik sinir sisteminde yer alan ve dopamin salınımını kontrol eden önemli bir monoamin nörotransmitterdir (12). Esansiyel bir amino asit olan L-triptofandan triptofan hidroksilaz enzimi ile sentezlenmekte, etkilerini kendisine özgü serotonerjik reseptör (5-HTR) aileleriyle göstermektedir. Vücudumuzdaki temel serotonin sentezi gastrointestinal sistemdeki enterokromaffin hücrelerinde ve beyinde serotonerjik nöron gövdelerinin yoğun olduğu “*raphe nuclei*”de gerçekleşir. Trombositlerde % 8 oranında depolanmakta ve trombositlerden salıverilen derişimlerde lokal olarak vazokonstriktör etki göstermektedir (33). Serotonin ayrıca anksiyeteyi regüle eden, insanda mutluluk, canlılık ve zindelik hissi veren bir hormondur. Eksikliğinde depresif, yorgun, sıkılgan bir ruh hali görülmektedir (51).

Serotonerjik sinir uçlarında sentezlenen serotonin, ATP ve diğer substratlarla veziküllerde depolanır. Buradan sitoplazmaya sızan serotonin MAO enzimi tarafından 5-hidroksi indol asetik asite dönüştürülerek yıkılır. Sinaptik boşluğa salınan serotonin, presinaptik membranda yer alan Na⁺/Cl⁻ bağımlı bir taşıyıcı olan serotonin taşıyıcı proteini (5-HTT, SLC6A4, SERT) tarafından da hücre içine alınarak etkinliğine son verilir. Böylece serotoninin etkisi sınırlandırılmış olur ve nörotransmitter havuzuna geri emilimi sağlanır (Şekil 2.1). Serotonin taşıyıcı proteini presinaptik boşlukta homeostazisi sağlayan önemli bir proteindir (52). Serotonin Taşıyıcı protein serotoninin nöronlarda, beyin, dolaşım sistemi ve periferik organlarda kendine özgü reseptörlerine bağlanmasını regüle eden önemli bir proteindir. Serotonin taşıyıcı protein seviyesindeki değişiklikler serotonin reseptörü ve dolaylı olarak serotonin sentez ve metabolizmasında

değişimlere sebep olmaktadır (27). Serotonin taşıyıcı proteini SSRI sınıfında bulunan antidepresan tedavilerde önemli hedef proteinlerdendir. (53). Ancak Kronik SSRI kullanımının 5-HTT geninin aktivitesi ve ekspresyonunda kalıcı azalmaya yol açtığı da gösterilmiştir (54).

Tıbbi araştırmalar serotonin taşıyıcı protein metabolizmasındaki değişikliklerin alkolizm, depresyon, OKB, sosyal fobi gibi bozukluklarla ilişkili olduğunu göstermiştir (55).



Şekil 2. 1. Serotonin Sinapsı

- 1) Serotonin post-sinaptik reseptörlerine bağlanır,
- 2) Pre-sinaptik reseptörlere bağlanır
- 3) Serotonin serotonin taşıyıcı proteini tarafından pre-sinaptik nörona geri emilir (56).

2.1.5.2. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4)

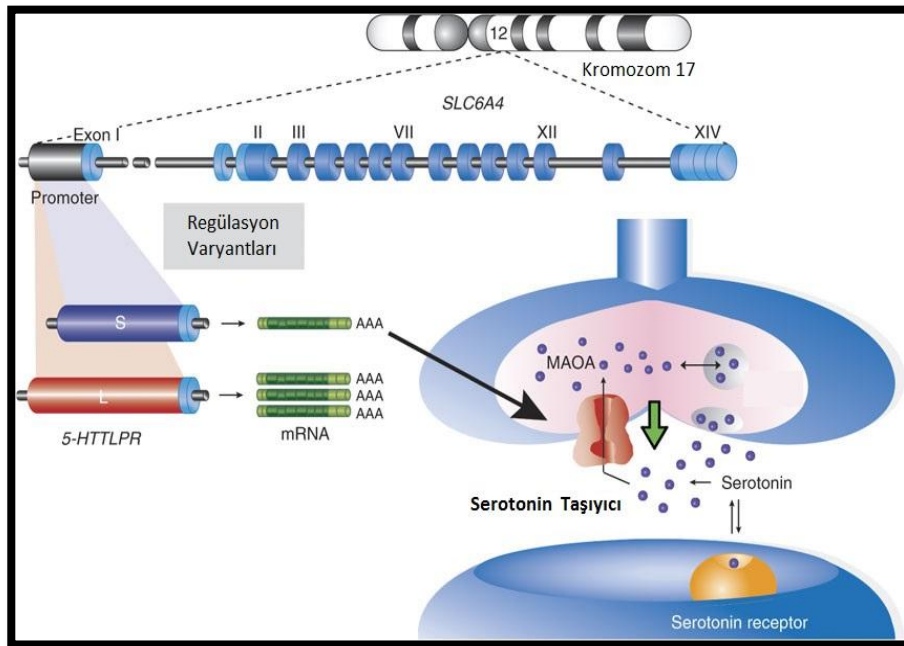
Obsesif Kompulsif Bozukluk için tanımlanan aday genlerden bir tanesi serotonin taşıyıcı proteinini kodlayan serotonin taşıyıcı genidir. Serotonin taşıyıcı geni (SLC6A4), Serotonin taşıyıcı proteinini kodlar. SLC6A4 geni 17q11.1-q12 bölgesine lokalize olmuştur. 31 kb uzunluğunda, 14 ekzondan oluşur ve 12 transmembran domaini olan 630 amino asitten oluşan bir proteini kodlamaktadır. Alternatif promotör bölgesi, farklı splicinge uğrayan 1A, B ve C ekzonları ve bununla beraber 30 untranslated (UTR) bölge çeşitliliği SLC6A4 gen ekspresyonunda farklılıklara sebebiyet vererek, farklı

mRNA ürünleri ve polimorfik bölge oluşumuna katkı sağlamaktadır (27). Bu genle ilişkili mutasyonlar serotonin taşıyıcı protein fonksiyonunda değişimlere neden olmuştur. Farelerde bu gende yapılan deneysel mutasyonlar sonucunda genetik varyasyonlara bağlı olarak 50 farklı polimorfik protein ürünü olduğu gözlemlenmiştir (57,58,59). SLC6A4 gen polimorfizmlerinin, serotonine ilgili davranışların düzenlenmesinde özellikle, anksiyete, depresyon, şizofreni, otizm, bipolar bozukluk ve mevsimsel affektif bozukluğunu içeren bazı psikiyatrik bozukluklarda etkili olabileceği bildirilmektedir (58, 60).

2.1.6. Serotonin Taşıyıcı Gen (SLC6A4) Polimorfizmleri

2.1.6.1. 5-HTTLPR İnsersiyon/Delesyon Polimorfizmi

Serotonin transporter (5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT, SERT) geni, serotoninin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) taşınmasındaki rolü nedeniyle psikiyatrik bozuklukların etyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir. Şimdiye kadar en iyi araştırılmış SLC6A4 gen varyantı, SLC6A4 transkripsiyonel kontrol 5' promotor başlangıç bölgesinde bulunan 5-HTTLPR bölgesi ve bu bölgede keşfedilen rs25531 ve rs25532 tek nükleotid polimorfizmleridir (57,58,59). 5-HTTLPR; SLC6A4 geni promotör transkripsiyonel kontrol 5' promoter bölgesinde 44 bp'lik bir dizinin farklı sayıda insersiyon/ delesyon tekrarına bağlı olarak S ve L alellerinin oluşturduğu polimorfizmdir (61).



Şekil 2. 2. Serotonin taşıyıcı proteini 5-HTTLPR promotör allelik varyasyonları

44bp'lik tekrar dizisi 16 defa tekrarlandığında Long (L) formu, 14 defa tekrarlandığında Short (S) formu olarak adlandırılan alelleri meydana gelmektedir. Bu polimorfizme göre genotipler; L/L, L/S ve S/S olarak değerlendirilmektedir. Bu polimorfizmin de ender görülen bazı alelleri tanımlanmıştır. Bu aleller LJ (17 defa tekrar), XL (18 defa tekrar), XXL (20 defa tekrar) olarak adlandırılmaktadır. Bu ender görülen alellere de bazen rastlanmayabilir. 5-HTT genindeki transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi, uzun (L, Long, 16 tekrar) veya kısa (S, Short, 14 tekrar) alellerden oluşur (Şekil 2.2) (62). L aleli, kısa S aleline göre 2 kat daha fazla etkin bir şekilde transkripsiyona uğrar bu da 5-HTT nin daha etkin geri alınımını sağlar (58, 61, 63). 5-HTTLPR'nin S alelini taşıyan bireyler, L aleli taşıyan bireylere göre sinaptik yarıktaki yüksek yoğunluklarda serotonin ile sonuçlanan önemli ölçüde az 5-HTT mRNA ve protein üretirler. Böylece S aleline sahip bireylerde, 5-HT gerilim aktivitesinin L aleline sahip bireylere göre iki kat daha düşük olması ve gende transkripsiyonel aktivitenin azalmasıyla; nöronda, 5-HTT ekspresyonunu azalacağı ve bunun sonunda da psikiyatrik bozuklukların ortaya çıkabileceği ileri sürülmektedir (58, 64).

McDougle ve ark. (65) ile *Bengel ve ark.* (52) 5-HTTLPR'nin S alleli ile OKB arasında anlamlı ilişki belirlemişlerdir. *Meira-Lima ve ark.* (49) ise OKB grubunda 5HTTLPR'nin L allelinin yüksek miktarda bulunduğunu bildirmişler, ancak homojen LL genotipi sıklığı açısından hastalar ve kontroller arasında fark saptamamışlardır.

Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada 5-HTTLPR bölgesinin L alelinde bulunan A/G değişiminde (rs25531); LG'nin düşük ekspresyona sebep olan S aleli gibi davrandığını ve sadece LA alelinin yüksek düzey ekspresyona sebep olan varyant olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu fonksiyonel verileri kullanarak yapılan çalışmada LA aleli ve LALA genotipinde olanlar ile OKB arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır (57).

Beyin görüntüleme araştırmaları da 5-HTTLPR polimorfizmi ile OKB arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Volumetrik beyin görüntüleme çalışmaları S-alleli taşıyan bireylerde limbik sistemde azalmış gri madde hacmi ve bozulmuş amigdala-singulat olduğunu göstermektedir (93).

5-HTT genindeki transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi (5-HTTLPR) farklı popülasyonlarda sağlıklı bireylerde çalışılmış olup elde edilen gen frekansları Tablo 2.1'de gösterilmiştir. Bu tabloya göre, 5-HTTLPR

polimorfizmi farklı coğrafi bölgeler ve popülasyonlarda genotipler ve allel frekansları açısından farklılıklar gösterebilmektedir.

Tablo 2. 1. 5-HTTLPR LL, LS ve SS genotipleri ile L ve S allellerinin farklı popülasyonlardaki frekansları (66)

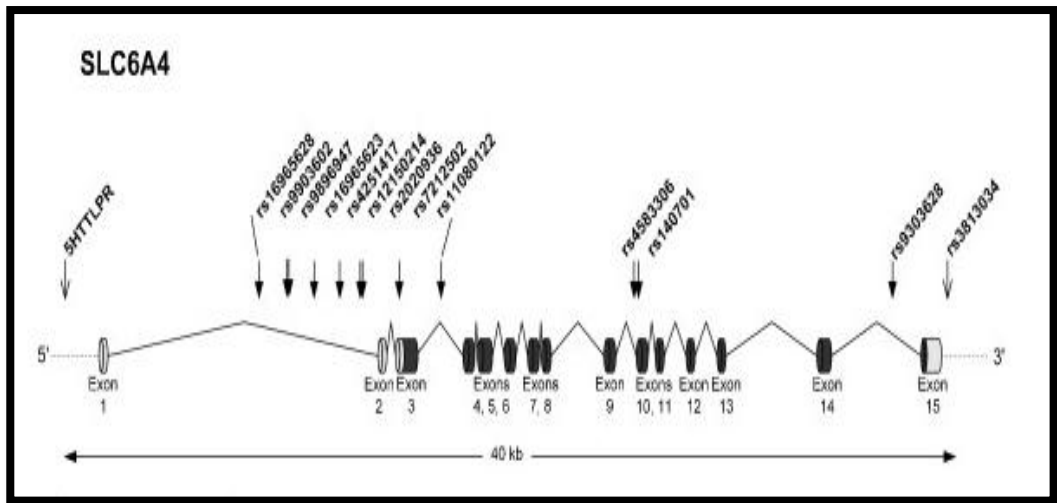
Toplum	Genotipler, n (%)			Allel Frekansları, n (%)	
	LL	LS	SS	L	S
Rusya	156(31.3)	243(48.8)	99 (19.9)	555(55.7)	441(44.3)
Rus Tatarları	106(27.9)	170(44.7)	104(27.4)	382(50.3)	378 (49.7)
Almanya	85(37.3)	102(44.7)	41(18.0)	272(59.6)	184(40.4)
Avusturya	51(34.9)	65(44.5)	30(20.6)	167(57.2)	125(42.8)
İngiltere	648(33.4)	944(48.7)	348(17.9)	2240(57.7)	1640(42.3)
Macaristan	53(35.1)	69(45.7)	29(19.2)	175(58.0)	127(42.0)
İspanya	29(34.9)	37(44.6)	17(20.5)	95(57.2)	71(42.8)
İtalya	21(14.0)	86(57.3)	43(28.7)	128(42.7)	172(57.3)
Çin	13(13.0)	32(31.0)	58(56.0)	58(28.0)	148(72.0)
Kore	12(4.8)	103(40.9)	137(54.4)	127(25.1)	377(74.9)
Japon	4(4.0)	31(30.7)	66(65.3)	39(19.3)	163(80.7)

Erdal E. ve ark. (91) yaptığı bir çalışmada Türk popülasyonunda L alelinin gen frekansı %49 ve S alelinin gen frekansı %50 olarak hesaplanmıştır. Türk toplumunun, SERT geninin 5-HTTLPR polimorfizmi bakımından Tablo 2.1 (66) 'de gösterildiği gibi Rusya Tatarları ile yapılan çalışma sonuçlarına uyum gösterdiği saptanmıştır (91).

Sonuç olarak; farklı 5-HTT gen polimorfizmine sahip bireylerde ve popülasyonlarda biyolojik aktiviteleri farklı 5-HTT proteini oluşmaktadır. Bu proteinlerin özellikle serotonerjik reaksiyonlarda önemli rol almaları nedeniyle; serotonerjik sistem disfonksiyonundan kaynaklanan birçok hastalığın etiyolojisinin anlaşılmasında, tanısında ve tedavisinde bu polimorfizmlerin önemi giderek daha da artacağını düşünmekteyiz.

2.1.6.2. SLC6A4 Serotonin Taşıyıcı Gen (rs16965628) Polimorfizmi

Wendland ve ark. SLC6A4 geni ve genin transkripsiyonle kontrol bölgesi 5-HTTLPR promotor bölgesi, ve geni çevreleyen 100 kb.'lık bölgede bulunan fonksiyonel polimorfik bölgeleri taramışlar, özellikle ilk intron içinde yer alan 2 yeni SNP bölgesinin (rs2020933 ve rs16965628) haplotip analizi aracılığıyla OKB ile anlamlı ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir (59). Yine bu çalışmada 5-HTTLPR L alleli ile rs16965628 C alleli birlikteliğinin OKB grubunda anlamlı derecede yüksek olduğunu ve OR değerinin 1.63 (OR=1.63) bulunduğunu bildirmişlerdir (59). *Lindhorm Carlström E. ve ark.* (67) tarafından yapılan bir çalışmada ise SLC6A4 geni içinde bulunan ve rs16965628' inde içinde bulunduğu 7 farklı SNP genotipleme ile intihar eğilimli şizofrenik bozukluk ilişkisini araştırmışlardır. 7 farklı polimorfik bölgeden sadece rs16965628 düşük C alleli ile intihar eğilimli şizofreni olguları arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişlerdir. rs16965628 düşük C allelini taşıyan şizofrenik hastaların, SLC6A4 genini daha fazla transkripsiyona uğratarak serotonin taşıyıcı proteininde artışa sebebiyet verdiği düşünülmüştür (67). rs16965628 düşük C allelinin serotonerjik sistemde yaptığı değişimler OKB etyolojisi için aday olabilecek polimorfik bölgelerden olacağı düşünülmektedir. Bunu destekleyen bir beyin görüntüleme çalışmasında ise rs16965628 G alleli ile 5-HTTLPR S alleli birlikteliğinde beyinde ventrolateral prefrontal korteks işlevlerinde farklılıklar olduğu ve bu farklılıkların OKB ve diğer psikiyatrik hastalıklara yatkınlık oluşturabileceği hipotezi ileri sürülmüştür (99). SLC6A4 geninde ekzon/intron yapısı ve SNP leri Şekil 2.3'de gösterilmiştir(91).



Şekil 2. 3. SLC6A4 geninde ekzon/intron yapısı ve SNP leri (91).

2.1.7. COMT Enzimi

Katekol-O-Metil Transferaz, katekolamin nörotransmitterlerin (dopamin, epinefrin, norepinefrin) inaktivasyonunda rol alır. Enzim dopamin gibi katekolaminleri ve katekolamin içeren ilaçları metil konjugasyon yoluyla inaktifleştirir (Şekil 2-3).

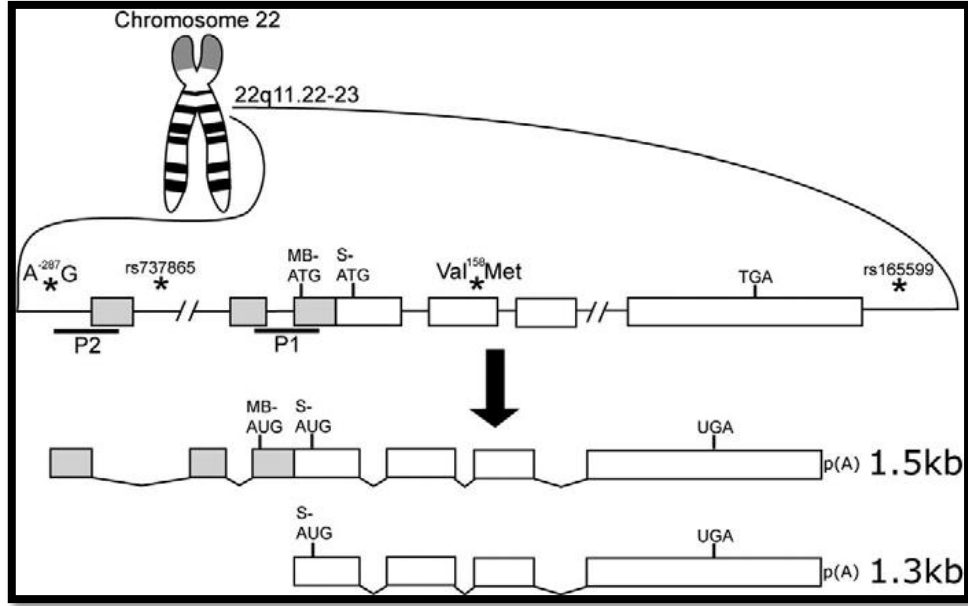
COMT enzimi çeşitli memeli dokularında endometriyum ve eritrositlerde önemli miktarlarda, karaciğer ve böbreklerde ise yüksek miktarlarda yer alır. Bu enzim, çoğu dokularda çözülmüş sitoplazmik (S-COMT) ve özellikle beyinde membrana bağlı (M-COMT) isoformları halinde bulunur (69). İnsan dokularında fazla ekspresyona uğramasına rağmen, COMT dopaminin inaktifleştirilmesinde dopamin taşıyıcı reseptöre göre daha az rol alır. Ancak dopamin taşıyıcı proteinin az eksprese olduğu prefrontal kortekste COMT'un daha önemli rol oynadığı kanıtlanmıştır. COMT prefrontal kortekste prefrontal dopamin düzeylerini, sinyalizasyonunu ve nörotransmisyonunu etkileyen önemli bir enzimdir (70).

2.1.8. COMT Geni

COMT geni için yapısal organizasyon Elizabeth M. ve arkadaşları. (2006) tarafından açıklanmıştır. S-COMT ve MB-COMT' u kodlayan tek bir COMT geni mevcuttur. COMT geni kromozom 22 q11.2 yerleşimlidir (71). COMT geni 6 ekzondan oluşmaktadır. COMT geni translasyonu ekzon 3 deki 2 farklı promotörden regüle edilmektedir (72).

Distal P2 promotörü insanda 1.3-kb ve 1.5 kb'lık farklı mRNA türleri sentezlenmesini regüle eder. Bu mRNA, hem MB-COMT ve hemde S-COMT proteinlerini sentezler (68, 72).

S-COMT'un translasyonunu sağlayan 1.3 kb'lık kısa transkriptin ekspresyonu proksimal P1 promotörü tarafından regüle edilir. P1 promotörü, MB-COMT başlangıç kodonunun 200 kb yukarısında yer alır . Distal P2 promotörü ise 1.5 kb'lık transkriptin başlangıç kodonuna kadar uzanır (Şekil 2.4) (72).



Şekil 2. 4. COMT geni ve Transkriptleri

İnsan dokularında iki transkriptte bulunur, ancak insan beyinde uzun transkript daha çok görülmektedir (72). İnsan beyinde %70 oranında MB-COMT polipeptidi bulunmaktadır. (71). MB-COMT merkezi sinir sisteminde korteks, serebellum, amigdala, putamen talamus, spinal kord ve hipokampüste nöronal dendritik proseslerde yaygın olarak yer alır (72, 73).

COMT enzim aktivitesi düzeyi insan dokularında 3 farklı şekilde polimorfik yapı gösterir; düşük ($COMT^{LL}$), orta ($COMT^{LH}$), and yüksek ($COMT^{HH}$) aktiviteli COMT enzim aktivitesi (74). Aile segregasyon analizlerine dayanarak gösterilen bu polimorfizm otozomal kodominant aleller sebebiyle oluşmaktadır. Bu aleller insan beyin, eritrosit ve karaciğerinde 3-4 kat birbirinden farklı enzim aktivitesi bulunan COMT oluşumuna neden olur (74, 75).

COMT polimorfizmleri ile psikiyatrik klinik belirti veren hastalıklar arasında araştırmalar yapılmaktadır. Düşük aktiviteli COMT aleli ile OKB arasındaki ilişki *Karayorgi ve ark.* (47) tarafından çalışılmıştır. COMT genindeki keşfedilen fonksiyonel bir polimorfizmin COMT enzim aktivitesinde değişime sebep olduğu gösterilmiştir. COMT Val158Met polimorfizmi OKB hasta gruplarında en çok çalışılan polimorfizmlerden biridir. *Karayorgou ve ark.* (47) erkek OKB olguları COMT geni Val158Met polimorfizmi arasında pozitif ilişki belirlemişlerdir. Val158Met polimorfizmi beyinde ve lenfositlerde COMT enzimatik aktivitesinde %40'luk belirgin

bir düşüğe neden olduğu sonucuna varmışlardır. Bunun sonucunda prefrontal hücre dışı dopamin oranları arttığı bulunmuştur (76, 77). Bunun gibi bir çok çalışmada da pozitif ilişki saptanmıştır (48, 78).

COMT polimorfizmlerinde populasyonlar arası farklılıklar da söz konusudur. Düşük aktiviteli COMT aleli Kenya'da Kafkasya ve Güney Asya populasyonuna göre frekansı daha düşüktür (79). Ancak siyah Amerikalılar beyaz Amerikalılardan daha yüksek aktiviteli COMT alel frekansına sahiptir (79, 80).

Liu S. ve ark. (50) yaptığı bir çalışmada COMT geninin farklı varyantlarının çeşitli populasyonlarda çalışılarak, bu genin OKB ile ilişkisinin daha iyi tanımlanabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada COMT geni promotöründe bulunan -287A/G (rs2097063) polimorfizmi ile OKB arasında bulunan ilişkiyi Çin toplumunda araştırmışlar ve GG genotipi ile OKB arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.

2.1.8.1. COMT Geni P2 Promotor Polimorfizmi

Son yıllarda yapılan araştırmalar ile COMT geninde bulunan iki farklı varyantın daha COMT enzimi üzerinde işlevsel etkileri gösterilmiştir. Beyinde MB-COMT transkripsiyonunu regüle eden P2 promotör bölgesinde yer alan rs2097603 polimorfizmi (76), ikincisi şizofreni ile ilişkilendirilen 3' UTR (çevrilmeyen bölgede) yer alan rs165599 (97) bölgeleridir. COMT P2 promotör bölgesi (-287 A/G) polimorfizmleri; COMT enzim düzeylerine etki ettiğinden psikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (80). P2 promotöründe yer alan polimorfizmin (-278A/G) az da olsa enzim aktivitesine etki ederek, beyin dopamin seviyelerini değiştirdiği öne sürülmüştür (76). P2 promotöründeki genetik polimorfizmlerin transkripsiyonu artırma veya azaltmaya sebebiyet vererek dolaylı yoldan beyin COMT protein seviyelerini değiştireceği ve transkripsiyonunu baskıya uğratan varyantların psikiyatrik hastalıklara zemin hazırlayacağı öne sürülmüştür (88). *Funke ve ark.*(88) yaptığı çalışmada COMT geni P2 promotör (rs2097063) polimorfizmi A alleli ile majör depresyon ve şizofrenik olgular arasında anlamlı ilişki tespit etmişlerdir ($p = 0.004$; OR = 1.34). Bu çalışmayı destekler bulgular *Palmatier ve ark.* (106) ile *Shifman ve ark.* (107) tarafından şizofreni olgularından yaptıkları araştırma ile ortaya konulmuştur. Obsesif kompulsif bozukluk ile COMT P2 promotör polimorfizmi ilişkisine ait fazla veri bulunmamaktadır. Çin toplumunda yapılmış bir çalışmada COMT -287 (A/G) polimorfizminin hasta ve kontrol

grubu arasında anlamlı bir fark bulunmasa da; GG genotip sıklığının AA ve AG genotip sıklığına göre (OR=3.43; 95% CI=1.78–6.62) 3.43 kat OKB için risk oluşturduğunu saptamışlardır. Bu tez çalışmasında COMT -287A/G polimorfizmi OKB ve kontrol grupları arasında Türk toplumunda ilk kez araştırılmıştır. Bulgularımıza göre OKB ve kontrol grubu arasında genotipler açısından anlamlı fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). Söz konusu gen polimorfizmi farklı populasyonlarda farklılıklar gösterebilmektedir. OKB ile ilişkili polimorfizmlerde allelerin tek başına hastalığa yatkınlık oluşturmasından ziyade farklı allelerin bir arada hastalık etkeni oluşturmak için güçlü bir etken oluşturması söz konusu da olabilmektedir.

2.2. MOLEKÜLER TEKNİKLER

2.2.1. DNA İzolasyonu

Genomik DNA'lar, kan örneklerinden High Pure Purification Kit (ROCHE) kullanarak izole edilmiştir. Bu metot yüksek katotropik tuz konsantrasyonunda nükleik asitlerin yüksek saflıktaki spin kolon içindeki matrikse seçici adsorbiyonu esasına dayanır. Spin kolonlar belirli solüsyonlar ile yine DNA harici maddelerin tamamen uzaklaşması için “yıkama” denilen işleme tabi tutulurlar Optimize edilen tampon çözeltiler ile hücre proteinleri ve metabolitler matrikse tutunamadığı için uzaklaşırken sadece nükleik asidin matrikse özgün bağlanmasını sağlar. Yine yıkama ve santrifüj basamakları DNA harici maddelerin uzaklaşmasını sağlar. Son aşamada ise DNA ile matriksi birbirinden elimine eden solüsyonların kullanıldığı “Elüsyon” aşaması vardır ve bu aşama ile birlikte DNA son halini almaktadır. Basit bir yöntem olup, organik ekstraksiyon gerektirmez (81).

2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Hücreden kaynaklanmış bir yöntem olarak polimeraz zincir reaksiyonu, DNA klonlanmasını kolaylaştırarak, *in vitro* koşullarında DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PCR; basit, spesifik ve hassas bir tekniktir (82) Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin 2 ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı, bir çift sentetik oligonükleotit (18–20 baz uzunluğunda) kullanılarak, bu primerler ile sağdan ve soldan sınırlandırılan bölgenin DNA primelerine bağlanarak bunlara 3' ucundan nükleotidleri ekleyerek sentez yapacak olan ısıya dayanıklı DNA polimeraz, sentezde kullanılacak olan deoksिनükleotidtrifosfatlar (dNTP 'ler; A, G,C,T),

polimerazın çalışması için uygun PH ve iyon koşullarını (Mg⁺²) sağlayan tampon karışımı ile enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır.

PCR tekniği, temelde üç aşamadan oluşmaktadır.

DNA Zincirinin Açılması (Denaturation):

Kalıp DNA 92-95 °C’de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapıdaki DNA iplikçikleri denatürasyona uğrayarak birbirlerinden ayrılmaktadır. DNA denatürasyon sonrası tek zincirli hale gelmektedir. DNA zincirini ayırmak için, bazı durumlarda 5-10 dakika ön ısıtma yapmak gerekebilir (83)

Primerlerin Açılan DNA Zincirlerine Yapışması (Annealing):

Reaksiyon sıcaklığının, 37-65 °C’ye düşürülerek oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen hedef bölgeye yapışması işlemidir. 18–25 nükleotid uzunluğunda olan yapay oligonükleotidlerden oluşan bu primerler; çoğaltılacak DNA’ nın sınırlandırılması için başlangıç noktası ve bitiş noktası olarak görev yaparlar. Bu işlem, üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleşmektedir (84). 18–25 baz uzunluğundaki primerlerin baz dizilimi ve kompozisyonu rastgele olmamalı, %45–55 oranında G/C’ den oluşmalıdır. Uygun bir primer çifti için, iki primer arasındaki kompozisyonu 100–600 bç kadar olmalıdır. Aynı zamanda primerlerler birbirlerinin tamamlayıcısı olmamalıdır. Primerlerin DNA bağlanma sıcaklığı kabaca T_m (erime sıcaklığı); $4(GC) + 2(AT)$ formülü ile hesaplanır(85).

Primer Uzaması (Primer Extension):

DNA’da çoğaltılması istenen bölgeye primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) vasıtasıyla uzatılması işlemidir.. Taq DNA polymerase 72 °C sıcaklıkta daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır (86). PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır. Üç basamaktan (denaturation, annealing, primer extension) oluşan işlem, bir PCR devrini temsil eder. Bu işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır. Her döngüde hedef DNA kopya sayısı yaklaşık olarak iki katına çıkar. Böylece 25-40 döngü sonunda polimeraz zincir reaksiyonu milyarlarca kat (236) ürün verir. Bu teknikle; bir DNA hedefini 10^6 - 10^{12} logaritmik çoğaltmak

mümkündür (85). PCR sonucunda elde edilen DNA parçacıkları agaroz jelde yürütüldükten sonra, ethidium bromide (EtBr) ile boyanarak gözlemlenir (82).

Bu yöntemle; klonlama, dizi analizi, klinik tanı ve genetik taramalar gibi diğer işlemlerde kullanılmak üzere bol miktarda hedef DNA fragmantleri elde edilir (85).

2.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Saflaştırılmış nükleik asitlerin molekül ağırlığı miktarı ve alt tiplerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılan moleküler bir inceleme yöntemidir. Yöntemin avantajı; basit ve hızlı olmasının yanında diğer yöntemlerle yeterli düzeyde ayrılamayan nükleik asit parçacıklarının ayrılmasını sağlamasıdır. Elektroforetik analiz elektriksel bir alanda, ortamda çözünmüş moleküllerin elektrik yüklerine göre göç etmeleri prensibine dayanır. Elektroliz için gerekli güç jelin iki ucunda bulunan elektrodalara uygulanan voltajdır. Bu göç hızı molekülün büyüklüğüne, yapısına, ortamın yoğunluğuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir. Agaroz jel elektrofrezinde DNA'nın negatif yüklü fosfat grupları anoddan katoda doğru göç ederler. DNA'nın elektroforetik mobilitesi ortamdaki tampon çözeltilerin iyonik gücüne bağlıdır. DNA elektrofrezinde Tris-asetat (TAE) , EDTA, Trisborat (TBE) veya Trisfosfat gibi tampon çözeltiler kullanılır. Kullanılan molekülün jel üzerindeki yerini belirlemek için ortamda UV ışığı altında floresan etki gösteren etidyum bromürün (EB) veya benzeri bir ışığıcı maddenin bulunması gerekmektedir(86).

2.2.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time PCR)

DNA zincirinin önceden belirlenen hedef bölgesini çoğaltmak için kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) moleküler alanda yüksek teknoloji taşıyan bir yöntemdir. Son yıllarda PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların (thermocycler) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi Real-Time PCR olarak adlandırılan yeni bir yöntemin geliştirilmesine neden olmuştur. Real-Time PCR başlangıç miktarına göre oluşan son PCR ürünün miktarının özgün, hassas ve diğer metotlara göre daha kolay tespit edilmesini sağlar. Nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalin ölçülmesiyle kısa sürede, kalitatif ve kantitatif sonuç verebilen bir yöntemdir. PCR ürünü artarken aynı zamanda sinyal artışı meydana gelir. Her bir PCR döngüsündeki floresans ışımının kaydedilmesi ile başlangıçtan itibaren üstel fazda ürün artışına hangi noktada ulaşıldığı, eş zamanlı izlenebilir (87).

Floresans sinyal ölçümü DNA çift zincirine bağlanan boyalar (etidyum bromid, SYBR Green I) ve hibridizasyon problemleri Resonans Enerji Transferi (FRET) ile gerçekleştirilir. Hibridizasyon problemleri, iki farklı floresans boya ile boyanmış diziye özgü oligonükleotidlerdir. Floresans boyalar, problemlerin 3',5' uçlarına veya iç bölgelerine eklenir. Hibridizasyon probu hedef DNA'yı baştan sona hibridize edebilecek bir çift oligonükleotid Hibridizasyon problemleri, iki farklı floresans boya ile boyanmış diziye özgü oligonükleotidlerdir. Floresans boyalar, problemlerin 3',5' uçlarına veya iç bölgelerine eklenir. Oligonükleotidlerden biri 3' ucundan fluorescein (3-FL) ile diğeri de 5' ucundan LightCycler Red 640 (LC 640) veya LC (5LC) ile işaretlenmiştir ve serbest olan 3'-hidroksi ucu genelde polimeraz etkisiyle oluşacak uzamayı önlemek için bir fosfatla bloke edilmiştir. Problemler bölgeye özgü tasarlandığında ve iki prob arasında 1-5 nükleotidlik mesafe olduğunda bir enerji transferi oluşur, bunun bir avantajı olarak da non-spesifik ışımalar gözlenmez (88). Problemlerin sahip olduğu floresans boyanın uyarılması ve enerjisini diğer floresansa aktarılmasına FRET denir (81).

Real- Time PCR yöntemi, PCR ve RFLP yöntemlerine göre, genotiplerin kolay ve doğru analiz edilmesi, çabuk sonuç elde edilmesi gibi avantajları mevcuttur. Yöntem hızlı ve duyarlı olması nedeni ile klinik kullanım ve geniş çaplı araştırmalar için uygun

görülmektedir. Klinik uygulamaları giderek artan Real-Time PCR sistemleri, hastalıkların tanısında ve nokta mutasyonlarının belirlenmesinde sağladığı üstünlükler nedeniyle tercih edilmektedir.

2.2.5. LightCycler Floresan PCR Yöntemi ile Polimorfizm Analizi

Polimorfizm analizi yapmaya olanak sağlayan bu yöntemde floresan işaretli iki prob kullanılmıştır. Problemlerden bir tanesi, polimorfizm içeren bölgeye spesifik dizayn edilirken, diğeri hemen bunun 1 baz çifti uzaklığında yerleştirilmiştir. Bu yöntemde genotipler "erime eğrisi analizi" ("melting curve analysis") ile ayırt edilmektedir. Bunun için, PCR'da DNA amplifikasyonun tamamlanmasından sonra, sıcaklık çok yavaş bir şekilde yükseltilerek her bir örnek için erime eğrisi oluşturulmuştur. Eğer bir polimorfizm mevcut ise; polimorfizm probu ile hedef DNA arasındaki uyumsuzluk hibridin stabilizasyonunu bozar. Yabancı tip genotipte ise uyumsuzluk oluşmaz ve hedef DNA ile bire bir olarak örtüşen hibrit daha yüksek erime eğrisine sahip olur. Varyant genotiplerde ise; hedef DNA ile hibrit bire bir örtüşmediğinden bazlar arasında oluşan bağlar daha gevşek olur ve bunun sonucu olarak düşük erime ısısına sahip olur. Erime

eğrisi analizi sonucu elde edilen pikler; homozigot (yabanıl tip veya mutant) genotip ile heterozigot genotip arasındaki farkın ayırt edilmesini sağlamaktadırlar (81).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu Seçimi

Bu çalışmaya Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniklerine başvuran DSM-IV tanı ölçütlerine göre tanısı konmuş, yaş ortalaması 34.6 ± 11 olan 48 kadın, 32 erkek olmak üzere toplam 80 hasta ve yaş ortalaması $37 \pm 9,8$ olan 61 kadın, 39 erkek olmak üzere toplam 100 sağlıklı yetişkin birey dahil edildi. OKB grubunu oluşturan olgular özel muayene ve ayaktan gelen hastalar arasından seçilmiş olup iki psikiyatrist tarafından değerlendirildi. Kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile uyumlu, herhangi bir sağlık problemi olmayan, geçmişinde herhangi bir psikiyatrik veya psikolojik bozukluk tanısı almamış 100 gönüllü dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubundan çalışmaya katılmayı gönüllü olarak kabul ettiğine dair bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır. Hasta grubuna hastalığın şiddetini tespit etmek için uzman psikiyatrist tarafından Yale-Brown Obsesyon Kompulsiyon Ölçeği uygulanmıştır. Dışlama kriteri olarak; nörolojik sekel bırakan kronik bir hastalığının olması, mental retardasyon, madde ve alkol kötüye kullanımı ve yetişkin olmaması kabul edilmiştir.

3.2. Örneklerin Toplanması Ve Hazırlanması

Hasta ve kontrollere araştırma hakkında sözel bilgi verildikten sonra, bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Hasta ve kontrol grubu bireylerinin sosyodemografik verileri bilgi formuna eklendi. Hasta ve kontollerden antikoagülanlı EDTA'lı tüplere 5 ml. periferik kan örnekleri toplandı. DNA örnekleri periferik kandan ROCHE High Pure Template Preparation Kit kullanılarak izole edildi. İzole edilen DNA'lar çalışma tamamlanan kadar -20 derecede muhafaza edildi. Tüm örneklerin toplanması tamamlandıktan sonra genotipleme analizleri yapıldı.

Kullanılan Kimyasal Maddeler

LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe, 96rxn (ROCHE)

PCR Master Mix (2X), 200rxn (Thermo Scientific)

20 nükleotidlik Primer çifti, 21mer, 100nmol (IDT)

İso Propanol

Agaroz (PRONA)

Ethidium Bromide

MgCl₂ (Sigma)

Proteinaz K(Sigma)

Loading Buffer (Bromofenol blue (Sigma))

TBE (0,5 x) (Tris Borat EDTA)

50 bp DNA Ladder (Fermentas)

Damıtık Su

Deneyde Kullanılan Cihazlar

Termocycler cihazı: ABİ GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems,

Real Time LightCycler cihazı: Roche Light Cycler 1.5

Santrifüj cihazı; Universal 30F Hettich

Su Banyosu: Kotterman

Vortex: Velp

Buzdolabı: BOSCH

Derin dondurucu: BOSCH

Etüv: Memmert

Eppenorf tüpleri: ısıya dayanıklı malzemedden yapılmış, 0,5 ml, 1 ml ve 1,5 ml hacim kapasiteli.

Pipet ucu: 10 µL, 100 µL, 200 µL, 1000 µL DNA, RNA free, steril filtreli pipet uçları

Mikropipet: Costar, Pipetman

Elektroforez cihazı (Thermo Scientific)

Distile su cihazı (Millipore)

Çeker ocak

Etüv (Memmert)

Hassas terazi (Chyo)

Jel Görüntüleme Cihazı (Syngene Bioimaging)

3.3. 3.1. Genotip Analizi

3.3.1. Örneklerden DNA İzolasyonu

Örneklerden DNA izolasyonu yüksek katotropik tuz konsantrasyonunda nükleik asitlerin yüksek saflıktaki spin kolon içindeki matrikse seçici adsorbiyonu esasına dayanan High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostic, GmbH, Mannheim, Almanya) ile aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

- DNA örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- Etüv 70° C'ye ayarlandı.
- Kit protokolü talimatlara uyularak izolasyona başlandı.
- Her örnekten 200 µl. kan pipetlenerek kodlanmış 1.5 ml.lik ependorf tüplere aktarıldı.
- Üzerine 200 µl. bağlanma tamponu ve 40 µl. Proteinaz K eklenerek karışım vortekslendi (Proteinaz K , nükleik asit saflaştırma sırasında, DNaz ve Rnaz inaktivasyonu için kullanılır).
- Vortekslenen karışım 70°C'ye ayarlanmış etüvde 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübe olmuş örneklere 100 µl. isopropanol eklendi ve karışım 20 sn. kadar vortekslendi (Bu örnek proteinleri denatüre etmek için kullanılır).
- Karışım mikropipetle 700 µl. kadar çekilerek High Pure filtreli tüplere aktarıldı.
- Karışım 8000 g (9000 rpm) de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Alt toplama tüpleri atılarak, yeni toplama tüplerine aktarıldı.
- Üzerine 500µl. inhibisyon tamponu eklendi.
- Karışım 8000g (9000 rpm) de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Yeni toplama tüplerine aktarıldı.
- Üzerine 500µl. yıkama tamponu eklenerek, karışım 8000g (9000 rpm) de 1 dakika boyunca santrifüjlendi.
- Alt toplama tüpü atılır ve yeni toplama tüpü eklendi.

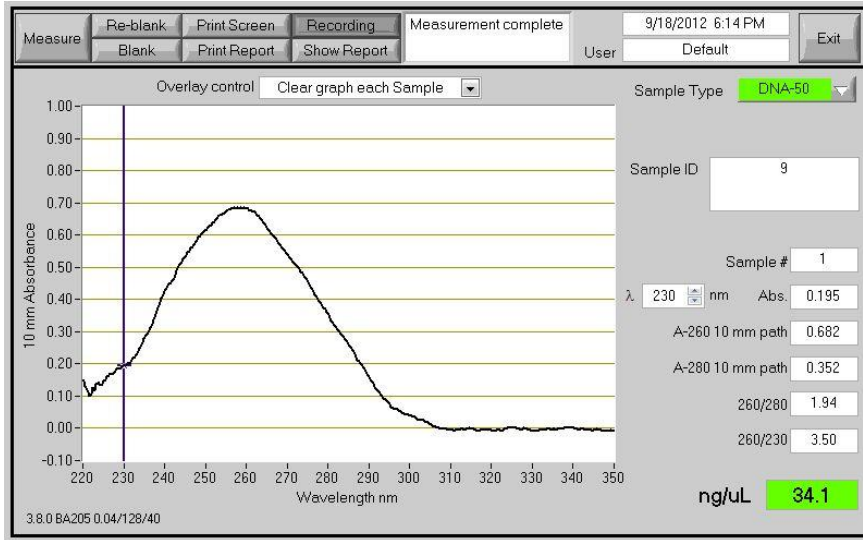
- Üzerine tekrar 500µl. yıkama tamponu eklendi.
- Bu esnada elüsyon tamponu 70°C de inkübe edildi.
- Karışım 8000g (9000 rpm) de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- 13000 g'de 10 saniye daha santrifüj edildi.
- Alt toplama tüpleri atıldı.
- Filtreli tüpler kodlanmış 1,5 ml.lik eppendorf tüplerin üzerine yerleştirildi.
- Filtreli tüplere 200µl. elüsyon tamponu eklendi.
- Karışım 8000g (9000 rpm) de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Üst filtreli tüp atıldı.
- Eppendorf tüplerin kapağı kapatılarak +4° C de 1 gece bekletildikten sonra ertesi gün -20 °C ye alındı.

3.3.2. İzole Edilen DNA Miktarının Ölçümü ve Safılık Tayini

İzole edilen DNA'nın miktarı Nanodrop marka ND 2000 model spektrofotometre ile optik dansite değeri ölçülerek hesaplandı. Optik dansite (1 OD), 1 µl DNA çözeltisinin 260 nm'de absorbe ettiği ışık miktarı ölçülerek hesaplandı. Dalga boyu DNA için 260 nm'dir. Proteinler için 280 nm'dir. 260/280 oranı izole edilen DNA'nın saflığı hakkında bilgi vermektedir. DNA'nın temizliği için A (260 /280) ve A (260 /230) değerlerine bakılmaktadır. Çünkü DNA 260, protein 280 ve fenol ve diğer ürünler 230 nm dalga boylarında pik (en yüksek değer) yapmaktadır. Temiz bir DNA' da A (260 /280) oranı 1.80 ile 2.00 arasında; A (260 /230) oranı ise 2.00 den büyük olmalıdır. 1.8'in altında elde edilen A (260 /280) değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen A (260/280) değeri de RNA kontaminasyonunu işaret etmektedir. PCR yönteminde ne kadar saf ve yüksek molekül ağırlıklı DNA izole edilebilirse bantların belirginliği ve üretilebilirliği o derece artmaktadır. Çalıştığımız hasta grubunun izole DNA miktarının ölçümü ve tayini Nanodrop sonuçları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 1. İzole DNA Miktarının Ölçümü ve Saflık Tayini Temsili Sonuçları (H1-H4) (NanoDrop 2000)

Sample ID	User name	Date and Time	Nucleic Acid Conc.	Unit	A260	A280	260/280	260/230	Sample Type
H1	nokutan	30.03.2013 15:20	6,4	ng/μl	0,128	0,053	2,39	1,96	DNA
H2	nokutan	31.03.2013 15:20	29,4	ng/μl	0,589	0,321	1,84	1,16	DNA
H3	nokutan	01.04.2013 15:20	12,5	ng/μl	0,25	0,112	2,22	1,62	DNA
H4	nokutan	02.04.2013 15:20	5,8	ng/μl	0,117	0,051	2,3	2,13	DNA



Şekil 3. 1. Örneklerdeki DNA'nın 260 nm dalga boyunda oluşturduğu pik

3.3.3. 5-HTTLPR İnsersiyon/Delesyon Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

3.3.3.1. Örneklerin PCR ile Çoğaltılması

5-HTTLPR İnsersiyon/Delesyon Polimorfizminin analizi *Kaiser ve ark. (89)* uyguladığı metod kullanılarak yapıldı. PCR işlemi için 2x PCR Master Mix Kiti (Thermo Scientific) kullanıldı.

SLC6A4 Genindeki 5-HTTLPR İnsersiyon/Delesyon Polimorfizmini belirlemek için aşağıdaki protokol uygulanmıştır.

- DNA örnekleri oda sıcaklığına getirildi.
- PCR tüpleri kodlanarak buz aküsünün üzerinde muhafaza edildi.
- Primerler liyofilize haldeyken, 100 μl ddH₂O ile sulandırıldı.
- Her örnek için hazırlanan karışımın içeriği ve konsantrasyonları şu şekildedir:

Bileşenler	Konsantrasyon	Hacim
PCR Master Mix (Fermantas, Kanada)		12,5 µL
Primer (Forward) (IONTEK, Türkiye) (5'-GGC GTT GCC GCT CTG AAT GC-3')	1 µM	1 µl
Primer (Reverse) (IONTEK, Türkiye) 5'-GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC AC-3	1 µM	1 µl
Damıtık Su		8,5 µl
DNA	15-30 ng/ µl	2 µl
Toplam		25 µL

- Tüpler PCR Thermal Cycler cihazına yerleştirildi.

Thermal Cycler cihazında PCR koşulları aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

94°C	2 Dakika	1 döngü (ilk denatürasyon)	} 35 Döngü
95°C	30 Saniye	1 döngü (ikinci denatürasyon)	
62°C	30 Saniye	35 döngü (bağlanma)	
72°C	1 Dakika	1 döngü (ilk sentez)	
72°C	7 Dakika	1 döngü (son sentez)	

- PCR sonuçları %2lik jel elektroforezi ile görüntülendi.

3.3.3.2. Agaroz Jel Elektroforezi

3.3.3.3. Agaroz Jel Elektroforez Çözeltileri

%2'lik agaroz:

2 gr. Agaroz

5 µl EtBr

100 ml 0.5xTEB

10x Tris EDTA BorikAsit

53.9 gr. Tris

3.72 gr. EDTA

30 gr. Borik asit

pH=7.4

Distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

Yükleme Tamponu:

%0.25 bromofenol mavisi

%40 sükröz

Etidyum Bromür (EtBr):

10 mg/ml

3.3.3.4. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi

1. Kullandığımız kasete göre tartılan 0.9 gr. agaroz, 45 ml 0,5X/L TBE (Tris Borat) tamponunda bir erlenmayer içinde ısıtılarak çözüldü.
2. Tampon içersindeki agaroz iyice eridikten sonra ısıtıcıdan alındı. 40-45°C'ye kadar soğutularak jelin içersine 0,5µl etidyum bromide eklendi.
3. Agaroz jel elektroforezinin kaseti jel doküm aparatına yerleştirildi ve kuyucukları oluşturacak olan taraklar takıldı.
4. Jelde hava kabarcığı olmamasına dikkat edilerek kasete döküldü.
5. Jelin 30 - 45 dakikada polimerleşmesi beklendi ve taraklar çıkarılarak tanka yerleştirildi.
6. Jelin ilk kuyucuğuna 5 µl 50 bp marker diğer kuyucuklara DNA'lar yüklendi.
7. Yükleme için 7µl genomik DNA ve 2µl bromofenol yükleme boyası kullanıldı.
8. 120 V elektrik akımı verilerek DNA'lar 40 dakika yürütüldü.
9. UV'de gözlemlendi ve jel görüntüleme sistemi ile bilgisayara aktarıldı.

3.3.3.5. Genotiplendirme

Tüm değerlendirmelerde 100 ve 50 bç'lik belirteç kullanıldı. Gözlenen bantların moleküler uzunlukları, belirteç ile karşılaştırılarak yaklaşık olarak belirlendi (± 10 bç).

Örnekler, jel görüntüleme sistemine konulup 260 nm dalga boyunda UV ışık altında değerlendirildi.

3.3.4. COMT Geni rs2097063 (A/G) Polimorfizminin Belirlenmesi

3.3.4.1. İzole Edilen DNA Örneklerinin Gerçek Zamanlı PZR (Real-Time PCR) ile Analizi

Genotip analizi DNA izolasyonunu takiben gerçek zamanlı PZR (real-time PCR) Light Cycler 1.5 cihazı ile yapılmıştır. Real-time PCR ön hazırlık aşamaları ve bu gene özgü real-time PCR protokolü Tablo 3. 2’de gösterilmiştir.

Her örnek için hazırlanan karışımın içeriği ve konsantrasyonları şu şekildedir:

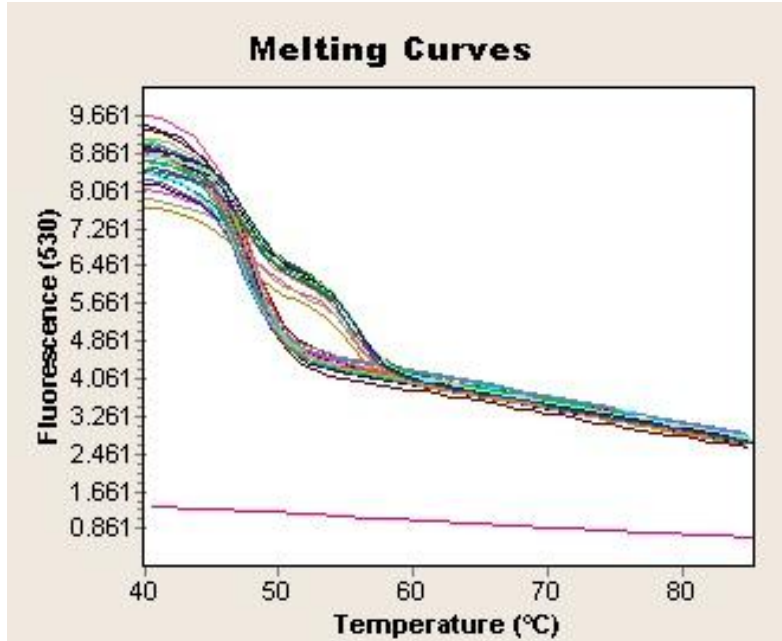
H₂O	5.2 µl
Reagent Mix	0,5 µl
Fast Start DNA Master	1 µl
MgCl₂ (25nM)	0,8 µl
DNA	2,5 µl (25-50 ng/ µl)
Toplam	10 µl

1. 7,5 µl hazırlanan reaksiyon karışımı +4° C de saklanan soğuk akü içindeki kuyucuklara dağıtılır.
2. Her kuyucuk içine örneklerden elde edilen DNA’lardan 2,5 µl DNA (25-50 ng/ µl arası değerlerde) eklenir.
3. Kuyucukların kapakları kapatılır.
4. Kuyucuklar 35.000 rpm’de 5 sn. santrifüjlenir.
5. Kuyucuklar Roche Light-Cycler 1.5 cihazına yüklenir.
6. Örnekler bilgisayar programında kodlandıktan sonra analiz tipi “analysis type” “Tm Calling” seçilir.
7. “Run” ile analiz başlatılır.
8. Sonuçlar, erime eğrileri ve piklerine göre analiz edilerek genotipler belirlenir.

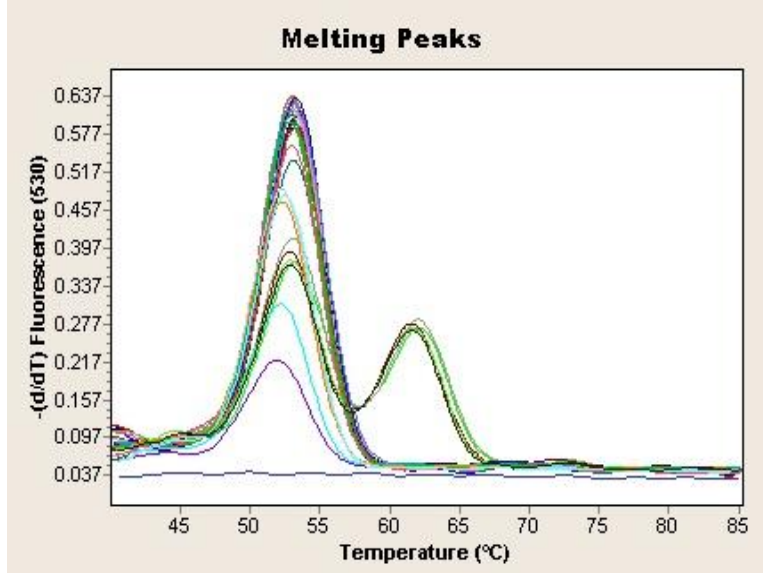
9. Yabani tip homozigot A alleli 47.95 °C, heterozigot A-G genotipi 47.95 °C ve 56.42 °C 'de, homozigot varyant alleller 56.42°C'de erime piki oluşturmaktadır (Şekil 3.3).

Tablo 3. 2. COMT Geni rs 2097063 Light Cycler 1.5 PCR Programı

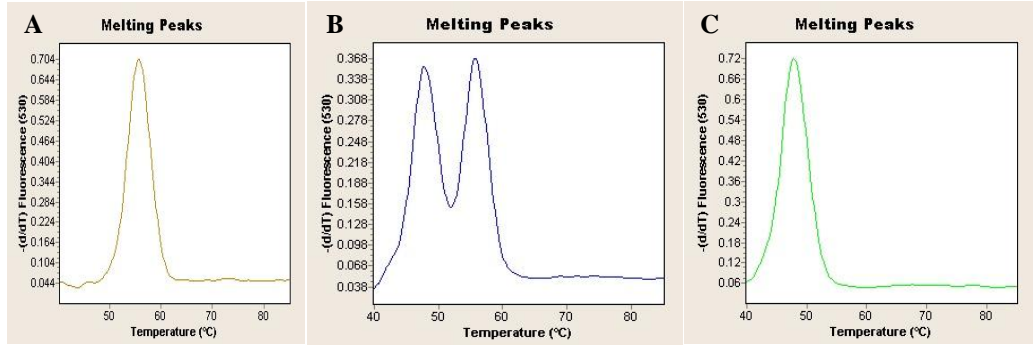
Program:	Denatürasyon	Cycling			Melting			Cooling
Parametre								
Analysis mode:	None	Quantification			Melting Curves			None
Cycles:	1	45			1			1
Segment:	1	1	2	3	1	2	3	1
Sıcaklık(°C):	95	95	60	72	95	40	75	40
Süre(mm:ss):	00:10:00	00:10	00:10	00:15	00:30	00:02	00:00	00:00:30
Ramp Rate(°C/s):	4.6	4.6	2.4	4.6	4.6	2.0	-	2.0
Acquisition mode:	none	none	none	single	none	none	contin	none
Acquisition(per°C)					3			



Şekil 3. 2. COMT Geni rs2097063 A/G polimorfizmine ait Erime Eğrileri



Şekil 3. 3. COMT Geni rs2097063 A/G polimorfizmine ait Erime Pikleri



Şekil 3. 4. COMT Geni rs2097063 A/G polimorfizmine ait Erime Pikleri

- A) Yabani tip homozigot A alleli 47.95 °C,
- B) Heterozigot A-G genotipi 47.95 °C ve 56.42°C 'de,
- C) Homozigot varyant G alleli 56.42°C'de erime pikleri oluşturmaktadır.

3.3.5. SLC6A4 Geninde rs16965628 Polimorfizminin Belirlenmesi

3.3.5.1. İzole Edilen DNA Örneklerinin Gerçek Zamanlı PZR (Real-Time PCR) Yöntemi ile Analizi

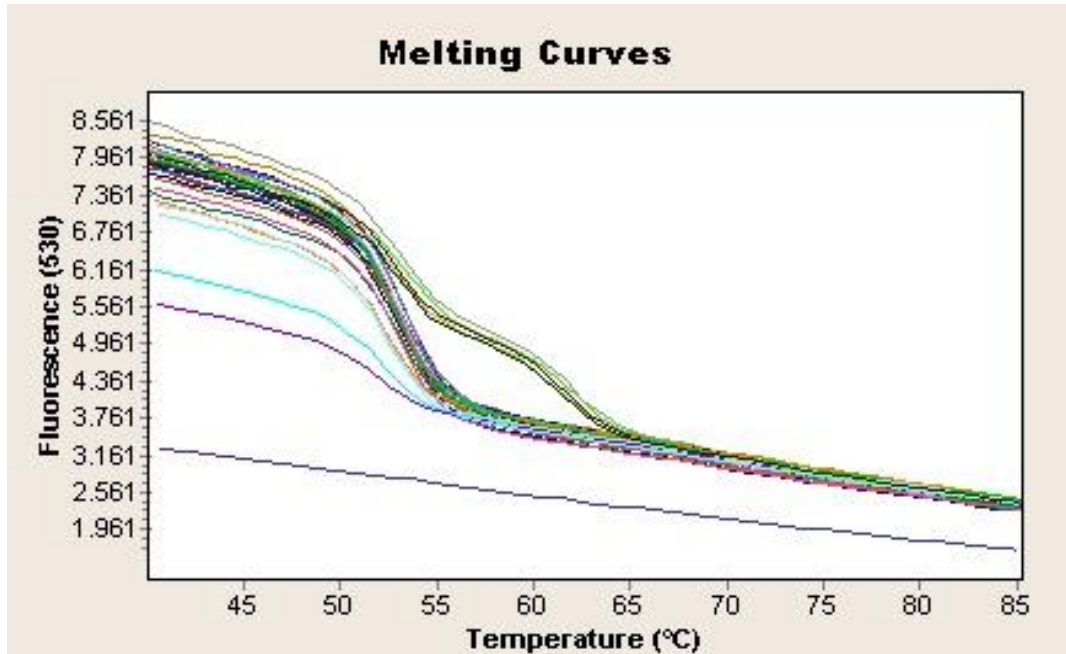
Genotip analizi DNA izolasyonunu takiben gerçek zamanlı PCR (LighCycler 1.5) cihazı ile yapılmıştır. Real-time PCR ön hazırlık aşamaları ve bu gene özgü real-time PCR protokolü Tablo 3. 3'de gösterilmiştir.

Bileşenler	Toplam Hacim	Konsantrasyonu
H ₂ O	5.2 µl	
Reagent Mix	0,5 µl	
Fast Start DNA Master	1 µl	
MgCl ₂ (25nM)	0,8 µl	3.0 mM
DNA	2,5 µl	25-50 ng
Toplam	10 µl	

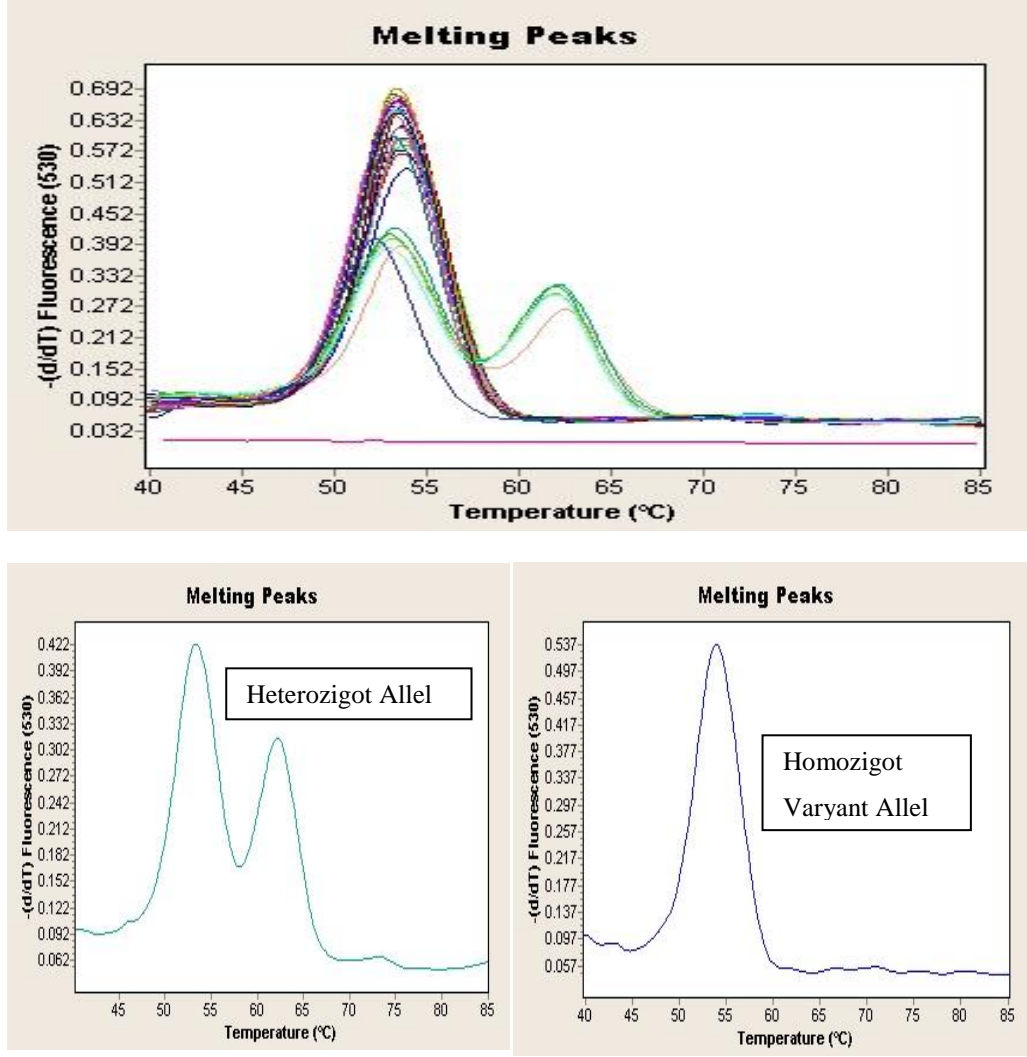
1. 7,5 µl hazırlanan reaksiyon karışımı +4° C de saklanan soğuk akü içindeki kuyucuklara dağıtılır.
2. Her kuyucuk içine örneklerden elde edilen DNA'lardan 2,5 µl DNA (25-50 ng arası değerlerde) eklenir.
3. Kuyucukların kapakları kapatılır.
4. Kuyucuklar 35.000 rpm'de 5 sn. santrifüjlenir. Kuyucuklar Roche Light-Cycler cihazına yüklenir.
5. Örnekler bilgisayar programında kodlandıktan sonra analiz tipi "analysis type" "Tm Calling" (Erime eğrisi analizi) seçilir.
6. "Run" ile analiz başlatılır.
7. Sonuçlar, erime eğrileri ve piklerine göre analiz edilerek genotipler belirlenir.
8. Yabani tip homozigot G alleli 54°C de , heterezigot G-C genotipi 54 ve 63° C'de, homozigot varyant C alleli 63°C'de erime pikleri oluşturmaktadır (Şekil 3.6).

Tablo 3. 3. rs16965628 Light Cycler 1.5 PCR Programı

Program:	Denatürasyon	Cycling			Melting			Cooling
Parametre								
Analysis mode:	None	Quantification			Melting Curves			None
Cycles:	1	45			1			1
Segment:	1	1	2	3	1	2	3	1
Sıcaklık(°C):	95	95	60	72	95	40	75	40
Süre(mm:ss):	00:10:00	00:10	00:10	00:15	00:30	00:02	00:00	00:00:30
Ramp Rate(°C/s):	4.6	4.6	2.4	4.6	4.6	2.0	-	2.0
Acquisition mode:	none	none	none	single	none	none	contin	none
Acquisition(per°C)					3			



Şekil 3. 5. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs 16965628 polimorfizmi erime eğrileri



Şekil 3. 6. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs16965628 polimorfizmi erime pikleri

3.3.6. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasının biyoistatistiksel çözümlemesinde, ele alınan ölçütler ortalama, standart sapma, frekans ve yüzde değerleri ile tanımlanmıştır. Hastalar ve kontroller arasındaki allel frekansları ve genotip yüzdelerinin karşılaştırılmasında Ki-kare ve Fisher kesin olasılık testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubu yaş ve cinsiyet kıyaslamasında t testi kullanılmıştır. Hasta grubu ile Yale Brown Obsesyon-Kompülsiyon Ölçeği değerleri arasındaki ilişki korelasyon analizi kullanılarak denetlenmiştir. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Biyoistatistiksel analizlerde SPSS (Sürüm:17.5) paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Tablo 4. 1’de OKB ve kontrol grubunu oluşturan olgulara ait tanımlayıcı özellikler gösterilmektedir. Çalışmamızda yaş ortalaması 37.2 ± 9.89 olan 80 OKB hasta ile yaş ortalaması 34.6 ± 11 olan 100 sağlıklı kontrol grubu kullanıldı. OKB olgularının 48’i kadın (%60), 32’i erkek (%40); kontrol grubunun 61’i kadın (%61), 39’u erkek (%39) olarak saptandı. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Tablo 4. 1. Kontrol ve hasta grubuna ait tanımlayıcı özellikler

Tanımlayıcı Özellikler	Kontrol Grubu (n=100)	OKB Grubu (n=80)	P
Yaş	37.2 ± 9.89	34.6 ± 11	>0.05
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	48/32 %60/%40	61/39 %61/%39	>0.05

OKB hasta grubu ve kontrol grubuna ait kan örneklerinden elde edilen genomik DNA’dan 5-HTTLPR bölgesine özgü primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı. PZR ürünleri, jel elektroforezinde yürütülerek jelde oluşan bantlar U.V altında incelendi. Jel CCD kamerası altında incelenerek fotoğrafı çekildi (Şekil 4.1). İnsersiyon polimorfizmi (II) olan DNA 525 bç, delesyon polimorfizmi olan bant 428 bç, İnsersiyon/Delesyon polimorfizmi (I/D) olan bant 428bç ve 528 bç uzunluğundaki bantları içerir.

Bunlar;

II: homozigot normal: 528 bç

ID: heterozigot: 528, 484 bç

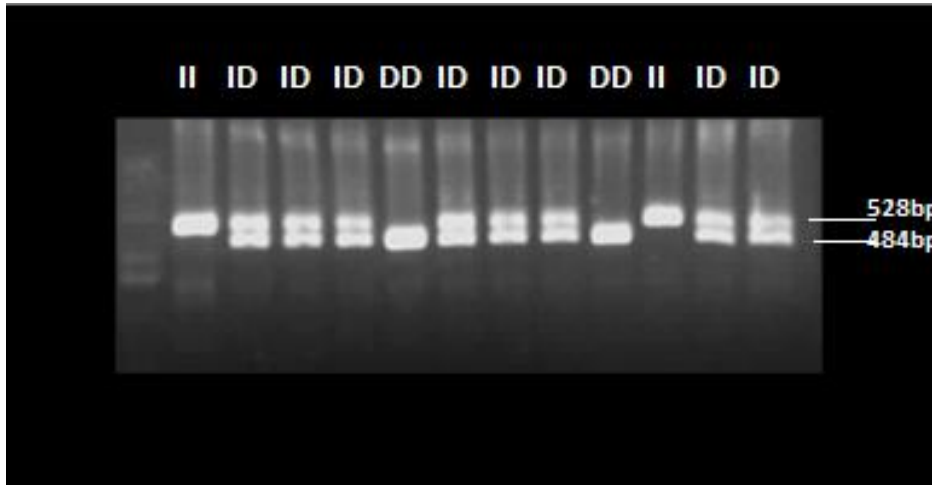
DD: homozigot mutant: 484 bç (Şekil 4-1)

SLC6A4 geninin 5-HTTLPR bölgesi I/D genotipleri ve allel sıklığı dağılımı Tablo 4.2’de, I/D genotiplerinin jel görüntüleri ise Şekil 4.1’de gösterildi. 5-HTTLPR geninin I/D polimorfizminin allel dağılımı Hardy-Weinberg denkleminde uygunluk sağladı ($\chi^2=1.517$ ve $p > 0.05$). OKB grubunda 5-HTTLPR polimorfizminin ID

genotipinin frekansı (%51), DD (%25) ve II (%24) olarak bulunmuştur. Hasta ile kontrol grubu arasında genotipler açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Hasta ve kontroller arasında D ve I allel sıklığı dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

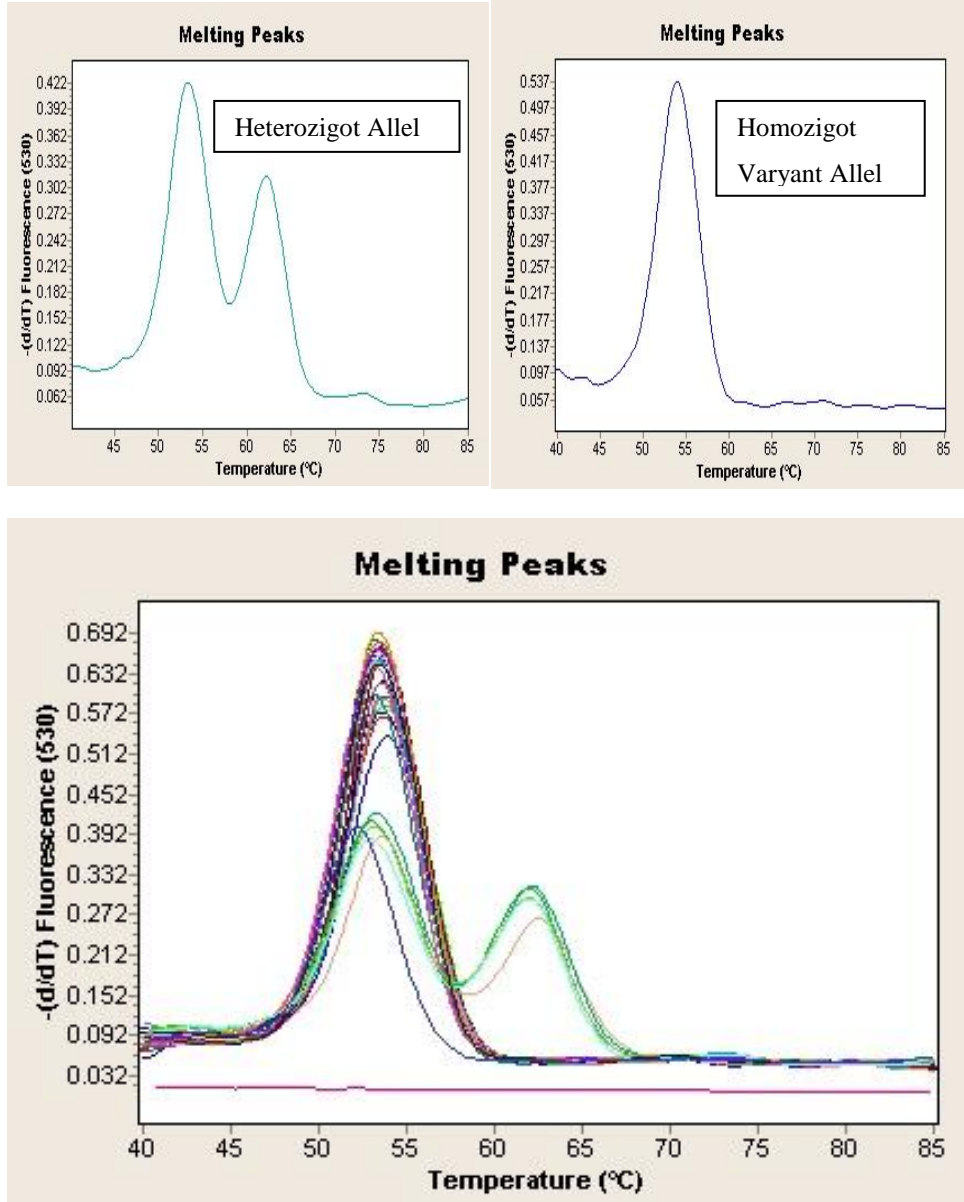
Tablo 4. 2. Kontrol ve OKB grubunda 5-HTTLPR genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotipler (5-HTTLPR)	OKB Grubu n=80 (%)	Kontrol Grubu n=100 (%)	Toplam n=180 (%)	P
II(LL)	19 (%24)	29 (%29)	48 (%26)	
ID(LS)	41 (%51)	53 (%53)	94 (%52)	
DD (SS)	20 (%25)	18 (%18)	38 (%21)	$p>0,05$
ALLEL SIKLIĞI				
I (L)	79 (%49)	111 (%55)	190 (%52)	
D (S)	83 (%51)	89 (%45)	172 (%48)	$p>0,05$



Şekil 4. 1. 5-HTTLPR PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüleri

OKB ve kontrol grubu SLC6A4 geni rs16965628 polimorfizmi erime eğrisi sonuçları ve erime eğrisi pikleri Şekil 4.2, genotip yüzdeleri ve allel frekansları Tablo 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 2. Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs 16965628 polimorfizmi erime pikleri

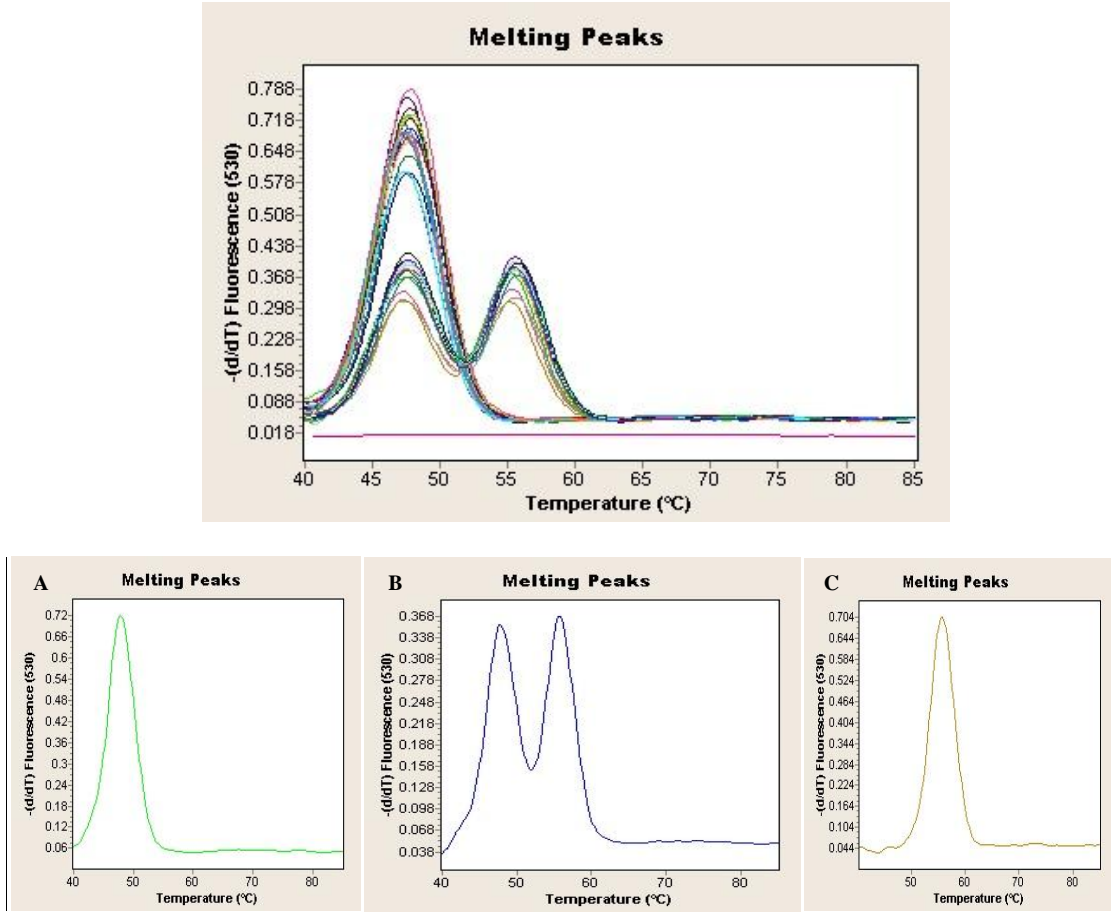
Serotonin Taşıyıcı Geni (SLC6A4) rs 16965628 polimorfizmi erime pikleri analizi yapıldığında homozigot G alleli 54°C de tek pik gösterirken, heterozigot varyant GC genotipi 54°C ve 63° C de çift pik göstermektedir, homozigot varyant C alleli ise 63° C de tek pik olarak analiz edilebilmektedir. Erime Eğrisi analizlerine göre hasta ve kontrol grubunda tespit edilen genotip yüzdeleri ve allel sıklıkları Tablo 4. 3’de gösterilmiştir.

Tablo 4. 3. Kontrol ve OKB grubunda SLC6A4 geni rs2097063 genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotipler (SLC6A4)	OKB Grubu n=80 (%)	Kontrol Grubu n=100 (%)	Toplam n=180 (%)	p	OR (%95 CI)
GG	75 (%94)	80 (%80)	155(%86)	<0.05	3.375 (1.19-9.54)
GC	5 (%6)	18 (%18)	23 (%13)	>0.05	
CC	0 (%0)	2 (%2)	2 (%1)	>0,05	
ALLEL SIKLIĞI					
G	155 (%97)	178 (%89)	333 (%92)	<0.05	3.831 (1.41-10.35)
C	5 (%3)	22 (%11)	27 (%8)	>0,05	

OKB grubunda rs16965628 polimorfizmi GG genotipi (%94), kontrol grubu GG genotipine (%80) göre anlamlı artış göstermektedir. Hasta grubunda GG genotipinin OR değeri %95 güven aralığında OR=3.375 olarak tespit edilmiştir. GG genotipinin OKB için risk faktörü oluşturduğu gözlemlenmektedir. OKB grubu G allel sıklığı (%97), kontrol grubu G allel (%89) sıklığına göre yüksek ve anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p<0,05$). G allelinin de OKB için risk faktörü (OR=3.831) oluşturduğu tespit edilmiştir.

COMT geni rs2097063 polimorfizmi OKB ve kontrol grubu polimorfizmi erime eğrisi sonuçları ve erime eğrisi pikleri Şekil 4. 3, genotip yüzdeleri ve allel sıklıkları Tablo 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 3. COMT geni rs2097063 polimorfizmi erime pikleri

- A) Homozigot A alleli 47.95°C tek pik,
 B) Heterozigot AG genotipi 47.95 ve 56.42° C’de çift pik
 C) Homozigot varyant G alleli 56.42° C’de tek pik oluşturmaktadır.

Tablo 4. 4. Kontrol ve OKB grubunda COMT rs2097063 genotip ve allel sıklığı dağılımı

Genotipler (COMT)	OKB n=80 (%)	Kontrol n=100 (%)	Toplam n=180 (%)	p
AA	49 (%61,25)	64 (%64)	113 (%63)	
AG	29 (%36,2)	31 (%31)	60 (%34)	
GG	2 (%2,5)	5 (%3)	7 (%3)	>0,05
ALLEL SIKLIĞI				
A	127 (%79)	159 (%80)	286 (%79)	
G	33 (%21)	41 (%20)	74 (%21)	>0,05

COMT geni rs2097063 polimorfizmi CC, GG, GC genotipi ve A ve G allel sıklığı açısından hasta ve kontrol grubu arasında herhangi bir anlamlı fark tespit edilememiştir($p>0,05$).

Tablo 4. 5. OKB grubunda Yale Brown Skorları (YBOCS) Dağılımı

YBOCS Skorları	OKB Grubu	
	Sayı (n)	%
0	2	2.5%
1	19	23.8%
2	29	36.3%
3	12	15.0%
4	12	15.0%
5	6	7.5%
Total	80	100.0%

1-Subklinik 2- Hafif 3- Orta 4-Şiddetli 5- Çok Şiddetli

Tablo 4. 6. OKB grubunda Yale-Brown Skoru ile genotipler, yaş, cinsiyet arasında korelasyon analizi

Hasta Grubu	P değeri	YBOCS
Yaş	>0.05	-0.119
Cinsiyet	>0.05	-0.15
COMT (rs209706)	>0.05	.067
SLC6A4 (rs1696562)	>0.05	-.060
5-HTTLPR	>0.05	-.002
Y-BOCS	>0.05	1.000

Tablo 4.5’de OKB grubunda Yale-Brown skorlarının dağılım yüzdeleri gösterilmiştir. Tablo 4. 6’da gösterildiği gibi OKB grubu Yale-Brown Skorları ile yaş, cinsiyet ve genotipler arasında anlamlı bir korelasyon gözlemlenmemiştir. Bunun nedenlerinden biri Yale–Brown skorlarının psikoterapi ve farmakoterapinin ileri aşamalarında olan hastalarda gerçek değerleri yansıtamaması ve hastaların değerlendirme esnasında psikolojik durumuna göre verilen cevaplarda farklılıklar göstermesi olarak düşünülmektedir.

5. TARTIŞMA

20. yüzyılın başından beri OKB’da kalıtımın önemi ve etkisi çeşitli araştırmalarla vurgulanmaktadır. OKB'nin Tourette Bozukluğu gibi genetik yönü ağır basan hastalıklar ile ilişkili olduğunun gösterilmesi, OKB ile serotonin arasındaki ilişkinin anlaşılması, OKB de gösterilebilir beyin işlev değişikliklerinin olması ve OKB tanı ölçütlerinin DSM ile daha objektif hale gelmesi araştırmacıların hastalığın genetik yönünü çalışmaya yönlendirmiştir.

Genetik araştırmalar beyinde kortiko-striato-pallido-talamik devrenin gelişimini, bağlantılarını, nörotransmisyonunu ve reseptör sinyal transdüksiyonunu etkileyen genler üzerinde yoğunluk kazanmıştır (38). OKB’nin bilinen patofizyolojik ve farmakolojik etyolojisine dayanarak yürütülen genetik assosiyasyon çalışmaları serotonerjik sistem üzerinde yoğunluk kazanmıştır. Serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) dopaminerjik ve noradrenarjik geri alım inhibitörlerine göre OKB tedavisinde daha etkin olduğunun ortaya çıkması ile serotonin seviyesi, metabolizması, reseptör tipleri ve taşıyıcı proteini ile ilgili çalışmalar artmış ve OKB’nin patofizyolojisinden bu serotonerjik sistemde işlevi olan genlerin sorumlu olabileceği hipotezi öne sürülmüştür (34).

Yapılan çalışmalarla 5HT1-D beta serotonin reseptör geni, 5HT2A serotonin reseptör geni , 5HT2A reseptör geni promotor bölgesinde (1438 G/A, T102C, C516T) ve serotonin 5HT2C reseptör geni polimorfizmleri OKB hastalarında kontrollere göre anlamlı şekilde farklı bulunmuş ve OKB ile ilişkili aday genler arasında olabileceği bildirilmiştir (31,38).

Serotonin transporter (5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT, SERT) geni, serotoninin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) taşınmasındaki rolü nedeniyle psikiyatrik bozuklukların etyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir. 5-HTT knockout farelerle yapılan araştırma sonuçları değişken 5-HT fonksiyonlarının davranış ve beyin gelişimi üzerindeki olumsuz etkileri hakkında anlaşılır bilgiler kazandırmıştır (103). Erken gelişim evrelerinde 5-HT sistemi ve 5-HT’de oluşan değişimlerin, post- sinaptik 5-HT reseptör işlevselliği ve sıklığını etkilediği ve böylece hedef nöronlar ve bu nöronların uyarılara karşı tepkilerini farklılaştırdığı öne sürülmüştür (104). Şimdiye kadar en iyi araştırılmış serotonin taşıyıcı gen (SLC6A4) varyantı, SLC6A4 transkripsiyonel kontrol

bölgesinde bulunan 5-HTTLPR bölgesi ve bu bölgede keşfedilen rs25531 ve rs25532 tek nükleotid polimorfizmleridir (57, 58). 5-HTTLPR; SLC6A4 geni 5' transkripsiyonel kontrol bölgesinde 44 bp'lik bir dizinin insersiyon/ delesyon varyasyonuna bağlı olarak S ve L alellerinin oluşturduğu polimorfizmdir (61). L aleli, kısa S aleline göre 2 kat daha fazla etkin bir şekilde transkripsiyona uğrar bu da serotoninin daha etkin geri alınımını sağlar (58, 61, 63). Böylece S aleline sahip bireylerde, 5-HT gerilim aktivitesinin L aleline sahip bireylere göre iki kat daha düşük olması ve gende transkripsiyonal aktivitenin azalmasıyla; nöronda, 5-HTT ekspresyonunu azalacağı ve bunun sonunda da psikiyatrik bozuklukların ortaya çıkabileceği ileri sürülmektedir (58, 64).

McDougle ve ark. (65) ile *Bengel ve ark.* (52) 5-HTTLPR'nin L alleli ile OKB arasında anlamlı ilişki belirlemişlerdir. *Meira-Lima ve ark.* (49) ise OKB grubunda 5HTTLPR'nin L allelinin yüksek miktarda bulunduğunu bildirmişler, ancak homojen LL genotipi sıklığı açısından hastalar ve kontroller arasında fark saptamamışlardır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar (52, 57, 106) SS genotipinin OKB ile ilişkili olduğunu kanıtlarken, LS genotipinin OKB'den koruyucu bir etki oluşturduğunu fakat LL genotipi ile OKB arasında herhangi bir anlamlı ilişki bulunamadığını bildirmişlerdir. LS genotipinin OKB'ye karşı koruyucu etkisini olduğunu ilk defa *Billet ve ark.* (43) tarafından öne sürülmüştür. Bunu daha sonra *Bengel ve ark.* (52) *Hu ve ark.* (57) doğrulamışlardır. LS genotipinin koruyucu etkisi; serotonerjik iletimin çevresel etkenlere karşı daha esnek yapı göstermesi sebebiyle olduğu düşünülmektedir (57).

Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada 5-HTTLPR bölgesinin L alelinde bulunan A/G değişiminde (rs25531); LG'nin düşük ekspresyona sebep olan S aleli gibi davrandığını ve sadece LA alelinin yüksek düzey ekspresyona sebep olan varyant olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu fonksiyonel verileri kullanarak yapılan çalışmada LA aleli ve LALA genotipinde olanlar ile OKB arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (57).

Bu tez çalışmasında Türk toplumunda OKB ile 5-HTTLPR polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sırasıyla OKB ve hasta grubu L allel sıklığı %49 ve %55, S allel sıklığı %51 ve %45 olarak tespit edilmiştir. Allel sıklıkları karşılaştırıldığında OKB grubu S allel sıklığı kontrol grubu S allel sıklığına göre hafif artış göstereceği iki grup arasında genotipler ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak

anlamlılık düzeyine erişilmemiştir. *Acar Ş.T. ve ark. (105)* Türk populasyonunda yaptığı bir araştırmada hasta grubunda LL genotipi %23.3, LS genotipi %56.7, SS genotipi %20; kontrol grubu LL genotipi % 25.3, LS genotipi % 38,7 ve SS genotipi %36 olarak tespit edilmiştir. Her iki grup arasında genotipler karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edememişlerdir ($p>0.05$). Bu çalışmamız 5-HTTLPR ile OKB arasında herhangi bir ilişki saptamayan *Acar Ş.T. ve ark. (105)* ve *Erdal E. ve ark. (91)* Türk populasyonunda yaptıkları çalışma ile paralellik göstermektedir.

5-HTTLPR polimorfizm araştırmalarında çelişkili bulgular çıkmasının nedeni hasta ve kontrol grubu seçiminde populasyonda rastgele seçim sağlanamamasından, yeterli sayıda deneğin çalışmaya katılmaması veya diğer bir neden ise farklı populasyonlarda ve coğrafi bölgelerde 5-HTTLPR gen frekanslarının farklılık göstermesinden kaynaklanabilmektedir. Farklı populasyonlar arası yapılan 5-HTTLPR gen frekansları araştırmalarında; Almanya'da (64) yapılan bir araştırmada gen frekansları L aleli için %60; S aleli için %40 olarak; İtalya'da (64) L aleli için % 57, S aleli için %43 olarak; İngiltere'de (64) L aleli %55 ve S aleli %45 olarak; Avrupa kökenli Amerikalılarda (90) L aleli %53; S aleli %47; Afrika kökenli Amerikalılarda (90) L aleli %66; S aleli %26, Rus Tatarlarında L alleli %50.3, S alleli %49.7, Rus toplumunda L alleli % 55.7 ve S alleli %44.3 olarak bulunmuştur. *Erdal E. ve ark. (91)* yaptığı bir çalışmada Türk populasyonunda L alelinin gen frekansı %49 ve S alelinin gen frekansı %50 olarak hesaplanmıştır. Türk toplumunun, SERT geninin 5-HTTLPR polimorfizmi bakımından Rus Tatarlarında yapılan çalışma sonuçlarına benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu tez çalışmasına katılan tüm deneklerin L allel frekansı %52, S allel frekansı ise %48 olarak saptanmıştır, bizim çalışmamız bu açıdan incelendiğinde Avrupa kökenli Amerikalılarda saptanan bulgulara benzerlik göstermektedir (90).

SLC6A4 geninde transkripsiyonu etkileyen ve bunun sonucunda protein yapısında değişiklikler meydana getiren en çok çalışılmış bölge 5-HTTLPR transkripsiyonel kontrol bölgesidir. Bu bölgedeki polimorfizmlerin serotonin taşıyıcı işlevini olumsuz etkileyerek psikiyatrik hastalıklara yatkınlık oluşturduğu hipotezinden bahsetmiştik. Bu gende transkripsiyonu etkileyerek psikiyatrik hastalıklar için risk oluşturabilecek başka aday polimorfik bölgelerde araştırmaların odağı olmuştur. *Martin J. ve ark. (99)* yaptıkları çalışmada serotonin taşıyıcı geninde (SLC6A4) transkripsiyonu

etkileyen fonksiyonel 5-HTTLPR polimorfizmi ile beraber etkili olabilecek SNP'leri allelik bağlantı dengesizliği metodu ile araştırmışlardır. SLC6A4 geninin içinde 100 kb'lık alanda 55 SNP'yi test etmişlerdir. SNP'lerden SLC6A4 geni ilk intron ortasında bulunan rs 16965628'i 5-HTTLPR polimorfizmi ile ilişkili olabilecek en belirgin polimorfik bölge olarak tespit etmişlerdir (99).

Wendland ve ark. (59) ise SLC6A4 geni ve genin transkripsiyonel kontrol bölgesi olan 5-HTTLPR promotor bölgesi, ve geni çevreleyen 100 kb.'lık bölgede yer alan fonksiyonel polimorfik bölgeleri taramışlar, özellikle ilk intron içinde yer alan 2 yeni SNP bölgesinin (rs2020933 ve rs16965628) haplotip analizi aracılığıyla OKB ile anlamlı ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir (59,94). Özellikle 5-HTTLPR S alleli ile rs16965628 C haplotipleri birlikteliğinin OKB için risk (OR=1.63) oluşturduğunu bulmuşlardır (59). Bizim de bu tez çalışmamızda SLC6A4 rs16965628 polimorfizmini incelediğimizde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu sonuçlar *Wendland ve ark.* (59) çalışması ile uyum içerisindedir. OKB grubunda GG genotipi (%94), kontrol grubu GG genotip frekansına (%80) göre anlamlı artış göstermektedir ($p<0,05$; OR=3.375; %95 CI= 1.19-9.54) olarak tespit edilmiştir. GG genotipinin OKB hastalığına yatkınlığı arttırabileceği düşünülmektedir. Allel sıklıkları açısından karşılaştırdığımızda; OKB grubunda G allel sıklığı %97; kontrol grubunda %89 iken; hasta grubunda C allel sıklığı %3 , kontrol grubunda C allel sıklığı %11 olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak hasta ve kontrol grubu G ve C allel sıklıkları ki-kare testi ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$, OR=3.83; %95= 1.41-10.35). Analizlerimize göre G allelinin Türk toplumunda OKB için risk oluşturabileceğini söyleyebiliriz.

İskandinav toplumunda yapılan bir araştırmada SLC6A4 geninde bulunan polimorfik bölgeler ile şizofreni hastalarında intihar eğilimi ilişki araştırılmıştır(67). Farklı polimorfik bölgelerden sadece rs16965628 C allelini taşıyan bireylerde intihar oranlarının azaldığı bulgusunu tespit edilmiştir. rs16965628 C allelini taşıyan şizofrenik hastalarda, SLC6A4 geninin daha az transkripsiyona uğrayarak serotonin taşıyıcı proteininde düşüşe sebebiyet verdiği ve bu sonucun şizofrenik bozukluğun şiddetini düşürücü etkisi oluşturduğu hipotezi öne sürülmüştür. rs16965628 C allelinin serotonerjik sistemde yaptığı değişimler OKB etyolojisi için aday olabilecek polimorfik bölgelerden olacağı düşünülmektedir. 5-HTTLPR ile birlikte rs16965628'in psikiyatrik

hastalıklara yatkınlık oluşturduğu hipotezini destekleyen beyin görüntüleme çalışmasında ise rs 16965628 G alleli ile 5-HTTLPR S alleli birlikteliğinin prefrontal korteks işlevini etkileyerek psikiyatrik hastalıklara yatkınlık oluşturduğunu savunmuşlardır (99). *Wendland ve ark.* (59) C alleli ile OKB arasında anlamlı ilişki saptamışlardır. Bizim araştırmamızda bu bulgulara çelişkili olarak, GG genotipi ($p < 0.05$, $OR = 3.375$; %95 CI = 1.19-9.54) ve G allelinin ($p < 0.05$, $OR = 3.83$; %95 CI = 1.41-10.35) Türk toplumunda OKB oluşumu için risk oluşturabileceğini tespit ettik. Araştırmamızda bu polimorfik bölge için elde edilen veriler Türk toplumuna ait ilk bulgularıdır.

Kromozom 22q11 yerleşimli olan Katekol-O-Metil Transferaz (COMT) kortekste dopamin sinyalizasyonu ve nörotransmisyonundan sorumlu önemli bir enzimdir (70). Hipokampus ve prefrontal kortekste yaygın eksprese olur ve dopaminin yıkımında rol almaktadır. COMT geninde delesyon varlığının psikiyatrik hastalıklar ile çok yüksek birliktelik gösterdiği bilinmektedir (92). COMT geninde Guanin/Adenin (G/A) değişimi sonucu oluşan ve Valin/Metionin aminoasit değişimine bağlı olarak üç genotip (HH, HL, LL) tanımlanmıştır. COMT genindeki bu fonksiyonel polimorfizm COMT enzim aktivitesinin değişmesine neden olmaktadır. Düşük enzim aktiviteli genotiplerde enzim aktivitesi yaklaşık 3 ile 20 kat arası daha düşük olmakta, sonuç olarak katekolamin metabolizması yavaşlamakta, hızlı enzim aktivasyonu gösteren bireylerde katekolamin metabolizması artmaktadır (97).

COMT Val158Met polimorfizmi OKB hasta gruplarında en çok çalışılan polimorfizmlerden biridir. *Karayiorgou ve ark.* (47) erkek OKB olguları COMT geni Val158 Met polimorfizmi; düşük aktiviteli Met arasında pozitif ilişki belirlemişlerdir. Val 158 Met polimorfizmi beyinde ve lenfositlerde COMT enzimatik aktivitesinde %40'lık belirgin bir düşüşe neden olduğu sonucuna varmışlardır. Bunun sonucunda prefrontal hücre dışı dopamin oranları arttığı bulunmuştur (76, 77). Bunun gibi bir çok çalışmada da pozitif ilişki saptanmıştır (48, 78).

Türk toplumunda yapılmış bir çalışmada COMT Val158 Met gen polimorfizmi ile doğrudan bir ilişki tespit edilememiş; ancak L alleli için homozigot ya da heterozigot olan olgularda H alleli için homozigot olanlara göre daha yüksek içgörü puanları saptadıklarını bildirmişlerdir (93).

Son yıllarda yapılan araştırmalar ile COMT geninde bulunan iki farklı varyantın daha COMT enzimi üzerinde işlevsel etkileri gösterilmiştir. Beyinde MB-COMT transkripsiyonunu regüle eden P2 promotör bölgesinde yer alan rs2097603 polimorfizmi (76), ikincisi şizofreni ile ilişkilendirilen 3' UTR (çevrilmeyen bölgede) yer alan rs165599 (105) bölgeleridir.

COMT geninde bulunan başka bir fonksiyonel polimorfizmin enzim aktivitesine etki ederek beyin dopamin seviyelerini değiştirebileceği öne sürülmüştür. COMT geni MB-COMT'un transkripsiyonunu kontrol eden P2 promotöründe bulunan -287(A/G) rs 2097063 polimorfizminin COMT enzimi aktivitesinin lenfositlerde düşüşe sebebiyet verdiğini gözlemlenmişlerdir (76). *Funke ve ark.*(88) yaptığı araştırmada COMT geni P2 promotör (rs2097063) polimorfizmi A alleli ile majör depresyon ve şizofrenik olgular arasında anlamlı ilişki tespit etmişlerdir ($p = 0.004$; OR = 1.34). Bu çalışmayı destekler bulgular *Palmatier ve ark. (106) ile Shifman ve ark. (107)* tarafından şizofreni olgularında yaptıkları araştırma ile ortaya konulmuştur

Liu S. ve ark. (50) Çin toplumunda yapmış oldukları bir çalışmada COMT -287 (A/G) polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu arasında genotip frekansları arasında anlamlı bir fark saptamışlardır ($\chi^2=13.99$, $P=0.00091$). GG genotip sıklığının AA ve AG genotip sıklığına göre (OR=3.43; 95% CI=1.78–6.62) daha yüksek olduğu ve OKB için risk oluşturduğunu saptamışlardır. Bu tez çalışmasında COMT -287A/G polimorfizmi ile OKB ve kontrol grupları arasında ilişki Türk toplumunda ilk kez araştırılmıştır. Bulgularımıza göre OKB ve kontrol grubu arasında genotip frekansları ve allel sıklığı açısından anlamlı fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). Söz konusu gen polimorfizmi farklı popülasyonlarda farklılıklar gösterebilmektedir. OKB ile ilişkili polimorfizmlerde allelerin tek başına hastalığa yakınlık oluşturmasından ziyade farklı allelerin bir arada hastalık etkeni oluşturmak için güçlü bir etken oluşturması söz konusu olabilmektedir.

Tez çalışmamızda Yale-Brown Skorları ile hasta grubu yaş, cinsiyet ve genotipler arasında anlamlı bir korelasyon ve ilişki gözlemlenmemiştir. Bu sonucun nedenlerinden biri Yale–Brown skorlarının psikoterapi ve farmakoterapi alan hastalardaki skorların hastalığın başlangıç aşamasına göre farklılıklar göstermesi ve hastaların değerlendirme esnasında tüm yaşamlarını göz önüne almaları hatırlatıldığı halde, hastalık öncesi ve başlangıcındaki kişilik özelliklerini değerlendirmede zorluklar yaşaması olarak düşünölmektedir..

Sonuç olarak bu tez çalışması ile Türk toplumunda 5-HTTLPR polimorfizmi ve COMT (rs2097063) polimorfizmi incelenmiş ve OKB ile kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Aynı hasta grubu ile kontrol grubu arasında SLC6A4 (rs16965628) polimorfizmi araştırılmış, GG genotipi ($p < 0.05$, $OR = 3.375$; $95\%CI = 1.19-9.54$) ve G alleli ($p < 0.05$, $OR = 3.83$; $95\%CI = 1.41-10.35$) OKB grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiş ve GG genotipi ve G allelinin OKB için risk oluşturabileceği belirlenmiştir.

Bu çalışmanın serotonerjik sistemi oluşturan gen varyasyonlarının obsesif kompulsif bozukluğun oluşumu için risk oluşturabileceğinin gösterilmesi OKB ve diğer psikiyatrik bozuklukların nedenlerinin ve yatkınlık oluşturan genlerin tespit edilmesine özgün bir katkısı olduğu düşünülmektedir. İleride hasta ve kontrol grubu sayısı artırılarak yapılacak çalışmaların serotonerjik sistem gen polimorfizmlerinin obsesif kompulsif bozukluk ilişkisi ile ilgili bilgileri güçlendireceğini düşünmekteyiz.

Ayrıca bu çalışma, genetik bilinmeyeni oldukça fazla bir psikiyatrik bozukluk olan OKB'nin oluşumunda etkili olabilecek genler ve polimorfizmleri hakkında Türk toplumuna ait yeni veriler sağlamıştır. Gelecekte psikiyatrik hastalıkların tanısında ve adli psikiyatri olgularının değerlendirilmesinde klinik veriler ile genotip analizlerinin uzmanlarca beraber yorumlanacağı durumda çalışmamız daha da önem kazanacaktır.

KAYNAKLAR

1. Fyer, AJ. (2000) Anxiety disorder: Genetics. Kaplan and Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry 7th Edition, eds. Sadock BJ& Sadock V A. Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia, 1462
2. Berger, M., Gray, J.A., Roth, B.L. (2009) The expanded biology of serotonin, *Annu. Rev. Med.* 60: 355–66.
3. Akgun, N. (1989) Obsesyonel nevroz. 1. baskı, Nobel Tıp Kitabevi, 20–24.
4. Kaplan, A. ve Hollander, E. (2003) A review of pharmacologic treatments for obsessive-compulsive disorder, *Psychiatric Services*, 54, 1111-1118.
5. Demet, M.M. (2005) *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 45-52.
6. Azzam, A., Mathews, CA. (2003) Meta-analysis of the association between the catecholamine-O-methyl-transferase gene and obsessive-compulsive disorder, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 123B:64-69.
7. Avasthi, A. ve Kumar, D. (2004) Phenomenology of Obsessive Compulsive Disorder, *JK Science*. Vol. 6 No: 1.
8. Rachman, S.J. ve Hodgson, R.J. (1980) Obsessions and compulsions, Englewood Cliffs (NJ), Prentice Hall.
9. Freud, S. (1958) The disposition to obsessional neurosis. In Strachey J, meditor: The Standard Edition of the Complete Psychological Works of Sigmund Freud, Vol. 12. London: Hogarth Pres, pp. 317-326.
10. Steketee, G. (1993) Treatment of obsessive-compulsive disorder, New York Guilford Press.
11. Yetkin, S., Aslan, S., Akdemir, A., Orsel, S. (2005) Anksiyete bozuklukları, Sadock BJ, Sadock VA. Kaplan ve Sadock Klinik Psikiyatri. İkinci baskı. Ceviri Editorleri: Aydın, H., Bozkurt, A., Guneş Kitabevi, Ankara.
12. Kaplan, HI., Sadock, BJ. (1999) Comprehensive Textbook of Psychiatry, vol 1, Lippincott, Williams and Wilkins.

13. Rasmussen, S.A., Tsuang, T.M. (1986) Clinical characteristics and family history in DSM III obsessive compulsive disorder, *Am J Psychiatry*, 143: 317–22.
14. Maia, A., Barbosa, E., Menezes, P. ve ark. (1999) Relationship Between Obsessive Compulsive Disorders and Diseases Affecting Primarily The Basal Ganglia, *Reista Hospital Clinics*, 54:6
15. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed rev. Washington DC, American Psychiatric Association 2000
16. Leonardo, F., Fontenelle, Mauro V., Mendlowicz, Marcio V. (2006) The descriptive epidemiology of obsessive–compulsive disorder, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, Volume 30, Issue 3, 327-337.
17. Freud, S. (1913/1958) The disposition to obsessional neurosis. In Strachey J, editor: The Standard Edition of the Complete Psychological Works of Sigmund Freud, Vol. 12. London: Hogarth Pres, pp. 317-326.
18. S.A. Rasmussen, J.L. (1990) Epidemiology of obsessive compulsive disorder, *J Clin Psychiatry*, 51, 10–13.
19. M. Karno, J.M., Golding, S.B., Sorenson, M.A. Burnam (1998) The epidemiology of obsessive–compulsive disorder in five US communities *Arch, Gen Psychiatry*, 45, 1094–1099.
20. M.B. Stein, D.R., Forde, G., Anderson, J.R. Walker (1997) Obsessive–compulsive disorder in the community: an epidemiologic survey with clinical reappraisal, *Am J Psychiatry*, 154, 1120–1126.
21. Egrilmez, A., Gulseren, L., Gulseren, S. ve Kultur, S. (1997). Phenomenology of obsessions in a Turkish series of OCD patients, *Psychopathology*, 30, 106-110.
22. Brynska, A., Wolanczyk, T. (2005) Epidemiology and phenomology of obsessive-compulsive disorder in non-referred young adolescents: a Polish perspective, *European Child and Adolescent Psychiatry* 14(6):319-27.

23. Crino, R., Slade, T. ve Andrews, G. (2005). The changing prevalence and severity of obsessive-compulsive disorder criteria from DSM-III to DSM-IV, *Am J Psychiatry*, 162, 876-882.
24. Rapaport, J.L., Inoff, G. (2000) Practitioner review: Treatment of obsessive-compulsive disorder in children and adolescents, *J. Child Psychol Psychiat.*, 41:419-431.
25. Nestadt, G., Lan, T., Samuels, J., Riddle, M., Bienvenu, O.J., Liang, K.Y. ve ark. (2000b) Complex segregation analysis provides compelling evidence for a major gene underlying obsessive-compulsive disorder and for heterogeneity by sex, *Am J Hum Genet*, 67, 1611-1616.
26. Crino, R., Slade, T. ve Andrews, G. (2005) The changing prevalence and severity of obsessive-compulsive disorder criteria from DSM-III to DSM-IV. *Am J Psychiatry*, 162, 876-882.
27. Dennis, L., Murphy, Meredith A., Fox, Kiara R., Timpano, Pablo R., Moya, Renee Ren-Patterson, Anne M. Andrews, Andrew Holmes, Klaus-Peter Lesch, Jens R. Wendland (2008) How the serotonin story is being rewritten by new gene-based discoveries principally related to SLC6A4, the serotonin transporter gene, which functions to influence all cellular serotonin systems, *Neuropharmacology*, Volume 55, Issue 6, 932-960.
28. S. Saxena, A.L. Brody, J.M. Schwartz, L.R. Baxter (1998) Neuroimaging and frontal-subcortical circuitry in obsessive-compulsive disorder, *Br. J. Psychiatry*, 173 pp. 26-38
29. Friedlander, L., Desrocher, M., (2006) Neuroimaging studies of obsessive-compulsive disorder in adults and children, *Clinical Psychology Review* 26, 32-49.
30. McDougle, C.J., Barr, L.C., Goodman, W.K. ve Price, L.H. (1999) Possible role of neuropeptides in obsessive compulsive disorder, *Psychoneuroendocrinology*, 24, 1-24.
31. Westenberg, H.G., N.A. Fineberg, D. Denys (2007) Neurobiology of obsessive-compulsive disorder: serotonin and beyond *CNS Spectrum*, 12, 14 27.

32. Mansari, M.E. ve Blier, P. (2006) Mechanisms of action of current and potential pharmacotherapies of obsessive-compulsive disorder, *Progressin Neuro-Psychopharmacology Biological Psychiatry*, 30, 362-373.
33. Young, S.N. (2007) How to increase serotonin in the human brain without drugs, *Rev. Psychiatr. Neurosci.*, 32 (6): 394–99.
34. H.G. Baumgarten, Z. Grozdanovic (1998) Role of serotonin in obsessive–compulsive disorder, *British Journal of Psychiatry*, 173 (35), pp. 13–20
35. W.K. Goodman, L.H. Price, S.A. Rasmussen (1989) Efficacy of fluvoxamine in obsessive compulsive disorder. A double-blind comparison with placebo, *Archives of General Psychiatry*, 46 pp. 36–43
36. Zohar, R.C., Zohar-Kadouch, S. Kindler (1992) Current concepts in the pharmacological treatment of obsessive compulsive disorder, *Drugs*, 43, 210–218.
37. Grados, M.A. (2010) The Genetics of Obsessive-Compulsive Disorder and Tourette Syndrome: An Epidemiological and Pathway-Based Approach for Gene Discovery, *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, Volume 49, Issue 8, 810-819.
38. Nestadt G, Grados M, Samuels J. F. (2010) Genetics of Obsessive-Compulsive Disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, Volume 33, Issue 1, 141-158
39. Pauls, D.L., Alsobrook, J.P. II, Goodman, W., Rasmussen, S., Leckman, J.F. (1995) A family study of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*, 512:76-79.
40. Bellodi, L., Sciuto, G., Diaferia, G., Ronchi, P., Smeraldi, E. (1992) Psychiatric disorders in the families of patients with obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res* 42:111-120.
41. Frisch, E., Michaelovsky, R., Rockah, I., Amir, H, Hermesh, N, Laor, C, Fuchs, J, Zohar, B, Lerer, S.F, Buniak, S, Landa, M, Poyurovsky, B, Shapira, R, Weizman, (2000) Association between obsessive-compulsive disorder and

- polymorphisms of genes encoding components of the serotonergic and dopaminergic pathways. *European Neuropsychopharmacology*, 3:205-209,
42. J. Zohar, E.A. Muller, T.R. Insel, R.C. Zohar-Kadouch, D.L. Murphy (1987), Serotonergic responsivity in obsessive-compulsive disorder: Comparison of patient and healthy control *Arch. Gen. Psychiatry*, pp. 946–951
 43. Billett, E.A., Richter, M.A., King, N. Ve ark. (1997) Obsessive compulsive disorder, response to serotonin reuptake inhibitors and the serotonin transporter gene, *Mol Psychiatry*, 2: 403–6.
 44. Enoch, M.A., Greenberg, B.D., Murphy, D.L., Goldman, D. (2001) Sexually dimorphic relationship of a 5-HT2A promoter polymorphism with obsessive-compulsive disorder, *Biol Psychiatry*, 49:385-388.
 45. Mundo, E., Richter, M.A., Sam, F., Macciardi, F., Kennedy, J.L. (2000) Is the 5-HT1D β receptor gene implicated in the pathogenesis of obsessive-compulsive disorder? *Am J Psychiatry*, 157:1160-1161.
 46. Alsobrook, J.P., Zohar, A.H., Leboyer, M., ve ark. (2002) Association between the COMT locus and obsessive-compulsive disorder in females but not males, *Am J Med Genet*, 114:116–20.
 47. Karayiorgou, M., Altemus, M., Galke, B.L., Goldman, D., Murphy, D.L., Ott, J. Ve ark. (1997) Genotype determining low catechol-O-methyltransferase activity as a risk factor for obsessive-compulsive disorder, *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 4572–4575.
 48. Niehaus, D.J., Kinnear, C.J., Corfield, V.A., Toit, P.L., Kradenburg, J., Moolman-Smook, J.C., Weyers, J.B., Potgieter, A, Seedat, S., Emsley, R.A., Knowles, J.A., Brink, P.A., Stein, D.J. (2001) Association between a catechol-O-methyl transferase polymorphism and obsessive-compulsive disorder in the Afrikaner population, *J Affect Disord*, 65:61-65.
 49. Meira-Lima, I., Shavitt, R.G., Miguita, K., Ikenaga, E., Miguel, E.C., Vallada, H. (2004) Association analysis of the catechol-o-methyltransferase (COMT), serotonin transporter (5-HTT) and serotonin 2A receptor (5HT2A)

- gene polymorphisms with obsessive-compulsive disorder, *Genes Brain Behav* 3:75–79.
50. Liu, S., Liu, Y., Wang, H., Zhou, R., Zong, J., Li, C., Zhang, X., Ma, X. (2011) Association of Catechol-O-Methyl Transferase (COMT) Gene $-287A/G$ Polymorphism With Susceptibility to Obsessive–Compulsive Disorder in Chinese Han Population, *Am J Med Genet Part B* 156:393–400.
 51. Young, S.N. (2007). How to increase serotonin in the human brain without drugs, *Rev. Psychiatr. Neurosci.*, 32 (6): 394–99.
 52. Bengel, D., Greenberg, B.D., Cora-Locatelli, G., Altemus, M., Heils, A., Li, Q, ve ark. (1999) Association of the serotonin transporter promoter regulatory region polymorphism and obsessive–compulsive disorder, *Mol Psychiatry*, 4: 463–6.
 53. Saiz, P.A., Garcia-Portilla, M.P., Arango, C., Morales, B., Bascaran, M.T., Martinez-Barrondo, S. Ve ark. (2008) Association study between obsessive-compulsive disorder and serotonergic candidate genes, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32: 765-70.
 54. Stein, M.B., Chartier ,M.J., Kozak, M.V., King, N., Kennedy, J.L. (1998) Genetic linkage to the serotonin transporter protein and 5HT2A receptor genes excluded in generalized social phobia, *Psychiatry Research*, 81: 283-291.
 55. Van der Wee, N.J., Van Veen, J.F., Stevens, H., Van Vliet, I.M., Van Rijk, P.P., Westenberg, H.G. (2008) Increased Serotonin and Dopamine Transporter Binding in Psychotropic Medication–Naïve Patients with Generalized Social Anxiety Disorder Shown by ^{123}I - β -(4-Iodophenyl)-Tropane SPECT, *The Journal of Nuclear Medicine* 49 (5), 757–763.
 56. Aan Het Rot, M., Mathew, S.J., Charney, D.S. (2009) Neurobiological mechanisms in major depressive disorder, *CMAJ*, 180: 305–13.
 57. Hu, X.Z., Lipsky, R.H., Zhu, G., Akhtar, L.A., Taubman, J., Greenberg, B.D., ve ark. (2006) Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive–compulsive disorder, *Am J Hum Genet.*, 78: 815–26.

58. Lesch, K.P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S.Z., Greenberg, B.D., Petri, S., Benjamin, J., Muller, C.R., Hamer, D.H., Murphy, D.L. (1996) Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region, *Science* 274(5292): 1527–1531.
59. Wendland, J.R., Moya, P.R., Kruse M.R., Ren-Patterson, R.F., Jensen, C.L., Timpano, K.R., Murphy, D.L. (2008), A novel, putative gain-of-function haplotype at SLC6A4 associates with obsessive-compulsive disorder, *Human Molecular Genetics*, 17 (5) , 717-723.
60. Klauck, S.M., Pautska, F., Benzer, A. ve ark. (1997) Serotonin transporter (5-HTT) gene variants associated with autism. *Hum Mol Genet*, 6: 2233-2235.
61. Heils, A., Teufel, A., Petri, S., Stober, G., Riederer, P., Bengel, D., Lesch, K.P. (1996) Allelic variation of human serotonin transporter gene expression, *J Neurochem* 66(6): 2621–2624.
62. Turhan, C. ve Klaus-Peter, L.L. (2007) Story short: the serotonin transporter in emotion regulation and social cognition, *Nature Neuroscience* 10, 1103 – 1109.
63. Cavallini, M.C., Di Bella, D., Siliprandi, F., Malchiodi, F., Bellodi, L. (2002) Exploratory factor analysis of obsessive-compulsive patients and association with 5-HTTLPR polymorphism, *Am J Med Genet* 114(3): 347–353.
64. Collier, D.A., Stober, G., Li, T. ve ark. (1996) A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders, *Mol Psychiatry*, 1: 453-460.
65. McDougle, C.J., Epperson, C.N., Price, L.H., Gelernter, J. (1998) Evidence for linkage disequilibrium between serotonin transporter protein gene (SLC6A4) and obsessive-compulsive disorder. *Mol Psychiatry*, 3:270-273.
66. Noskova T, Pivac N, Nedic G, Kazantseva A, Gaysina D, Faskhutdinova G, Gareeva A, Khalilova Z, Khusnutdinova E, Kozaric Kovacic D, Kovacic Z, Jokic M, Muck Seler D, Ethnic differences in the serotonin transporter

- polymorphism (5-HTTLPR) in several European populations *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 32 (2008), pp. 1735–1739
67. Carlstrom, E., Lindholm, P., Saetre, A., Rosengren, J.H., Thygesen, S., Djurovic, I. Melle ve ark. (2012) Association between a genetic variant in the serotonin transporter gene (*SLC6A4*) and suicidal behavior in patients with schizophrenia, *Behav. Brain Funct.*, 8 (1), 24.
 68. Tenhunen, J., Salminen, M., Lundstrom, K., Kiviluoto, T., Savolainen, R., Ulmanen, I. (1994) Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters, *Eur J Biochem*, 223: 1049–1059.
 69. Salminen, M., Lundström, K., Tilgmann, C., Savolainen, R., Kalkkinen, N., Ulmanen, I. (1990) Molecular cloning and characterization of rat liver catechol-O-methyltransferase, *Gene* 93: 241–247.
 70. Matsumoto, M., Weickert, C.S., Akil, M. Ve ark. (2003) Catechol O-methyltransferase mRNA expression in human and rat brain: evidence for a role in cortical neuronal function, *Neuroscience*, 116: 127–137.
 71. Grossman, M. H., Emanuel, B. S., Budarf, M. L. (1992). Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1--q11.2, *Genomics* 12, 822–825.
 72. Tenhunen, J., Ulmanen, I. (1993) Production of rat soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase forms from bifunctional mRNAs, *Biochem. J.*, 296(Pt 3), 595–600.
 73. Hong, J., Shu-Leong, H., Tao, X., Lap-Ping, Y. (1998) Distribution of catechol-O-methyltransferase expression in human central nervous system, *Neuroreport*, 9:2861–2864.
 74. Weinshilboum, R.M., Raymond, F.A., Frohnauer, M. (1979) Monogenic inheritance of catechol-O-methyltransferase activity in the rat: Biochemical and genetic studies, *Biochem Pharmacol* 28: 1239–1247.

75. Boudikova, B., Szumlanski, C., Maidak, B., Weinshilboum, R. (1990) Human liver catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics, *Clin Pharmacol Ther* 48:381–389.
76. Chen, J., Lipska, B.K., Halim, N., Ma, Q.D., Matsumoto, M., Melhem, S., Kolachana, B.S., Hyde, T.M., Herman, M.M., Apud, J., Egan, M.F., Kleinman, J.E., Weinberger, D.R. (2004) Functional Analysis of Genetic Variation in Catechol-O-Methyltransferase (COMT): Effects on mRNA, Protein, and Enzyme Activity in Postmortem Human Brain, *Am J Hum Genet*, 75:807-821.
77. Lachman, H.M., Morrow, B., Shprintzen, R., Veit, S., Parsia, S.S., Faedda, G., Goldberg, R., Kucherlapati, R., Papolos, D.F. (1996) Association of codon 108/158 catechol-O-methyltransferase gene polymorphism with the psychiatric manifestations of velo-cardio-facial syndrome, *Am J Med Genet*, 67:468–472.
78. E.C. Pooley, N. Fineberg, P.J. Harrison The met (158) allele of catechol-O-methyltransferase (COMT) is associated with obsessive–compulsive disorder in men: case–control study and meta-analysis *Mol Psychiatry*, 12 (2007), pp. 556–561
79. McLeod, H.L., Syvänen, A.C., Githanga, J., Indalo, A., Ismail, D., Dewar, K., Ulmanen, I., Sludden, J. (1998) Ethnic differences in catechol O-methyltransferase pharmacogenetics: Frequency of the codon 108/158 low activity allele is lower in Kenyan than Caucasian or South-west Asian individuals, *Pharmacogenetics* 8: 195–199.
80. Klemetsdal, B., Straume, B., Giverhaug, T., Aarbakke, J. (1994) Low catechol-O-methyltransferase activity in a Saami population. *Eur J Clin Pharmacol* 46: 231–235.
81. roche-applied-science-<http://www.roche-appliedscience.com>
82. Saiki, R. K., S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich and N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of B-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230:1350-1354.).

83. Watson ve ark., 1992 Watson, J. D., M. Gilman, J. Witkowski and M. Zoller. 1992. The polymerase chain reaction In: Recombinant DNA. Second Edition. New York. 79-98)
84. Innis, M.A. and D.H. Gelfand. 1990. Optimization of PCRs In Innis, M.A, Gelfand, D.H., Sninsky, J.J.and White T.J (eds.). PCR protocols A guide to methods and applications.Academic Press.3-12 pp.).
85. Akar, 1999, Bölüm 7-Akar N. 1999. Klinik Moleküler Patoloji' ye Giriş (Genişletilmiş ikinci baskı). Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi An. Tıp A.Ş Yayınları. Ankara)
86. Erlich ve ark. 1991 Erlich, H A, D. H. Gelfand and J. J. Sninsky. 1991. Recent advances in polymerase chain reaction. *Science*, 252:1643-1650.
87. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler Kitabı. Editörler: Güler Temizkan, Nazlı Arda. İstanbul Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGEM) Yayın No: 1. Nobel Tıp Kitabevleri, 1999.).
88. Funke, B., Malhotra, A.K., Finn, C.T., Plocik, A.M., Lake, S.L., Lencz, T., DeRosse, P., Kane, J.M., Kucherlapati, R. (2005) COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: A case control study, *Behav. Brain Funct.*, 1:19.
89. Kaiser ve ark. (2001) *Molecular Psychiatry* 6, 179–185.
90. Gelernter, J., Kranzler, H., Coccaro, E.F. ve ark. (1998) Serotonin transporter protein gene polymorphism and personality measures in African American and European American subjects, *Am J Psychiatry*, 155: 1332-1338.
91. Erdal Emin, M., Herken H., Barlas Ö., Erdal N. (2000) Serotonin Transporter Gen Polimorfizmi. *Klinik Psikiyatri*, 3:192-196.
92. Bearden, C.E., Jawad, A.F., Lynch, D.R., Sokol, S., Kaner, S.J., McDonald-McGinn, D.M., Saitta, S.C., Harris, S.E., Moss, E., Wang, P.P., Zackai, E., Emanuel, B.S., Simon, T.J. (2004) Effects of a functional COMT

polymorphism on prefrontal cognitive function in patients with 22q11.2 deletion syndrome, *Am J Psychiatry*, 161(9): 1700–2.

93. Pezawas, L., Meyer-Lindenberg, A., Drabant, E.M., Verchinski, B.A., Munoz, K.E., Kolachana, B.S., Egan, M.F., Mattay, V.S., Hariri, A.R., Weinberger, D.R. (2005) 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: A genetic susceptibility mechanism for depression, *Nat. Neurosci* 8(6): 828–834.
94. Heinz, A., Braus, D.F., Smolka, M.N., Wrase, J., Puls, I., Hermann, D., Klein, S., Grusser, S.M., Flor, H., Schumann, G. ve ark. (2005) Amygdala-prefrontal coupling depends on a genetic variation of the serotonin transporter, *Nat. Neurosci.* 8(1): 20–21.
95. Erdal ME, Tot S, Yazici K, Yazici A, Herken H, Erdem P, Dericci E, Camdeviren H. (2003) Lack of association of catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety* 18:41-5
96. Grados, M.A., Samuels, J., Shugart, Y.Y., Willour, V.L., Wang, Y., Cullen, B., Bienvenu, O.J., Hoehn-Saric, R., Valle, D., Liang, K.Y., Riddle, M.A., Wendland, J.R. Murphy, D.L., Nestadt, G ve Tera-Wadleigh, S. (2007) Rare plus common SERT variants in obsessive-compulsive disorder, *Mol. Psychiatry*, 12: 422 – 423.
97. Nackley, A.G., Shabalina, S.A., Lambert, J.E. ve ark. (2009) Low enzymatic activity haplotypes of the human catechol-O-methyltransferase gene: enrichment for marker SNPs, 1:4.
98. Chabane N, Millet B, Delorme R, Lichtermann D., Mathieu F, Laplanche J.L ve ark.(2004) Lack of evidence for association between serotonin transporter gene (5-HTTLPR) and obsessive-compulsive disorder by case control and family association study in humans, *Neuroscience Letters*, 10: 154-156.
99. Martin J, Cleak J, Willis-Owen SAG, Flint J, Shifman S. (2007) Mapping regulatory variants for the serotonin transporter gene based on allelic expression imbalance. *Molecular Psychiatry*.12:421–422.

100. Morey J., Hariri , A. R. , Gold , A. , Hauser , M. A. , Munger H. J. , Dolcos , F. , et al. 2011 . Serotonin transporter gene polymorphisms and brain function during emotional distraction from cognitive processing in posttraumatic stress disorder . *BMC Psychiatry* , 11(1), 76,
101. Acar Ş.T., Erdal M. E., Yazici K, Yazici A, Başterzi A.D.,(2010) Lack of Evidence For Association Between Serotonin Transporter Gene Polymorphism and Obsessive Compulsive Disorder, *Yeni Symposium Journal*, 48;1.
102. D. Denys, F. Van Nieuwerburgh, D. Deforce, H.G. Westenberg Association between serotonergic candidate genes and specific phenotypes of obsessive compulsive disorder, *J Affect Disord*, 91 (2006), pp. 39-44
103. Holmes A, Lit Q, Murphy DL, Gold E, Crawley JN. Abnormal anxiety-related behavior in serotonin transporter null mutant mice: the influence of genetic background. *Genes Brain Behav.* 2003;2:365–380
104. Holmes A, Murphy DL, Crawley JN. Abnormal behavioral phenotypes of serotonin transporter knockout mice: parallels with human anxiety and depression. *Biol Psychiatry.* 2003;54:953–959.
105. Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisante-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, Reznik I, Spivak B, Grisaru N, Karp L, Schiffer R, Kotler M, Strous RD, Swartz-Vanetik M, Knobler HY, Shinar E, Beckmann JS, Yakir B, Risch N, Zak NB, Darvasi A. A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2002;71:1296–1302
106. Palmatier MA, Pakstis AJ, Speed W, Paschou P, Goldman D, Odunsi A, et al. COMT haplotypes suggest P2 promoter region relevance for schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2004;9:859–870
107. Shifman, S., Bronstein, M., Sternfeld, M., Pisante-Shalom, A., Lev-Lehman, E., Weizman, A., Reznik, I., Spivak, B., Grisaru, N., Karp, L., Schiffer, R., Kotler, M., and 11 others. A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am. J. Hum. Genet.* 71: 1296-1302, 2002.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Saide Nur	Soyadı	Okutan
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	15.09.1979
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	44434357194
Email	okutannur@yahoo.com	Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü	
Lisans	İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi- Tıbbi Biyolojik Bilimler	2002
Lise	V.K.V Koç Özel Lisesi	1997

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			
2.			
3.			

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	iyi	86,25	
Almanca	Orta	Zayıf	zayıf		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75,20	74,58	72,691
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri