



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFREN TANISI ALMIŞ HASTA VE KONTROL
GRUPLARINDA, COMT GENİN EKSOZOMLARDAKİ
İFADESİNİN KANTİTATİF REAL TIME PCR İLE
ARAŞTIRILMASI**

DEMET TARHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ

MANİSA

2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFREN TANISI ALMIŞ HASTA VE KONTROL
GRUPLARINDA, COMT GENİN EKSOZOMLARDAKİ
İFADESİNİN KANTİTATİF REAL TIME PCR İLE
ARAŞTIRILMASI**

DEMET BULUT TARHAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DANIŞMAN

DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ

TEZ SAVUNMA SINAVI JÜRİ ÜYELERİ

Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

Prof. Dr. Haluk AKIN

MANİSA

2019

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10284188
Yazar Adı / Soyadı	DEMET TARHAN
T.C.Kimlik No	15557001790
Telefon	5078418835
E-Posta	demet-bulut88@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	Şizofren Tanısı Almış Hasta Ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR İle Araştırılması
Tezin Tercümesi	Investigation of the Expression of COMT Gene in Exosomes by Quantitative Real Time PCR in Schizophrenic Patients and Control Groups
Konu	Tıbbi Biyoloji = Medical Biology
Üniversite	Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	80
Tez Danışmanları	DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ
Dizin Terimleri	Genler-COMT=Genes-COMT ; Şizofreni=Schizophrenia ; Eksozomlar=Exosomes
Önerilen Dizin Terimleri	Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) = Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR)

22.08.2019

İmza:



**ŞİZOFREN TANISI ALMIŞ HASTA VE KONTROL GRUPLARINDA,
COMT GENİN EKSOZOMLARDAKİ İFADESİNİN KANTİTATİF REAL
TIME PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Öğrenci: Demet TARHAN

Danışman: Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

İkinci Tez Danışmanı: -

Bu tez çalışması 09.08.2019 tarihinde jürimiz tarafından "Tıbbi Biyoloji Programı"nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

(Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

(Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Haluk AKIN

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı)

Bu tez, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından başarılı bulunmuştur.

09.08.2019

Prof. Dr. Bilal Habes GÜMÜŞ
Enstitü Müdürü V.

İBEYAN

Bu tez çalışması kendi çalışmam olup tezin planlamasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bilgileri akademik ve etik kurallar ile elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışım olmadığını beyan ederim.



Demet TARHAN

II.TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli Danışman Hocam Sayın Doç.Dr. Nuray ALTINTAŞ' a,

Laboratuvar aşamasında desteğini esirgemeyen Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Özge SARICA YILMAZ' a,

Hasta temininde bize yardımcı olan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Kliniği' nden Sayın Hocam Prof. Dr. Ayşen ESEN DANACI ve Dr. Cihan GÜL' e

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Lisansüstü Öğrenciliğim Dönemimde emeği geçen tüm hocalarıma,

Projeye destek veren MCBÜ BAP yönetimine ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetimi ile çalışanlarına,

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme de sonsuz teşekkür ederim...

Demet TARHAN

III. KISALTMALAR

Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)
Bipolar Bozukluk (BPD)
D-amino Asit Oksidaz Aktivatörü (DAOA)
Dysbindin-1 (DTNBP1)
Dopamin Reseptörü D1 (DRD1)
Dopamin Reseptörü D2 (DRD2)
Dopamin Reseptörü D3 (DRD3)
Dopamin Reseptörü D4 (DRD4)
Dopamin Reseptörü D5 (DRD5)
Ekstrasellüler Vesiküller (EV)
Etilen Daimin Tetra Asetikasit (EDTA)
Gama-Aminobütirik Asit (GABA)
Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)
Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)
Histo-Uyumluluk Kompleksi (MHC)
Katekol-O-Metil Transferaz (COMT)
Kopya Sayısı Farklılıkları (CNV)
Membrana Bağlı COMT (MBCOMT)
Mesajcı RNA (mRNA)
Mikro Ribonükleik Asit (miRNA)
Multiveziküler Cisim (MVB)
Neuregulin-1 (NRG1),
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
Rhesus (Rh)
Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
Sitoplazmik COMT (S-COMT)
Şizofreni (SCZ)

IV. İÇİNDEKİLER

I. BEYAN	
II. TEŞEKKÜR	II
III. KISALTMALAR	III
IV. İÇİNDEKİLER	IV
V. ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
VI. GRAFİKLER DİZİNİ	VIII
VII. RESİMLER DİZİNİ	IX
VIII. TABLOLAR DİZİNİ	X

1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Şizofreninin Tanımı	5
4.2. Şizofreninin Tarihçesi	6
4.3. Şizofrenide Başlangıç Yaşı ve Belirtileri	6
4.3.1. Başlangıç Yaşı	6
4.3.2. Belirtileri	7
4.3.2.1. Pozitif Belirtiler	7
4.3.2.2 Negatif Belirtiler	8
4.3.2.3 Kognitif (Bilişsel) Belirtiler	8
4.4. Şizofrenide Etkili Faktörler	8
4.4.1. Yaş Faktörü	8
4.4.2. Cinsiyet Faktörü	8
4.4.3. Genetik Faktörler	8
4.4.4. Çevresel Faktörler	9

4.4.5. Tetikleyici Faktörler	9
4.5. Şizofreninin Alt Tipleri	10
4.5.1. Paranoid Tip Şizofreni	10
4.5.1.2 Paranoid Tip Şizofreni Ölçütleri	10
4.5.2. Dezorganize Tip Şizofreni	10
4.5.3. Katatonik Tip Şizofreni	11
4.5.4. Ayrışmamış Tip Şizofreni	11
4.5.5. Rezidüel Tip Şizofreni	11
4.6. Epidemiyoloji (Sıklık ve Yaygınlık)	11
4.7. Etiyoloji (Oluş Nedenleri)	13
4.8. Şizofrenide Dopamin Hipotezi	13
4.9. Şizofreni Genetiği	14
4.9.1. Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)	16
4.9.2. Epigenetik Değişiklikler	17
4.9.3 Şizofrenide Aday Genler	17
4.9.3.1. Şizofrenide COMT Geninin Özellikleri	18
4.10. Eksozom' un İşlevi	19
4.11. Real Time PCR Tekniği	21
5. GEREÇ VE YÖNTEM	22
5.1. Materyal	22
5.1.1. Kimyasallar ve Kitler	23
5.1.2. Plastik Malzemeler	23
5.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	24
5.2. Metod	25
5.2.1. Eksozomdan RNA İzolasyonu ve İleri Analizi	25
5.2.1.1 exoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit İçeriği	25
5.2.1.2. QIAcube Cihazı ile exoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit Protokolü	26
5.2.2. cDNA Sentezi	27
5.2.2.1 RT ² HT First Strand Kit İçeriği	28
5.2.2.2. RT ² HT First Strand Kit Protokolü	28
5.2.3 Real Time PCR Analizi	29
5.2.3.1. Real Time PCR Primerleri	29

5.2.3.2. GAPDH Neden Kontrol Gen Bölgesi	30
5.2.3.3. Real Time PCR Çalışma Protokolü	31
5.2.3.4. Real Time PCR Verilerinin Analizi	32
6. BULGULAR	34
6.1. Real Time PCR’da Gözlenen COMT Amplifikasyon Eğrileri	34
6.2. $2^{-\Delta\Delta CT}$ Metodu Kullanılarak Relatif Gen Ekspresyon Verilerinin Analizi	35
7. TARTIŞMA	37
8. KAYNAKLAR	40
9. EKLER	44
EK 1: Enstitü Yönetim Kurulu Kararı	44
EK 2: Etik Kurul İzin Belgesi	45
EK 3: Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	46
EK 4: Sağlıklı Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	51
EK 5: Biyolojik Materyal Saklama Onay Formu	56
EK 6: Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu	58
10. ÖZGEÇMİŞ	59

V. ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Şizofreni de Genom apında Bağlantı Analizlerinin Özeti

Şekil 2. Biyogenez ve Ekstrasellüler Veziküller’ in Salınımı.

Şekil 3. Farklı terapötik uygulamalar için eksozomların yeniden modifiye edilip yerleştirilmesi

Şekil 4. COMT geni oligonükleotid primeri

Şekil 5. GAPDH geni oligonükleotid primeri

Şekil 6. Real Time PCR’ da gözlenen COMT geni amplifikasyon eğrileri

Şekil 7. Real Time PCR’ da gözlenen GAPDH geni amplifikasyon eğrileri

VI. GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. COMT Geni Ekspresyon Seviyeleri



VII. RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Eksozomdan RNA izolasyon işlemi

Resim 2. cDNA elde etme işlemi

Resim 3. Real Time PCR işlemi



VIII.TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Şizofrenide hastalık öncesi belirtiler

Tablo 2. Şizofreni tanısı konan hastaların cinsiyete göre farklılık gösteren sosyodemografik özellikleri

Tablo 3. Şizofreni Genetik Epidemiyolojisi Çalışmaları Özeti

Tablo 4. 14 Şizofreni Aday Geninin Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) Kapsamı

Tablo 5. COMT geni Val158Met polimorfizmine göre sosyodemografik özellikleri

Tablo 6. RT² HT First Strand Kit Uygulamasında Kullanılan Bileşenler

Tablo 7. RT² HT First Strand Kit Uygulamasında Kullanılan Thermal Cycler Programı

Tablo 8. Real Time PCR bileşenlerinin hazırlanması

Tablo 9. Real Time PCR Programı

Tezin Başlığı: Şizofren Tanısı Almış Hasta Ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR İle Araştırılması

Öğrencinin Adı: Demet BULUT (TARHAN)

Danışman: Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Anabilim dalı: Tıbbi Biyoloji

1.ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı şizofren tanısı alan hasta bireyler ile sağlıklı bireyler arasında COMT geninin eksozomlardaki ifade farklılığının araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Kliniği'nde tedavi gören ve kronik şizofren tanısı konmuş 8 birey hasta grubunu oluşturmuştur. Ailesinde kronik şizofreni öyküsü bulunmayan, sağlıklı gönüllü 8 birey kontrol grubunu oluşturmuştur. COMT geninin eksozomlardaki ifadesinin RT-PCR tekniği ile araştırılması yapılmıştır. Analiz sonuçları $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Araştırmamızın sonuçlarına göre 1, 2, 4, 6, 7 ve 8 numaralı hastalarımızda COMT geni ekspresyon seviyelerinin anlamlı up regülasyonu olduğu belirlenmiştir.

Sonuçlar: Çalışmamızda şizofren tanısı almış hasta ve şizofren tanısı almamış kontrol gruplarında, COMT geninin eksozomlardaki ifadesini saptamak için Kantitatif Real Time PCR yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlarımızın COMT geni ekspresyon seviyesinin yukarı regülasyonda önemli bir rol alabileceğini gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: Şizofreni, COMT, Eksozom, RNA

Thesis Title: Investigation of the Expression of COMT Gene in Exosomes by Quantitative Real Time PCR in Schizophrenic Patients and Control Groups

Student's Name: Demet BULUT (TARHAN)

Advisor: Assoc. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Department: Medical Biology

2.ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to investigate the difference in expression of COMT gene in exosomes between patients with schizophrenia and healthy individuals.

Material and Methods: In our study, 8 patients who were diagnosed as chronic schizophrenia and treated at the Psychiatry Clinic of Hafsa Sultan Hospital, Manisa Celal Bayar University, consisted the patient group. 8 healthy volunteers who didn't have a family history of chronic schizophrenia consisted the control group. The expression of COMT gene in exosomes was investigated by RT-PCR technique. The results of the analysis were evaluated using $2^{-\Delta\Delta CT}$ method.

Results: According to the results of our study, it was determined that COMT gene expression levels were significant up regulation in our patients 1, 2, 4, 6, 7 and 8.

Conclusions: In our study, quantitative Real time PCR method was used to determine the expression of COMT gene in exosomes in patients with schizophrenia and control groups without schizophrenia. Our results may indicate that the expression level of the COMT gene may play an important role in up regulation.

Key words: Schizophrenia, COMT, Exosome, RNA

3. GİRİŞ

Psikiyatrik bozukluk; sanrı, anormal konuşma ve davranış gibi algı, düşünce ilgili alanlarda görülen birçok belirtilere neden olan, kişiyi sosyal ortamlardan uzaklaştıran bir bozukluk olarak bilinmektedir. Psikiyatrik bozukluklar, çocukluk yıllarından başlayarak, işlevselliği bozar ve çevreyle önemli uyumsuzluk ve çatışmalar neden olur, topluma maliyeti oldukça fazladır ve her coğrafi bölgede görülebilmektedir (Delibaş ve Çam 2018).

Psikiyatrik bozukluklar gelişmiş ülkelerde sıralamaya bakıldığında üçüncü büyük sağlık sorunudur. Şizofreni (SCZ) ve Bipolar bozukluk (BPD) toplum ve aile için oldukça pahalı ve ağır yük olan psikiyatrik bozukluklardan olduğu belirtilmektedir (Behbahani ve ark. 2015). Özellikle şizofreni genç yaşlarda başlar, ilerler ve hastalığın son aşamaları kişiden kişiye değişen bir hastalıktır. Etiyolojisi net olarak belirlenmemiş olup kişide önemli ölçüde yeti eksikliğine yol açtığı bildirilmektedir. Şizofreni yapılan araştırmalarda yıllık olarak yaygınlığı %1 olarak kabul edilmektedir (Kocal ve ark. 2017).

Hastalığın genetik etiyolojisinde başlangıçtaki çalışmalar aile bireyler, ikizler üzerinde yapılan çalışmalarla bilinmektedir. Araştırmalar %81' lik kalıtım oranı ile genetik etkinin şizofreni etiyolojinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. İnsan beyni, bilgi işlemenin farklı yönlerine aracılık eden nöronların heterojen alt kümelerinden oluşan olağanüstü derecede karmaşık bir yapıdır (Nasrallah ve Delisi 2014).

Hastalığın arkasında yatan faktörlerle ilgili sonuçlar önemini devam ettirmekle birlikte bunun hem genetik hem de çevresel faktörlerin bir birleşiminden kaynaklandığı kabul edilmektedir (Sperber 2007).

Psikiyatrik hastalıkların nörobiyolojisi ve kalıtımını tespit etmeye yönelik çok fazla sayıda çalışma yapılmasına rağmen, psikiyatrik hastalıkların kalıtım açısından etkileri tam olarak bilinmemektedir (Camkurt ve ark. 2016).

Genetik alanındaki çalışmalar ile son yıllarda bağlantı analizleri ile şizofrenide risk faktörü olabilecek çok sayıda gen tanımlandığı bildirilmektedir (Acar ve Kartalcı 2014). şizofreniye neden olan genlerin 6p, 10p, 15q, 18q ve 22q kromozomların üzerinde olduğu düşünölmektedir (Sperber 2007). 22. kromozom, insan genomunun %1,6 – 1,8' lik kısmını içeren ikinci en küçük insan kromozomudur. Katekol-O-Metil Transferaz (COMT), kromozom 22q11.2 üzerinde en çok incelenen genlerden olduğu belirtilmektedir (Elvan ve ark 2011). COMT' daki şizofreniye yatkınlığa meyilli polimorfizm içeren gen çalışmaları sonuçları uyumlu olduğu bildirilmektedir (Chana ve ark. 2013).

COMT, dopamin yolaklarında önemli bir fonksiyonu olan bir enzim molekülünü kodlamaktadır. Katekolamin metabolizması ve farmakolojisi ile katekol metabolizması varyasyonlarının kalıtım işleyişi oldukça önemli olmaktadır. COMT geninde en çok incelenen polimorfizm rs4680'dir ve kodon 158'de Valin bir Metiyonin dönüşümüne sebep olmaktadır. Değişik popölasyonlarda rs4680 polimorfizm ile ilgili yapılan çalışmalar pozitif ve negatif sonuçlar vermektedir (Acar ve Kartalcı 2014).

4.GENEL BİLGİLER

4.1 ŞİZOFRENİNİN TANIMI

Şizofreni, dünya üzerinde nüfusun yaklaşık olarak %1' ini etkileyen ciddi bir kronik zihinsel bozukluktur. Özellikle geç ergenlikte ortaya çıkan dil, düşünce, algı, duygusal etki ve benlik duygusu da dahil olmak üzere insan biliş ve kişiliğinin birkaç temel özelliğini bozduğu belirtilmektedir. Hastalık 18 yaşından önce tespit edildiğinde, erken başlangıçlı SCZ olarak tanımlanır, bu daha çok ailevi etkiler ve zayıf sonuçlarla ilişkili SCZ' nin bir alt kategorisini oluşturmaktadır. SCZ' nin çok yaygın prevalansına rağmen, patogenezi hakkında çok az şey bilinmediği vurgulanmaktadır. Bu nedenle klinisyenler tanı için ve hastalığın seyri boyunca ilerleme ve tedavi yanıtını değerlendirme konusunda klinik semptomlara güvenme eğilimindedir (Xu ve ark. 2016).

Önceki çalışmalar büyük ölçüde şizofreni nedeni ile %64-80 arasında, tahmini bir kalıtsallığa sahip genetik faktörlerin katkıda bulunduğunu göstermektedir. Genom çapında yapılan bilimsel araştırmalar şizofreni ile ilişkili birden fazla duyarlı bölge tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, kodlama yapmayan bölgelerde konumlarından dolayı birtakım varyantlar araştırılmaya devam edilmektedir (Yang ve ark. 2019).

Yapılan araştırmalar sonucu şizofreni hastalığının son yıllarda biden fazla etki alanı olduğu düşünülmektedir (Acar ve Kartalcı 2014).

Şizofreninin popülasyon düzeyindeki en güçlü genetik ilişkisi, ana Histo-Uyumluluk Kompleksi (MHC) lokusundaki çeşitliliği içermektedir. Ancak bununla ilgili genler ve moleküler mekanizmaların tanımlanması zor olduğu belirtilmektedir (Sekar ve ark. 2016).

4.2 ŞİZOFRENİNİN TARİHÇESİ

Şizofreni hastalığı uzun yıllar bilim insanlarını ilgilendiren ciddi bir hastalık olarak belirtilmektedir. 1860 yılında Morel adı verilen bilim insanı “erken bunama” anlamına gelen “dementia preco” terimini kullanmaktadır. 1911’ de, Eugen Bleuler şizofreni terimini tekrar ele alarak, hastalıkta kişinin ruhsal yaşamındaki olumsuz etkilerin önemli olduğunu vurgulamış, erken başlamasının ve bunama ile sonuçlanmasının gerekli olmadığını söyleyerek hastalığı Yunanca “zihnin bölünmesi, yarılması” anlamına gelen “schizophrenia” olarak tanımlamaktadır (Özpoyraz ve Taman 1998).

4.3 ŞİZOFRENİDE BAŞLANGIÇ YAŞI VE BELİRTİLERİ

4.3.1. Başlangıç Yaşı

Şizofrenide başlangıç yaşı, erkeklerde kadınlara göre daha erken olduğu bildirilmektedir. Bu farklılığa özellikle aile öyküsü, gidiş ve tedavi yanıtları, klinik görünüm neden olabilmektedir (Belli ve ark. 2007).

Şizofreni hastalığı genel olarak en çok 15-40 yaşları arasında görülmektedir. Bireylerde hastalığın başlama durumu birbirinden farklı olduğu belirtilmektedir. Başlarda hastalığın etkileri aile fertleri tarafından anlaşılamayabilir ve zaman geçtikçe hastalık yerleşebilmektedir. Belirtiler çok netleşmeden ilk olarak şizoid ve şizotipal kişilik özellikleri göstermektedir. Hastalık hızlı ilerleyebildiği gibi yavaş bir şekilde başlayabilmektedir (Yavuz 2008).

Hastalığın başlarında hastaların %95’ inde hezeyanların, %68’ inde halüsinasyonların, %61’ inde yapısal düşünce bozukluğunun varlığı saptanmaktadır. Hasta bireylerin büyük bir kısmında tek bir belirtiden birden çok belirti görülmektedir. Vakaların yarısından fazlasında ise, en az iki pozitif belirtinin birlikte başladığı görülmektedir (Üçok 2008).

Depresif belirtiler hastalığın (en azından erken döneminde) temel belirtilerinden birini oluşturmakta ve hastanın yaşadığı psikotik çözülmeye bir tepki olarak yorumlanmaktadır (Tablo 1) (Belen 2009).

Tablo 1. Şizofrenide hastalık öncesi belirtiler (Belene 2009).

Nörotik Belirtiler	Anksiyete, huzursuzluk, kızgınlık, irritabilite
Duygu durumuyla ilişkili belirtiler	Depresyon, zevk alamama, suçluluk duyguları, intihar düşünceleri, duygudurumda oynamalar
İstek değişiklikleri	Apati, dürtü kaybı, ilgi kaybı, haksızlık, enerji azlığı
Fiziksel belirtiler	Somatik yakınmalar, kilo kaybı, uyku düzensizlikleri
Eşik altı psikotik belirtiler	Algısal tuhafliklar, şüphecilik, beden ve dış dünya algısında değişiklikler
Bilişsel değişiklikler	Dikkat ve konsantrasyon bozuklukları, zihinsel meşguliyetler, gündüz düşleri, düşüncede somutlaşma
Davranış değişiklikleri	İşlevsellikte azalma, sosyal geri çekilme, dürtüsellik, tuhaf davranışlar, saldırgan tutumlar
Diğer	Obsesif kompulsif belirtiler, dissosiyatif yaşantılar, kişiler arası duyarlılık artışı

4.3.2. Belirtileri

Yapılan çalışmalar şizofreni hastalığında üç değişik semptom olduğunu bildirmektedir; Pozitif belirtiler, Negatif belirtiler, Kognitif (Bilişsel) belirtiler (Yavuz 2008; Belene 2009).

4.3.2.1 Pozitif belirtiler

Hallüsinasyonlar çoğunlukla işitsel olmakla birlikte diğer duyu alanlarına uyan hallüsinasyonlar da görülmektedir. Pozitif belirtiler özellikle halüsinasyonlar ve düşünce bozukluğu ile bildirilmektedir. Halüsinasyonlar genellikle işitsel olup diğer duyu alanlarında da görülmektedir (Belene 2009).

4.3.2.2 Negatif belirtiler

Şizofrenide negatif belirtiler genellikle irade azlığı, zevk alamama ve enerji düzeyinde düşme ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Belene 2009).

4.3.2.3 Kognitif (Bilişsel) belirtiler

Kognitif (bilişsel) belirtiler hayatı normal akışını engelleyen belirtilerdir. Akut şizofrenide uyumun genelde bozulmadığı belirtilmektedir. Dikkat ve konsantrasyon bozulabilmekte, hafıza kaybı olamamasına rağmen bazen hatırlamada güçlükler olabilmektedir (Yavuz 2008).

4.4 ŞİZOFRENİDE ETKİLİ FAKTÖRLER

4.4.1. Yaş Faktörü

Genellikle en sık 15-40 yaşları arasında görülmektedir. Başlangıç tipleri birbirinden farklıdır (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

4.4.2. Cinsiyet Faktörü

Hastalığın erkeklerde kadınlara oranla daha ağır ve ciddi seyrettiği belirtilmektedir (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

4.4.3. Genetik Faktörler

Şizofreni ile ilgili yapılan çalışmalar genetik etkinin çok fazla olduğunu göstermektedir. Aile bireylerinde şizofren hastası olan bireylerde hastalığa yakalanma oranının fazla olduğu ve ebeveynlerin her ikisine de şizofren tanısı konmuş ise çocuklarında hastalığın görülme oranı yaklaşık %40 olduğu belirtilmektedir (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

4.4.4. Çevresel Faktörler

Çevre şartları, şizofreninin gelişmesinde etkili olabilmektedir. Araştırmalarda kentleşme derecesi ile şizofreni arasındaki ilişkinin önemli olabileceği belirtilmektedir. Kentleşme oranı nüfus yoğunluğu ile tespit edilmiş ve nüfus yoğunluğu çok yüksek olan yerlerde yaşayan bireylerin %68-77 oranında şizofreni riskinin fazla olduğu bildirilmektedir. Sosyal sınıf ve şizofreni arasındaki bağı araştıran 30 çalışmanın sonuçları gözden geçirildiğinde, düşük sosyoekonomik konumun şizofreni riski ile yüksek ilişkili olduğu belirtilmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda çocukluk dönemlerinde yaşam şartlarındaki zorluk ile şizofreni arasında önemli derecede ilişkili bulunduğu bildirilmektedir (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

4.4.5. Tetikleyici Faktörler

Madde kullanımı şizofreninin gelişmesini etkileyen faktör olarak belirtilmektedir (Sigara, Alkol, Esrar kullanımı) (Yavuz 2008). Şizofreni tanısı alan bireylerin cinsiyete göre farklılık gösteren sosyodemografik özellikleri Tablo 2’de belirtilmektedir (Belli 2007).

Tablo 2. Şizofreni tanısı alan hastaların cinsiyete göre farklılık gösteren sosyodemografik özellikleri (Belli 2007).

Değişkenler	Erkek Sayı	Erkek %	Kadın Sayı	Kadın %	Toplam Sayı	Toplam %	χ^2	p
Cinsiyet	329	71.1	134	28.9	463	100		
Eğitim							38.44	<0.001
Okuryazar değil	63	19.1	59	44.0	122	26.3		
Okuryazar	43	13.1	21	15.7	64	13.8		
İlkokul	130	39.5	40	29.9	170	36.7		
Ortaokul	35	10.6	6	4.5	41	8.9		
Lise	52	15.8	7	5.2	59	12.7		
Üniversite	6	1.8	1	0.7	7	1.5		
Meslek							18.16	=0.006
Çalışmıyor	287	87.2	118	88.1	405	87.5		
Emekli	10	3.0	1	0.7	11	2.4		
Memur	7	2.1	-	-	7	1.5		
İşçi	5	1.5	-	-	5	1.1		
Serbest meslek	18	5.4	15	11.2	33	7.2		
Öğrenci	2	0.6	-	-	2	0.4		
Medeni durum							31.66	<0.001
Evli	95	28.9	47	35.1	142	30.7		
Bekar	218	66.3	61	45.5	279	60.3		
Boşanmış	12	3.6	15	11.2	27	5.8		
Dul	4	1.2	11	8.2	15	3.2		
Çocuk sayısı							18.91	=0.002
Yok	43	38.7	40	54.8	83	45.1		
1	6	5.4	9	12.3	15	8.2		
2	19	17.1	5	6.8	24	13.0		
3	11	9.9	5	6.8	16	8.7		
4	6	5.4	9	12.3	15	8.2		
5 ve üstü	26	23.4	5	6.8	31	16.8		
Madde kullanımı							79.31	<0.001
Yok	25	7.6	54	40.3	79	17.1		
Sigara	272	82.7	80	59.7	352	76.0		
Sigara+alkol	22	6.7	-	-	22	4.8		
Sigara+esrar	5	1.5	-	-	5	1.1		
Sigara+esrar+alkol	5	1.5	-	-	5	1.1		

4.5 ŞİZOFRENİNİN ALT TİPLERİ

Şizofreninin bilinen alt tipleri olan hebefrenik, paranoid, katatonik, farklılaşmamış ve rezidüel tipler kaldırılmaktadır. Bu değişikliğin nedenleri olarak bu alt tiplerin çok az kullanılması ve bu alt tiplerin varlığını düşündüren çalışmaların yöntem açısından zayıf kalan yanları gösterilmektedir (Şar 2011).

Buna karşın araştırmacı ve klinisyenlerin olası şizofreni alt tiplerini keşfetme ve ayıklamaya yönelik ilgisi sürüyor ve bunun nedeni belki de bu tip yaklaşımın günün birinde bozukluğun etiyojisini anlamaya yardım etmesi düşüncesi olduğu belirtilmektedir (Galenos 1988).

Şizofrenide; Paranoid Tip, Dezorganize Tip, Katatonik Tip, Ayrışmamış Tip ve Rezidüel Tip olmak üzere 5 alt tip bildirilmektedir (Galenos 1988).

4.5.1 Paranoid Tip Şizofreni

Sıklıkla halüsinasyonlar görülmektedir. Genellikle 30' lu yaşların başında ortaya çıkmaktadır. Çabuk öfkelenirler ve saldırganlık halleri olabilmektedir. Bu bireyler genellikle hasta olduklarını reddederler ve semptomlarını net olarak ortaya koymamaktadırlar (Yavuz 2008).

4.5.1.2 Paranoid tip şizofreni ölçütleri

- Genellikle sık görülen halüsinasyonlar bulunmaktadır,
- Konuşmada tutarsızlık, dağınık davranış söz konusu değildir (Butcher 2013).

4.5.2 Dezorganize Tip

Genç yaşta, akut, renkli pozitif semptomlarla başlamaktadır. Dezorganize davranış, dezorganize konuşma, sıg veya uygunsuz efekt temel semptomlardan olduğu belirtilmektedir. Şizofreni alt tipleri arasından gidiş özelliği bakımından en ağır olan şizofreni tipi olarak bildirilmektedir (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

4.5.3 Katatonik Tip Şizofreni

Hareket bozukluklarının yoğun olduğu tip olarak değerlendirilmektedir. Kişi sabit bir durumda uzun süre kalabilmektedir. Çevre ile bağının olmadığı belirtilmektedir. Kaslarda rigidite bulunmaktadır (Yavuz 2008).

Katatonik hastalar aşırı uyuşukluk durumundan büyük bir heyecan durumuna geçebilmekte ve bu sırada büyük bir “hareket baskısı” altında görünüp saldırganlaşabilmektedir. Bu yüzden bazı mani hastalarından ayırt edilmeleri olanaksızlaşabilmektedir. Heyecanla ve anlaşılabilir bir şekilde konuşabilmekte ya da bağırabilmektedirler. Hızla ileri geri volta atabildiği, herkesin ortasında cinsel etkinliklere dalabildiği, kendilerini yaralamaya hatta öldürmeye kalkışabildiği ya da başkalarına saldırıp öldürme girişiminde bulunabildiği belirtilmektedir (Butcher 2013).

4.5.4 Ayrışmamış Tip

Şizofreni teşhisi koyduracak semptomların bulunduğu fakat bu semptomların diğer şizofreni tiplerine ait kriterleri karşılamadığı şizofreni tipi olarak belirtilmektedir (Summakoglu ve Ertugrul 2018).

4.5.5 Rezidüel Tip Şizofreni

Şizofrenik tekrarlanmanın ardından daha çok negatif semptomların yoğun olduğu kronik şizofrenik bozukluk olarak değerlendirilmektedir. Umursamazlık, ilgisizlik, toplumdan kopma, düşüncede somutlaşma ve yoksullaşma, kendine bakımda azalma gibi belirtiler gösterebilmektedir (Koroğlu 2007).

4.6 EPİDEMİYOLOJİ (SIKLIK VE YAYGINLIK)

Meta-analiz yöntemlerini kullanan sistematik incelemeler, şizofreni sıklığının ve yaygınlığının toplumlar arasında önemli farklılıklar gösterdiği sonucuna ulaşmaktadır (McGrath ve ark. 2004, Saha ve ark. 2005).

Söz konusu oransal farklılıkların ilişkili olduğu risk özellikleri arasında kentsel bir yerleşim biriminde doğmak ve yetişmek, göçmen olmak, baba yaşının fazla olması ve esrar kullanımı gibi nedenlerin öne çıktığı bildirilmektedir (Murray ve ark. 2007).

Türkiye’ de şizofreni ya da psikotik bozukluklar üzerine yapılmış epidemiyolojik araştırma sayısının oldukça düşük olduğu belirtilmektedir. Türkiye toplumunda şizofreni epidemiyolojisiyle ilgili bazı dolaylı sonuçlar ise Batı Avrupa ülkelerinde yaşayan Türkiye kökenli göçmenler üzerine bildirilen oranlardan elde edilebilmektedir. Hollanda’da yaşayan Türkiye kökenliler arasında şizofreni ve diğer psikotik bozuklukların sıklığı farklı araştırmalarda 12,7-84,2/100.000 olarak, şizofreni yaşam boyu yaygınlığı ise 7,2/1000 olarak bildirilmektedir (Binbay ve ark. 2009). Türkiye’de bildirilen oranlara benzer biçimde Türkiye kökenli göçmenler arasında da psikotik bozukluk riski erkeklerde daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Türkiye kökenli göçmenlerde ise psikotik bozuklukların diğer göçmen gruplarına göre daha düşük olduğu bildirilmektedir (Cantor-Graae ve Selten 2005, Veling ve ark. 2006).

Düşük ayrımcılık algısı ve yüksek etnik özdeşim, toplumsal iç içeliğin Türkiye kökenli göçmenler arasında diğer gruplara göre daha yüksek olmasını ve göçmen durumuyla ilgili stres etkenlerini azalttığı düşünülmektedir (Binbay ve ark. 2009).

Şizofreni genetik epidemiyolojisi çalışmalarının bir özeti Tablo 3’ te sunulmaktadır (Sullivan 2005).

Tablo 3. Şizofreni Genetik Epidemiyolojisi Çalışmaları Özeti (Sullivan 2005)

Çalışma Tipi	Kavramsal Temel	Çalışma Sayısı	Bulgular
Ailesel	Şizofreni olgularında birinci derece akrabalarında şizofreni riski	11	Şizofrenide önemli aile birleşimi; oranı: %95
Evlat Edinme	Evlat edinme kümesinde şizofreni riski	5	Evlat edinenlerde risk artışı %95
İkiz	Monozigotik ve dizotik ikizlerde şizofreni riski	12	Şizofreni sorumluluğunda kalıtım derecesi:%81 İkiz bir çiftin üyeleri tarafından paylaşılan çevresel etkiler:%11

4.7 ETİYOLOJİ (OLUŞ NEDENLERİ)

Genetik etki, beyin görüntüleme, nörokimya, nöropatoloji çalışmalarından elde edilen bulgular şizofreninin etiyolojisine ilişkin önemli bilgiler elde edilmesini sağlamaktadır (Kocal 2017).

Patofizyolojisinde dopamin sistemi ve glutamat, serotonin, Gama- Aminobütrik asit (GABA) gibi diğer nörotransmitter sistemler rol almaktadır. Dopamin hipotezine göre dopaminin regülasyonunda bozukluk mevcut olup prefrontal kortekste dopamin seviyesinde azalma, subkortikal ve limbik bölgelerde ise artma olduğu ileri sürülmektedir. Kortikal dopamindeki azalmanın hipofrontalite, bilişsel işlevlerde bozulma ve negatif belirtilere ilişkili olduğu, artmış subkortikal ve limbik dopaminin ise pozitif belirtilerden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Ertuğrul 2005).

Değişmiş gen ekspresyonu şizofreni ve şizofreni ile ilişkili bozukluklar şizofreni hastalarının biyolojik akrabalarında artmış olarak bulunduğu bildirilmektedir. En bilinen örneği tek yumurta ikizlerindedir. Genetik geçiş şekli bilinmemektedir. Heterojen görüş daha uygun görülmektedir (Yavuz 2008).

Çevresel etkenler her ne kadar belirtilerin ortaya çıkmasına neden olsa da genetik etkenlerin önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir (Ertuğrul 2005).

4.8 ŞİZOFRENİDE DOPAMİN HİPOTEZİ

Nörokimyasal etkilerin şizofreni etiyolojisinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmektedir. Bu nörokimyasal etkiler dört kimyasal iletili ile ilişkilendirilmektedir. Bunlar, dopaminerjik, serotonerjik, glutamaterjik ve noradrenerjik sistemlerdir. Günümüzde bozukluğun oluşumunun açıklanmasında en yaygın kabul gören düşünce olan dopamin hipotezine göre şizofreni, dopaminerjik işlevlerde bir artışla sonuçlanan dopamin iletim ve metabolizmasının denge bozukluğundan kaynaklanmaktadır (Yavaşçı ve Akkaya 2012).

Dopamin, beynin substansia nigra ve ventral tegmental bölgelerinden salgılanır ve salınımindaki değişiklikler şizofreniyle ilişkilendirilmektedir. Hiperaktif dopamin iletiminin şizofrenik semptomlarla sonuçlanması, orijinal dopamin hipotezini oluşturmaktadır. 1963 yılında Arvid Carlsson ve Margit Lindqvist tarafından klorpromazin ve haloperidolle dopamin reseptörlerinin bloke edilmesi, psikiyatride bir dönüm noktası olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, dopamin aşırı aktivitesiyle şizofrenik semptomlar arasındaki ilişki hala sorgulanmaktadır. Dopaminerjik ve

serotonerjik bozuklukların, şizofreninin pozitif ve negatif semptomlarını oluşturmakta, birlikte rol oynadıkları bilinmektedir (Kaya ve Erden 2016).

Şizofreninin dopamin hipotezi, antipsikotik ilaçların Dopamin Reseptörü D2 (DRD2) reseptörü antagonistleri olduğuna ve etkinliklerinin DRD2 reseptörleri için afinite ile ilişkili olduğuna dair kanıtlara dayanarak yaklaşık 3 yıl boyunca kabul edildiği bildirilmektedir. Dopamin sistemindeki genlerin kusurları bir şizofreni kökeninde önemli rol oynamaktadır. Beyindeki genler Dopamin Reseptörü D1 (DRD1), Dopamin Reseptörü D2 (DRD2), Dopamin Reseptörü D3 (DRD3), Dopamin Reseptörü D4 (DRD4) ve Dopamin Reseptörü D5 (DRD5) izole edilip klonlanarak 5 dopamin reseptörü için genlerin kromozomal konumları belirtilmektedir. Dopamin reseptörü genlerinin kromozomal konumları DRD1, 5q35.1; DRD2, 11q22.5; DRD3, 3q13.3; DRD4, 11p15.5; DRD5, 4p15.2 şeklinde belirtilmektedir (Berry ve ark 2003).

Beyinde beş dopamin yolağı bulunmaktadır. Bunlar; mezokortikal, mezolimbik, nigrostriatal, tuberoinfundibular ve talamus uyarıcı dopamin yolağı olarak bildirilmektedir. Bu beş dopamin yolağından şizofreni etiyolojisinde önemli olanları mezolimbik, mezokortikal dopamin yolaklarıdır. Mezolimbik dopamin yolağının, psikozun halüsinasyon ve varsanı gibi pozitif belirtiler de dahil olmak üzere çeşitli duygusal davranışlarda rol oynadığı kabul edilmektedir. Mezokortikal dopamin yolağının, yürütücü işlevler, biliş ve duygulanımı düzenlediği kabul edilmektedir. Mezokortikal dopamindeki azalmanın bilişsel işlevin bozulması ve negatif semptomlarla ilişkili olduğuna inanılmaktadır (Summakoğlu ve Ertuğrul 2018).

4.9. ŞİZOFRENİ GENETİĞİ

Şizofreni genetiği çalışmaları ilk olarak aile, evlat edinme ve ikiz çalışmaları ile başlamış ve yirminci yüzyılın ortalarından beri devam etmektedir. Yakın zamanda ortaya çıkan yeni teknikler sayesinde bu alanda yapılan çalışma sayısında çok büyük artış ortaya çıkmaktadır. Bu alandaki popüler konular, tüm genomu inceleyen ilişkilendirme, kopya sayısı değişiklikleri ve mikro RNA çalışmaları olarak belirtilmektedir (Şengül 2016).

Her ne kadar aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları tutarlı bir şekilde şizofrenide genetik faktörlerin önemli bir etiyolojik rol oynadığını önermiş olsa da, bugüne kadar, bu genetik faktörlerin doğası ve sayısı hakkında çok az şey bilinmektedir (Thibaut 2006).

Aile temelli bağlantı analizi ve aday gen temelli ilişkilendirme analizi gibi genetik analiz, hastalığın bir dizi lokus arasındaki epistatik veya çoğullayıcı bir etkileşimle ortaya çıktığını göstermektedir (Sivagnansundaram 2003).

İnsan beyni, bilgi işlemenin farklı yönlerine aracılık eden nöronların heterojen alt kümelerinden oluşan olağanüstü derecede karmaşık bir yapı olarak görülmektedir. Bu nöronların bozulmaları beynin bağlantısal mimarisinin fonksiyonel bütünlüğünü tehlikeye atmakta ve çeşitli psikiyatrik ve nörolojik bozukluklara neden olmaktadır (Nasrallah ve Delisi 2014).

Genetik araştırmaların önemli bir kısmı COMT, Dysbindin-1 (DTNBP1), Neuregulin-1 (NRG1), D-amino asit oksidaz aktivatörü (DAOA), Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve DISC1 genleri üzerine odaklanmaktadır. Bu genlerden Catecol-O-Methyl Transferase (COMT) geni, yüksek aktiviteli allel için (HH genotip) Kafkasların (beyaz ırk) yaklaşık olarak %25' inde bulunmaktadır. Heterozigot LH genotip ise orta seviyede COMT aktivitesine sahiptirler. LL genotipi COMT aktivitesi bakımından en az olan genetik tipidir. COMT geninin düşük aktiviteli "L alleli" nin tek uçlu depresif hastalarda daha fazla görüldüğü ve bozukluk ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda; triptofan A alleli ve COMT geni H alleli ile cinsiyet arasında ilişki olduğu belirtilmektedir (Erken 2013).

COMT geni kromozomda 22q11.2'de lokalize olmaktadır. COMT enzimi, dopamin, epinefrin ve norepinefrin nörotransmitterlerini de içeren katekolaminler S-adenozilmetiyoninden metil grubu transferini gerçekleştiren enzim olarak bilinmektedir. 2 protein izoformunu kodlamaktadır. Doku gruplarında Sitoplazmik tipi (S-COMT) görülürken, beyinde ise Membrana bağlı tipi (MBCOMT) görüldüğü bildirilmektedir (Acar ve Kartalcı 2014).

Yapılan araştırmalarda, dopamin'e indirgeyen enzimi kodlayan COMT genindeki düzensizlik kanıtı bulunduğu belirtilmektedir. COMT' daki şizofreniye yatkınlığa meyilli polimorfizm içeren gen çalışmaları sonuçları uyumlu olduğu bildirilmektedir (Chana ark. 2013).

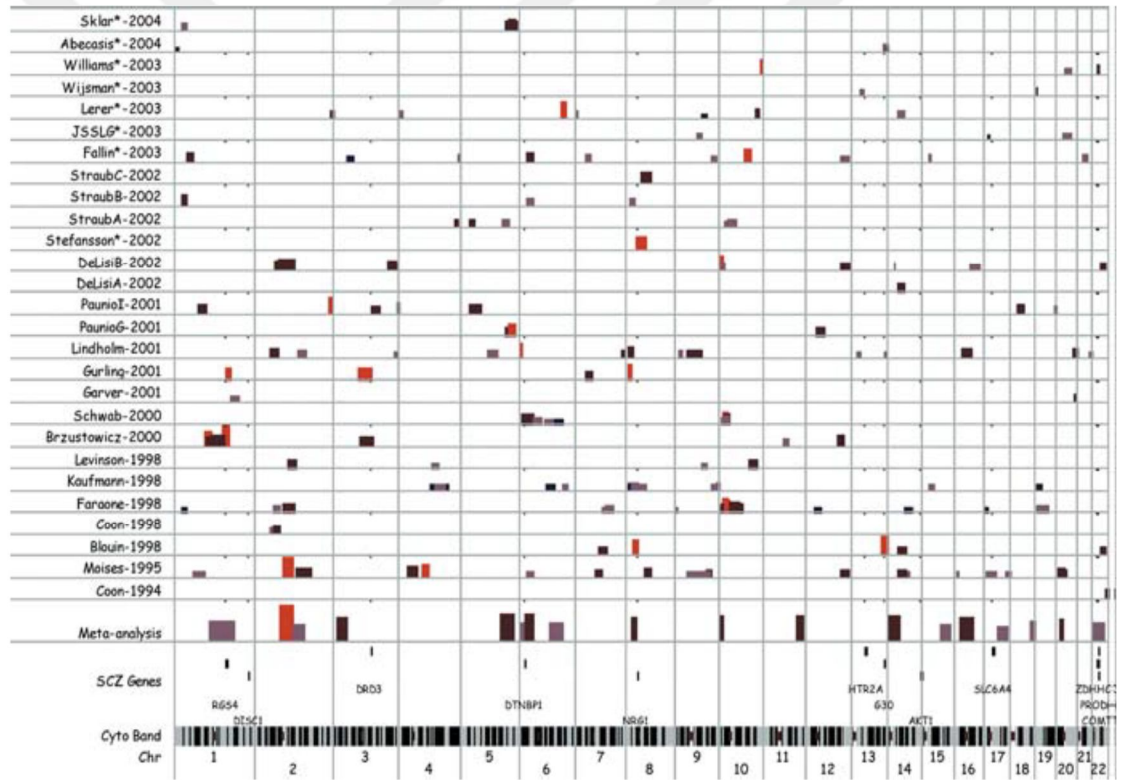
4.9.1 Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)

Genom çapında yapılan çalışmaların, sistem biyolojisi yaklaşımları ile birlikte, kapsamlı bilgi sağladığı ve karmaşık fenotiplerle başa çıkmada daha faydalı olduğu

gösterilmektedir. Büyük ölçüde, GWAS İnsan Genom Projesi ile mümkün olmaktadır (Gejman ve ark 2010).

Bağlantı veya ilişkilendirme çalışmaları ya tüm genomu ya da aday genleri kullanarak yapılabilmektedir. Aslında bu son yaklaşımda, nörobiyolojik genlere ilgi ilk önce değişkenleri aramak için DNA düzeyinde incelenmektedir (Thibaut 2006).

Yıllar boyunca insan genetiğinde önemli olan GWAS, büyük oranlarda şizofreni hastasının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı bir yöntem olmaktadır. Yöntemde esas olan Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP) ve Kopya Sayısı Farklılıkları (CNV) ile şizofreni arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Şizofreni etiyojisini araştıran çalışmalar, SNP' nin tetikleyici çevresel faktörler ile etkileştiği ve CNV' lerin de etkisiyle klinik tablonun ortaya çıktığı öne sürülmektedir (Şekil 1) (Kokurcan 2014).



Şekil 1. Şizofrenide Genom Çapında Bağlantı Analizlerinin Özeti (Sullivan 2005)

X eksen, Kromozom 1' in kısa kolunun telomerinden, Kromozom 22' nin uzun kolunun telomerine (alt sıra), ikinci-alt sıradaki 303 bant kromozomal boyanmasına kadar olan genom üzerindeki konumunu göstermektedir. Y eksen şizofreni için ilk aşamada genom taraması ile birlikte primer numunelerin çoğunu içeren bir meta-analizin sonuçlarını bildiren 27 primer numuneyi göstermektedir. Her satırda, çubukların yüksekliği ve rengi $-\log_{10}(P\text{-değeri})$ ile orantılıdır ve çubuğun genişliği

belirli bir örnek tarafından ima edilen genomik konumu göstermektedir. Şizofreni için seçilen bir aday gen grubu da gösterilmektedir. Tüm genomik yerler hg16 yapısına göredir. Birincil numunelerde en iyi bulguları gösteren kapsayıcı belirleyici grubunun fiziksel konumları belirtilmektedir (Sullivan 2005).

4.9.2 Epigenetik Değişiklikler

Şizofrenide gen-çevre etkisi epigenetik değişiklikler ile düzenlendiği bildirilmektedir. Değişiklikler nedeniyle şizofreni belirtilerinin ortaya çıktığı kabul edilmektedir (Kokurcan 2014).

Epigenetik çalışmalar dopaminerjik sisteme de odaklanmış olup bu alandaki çalışmaların sayısı az olduğu belirtilmektedir. Şizofreni hastalarının frontal loblarında COMT geni promotorunun metillenmesinde azalma ve COMT ifadesinde artış tespit edilmiş ancak bu bulgu diğer çalışmalarla tekrarlanamadığı bildirilmektedir (Koçak ve Ertuğrul 2012).

Şizofreninin epigenetiği, çevresel faktörlerin hastalığın genetik yapısını nasıl etkilediği hakkında önemli bilgiler sağladığı belirtilmektedir (Lee ve Huang 2016).

4.9.3 Şizofrenide Aday Genler

Genetik ilişkilendirme çalışması ile tespit edilen 14 şizofreni aday geni (RGS4, DISC1, DTNBP1, STX7, TAAR6, PPP3CC, NRG1, DRD2, HTR2A, DAOA, AKT1, CHRNA7, COMT ve ARVCF) şizofreninin mekanistik hipotezleri ile makul bir şekilde ilişkilendirilebilecek yollarda yer almaktadır (Tablo 4) (Sanders ve ark 2008).

Tablo 4. 14 Şizofreni Aday Geninin Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) Kapsamı (Sanders ve ark 2008).

Kilobazların Uzunluğu								
Genin Sembolü	RefSeq geni	Tagged gen	Promotör	Ekson	İntron	Korunan Kodlanmayan Dizisi	Çevrilmemiş Bölge	Ekson Sayısı

RGS4	7	12	6	2	4	-	2,2	5
DISC1	414	421	6	14	395	7,5	-	20
DTNBP1	140	144	8	3	137	0,1	0,2	16
STX7	53	62	6	3	50	-	6	10
TAAR6	1	5	2	1	-	-	-	1
PPP3CC	100	104	6	3	97	-	0,3	16
NRG1	1104	1132	16	8	1103	13,3	3,6	19
DRD2	66	70	8	3	61	1,1	0,8	9
HTR2A	63	69	4	2	60	0,8	3,3	4
DAOA	25	44	6	4	36	0,5	-	13
AKT1	26	30	6	4	22	0,1	1,0	11
CHRNA7	139	142	4	2	131	0,5	4,6	10
COMT	27	32	18	9	19	-	0,2	16
ARVCF	47	54	12	8	38	0,1	4,6	21
Genel	2,21	2,323	108	65	2,15	24,1	26,8	171
Toplam								

4.9.3.1. Şizofrenide COMT geninin özellikleri

Prefrontal dopamin etkinliğinin şizofreni patogeneğinde ve bilişsel işlevlerde önemli olduğu düşünülmektedir. COMT geni prefrontal dopamin seviyelerini etkileyen bir enzim olup, insan beyninin prefrontal korteksindeki dopaminin ortadan kaldırılmasında anahtar bir enzim olduğu belirtilmektedir. COMT genindeki genetik varyasyon (MIM 116790) değiştirilmiş prefrontal korteks fonksiyonu ve şizofreni için daha yüksek risk ile ilişkilendirilmiş olup, spesifik aleller ve bunların fonksiyonel etkilerinin tartışılması gerektiği düşünülmektedir (Chen 2004).

COMT enzimi insanda 22q11.2’de yerleşim gösteren bir gen ile kodlanmaktadır. COMT genindeki delesyonun şizofreni ile yüksek ilişkili velo-kardiyofasyal sendroma yol açtığı ve COMT geninde fonksiyonel polimorfizmlerinin prefrontal bilişsel işlev seviyelerini etkilediği bildirilmektedir. COMT geni Çözünmüş “soluble” ve Membrana bağlı “membrane- bound” olarak iki formda bulunmaktadır. Kodonunda Guanin>Adenin (G>A) değişimi sonucu oluşan ve Valin>Metionin aminoasit değişimine bağlı olarak belirlenen Val içeren (H-High, yüksek aktiviteli) ve Met içeren (L-Low, düşük aktiviteli) allellerin oluşturduğu üç genotip (HH, HL, LL)

tanımlanmaktadır. Tablo 5’ de COMT geni Val158Met polimorfizmine göre sosyodemografik özellikleri gösterilmektedir (Varma ve ark 2011).

Tablo 5. COMT geni Val158Met polimorfizmine göre sosyodemografik özellikleri (Varma ve ark 2011).

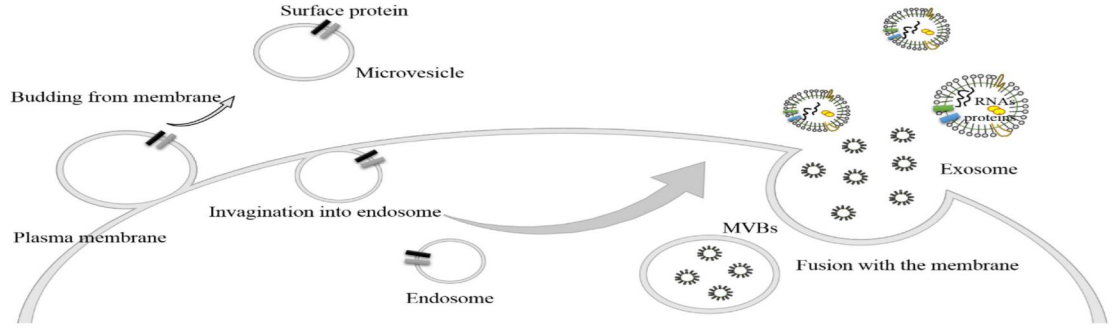
Değişkenler	Val/Val ortalama	Met taşıyanlar ortalama	Z*
Yaş	38,42 ±13,90	39,13 ±12,20	0,242
Eğitim	9,76 ±3,65	11,17 ±3,35	1,704
Hastalık süresi	14,09 ±10,97	14,17 ±9,40	0,804
Yatış sayısı	3,38 ±3,08	2,43 ±1,99	0,989

4.10 EKSOZOM’ UN İŞLEVİ

Tüm hücreler tarafından ortama salınan eksozomların tüm vücut sıvılarından elde edilebilen kesecikler olduğu belirtilmektedir (Kang ve ark. 2017).

Hücre dışı veziküllerin analizi, son on yıllardaki omik yöntemlerde yaşanan teknolojik gelişmeler nedeniyle hızlandırılmaktadır. Hücre dışı veziküller, hücrelerin işlevsel durumuyla ilgili çok yönlü bilgi sağlamaktadır. Bu bilgi, nispeten kapalı bir biyolojik bölmede tutulan merkezi sinir sistemi hücreleri durumunda kritik öneme sahip olmaktadır. Bu engel, psikiyatrik bozukluklarda daha belirgin olup teşhisleri öncelikle hastaların semptomlarına ve belirtilerine dayanmaktadır (İlgın ve Topuzoğlu 2018).

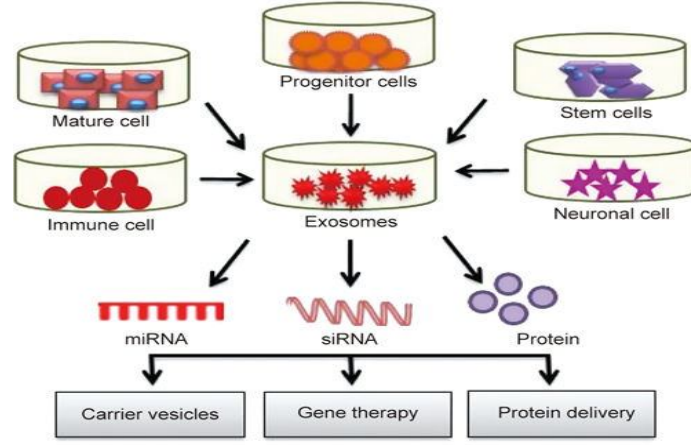
Multiveziküler cisim (MVB)’ lerin oluşması için endozom içine invajine olmaktadır. MVB’ ler plazma membranı ile birleşip, eksozomlar hücre dışı alana salınmaktadır. Mikroveziküller, hücrelerden yüzey proteinli plazma membranından salınmaktadır. Eksozomlar ve mikro-tanecikler Ekstrasellüler Vezikül (EV)’ lere bağlı olarak bulunmaktadır. Hücrelerden türetilen EV’ ler hücre iletişimine, hücre sinyaline ve tanısına katkıda bulunmaktadır (Şekil 2) (Kang ve ark. 2017).



Şekil 2. Biyogenez ve Ekstrasellüler Veziküller' in salınımı.

Çok hücreli organizmaların hücreleri, çeşitli mekanizmalar yoluyla bilgilendirici sinyaller vermektedir. Son bulgular hücre içi veziküllerin, özellikle de eksozomların, hücreler arası iletişimde özel rolünü ortaya çıkarmaktadır. Test edilen tüm insan vücudundaki sıvılarda mevcut eksozomlar, proteinler, lipidler ve çeşitli RNA molekülleri de dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonel bileşikler taşımaktadırlar. Eksozomlar, çapı 50 ila 100 μM arasında değişen veziküller olarak hücre içi multiveziküler cisimciklerden kaynaklanmakta ve multiveziküler cisimlerin hücre zarı ile kaynaştırılmasından sonra ekzositoz yoluyla atılmaktadır (Nazimek ve ark. 2015).

EV' ler apoptotik cisimler, mikrotanecikler ve eksozomlar içermekte ve normal ve hastalıklı hallerde hücre-hücre iletişimi için anahtar düzenleyiciler olarak görev yapmaktadır. EV' ler Mikro Ribonükleik Asit (miRNA), Mesajcı RNA (mRNA) ve proteinler gibi doğal kargo molekülleri içermekte ve bu fonksiyonel yükleri dolaşım yoluyla komşu hücrelere veya daha uzak hücrelere transfer etmektedir. İşlevsel olarak aktif olan bu moleküller, daha sonra, farklı sinyalleme kaskadlarını etkilemektedir. Alıcı hücrelere iletilen mesaj, ana hücre ve EV biyogenezi tarafından belirlenen EV' nin bileşimine bağlı olduğu belirtilmektedir. Dolaşımdaki artmış stabilite, biyoyumluluk, düşük immünojenisite ve toksisite gibi özellikleri nedeniyle EV' ler, terapötikler için çekici dağıtım sistemleri olarak dikkat çekmektedir. Araştırmacılar, terapide eksozomların fonksiyonel ve terapötik amaçlar için kullanımının potansiyel avantajları ve zorluklarını tartışmaktadır. Eksozomlar ilaç dağıtımında da rol oynamakta olup farklı hücre tiplerinden izole edilen eksozomlar miRNA, RNA ve protein bakımından zengin olduğu belirtilmektedir. Bu moleküller, farklı terapötik uygulamalar için eksozomlar halinde yeniden modifiye edilebilmekte ve yeniden yerleştirilebilmektedir (Şekil 3) (Samanta, S. ve ark 2017).



Şekil 3. Farklı terapötik uygulamalar için eksozomların yeniden modifiye edilip yerleştirilmesi (Samanta S. ve ark 2017).

Eksozomların tanısal amaçlı kullanımları çok yeni bir yöntem olmakla birlikte önemli bir yenilikçi gizlilik içermektedir. Günümüzde birçok hastalıklar için duyarlılığı ve özgünlüğü düşük tanı yöntemleri bulunmaktadır (Kahraman ve ark. 2014).

4.11. REAL TIME PCR TEKNİĞİ

Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT PCR) tekniğinde mRNA' dan ters transkripsiyon sonucu elde edilen cDNA, araştırılan gene spesifik primerler kullanılıp PCR ile çoğaltıldıktan sonra elde edilen sinyal PCR işlemi sırasında ölçülmektedir. RNA' ların tam olarak karşılaştırılabilmesi için, test probunun floresansı referans proba (18S rRNA, GAPDH vb.) karşı normalizasyonu yapılmaktadır. Sonuçların analizi ise rölatif ve standart-eğri kantitasyonu olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır (Kubista ve ark. 2006).

Bu tekniğin önemli avantajları bulunmaktadır. Hata oranı düşük bir yöntemdir, geniş bir dinamik aralığın üzerinde kantitasyonu sağlayıp doğruluk oranı yüksek olarak tespit edilmektedir (Klein 2002).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. MATERYAL

‘Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması’ na ait tez proje çalışması Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi kronik şizofren tanısı almış bireyler üzerinde gerçekleştirildi. Projeye ait Sağlık Bilimleri Etik Kurul Onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden alındı. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Kliniği’nde kronik şizofren tanısı almış “8” bireye (ve/veya vasilerine) “Bilgilendirilmiş Onam Formu” okutulup onaylatıldıktan sonra kan alınarak hasta çalışma grubu oluşturuldu. Ailesinde kronik şizofren tanısı almamış “8” bireye de “Bilgilendirilmiş Onam Formu” okutulup onaylatıldıktan sonra kanları alınarak kontrol çalışma grubu oluşturuldu. Kan örnekleri vakumlu 5 cc lik Etilen Diamin Tetra Asetikasit (EDTA)’lı tüplere steril şartlarda alındı. Alınan kanlardan aynı gün plazmaları ayrılarak - 80 °C’de çalışma yapılincaya kadar saklandı. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Proje Komisyonu tarafından desteklenen çalışmamızın tüm moleküler çalışmaları, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirildi.

5.1.1. Kimyasallar ve Kitler

- exoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit (50), (Qiagen, 77044)
- RT² HT First Strand Kit (96) (Qiagen, 330404)
- RT² SYBR Green qPCRMastermiks (2) (Qiagen, 330500)
- RT² qPCR primer assay Human COMT (200) (Qiagen, 330001)
- RT² qPCR primer assay Human GAPDH (200) (Qiagen, 330001)
- %96lık Ethanol (Merck, 100986)
- Chloroform (Sigma, 288306)
- Nükleaz içermeyen su (Qiagen, 129115)

5.1.2. Plastik malzemeler

- Vakumlu Edta'lı kan tüpü 2-3 ml (Greiner)
- Cryotüp (Corning)
- Cryotüp saklama kutusu (Corning)
- 0,1-10µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 1-200 µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 100-1000 µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 1000 µl' lik disposable filtreli pipet uçları (QIAcube Cihazı İçin) (Qiagen)
- 200 µl' lik disposable filtreli pipet uçları (QIAcube Cihazı İçin)
- 2 ml Ependorf tüpleri (Qiagen)
- QIAamp Spin kolonları (şeffaf) (Qiagen)
- QIAshredder Spin kolonları (lila) (Qiagen)
- 1.5 ml Toplama tüpleri (Qiagen)
- 2 ml Toplama tüpleri (Qiagen)
- 15 ml Falkon tüpleri (Axygen)
- 0,2 ml PCR tüpleri (Qiagen)
- 0,1 ml Strip tüpleri ve kapakları (Qiagen)

5.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler



A



B



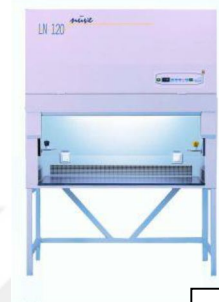
C



D



E



F



G



H



i



J



K

A. 20 °C Derin Dondurucu

- B. Buzdolabı
- C. Fully Autoclavable Pipettes, with adjustable volume
- D. Dry Block Thermostat TDB-100
- E. Vortex mixer V1 plus
- F. Laminar Flow Kabin
- G. Rotor-Gene Q (Corbett Rotor-Gene 6000) Real-Time PCR Cihazı
- H. Soğutmalı santrifüj
- İ. QIAcube Otomatik DNA İzolasyon Cihazı
- J. -80 C Derin Dondurucu
- K. Santrifüj

5.2. METOD

Eksozomdan RNA izolasyonu için, vakumlu EDTA' lı tüpe kanlar alındıktan sonra 10 dk 3000 rpm' de santrifüj edilip plazması ayrıldı. Ayrılan plazma çalışmaya kadar -80 °C' de saklandı.

5.2.1. Eksozomdan RNA İzolasyonu ve İleri Analizi:

“QIAcube Tam Otomatik İzolasyon Cihazı” ile exoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit kullanılarak Şizofren tanısı konmuş hasta ve kontrol bireylerden alınan periferik kan hücrelerinin eksozomundan RNA izolasyonu gerçekleştirildi.

5.2.1.1. exoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit İçeriği

Sağlanan malzeme	Miktarı
exoEasy Maxi Spin Kolonları (50 ml Toplama tüpü içinde)	50 adet
Toplama Tüpleri (50 ml)	50 adet
Buffer XBP	4 x 55 ml
Buffer XWP	3 x 200 ml
RNeasy® MinElute®	50 adet

Spin Kolonları

(2 ml Toplama tüpü içinde)

Toplama Tüpleri (1.5 ml)	50 adet
Toplama Tüpleri (2 ml)	50 adet
QIAzol® Lysis Reagent	50 ml
Buffer RWT	15 ml
Buffer RPE	11 ml
RNase içermeyen su	10 ml

5.2.1.2. QIAcube cihazı ile exoRNeasy serum/plasma midi kit protokolü

1. Alınan kanlar 3000 rpm' de 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı.
2. Ayrılan plazma çalışma yapılincaya kadar, 2 ml' lik cryo tüplerde – 80 °C'de stoklandı.
3. Cihaz START tuşuna basılıp açıldıktan sonra, ana ekrandan RNA ve kullanılan kit menüsünden exoRNeasy Serum/Plasma Midi Kit seçildi.
4. QIAcube cihazına uygun 1000 µl' lik ve 200 µl' lik disposable filtreli pipet uçları cihaza yerleştirildi.
5. Rotor adaptörüne, RNeasy MinElute Kolonları ve toplama tüpleri (1,5 ml) yerleştirildi.
6. Rotor adaptörleri cihazda bulunan santrifüj bölmesine uygun pozisyonda yerleştirildi.
7. %96-100 Ethanol, Buffer RWT (30 ml %70 Ethanol eklenerek hazırlandı), Buffer RPE (44 ml %96 Ethanol eklenerek hazırlandı), ve RNase içermeyen su QIAcube cihazına özgü şişelere boşaltılıp daha sonrasında, cihazın Reagent Bottle Rack kısmına yerleştirildi.
8. –80 °C'de saklanan plazma örnekleri çalışmaya başlamadan önce oda sıcaklığına çıkarıldı.
9. 2 ml' lik ependorfta 1 ml plazma örneği ve 1 ml Buffer XBT karıştırıldı.
10. Hazırlanan karışım içinde spin kolonlar bulunan 15 ml' lik falkon tüplere aktarıldı.
11. Falkon tüpler 3000 rpm' de 1 dk santrifüj edildi.
12. Altta kalan süpernatant boşaltıldıktan sonra spin kolonun üzerine 3500 µl Buffer XWP eklendi.

13. Falkon tüpler 4100 rpm' de 5 dk santrifüj edildi.
14. Spin kolonlar temiz falkon tüplere aktarıldı ve 700 µl Qiazol Lysis Reagent konuldu.
15. Falkon tüpler 4100 rpm' de 5 dk santrifüj edildi.
16. Dipte kalan lizat 2 ml'lik ependorf tüplere aktarıldı ve üzerine 90 µl chloroform konup 10 sn vortekslendi.
17. Tüpler 2-3 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
18. Tüpler daha sonra +4 °C 15 dk 12000 rpm' de santrifüj edildi.
19. Oluşan fazlı karışımın üst aqueous fazından 350 µl alınarak 2 ml' lik ependorf tüpe konularak cihazın shaker kısmına uygun pozisyonda kapağı açık biçimde yerleştirildi.
20. Daha sonra, QIAcube cihazında bulunan santrifüj rotor adaptörü, reagent bottle rack, pipet uçları ve shaker kısımlarının yerleşiminin doğruluğu kontrol edildikten sonra cihaza START verildi.
21. İşlem bitince santrifüj bölmesinde bulunan rotor adaptörler çıkarıldı.
22. Rotor adaptörlerden, 1,5 ml' lik üzerlerinde hasta numaralarının yazılı olduğu toplama tüpleri çıkarıldı. İzole edilen RNA' lar bu tüplerde toplandı.



Resim 1. Eksozomdan RNA izolasyon işlemi

5.2.2. cDNA Sentezi:

RNA örneklerini Real Time PCR tabanlı gen ekspresyon değişimi analizlerinde kullanılabilir hale getirmek için, her bir RNA örneğinin komplementer DNA'sı RT² HT First Strand Kit (96) (Qiagen Cat. No: 330411) kullanılarak sentezlendi.

5.2.2.1. RT² HT first strand kit içeriği

Sağlanan malzeme	Miktarı
Buffer GE2 (gDNA elimination buffer)	750 µl
BC4 Reverse Transcriptase Mix	750 µl

5.2.2.2. RT² HT first strand kit protokolü

1. BC4 Reverse Transcriptase Mix ve Buffer GE2 - 20 °C'den alınarak oda sıcaklığına getirildikten sonra vortekslenip, 3 sn spin santrifüj yapıldı.
2. Tablo 6' da yer alan Buffer GE2 (gDNA elimination buffer) ve izole edilen RNA' lar 0,2 ml' lik PCR tüplerine alındı.
3. PCR tüpleri vortekslenip sonrasında 10 dk oda ısısında bekletildi.
4. Daha sonra tüplere BC4 Reverse Transcriptase Mix eklenip vortekslemenin ardından yaklaşık olarak 30 sn spin santrifüj yapıldı.
5. Tablo 6' daki program ile 0,2 ml' lik PCR tüpleri Thermal Cyclers' da uygulanarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.
6. 0,2 ml' lik tüpteki her bir örneğin üzerine 91µl nükleaz içermeyen su eklendikten sonra pipetaj yapıp dilue template elde edildi.

Tablo 6. RT² HT First Strand Kit Uygulamasında Kullanılan Bileşenler

Bileşen	Miktarı
İzole edilen RNA	8 µl
Buffer GE2 (gDNA elimination buffer)	6 µl
BC4 Reverse Transcriptase Mix	6 µl

Tablo 7. RT² HT First Strand Kit Uygulamasında Kullanılan Thermal Cyclers Programı

Sıcaklık	Süre
42 ⁰ C	15dk
95 ⁰ C	5 dk
4 ⁰ C	∞



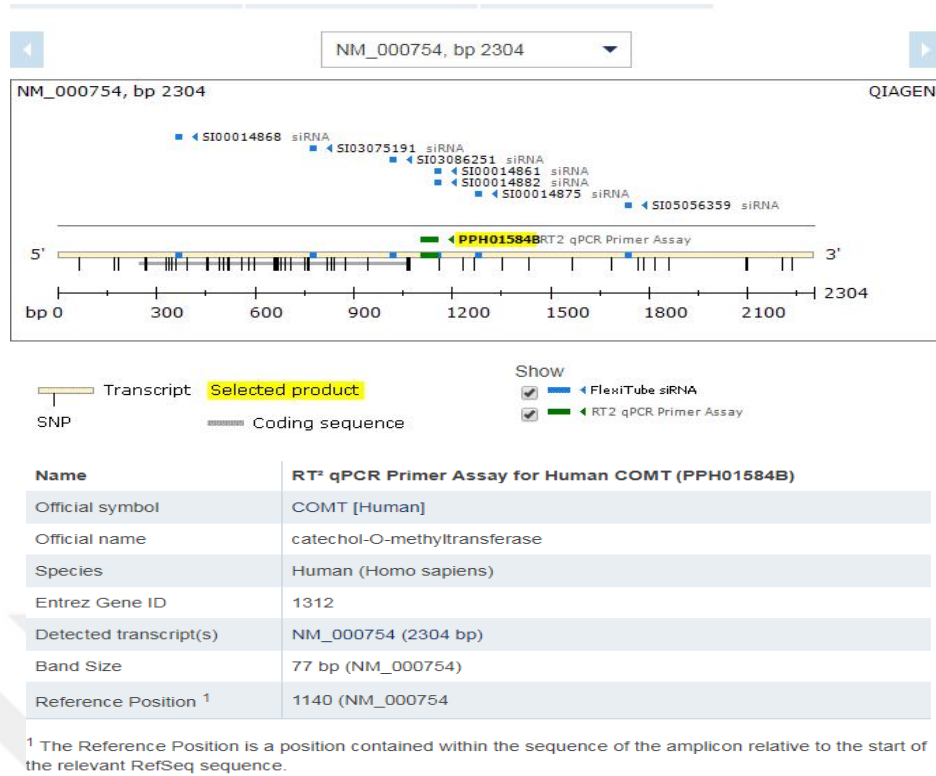
Resim 2. cDNA elde etme işlemi

5.2.3. Real Time PCR Analizi

Real Time PCR cihazında SYBR Green metodu uygulanarak COMT gen ekspresyonları belirlendi. Çalışma sonucunda elde edilen hasta ve kontrol birey komplementer DNA' ları COMT geni primeri ile işleme alındı. Verilerin ayrıştırılmasını sağlamak için kontrol olarak her analizde Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) gen bölgesi primeri kullanıldı. Her örnek ve ölçüm için üç tekrarlı çalışıldı.

5.2.3.1. Real Time PCR primerleri

COMT geni primer setleri çalışmamızda kullanılmak üzere ticari kit halinde alındı (Şekil 4).



Şekil 4. COMT geni oligonükleotid primeri

(<https://www.qiagen.com/mx/products/discovery-and-translational-research/pcr-qpcr/qpcr-assays-and-instruments/mrna-incrna-qpcr-assays-panels/rt2-qpcr-primer-assays/?catno=PPH01584B#geneglobe> Erişim tarihi: 26.07.2019).

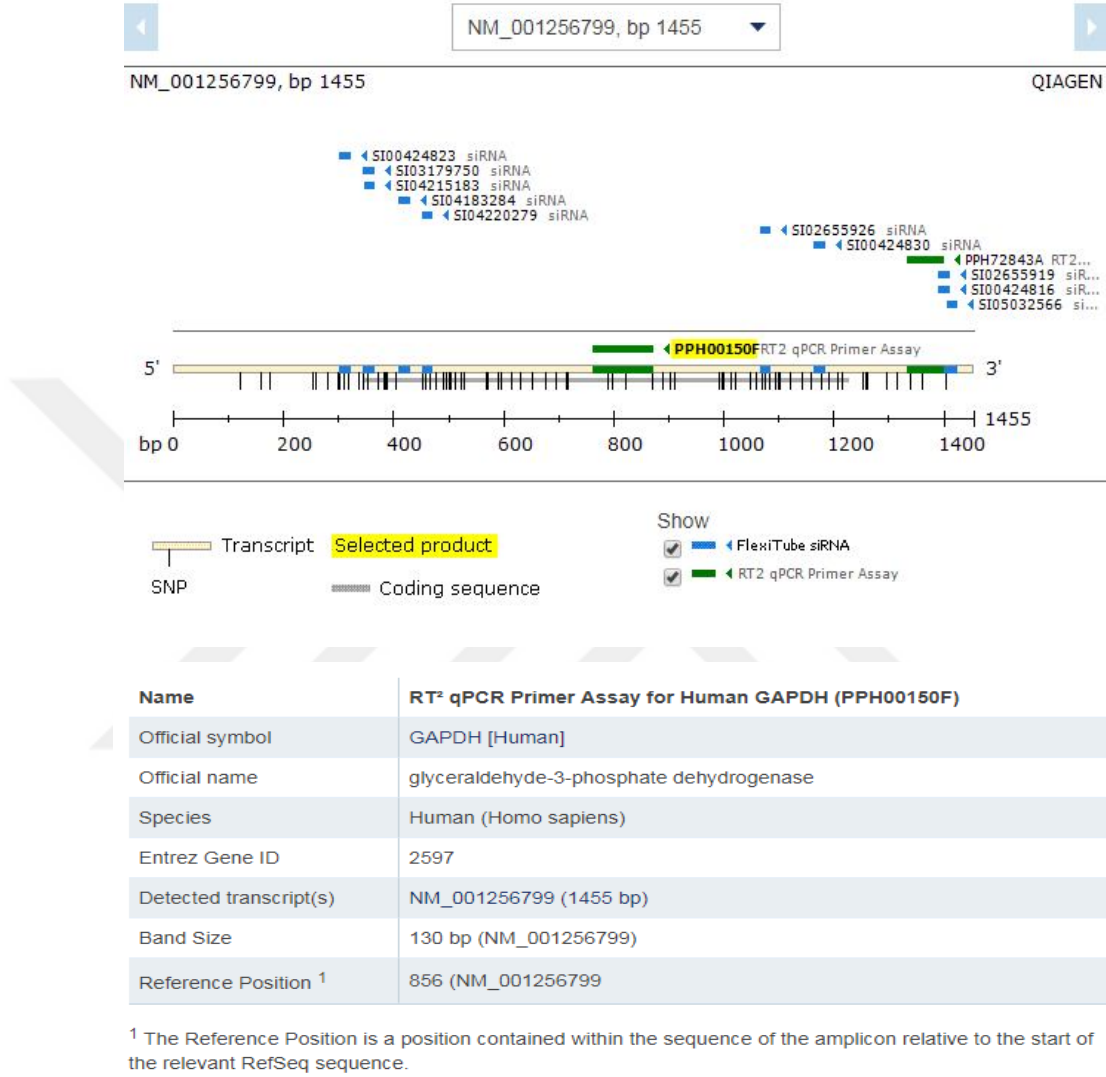
5.2.3.2. GAPDH neden kontrol gen bölgesi

Kantitatif gen ekspresyonu verileri genellikle kontrol veya “housekeeping” genleri ekspresyon seviyelerine göre normalleştirilmesi gerekmektedir. Housekeeping genlerinin kullanımına ilişkin, genlerin ekspresyonunun inceleme altındaki hücrelerde veya dokularda sabit kalması düşünülmektedir. Bu varsayımın istisnaları iyi belgelenmesine rağmen, housekeeping genlerin tamamen karakterize edilmiş sistemlerde önemli olduğu belirtilmektedir. GAPDH, gen ekspresyonu verilerinin karşılaştırılmasında kullanılan en yaygın housekeeping genlerinden biri olarak gösterilmektedir (Barber ve ark 2005).

Psikiyatri hastalarından alınan kan örneklerinde RT-PCR çalışmaları için GAPDH geni referans gen olarak kullanılmaktadır. Dahili kontrol geninin amacı, ters transkripsiyon reaksiyonlarına eklenen RNA miktarı için PCR’leri normalleştirmektir.

Standart housekeeping genlerinin genellikle iç kontrol genleri olarak yeterli olduğu bilinmektedir (Livak ve Schmittgen 2001).

GAPDH geni primer setleri çalışmamızda kullanılmak üzere ticari kit halinde alındı (Şekil 5).



Şekil 5. GAPDH geni oligonükleotid primeri

(<https://www.qiagen.com/mx/products/discovery-and-translational-research/pcr-qpcr/qpcr-assays-and-instruments/mrna-incrna-qpcr-assays-panels/rt2-qpcr-primer-assays/?catno=PPH00150F#geneglobe>
Erişim tarihi: 26.07.2019).

5.2.3.3 Real Time PCR çalışma protokolü

1. Hasta ve kontrol bireyler için kullanılan Human COMT RT² qPCR primer assay, kontrol gen bölgesi olarak kullanılan Human GAPDH RT² qPCR primer assay,

RT² SYBR Green mastermiks - 20⁰C’ den alınıp oda sıcaklığına getirildikten sonra vortekslenerek, yaklaşık olarak 3 sn spin santrifüj yapıldı.

2. Real Time PCR bileşenleri 0.2 ml’ lik tüpler içinde Tablo 8’ da gösterilen miktarlarda hasta ve kontrol grubu için ayrı ayrı hazırlandı.

3. Hazırlanan miksler 0,1 ml’ lik strip tüplere aktarıldıktan sonra strip tüp kapakları takıldı ve Real Time PCR cihazında Tablo 9’ daki program uygulandı.

Tablo 8: Real Time PCR bileşenlerinin hazırlanması

Bileşen	Miktarı
RNase free water	6,5 µl
RT ² SYBR Green	12,5 µl
Mastermiks	
RT ² qPCR primer assay	1,0 µl
Dilue template	5,0 µl
Toplam	25,0 µl

Tablo 9. Real Time PCR Programı

Sıcaklık	Süre	Döngü
95 ⁰ C	10dk	1
95 ⁰ C	15sn	
55 ⁰ C	45sn	40
72 ⁰ C	15sn	

5.2.3.4. Real Time PCR verilerinin analizi

Kantitasyon analizi Rotor-Gene Q series software 2.3.1 programı kullanılarak yapıldı. Amplifikasyon eğrileri Threshold değeri belirlenerek görüntülendi. Relatif gen ekspresyon verilerinin analizi 2^{-ΔΔCT} metodu kullanılarak yapıldı.

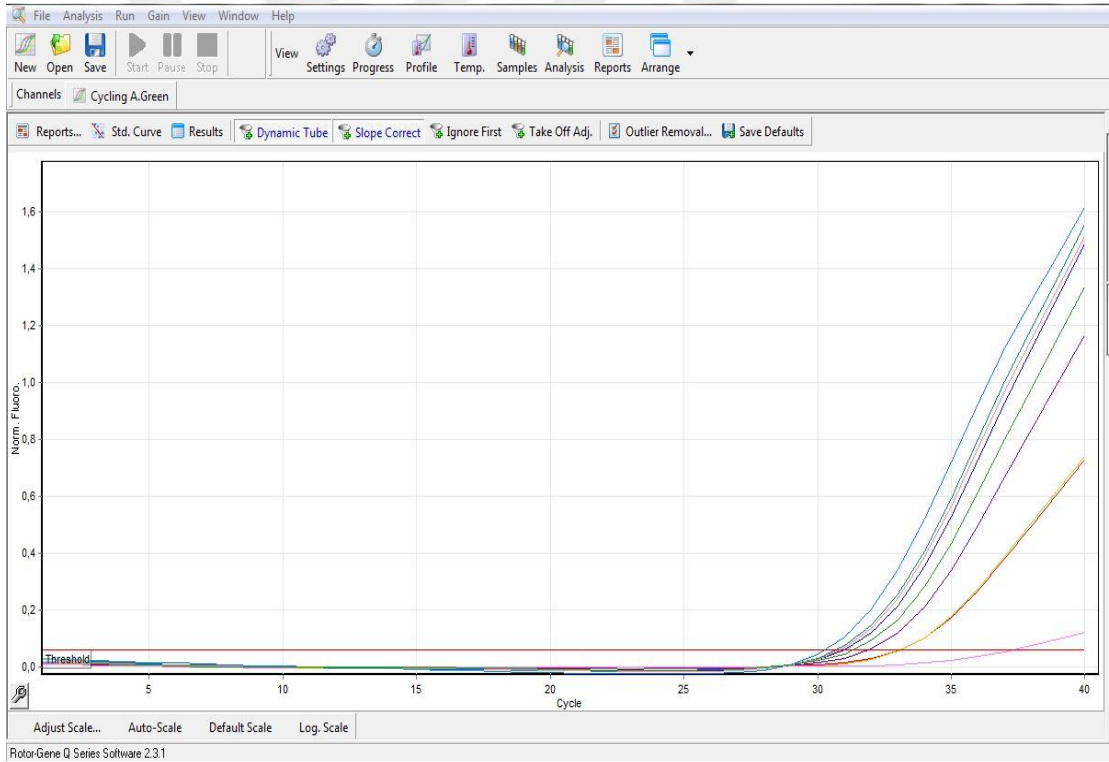


Resim 3. Real Time PCR işlemi

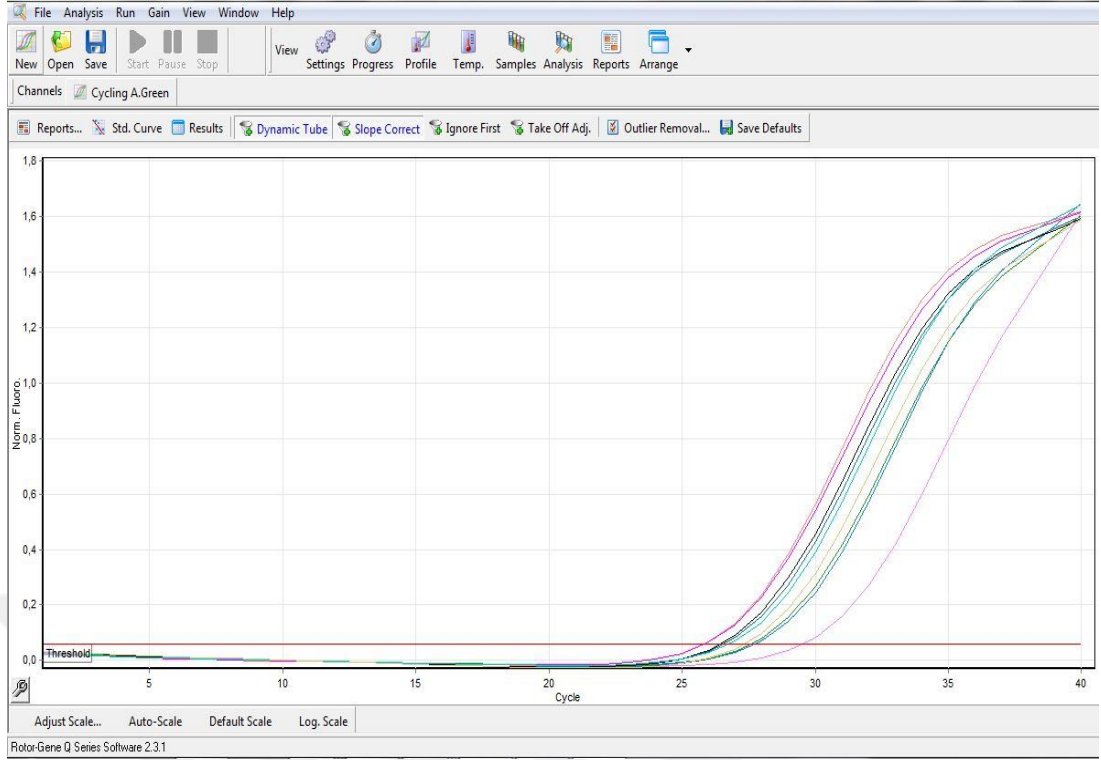
6.BULGULAR

6.1. REAL TIME PCR'DA GÖZLENEN COMT AMPLİFİKASYON EĞRİLERİ

Çalışmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Kliniği'nde kronik şizofreni tanısı almış bireylerden ve kontrol örneklerinin eksozomdan elde edilen RNA'lardan Real Time PCR çalışması yapıldı. Çalışma sonucunda Real Time PCR'da COMT geni ve GAPDH geni amplifikasyon eğrileri gözlemlendi (Şekil 6, Şekil7).



Şekil 6. Real Time PCR'da gözlenen COMT geni amplifikasyon eğrileri.



Şekil 7. Real Time PCR’da gözlenen GAPDH geni amplifikasyon eğrileri.

6.2. $2^{-\Delta\Delta CT}$ METODU KULLANILARAK RELATİF GEN EKSPRESYON VERİLERİNİN ANALİZİ

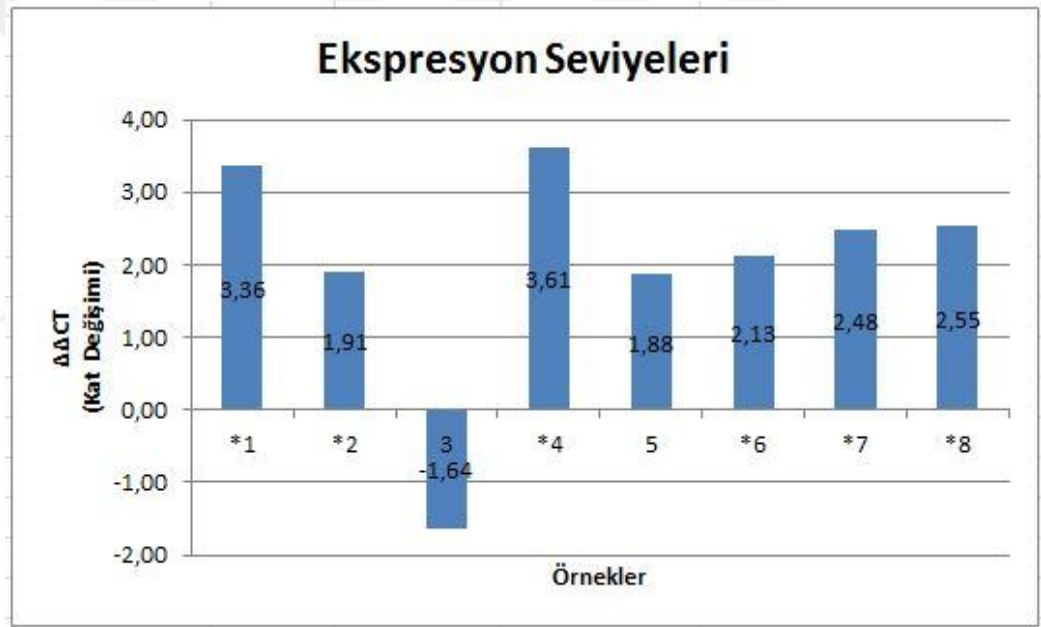
RNA miktarı ve kalitesindeki değişiklikleri standart hale getirmek için GAPDH referans geni kullanıldı. Bu gen sayesinde COMT geninin ifadesi farklı örnekler arasında karşılaştırılmış olmaktadır. Normalize CT değeri (ΔCT değeri) hesaplanarak gen ifadesi ölçüldü. Hasta örnekleri CT değerlerinden referans gen CT değerleri çıkarılarak, hasta örnekleri ΔCT değerleri hesaplandı. Kontrol örnekleri CT değerlerinden referans gen CT değerleri çıkarılarak, kontrol örneklerinin ΔCT değerleri hesaplandı.

ΔCT değerleri kullanılarak hasta örneklerinin kontrol örneklerine göre ekspresyon seviyesini belirlemek için $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Kat Değişimi Değerleri) hesaplandı. Hasta örnekleri ΔCT değerinin kontrol örneklerinin ΔCT değerine oranlanmasıyla $\Delta\Delta CT$ değeri hesaplandı. Gen ifadesi analizleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülünde değerlerin yerine konulmasıyla hesaplandı.

Değerin anlamlı up regülasyonu çıkabilmesi için $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri hesaplamaları sonucunda 2 ve/veya üzeri değer olması gerekmektedir. 0 ve 1 arası değer down

regülasyonu, 1 ve 2 arası değer anlamsız up regülasyonu ifade etmektedir. $1/2^{-\Delta\Delta CT}$ yapılarak Down regülasyonun anlamlı veya anlamsız olduğunu belirlenmektedir. -1 ile -2 arası anlamsız down regülasyonu ifade ederken, -2 ve /veya -2' den küçük değerler anlamlı down regülasyonu ifade ettiği bilinmektedir (Livak ve Schmittgen 2001).

Hasta örneklerinin Real-Time PCR uygulamasında elde edilen amplifikasyon eğrilerinin CT değerlerinden, $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplandı. Sonuçlarımızda sadece 3 no' lu hastanın $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri 0 ve 1 arasında bir değer olduğundan down regülasyonu ifade ettiği belirlendi. Gen ekspresyonu down regülasyonun anlamlı veya anlamsız olduğunu belirlemek amacıyla sadece 3 no' lu hastada $-1/2^{-\Delta\Delta CT}$ hesaplandı. Tüm hastaların $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri ile grafik elde edildi (Grafik 1).



*Anlamlı up regülasyonu ifade eden örnekler

Grafik 1. COMT Geni Ekspresyon Seviyeleri.

Grafik verilerimizin sonuçlarına göre 1, 2, 4, 6, 7 ve 8 numaralı hastalarımızda COMT geni ekspresyon seviyelerinin anlamlı up regülasyonu, 5 numaralı hastamızda COMT geni ekspresyon seviyesinin anlamsız up regülasyonu, 3 numaralı hastamızda COMT geni ekspresyon seviyesinin anlamsız down regülasyonu olduğu belirlendi.

7.TARTIŞMA

SCZ ve BPD, etiyolojilerinde genetik ve çevresel etmenlerin rol oynadığı psikiyatrik hastalıklardır. Bu hastalıkların kalıtımında birçok farklı işlevi olan gen yer almaktadır ve bu hastalıklarla ilişkili bulunan genlerin sayısı her yeni araştırmayla beraber arttığı belirtilmektedir (Kokurcan 2014).

Şizofreninin yaşam boyu yaygınlığı önceki çalışmalarda %1 olarak bildirilmiş olsa da, yakın zamanlı araştırmalar, bu oranların 1000'de 4,6 ile 9,2 arası geniş bir aralıkta olduğunu göstermektedir (Saha ve ark 2005).

Türkiye'de yapılan sistematik bir gözden geçirmede yaşam boyu şizofreni yaygınlığı genel toplumda 8,9:1000 olarak tespit edildiği belirtilmektedir (Kara ve Türkçapar 2015).

Tekli nükleotid polimorfizminin COMT genindeki rs165599 ile İran'ın güneybatısındaki şizofreni ve bipolar duygudurum bozukluğu ile birlikteliğini araştıran bir çalışmada bu polimorfizmin SCZ ve BPD riskleri ile yüksek ilişkili olduğu bildirilmektedir (Behbahani ve ark. 2015).

Hastalığın etiyolojisini açıklamak için yapılan araştırmalarda sıklıkla genetik, nörogelişimsel ve nörokimyasal unsurlar üzerinde yoğunlaşıldığı bildirilmektedir. Şizofreninin biyolojisini aydınlatmak için yapılan çalışmalarda ilerlemeler kaydedildiği belirtilmektedir (Kocal ve ark. 2017).

Dopaminerjik sistem, özellikle COMT genindeki değişiklikler, şizofreni etiyolojisinde büyük ilgi çekmektedir. COMT genindeki rs4680 (Val108 / 158Met), rs165599 ve P2 promotörü rs2075507 SNP' ler, COMT gen ekspresyonu ve COMT enzim aktivitesinin değişmesi ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Altinyazar 2017).

COMT, insan beyninin prefrontal korteksindeki dopaminin ortadan kaldırılmasında anahtar bir enzim olarak işlev görmektedir. COMT genindeki genetik varyasyon (MIM 116790) değiştirilmiş prefrontal korteks fonksiyonu ve şizofreni için daha yüksek risk ile ilişkilendirilmiş olup spesifik aleller ve bunların fonksiyonel etkileri konusunda tartışılması gerektiği belirtilmektedir (Chen 2004).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; obsesif kompulsif bozukluk (OKB) bulunan hastalarda ve sağlıklı kontrollerde, COMT gen ekspresyonu Real Time PCR yöntemi ile inceleme yapıldığı belirtilmektedir. OKB grubunda, GAPDH ile normalize edilmiş COMT gen ekspresyon düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmektedir ($F = 6.244$, $p = 0.015$). OKB hastalarında %32 down regülasyon tespit edildiği bildirilmektedir (Wang ve ark 2009).

Moleküler çalışmalar, genetik ekspresyonda bir hastalığa yatkınlığa neden olan bir değişikliği belirlemeye çalışmaktadır. Bu çalışmaların yorumlanması, tekrar analiz problemleri nedeniyle özellikle zor olsa da, çok merkezli analizler hala D3 dopamin reseptörü geni ve 5-HT2A reseptörü geni için lokuslarda şizofreni ve polimorfizm arasındaki ilişkiyi desteklemektedir (Berry ve ark 2003).

Eksozomlar, erken endozomlardan türetilen MVB ile üretilmektedir. Erken endozomlar, spesifik proteinlere sahip lipid salları; tetraspaninler, yapışma, füzyon ve reseptör taşıma proteinlerini içermektedir. Eksozomlar, beyin kaynaklı nörotrofik faktör veya trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü gibi büyük moleküller taşıyabildiğinden, hücre dışı veziküllerin ayrıca membranlarında nörotransmitter reseptörleri taşıyabileceği varsayılabilir. Hücre dışı veziküllerde çoklu belirteçlerin kullanılması, psikiyatrik bozuklukların anlaşılması ve yönetilmesi için büyük bir potansiyel taşımaktadır (İlgın ve Topuzoğlu 2018).

“Şizofren Tanılı Olgularda COMT Geni Ekspresyon Seviyelerinin Real Time-PCR Yöntemi ile Araştırılması” (BAP 2017-218) konulu yüksek lisans tez çalışmasında kullanılan hasta ile kontrol örnekleri çalışmamız ile aynı olup elde edilen sonuçlar bulgular ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, GAPDH ile normalize edilmiş COMT gen ekspresyon düzeyleri, hasta birey ve sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında, 3 hasta bireyde anlamlı down regülasyon tespit edilmiştir.

Çalışmamız sonucunda ise, GAPDH ile normalize edilmiş COMT geninin eksozomlardaki ifadesini örnek bazında değerlendirdiğimizde 6 hasta bireyde COMT geni ekspresyon seviyelerinin anlamlı up regülasyonu, 1 hasta bireyde COMT geni ekspresyon seviyesinin anlamsız up regülasyonu, 1 hasta bireyde COMT geni ekspresyon seviyesinin anlamsız down regülasyonu olduğu belirlenmiştir.

2018-184 no' lu **‘Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması’** konulu BAP projemiz devam etmektedir. Hasta sayısı, projede hedeflenen sayıya (50 hasta) ulaştığında araştırma sonucu istatistiksel olarak tam bir

sonuç ile ifade edilebilecektir. Bu sayede anlamlı olan tez ön çalışma sonuçlarımızın daha da anlam kazanacağını düşünmekteyiz. Şizofren hastalarında COMT genin eksozomlardaki ifadesinin Kantitatif Real Time PCR Yöntemi ile araştırılması sonuçlarımız üniversitemizde elde edilen ilk sonuçlar olma özelliğini taşımaktadır.



8.KAYNAKLAR

Acar C, Kartalcı Ş. Şizofreninin Etyopatogenezinde Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) Geninin Rolü. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry 2014; 6(3):217-226

Altinyazar V, Gunderici A, Tinaz E, Kirci C. No association of Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Gene Haplotypes in Patients with Schizophrenia in a Turkish Sample. Klinik Psikofarmakoloji Bulteni - Bulletin of Clinical Psychopharmacology 2015;25(2):129-35

Arslan E, Altıntaş N, Ayer A, Danacı AE, Aşçı M, Örenay S. Manisa’da Şizofren Hastaların Sitogenetik Analizi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile COMT (21q11.2) Genin Teşhisi. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 2011: 20(2) 99-106,

Barber R, Harmer D, Coleman R, Clark B. GAPDH as a housekeeping gene: analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues. Physiol Genomics. 2005 May 11;21(3):389-95.

Behbahani P, Kazemi S, Foroughmand A, , Ahmadi L. Association study of single nucleotide polymorphism rs165599 of COMT gene, with schizophrenia and bipolar mood disorder in the South-west of Iran. Molecular Biology Research Communications 2015;4(2):67-72

Belene E. Şizofreni’de Anksiyete Belirtilerinin, Pozitif, Negatif ve Depresif Belirtiler, intihar Düşüncesi, içgörü Ve Yaşam Kalitesi Açısından incelenmesi. Uzmanlık Tezi İstanbul – 2009

Belli H, Özçetin A, Ertem Ü, Alpay E, Bahçebaşı T, Kıran K, Baykız F, Bayık Y. Şizofreni hastalarında bazı sosyodemografik özellikler ve tedavi ile ilişkili etkenler Anatolian Journal of Psychiatry 2007; 8:102-112

Berry N, Jobanputra V, Pal H. Molecular genetics of schizophrenia: a critical review J Psychiatry Neurosci 2003;28(6):415-29

Butcher JN, Mineka S, Hooley JM. Anormal psikolojisi. Kaknüs yayınları. 2013

Chana G., Bousman A, Money T, Gibbons A, Gillett P. Dean B. Biomarker investigations related to pathophysiological pathways in schizophrenia and psychosis. *Front Cell Neurosci* 2013; 26;7:95

Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, Kolachana BS, Hyde TM, Herman MM, Apud J, Egan MF, Kleinman JE, and Weinberger DR. 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, 2004

Erken, H. İki Uçlu Bozukluk Tanı ve Tedavisine İlişkin Genetik Bulgular *Journal of Mood Disorders*, 2013;3(Suppl. 1):S26-S30

Ertuğrul A, Şizofreni Etiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2005;1(12):6-14

Gejman P, Sanders A, and Duan J. The Role of Genetics in the Etiology of Schizophrenia *Psychiatr Clin North Am.* 2010 March ; 33(1): 35–66.

Ilgın C ve Topuzoğlu A. Extracellular Vesicles in Psychiatry Research in the Context of RDoC Criteria. *Psychiatry Investig* 2018;15(11):1011-1018

Kara N, Türkçapar M. Şizofreni Altıptilerinin Geçerliliği: Karşılaştırmalı Bir Çalışma *Klinik Psikiyatri* 2014;17:119-128

Kaya H, Erden B. Psikozlar: Serotonin-Dopamin Etkileşmesi *Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics.* 2016;4(1):21-9

Klein D. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations. *Trends in Molecular Medicine* 2002; 8: 257-260.

Kocal Y , Karakuş G , Sert D. Şizofreni: Etiyoloji, Klinik Özellikler ve Tedavi. *Archives Medical Review Journal* 2017;26(2):251-267 doi:10.17827/aktd.303574)

Koçak E, Ertuğrul A. Psikiyatrik Bozukluklar ve Epigenetik *Türk Psikiyatri Dergisi* 2012;23

Kokurcan A. Şizofreni Genetiğinde Yeni Gelişmeler ve Bunların Klinik Uygulamaya Etkisi. *New/Yeni Symposium Journal* 2014;52(1):17-23

Kubista M, Andrade J, Bengtsson M, Forootan A, Jonak J, Lind K, Sindelka R, Sjöback R. The real-time polymerase chain reaction *Molecular Aspects of Medicine.* 2006;27(1-2): 95-125

Lee S, Huang K. Epigenetic profiling of human brain differential DNA methylation networks in schizophrenia *The Author(s) BMC Medical Genomics* 2016, 9(Suppl 3):68

- Livak K, Schmittgen T. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 22DDCT Method 2001; **25**, 402–408
- Nasrallah H, Delisi L. An official journal of the schizophrenia international research society. Elsevier B.V. All rights reserved, 2014; 153:1
- Özpoyraz N, Taman L. Şizofrenik Bozukluk. Galenos. 1998; 26-31
- Sanders A, Daun J, Levinson D, Shi J, He D, Hou C, Burrell G, Rice J, Nertney D, Olincy A. No Significant Association of 14 Candidate Genes With Schizophrenia in a Large European Ancestry Sample: Implications for Psychiatric Genetics Am J Psychiatry 2008; 165:4
- Sekar A, Bialas A, Rivera H, Davis A, Hammond T, Kamitaki N, Tooley K, Presumey J, Baum M, Doren V. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4 Published in final edited form as: Nature. 2016 Feb 11; 530(7589): 177–183.
- Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu E, Herken H. Şizofreni ve Diğer Psikotik Bozukluklar 1. Baskı: Ekim 2007, Ankara
- Sperber H. MicroRNA target predictions in candidate genes for schizophrenia. 2007
- Sullivan P. The Genetics of Schizophrenia. PLoS Medicine 2005 PLoS Med 2(7): e212
- Summakoglu D, Ertugrul B. Şizofreni ve Tedavisi. Lectio Scientific Journal of Health and Natural Sciences 2018; 1,2 :43- 61
- Şengül C, Şengül C, Herken H. Şizofreni Genetiği Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics. 2016;9(1):38-43
- Thibaut F. Schizophrenia: an example of complex genetic Disease. The World Journal of Biological Psychiatry 2009; 7:4, 194-197
- Üçok A. Şizofreninin Erken Döneminde Klinik Özellikler ve Tedavi İlkeleri. Klinik Psikiyatri 2008;11(Ek 1):3-8
- Varma G, Karadağ F, Erdal M, Ay Ö, Levent N, Tekkanat Ç, Gökdoğan T, Herken H. Katekol-O-Metiltransferaz Geni Val158Met Polimorfizminin Şizofreni Hastalarındaki Bilişsel İşlevlere Etkileri. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2011;21:24-32
- Wang H, Zhang B, Zeng B, Tanga Y, Zhang T, Zhao S, Li C, Wanga J, Goff DC. Association between catechol-O-methyltransferase genetic variation and functional

connectivity in patients with first-episode schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2018;199:214–220

Xu Y, Shugart Y, Wang G, Cheng Z, Jin C, Zhang K, Wang J, Yu H, Yue W, Zhang F, Zhang D. Altered expression of mRNA profiles in blood of early-onset schizophrenia. *Scientific Reports* 2016; 6:16767

Yang J, Yan B, Fan Y, Yang L, Zhao B, Zhu F, Zheng J, Wang W, Bai L, Zhang F, Ma X. Identification of schizophrenia related biological pathways across eight brain regions. *Behav Brain Res.* 2019; Mar 15;360:1-6

Yavaşçı E, Akaya C. Şizofrenide Serotonin Rolü Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry 2012; 4(2):237-259

Delibaş D, Çam B. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde yatan psikotik bozukluk tanılı hastaların sosyodemografik ve klinik özellikleri 2018 *J Contemp Med* 2018;8(3):259-263

Ilgın C, Topuzoğlu A. Extracellular Vesicles in Psychiatry Research in the Context of RDoC Criteria. *Psychiatry Investig* 2018;15(11):1011-1018

Köroğlu E. Amerikan Psikiyatri Birliği Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı, Hekimler Yayın Birliği 2007; 4: 419-447

Yavuz R. Şizofreni. Türkiye’de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi ;2008 S:49-58

Sivagnansundaram S, Müller D, Gubanov A, Potkin S, Kennedy J. Genetics of schizophrenia: current strategies. *Clinical Neuroscience Research* 3. 2003; 5–16

Şar V. DSM-5 Taslak Tanı Ölçütlerine Genel bir Bakış: "Batı Cephesinde Yeni bir şey Yok"mu? *Klinik Psikiyatri* 2010;13:196-208

9. EKLER

EK 1: Enstitü Yönetim Kurulu Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04/05/2018-E.40814

**MANİSA**
CELAL BAYAR
ÜNİVERSİTESİ

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

Sayı : 28233352-302.14.01-
Konu : Demet BULUT'un Tez Konusu Hk.

SBE TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüz 23.03.2018 tarih ve 11/14 sayılı yönetim kurulu toplantısında, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı 3113010001 tezli yüksek lisans programı öğrencisi Demet BULUT'un daha önce belirlenen "Şizofren Tanılı Olgularda Dolaşan Hücre Dışı miRNA Ekspresyonunun Araştırılma" tez başlığının 15.03.2018 tarihinde yapılan Akademik Kuru toplantısında "Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR İle Araştırılması" olarak değiştirilmesine **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

Gereğini ve bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Ayşe AKTAŞ
Enstitü Müdürü

Adres: Tıp Fakültesi Dekanlığı Zemin Katı Uzunbozdağı Kampüsü Manisa
Telefon (0 236) 2360989 Faks(0 236) 2382158
E-Posta: saglik.sekreserlik@cbu.edu.tr Elektronik Ağ: saglik@cbu.edu.tr

Bilgi İçin: Bilal Sokun
Ünvanı: Bilgi İşleri Uzmanı

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

EK 2: Etik Kurul İzin Belgesi

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

KARAR TARİH / NO	30 / 05 / 2018/ 20.478.486 -				
ARAŞTIRMANIN ADI	Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması				
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Doç. Dr. Nuray Altıntaş				
ARAŞTIRMA EKİBİ	Biyolog Demet Bulut				
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ ☐	YÜKSEK LİSANS-DOKTORA-TEZİ ☒	AKADEMİK AMAÇLI ☐		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	28 / 05 / 2018 / Tarih ve 24833 sayılı; yeni araştırma başlığı ile düzenlenmiş Onam Formunun eklenmesi(gerektiğinde hasta vasılları için de hazırlanması) konulu dilekçe				
KARAR BİLGİLERİ	Düzeltilme dilekçesi incelenmiş; araştırma başvuru formu ve gerekli ekleri ile birlikte bilimsel ve Etik açıdan UYGUN olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye
Prof. Dr. Zeki ARI Tıbbi Biyokimya AD	☒	☐	Doç. Dr. Serdar TOK Spor Bilimleri Fakültesi	☐	☐
Prof. Dr. Murat DEMET Psikiyatri AD	☒	☐	Dr. Öğr. Üyesi Selim ALTAN Tıbbi Etik AD	☒	☐
Prof. Dr. Betül ERDOY Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	☒	☐	Dr. Öğr. Üyesi Nurgül Gönçer TAVŞANLI Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü	☐	☒
Doç. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT Halk Sağlığı AD	☒	☐	Mukadder YILMAZER Avukat	☐	☐
Doç. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU Farmakoloji AD	☒	☐	Sivil Üye Hüseyin TUNÇAY	☐	☐
Etik Kurulumuzun kararı yukarıda belirtilmiştir. Araştırmanız Her Hangi Bir Aşamada Etik Kurulumuzun "İzleme - Denetleme" Görevi Gereği Lüzumu Halinde Haberli / Habersiz Olarak Denetlenebilir. Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname - Bölüm E kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim. Prof. Dr. Zeki ARI Başkan					

EK 3: Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

ÇALIŞMANIN ADI (Araştırma başvuru formunda bölüm A.2’de yer alan araştırma adı kullanılmalıdır.): “Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması”

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Eğer isterseniz, bu çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Çalışma amacıyla yapılan normal muayeneniz sırasında istenilen tetkikleriniz dışındaki tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyicisi tarafından karşılanacak; size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI :

Psikiyatrik bozuklukların nörobiyolojisi ve genetiğini anlamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, psikiyatrik hastalıklar genetik açıdan tam olarak tanımlanabilmiş değildir. Meta-analitik çalışmalar şizofreniye yatkınlık genlerinin 6p, 10p, 15q, 18q ve 22q üzerinde olabileceğini ileri sürmektedir. Şizofreni üzerinde birçok araştırmanın yapıldığı bir zihinsel bozukluktur. Bozukluğun arkasında yatan faktörlerle ilgili sonuçlar önemini devam ettirmekle birlikte genelde bunun hem genetik hem de çevresel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Şizofreni, bir ön belirtiyel başlayarak ergenlik ya da genç yetişkinlikte ilk atak ve daha sonra yetişkinlik yıllarında bozulma olmak üzere doğal bir seyir izler . Dil, düşünce, algılama, duygusal etki ve benlik duygusu dahil olmak üzere insanlık bilinci ve kişiliğindeki birkaç temel özelliği tamamen derinden etkilemektedir. SZ'nin geniş yaygınlığı ve zayıflatıcı doğasına rağmen, patogenezi ile ilgili çok az şey bilinmektedir .Birçok gen, şizofreni oluşumuna yatkınlıkta aday olarak gösterilmektedir, bunlar arasında catechol-O-methyltransferase (COMT), dysbindin-1

(DTNBP1) ve neuregulin-1 (NRG1) gibi genler sayılabilir. Katekol-O-metiltransferaz enzimi, dopamin, epinefrin ve norepinefrin nörotransmitterlerini de içeren katekolaminler S-adenozilmetiyoninden metil grubu transferini gerçekleştiren enzimdir. COMT geni 22q11.2'de kromozomal yerleşim göstermektedir. İyi karakterize edilmiş 2 protein izoformunu kodlamaktadır. Bu izoformların substrat afiniteleri ve kapasiteleri farklılık göstermektedir. Çalışılan doku gruplarında COMT'un sitoplazmik tipi (S-COMT) baskınlık gösterirken, beyinde uzun olan membrana bağlı tipi (MBCOMT) ana tiptir. Yapılan araştırmalar da, dopamin'e indirgeyen enzimi kodlayan COMT genindeki düzensizlik kanıtı bulunmuştur. COMT'daki şizofreniye yatkınlığa meyilli polimorfizm içeren gen çalışmaları sonuçları uyumlu olduğu bildirilmektedir. miRNA'lar, gen ifadesinin post-transkripsiyonel düzenleyicileri olarak işlev gören küçük kodlamayan RNA'lardır. Bu düzenleyiciler gen ekspresyonunu değiştirebilirler ve dolayısıyla genomik bölgedeki kopya sayısındaki değişiklikleri ve hastalıkla ilişkili gen yollarını önemli ölçüde farklılaştırırlar. Tanının doğruluğunu, iyileştirmenin zamanlamasını ve şizofreni riski çok yüksek bireyleri belirlemek için erişilebilir biyolojik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bilgi aynı zamanda kişiye özel tedaviye başlayabilmeyi ve daha etkili erken müdahaleyi mümkün kılma olanağı da sağlayabilecektir. Yapılan çalışmalarla, beyin biyopsilerinin kabul edilemez olduğunu, beyin görüntüleme tekniklerinin pahalı olduğu ve sonuçların kesin olmadığı için, son yıllarda şizofreni için kan temelli biyolojik belirteçlerin geçerli bir alternatif olduğu araştırılmıştır. Kan temelli biyolojik göstergeler uygulanabilir bir seçenek olarak görülüyor, çünkü periferik kandaki gen ekspresyonu, epigenetik kalıplar, protein miktarı, metabolik ve inflamatuvar moleküllerin düzenlenmemesi şizofreni'li insanlarda farklı şekillere sahip olduğu gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, iki tip hücre kaynaklı lipid vezikül içinde RNA'ları tanımlamaktadır ; mikroveziküller ve ekzozomlar. Mikroveziküller, kabarcıklanma yoluyla hücreden salınan nispeten büyük (100 nm-1 µm) veziküllerdir. Öte yandan ekzozomlar, endozomal türevi multivesiküler plazma membranı ile kaynaştığında serbest bırakılan küçük veziküllerdir (30-100 nm). Ekzozomlar, çapı 50 ila 100 µm arasında değişen veziküller olarak hücre içi multivesiküler cisimciklerden kaynaklanır ve multivesiküler cisimlerin hücre zarı ile kaynaştırılmasından sonra ekzositoz yoluyla atılırlar. Ekzozomların tanısal amaçlı kullanımları daha çok yeni bir yöntem olmakla birlikte önemli bir yenilikçi gizli güç içermektedir. Günümüzde birçok hastalıklar için

duyarlılığı ve özgünlüğü düşük tanı yöntemleri bulunmaktadır. Eksozomların genetik malzeme taşımaları ve tüm vücut sıvılarından ayrıştırılabilmeleri yeni, özgül ve girişimsel olmayan tanı yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır .

CALIŞMA İŞLEMLERİ:

(Gönüllüden kan alınacak ise kan miktar 2 ml (bir çay kaşığı) / 5 ml (bir tatlı kaşığı) şeklinde belirtilmelidir Çalışma işlemlerinin hasta açısından yan etkileri, riskleri ve rahatsızlıkları açıklanmalıdır.)

Çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 (1-2 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan genetik materyal olarak RNA elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir. Kan alınmadığı durumlarda biyolojik örneğin bulunabileceği, yanak içinden alınan az bir miktarda sürüntü, tek bir tel saç, idrar gibi örnekler almamız gerekebilir. Eğer size ya da çocuğunuza bu hastalığın düzeltilmesine yönelik cerrahi bir girişim uygulanacaksa bu işlem sırasında zaten çıkarılacak olan doku bu araştırma açısından da incelenebilir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

CALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır. Bu araştırmada sizin için beklenen yararlar; sizde veya ailenizde var olan hastalığınızın aile içindeki diğer fertler ve sağlıklı bireylerle karşılaştırılması yapılarak, hastalığın olası nedenlerinin ortaya çıkarılacak farklılığın nedenlerinin ortaya çıkarılması istenmektedir.

GÖNÜLLÜYE UYGULANACAK İŞLEMLERİN OLASI ZARARLARI NELERDİR?

Size bu araştırmada 1 veya iki kere kan alımı uygulanacaktır. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz. Gönüllüye kendine ait tıbbi bilgilere ancak verilerin analizinden sonra ulaşabileceği bildirilecektir.

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :

1. Doc. Dr. Nuray ALTINTAŞ / Tel: 05325276553

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıdaki bilgileri doktorumla ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve ileriki araştırmalarda materyalimin kullanılmasına izin veriyorum. Bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

<i>Gönüllü Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Veli / Vasinin Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Tanık¹ Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Araştırmacı² Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
--	--	-----------------------

<i>Adres ve Telefon:</i>	
--------------------------	--

1: Gönüllünün bilgilendirilme işlemine başından sonuna dek tanıklık eden kişi

2: Gönüllüyü araştırma hakkında bilgilendiren kişi



EK 4: Sağlıklı Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

ÇALIŞMANIN ADI (Araştırma başvuru formunda bölüm A.2’de yer alan araştırma adı kullanılmalıdır.) : “Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması”

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Sağlıklı Olur Formu verilecektir. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Eğer isterseniz, bu çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Çalışma amacıyla yapılan normal muayeneniz sırasında istenilen tetkikleriniz dışındaki tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyicisi tarafından karşılanacak; size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI :

Psikiyatrik bozuklukların nörobiyolojisi ve genetiğini anlamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, psikiyatrik hastalıklar genetik açıdan tam olarak tanımlanabilmiş değildir. Meta-analitik çalışmalar şizofreniye yatkınlık genlerinin 6p, 10p, 15q, 18q ve 22q üzerinde olabileceğini ileri sürmektedir. Şizofreni üzerinde birçok araştırmanın yapıldığı bir zihinsel bozukluktur. Bozukluğun arkasında yatan faktörlerle ilgili sonuçlar önemini devam ettirmekle birlikte genelde bunun hem genetik hem de çevresel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Şizofreni, bir ön belirtiyel başlayarak ergenlik ya da genç yetişkinlikte ilk atak ve daha sonra yetişkinlik yıllarında bozulma olmak üzere doğal bir seyir izler (18). Dil, düşünce, algılama, duygusal etki ve benlik duygusu dahil olmak üzere insanlık bilinci ve kişiliğindeki birkaç temel özelliği tamamen derinden etkilemektedir. SZ'nin geniş yaygınlığı ve zayıflatıcı doğasına rağmen, patogenezi ile ilgili çok az şey bilinmektedir. Birçok gen, şizofreni oluşumuna yatkınlıkta aday olarak gösterilmektedir, bunlar arasında catechol-O-methyltransferase (COMT), dysbindin-1 (DTNBP1) ve neuregulin-1 (NRG1) gibi genler sayılabilir. Katekol-O-metiltransferaz

enzimi, dopamin, epinefrin ve norepinefrin nörotransmitterlerini de içeren katekolaminler S-adenozilmetiyoninden metil grubu transferini gerçekleştiren enzimdir. COMT geni 22q11.2'de kromozomal yerleşim göstermektedir. İyi karakterize edilmiş 2 protein izoformunu kodlamaktadır. Bu izoformların substrat afiniteleri ve kapasiteleri farklılık göstermektedir. Çalışılan doku gruplarında COMT'un sitoplazmik tipi (S-COMT) baskınlık gösterirken, beyinde uzun olan membrana bağlı tipi (MBCOMT) ana tiptir. Yapılan araştırmalar da, dopamin'e indirgeyen enzimi kodlayan COMT genindeki düzensizlik kanıtı bulunmuştur. COMT'daki şizofreniye yatkınlığa meyilli polimorfizm içeren gen çalışmaları sonuçları uyumlu olduğu bildirilmektedir. Şizofreni ile ilgili aday genler ve genomik bölgelerin belirlenmesi için yapılan çalışma sayısı yüksek olup, RNA ile yapılan yayın sayısı ise sınırlıdır. RNA'lar, gen ifadesinin post-transkripsiyonel düzenleyicileri olarak işlev gören küçük kodlamayan RNA'lardır (12). Bu düzenleyiciler gen ekspresyonunu değiştirebilirler ve dolayısıyla genomik bölgedeki kopya sayısındaki değişiklikleri ve hastalıkla ilişkili gen yollarını önemli ölçüde farklılaştırırlar. Transkripsiyon sonrası seviyede gen ekspresyonunu düzenlemek ve gelişmiş beyindeki sinir sistemi gelişimini ve nöronal fonksiyonu koordine etmek için önemlidir. Önceki araştırmalar, miRNA'ların neyrit büyüme, dendritogenesis ve dendritik omurga oluşumu gibi nörogelişim ve olgunlaşmada potansiyel bir rol oynayabileceğini ortaya koymuştur. Bu gelişmeler şizofrenide olası teşhis için biyolojik belirteçler olarak miRNA'ların önemini vurgulamaktadır. Bugüne kadar, miRNA biyolojik belirteçleri ağırlıklı olarak beyin dokusundan çıkarılmıştır. İleride yapılacak çalışmalarda, biyolojik belirteç olarak periferik kandaki miRNA'ların kullanımı incelemede olabilecektir. Çünkü daha erişilebilir durumdadırlar. Dolaşan miRNA'lar şizofreni gibi nöronal sistem ve sinaptik fonksiyon bozukluklarını içeren karmaşık nöropsikiyatrik hastalıkta faydalı olabilmektedir. Kortikal miRNA ekspresyonundaki değişikliklerin patofizyolojisi belirlenmeye devam edilmesine rağmen, miRNA ekspresyonunun değişimi beyne uzanmaktadır ve şizofreni için yararlı klinik kullanım için erişilebilir periferik biyolojik belirteç sağlayabilir. Tanının doğruluğunu, iyileştirmenin zamanlamasını ve şizofreni riski çok yüksek bireyleri belirlemek için erişilebilir biyolojik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bilgi aynı zamanda kişiye özel tedaviye başlayabilmeyi ve daha etkili erken müdahaleyi mümkün kılma olanağı da sağlayabilecektir. Yapılan çalışmalarla, beyin biyopsilerinin kabul edilemez olduğunu, beyin görüntüleme tekniklerinin pahalı

olduğu ve sonuçların kesin olmadığı için, son yıllarda şizofreni için kan temelli biyolojik belirteçlerin geçerli bir alternatif olduğu araştırılmıştır. Kan temelli biyolojik göstergeler uygulanabilir bir seçenek olarak görülüyor, çünkü periferik kandaki gen ekspresyonu, epigenetik kalıplar, protein miktarı, metabolik ve inflamatuvar moleküllerin düzenlenmemesi şizofreni'li insanlarda farklı şekillere sahip olduğu gösterilmiştir. Mikroveziküller, kabarcıklanma yoluyla hücreden salınan nispeten büyük (100 nm-1 µm) veziküllerdir. Öte yandan ekzozomlar, endozomal türevi multivesiküler plazma membranı ile kaynaştığında serbest bırakılan küçük veziküllerdir (30-100 nm). MiRNA'lar hem insan hem de fare mast hücreleri, glioblastoma tümörleri, plazma, tükürük ve idrar da dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan türetilen mikroveziküllerde ve ekzozomlarda tanımlanmıştır. Ekzozomlar, çapı 50 ila 100 µm arasında değişen veziküller olarak hücre içi multivesiküler cisimciklerden kaynaklanır ve multivesiküler cisimlerin hücre zarı ile kaynaştırılmasından sonra ekzositoz yoluyla atılırlar. Ekzozomların tanısal amaçlı kullanımları daha çok yeni bir yöntem olmakla birlikte önemli bir yenilikçi gizli güç içermektedir. Günümüzde birçok hastalıklar için duyarlılığı ve özgünlüğü düşük tanı yöntemleri bulunmaktadır. Ekzozomların genetik malzeme RNA taşımaları ve tüm vücut sıvılarından ayrıştırılabilmeleri yeni, özgül ve girişimsel olmayan tanı yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

(Gönüllüden kan alınacak ise kan miktar 2 ml (bir çay kaşığı) / 5 ml (bir tatlı kaşığı) şeklinde belirtilmelidir Çalışma işlemlerinin hasta açısından yan etkileri, riskleri ve rahatsızlıkları açıklanmalıdır.)

Çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 (1-2 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan genetik materyal olarak RNA elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir. Kan alınamadığı durumlarda biyolojik örneğin bulunabileceği, yanak içinden alınan az bir miktarda sürüntü, tek bir tel saç, idrar gibi örnekler almamız gerekebilir. Eğer size ya da çocuğunuza bu hastalığın düzeltilmesine yönelik cerrahi bir girişim uygulanacaksa bu işlem sırasında zaten çıkarılacak olan doku bu araştırma açısından da incelenebilir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender

durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir.

Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Bu araştırmada sizin için beklenen yararlar; hasta bireylerle sağlıklı bireylerin karşılaştırılması yapılarak , hastalığın olası nedenlerinin ortaya çıkarılacak farklılığın nedenlerinin ortaya çıkarılması istenmektedir. Hasta olan bireylere gönüllü kontrol grubu olarak katkı sağlamış olacaksınız.

SAĞLIKLI GÖNÜLLÜYE UYGULANACAK İŞLEMLERİN OLASI ZARARLARI NELERDİR?

Size bu araştırmada 1 veya iki kere kan alımı uygulanacaktır. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz. Gönüllüye kendine ait tıbbi bilgilere ancak verilerin analizinden sonra ulaşabileceği bildirilecektir.

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BASVURULACAK KİŞİLER :

1. Doc. Dr. Nuray ALTINTAŞ / Tel: 05325276553

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıdaki bilgileri doktorumla ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve ileriki araştırmalarda materyalimin kullanılmasına izin veriyorum. Bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

<i>Sağlıklı Gönüllü Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Veli / Vasinin Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Tanık¹ Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Araştırmacı² Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

1: Gönüllünün bilgilendirilme işlemine başından sonuna dek tanıklık eden kişi

2: Gönüllüyü araştırma hakkında bilgilendiren kişi

EK 5: Biyolojik Materyal Saklama Onay Formu

CBÜ

TIP FAKÜLTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURULU

BİYOLOJİK MATERYALİN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA AMAÇLI SAKLANMASI İÇİN ONAY FORMU

(*Bu belgede hiç bir şekilde silinme, kazınma, daksilleme vb işlem yapılmamalıdır.) “**Şizofren Tanısı Almış Hasta ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR ile Araştırılması**” isimli araştırmada gönüllü olarak yer almak için onay vermiş bulunmaktasınız. Bu araştırma için sizden kolunuzdan 10-20 (1-2 tüp) ml. kadar kan (biyolojik materyal) alınacaktır. Bu alınan kan’ın bir kısmı çalışma sonunda artabilir. Uygun görmeniz durumunda, bu kalan biyolojik materyal saklanarak ileride eğitim ve/veya araştırma amacıyla kullanılacaktır. Bu durumda kimlik bilgileriniz kesinlikle gizli tutulacak, planlanan her bir araştırma için Etik Kuruldan izin alınacak ve araştırma sonunda anormal bir sonuca ulaşıldığında ivedilikle durumdan haberdar edileceksiniz. Biyolojik Materyalinizin kullanımı ile ilgili olarak aşağıdaki seçeneklerden sizin için en uygun olanını lütfen işaretleyiniz:

BİYOLOJİK MATERYALİMİN:

1.	Onay verdiğim araştırma dışında hiç bir başka araştırmada ve eğitimde kullanılmasına izin vermiyorum.	
2.	Onay verdiğim araştırma dışındaki araştırmalarda ve eğitimde kullanılmaya karar verildiğinde, bana o tarihte tekrar sorulmasını istiyorum.	
3.	Sadece onay verdiğim araştırma konusuyla bağlantılı diğer araştırmalarda ve eğitimde kullanımını onaylıyorum.	
4.	Her türlü eğitim ve araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.	
6.	Diğer.....	

*El yazısı ile ve tükenmez kalemle doldurulmalıdır

	<i>Adı Soyadı</i>	<i>Adresi</i>	<i>Telefon</i>	<i>Tarih</i>	<i>İmza</i>
<i>Gönüllü</i>					
<i>Vasi</i>					
<i>Tanık</i>					
<i>Araştırmacı</i>					

EK 6: Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu
Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığı'na

Tez Adı: Şizofren Tanısı Almış Hasta Ve Kontrol Gruplarında, COMT Genin Eksozomlardaki İfadesinin Kantitatif Real Time PCR İle Araştırılması

Tezime ilişkin 30/07/2019 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 21' dir.

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

Adı Soyadı : Demet BULUT TARHAN
Öğrenci No : 3113010001
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Programı : Tıbbi Biyoloji

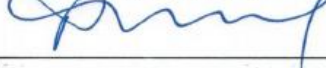
Tarih ve İmza


30.07.2019

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

(Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ)



Açıklamalar

- 1-Tez Çalışması Orjinallik Raporu (TÇOR), TURNITIN İntihal Tespit Programı kullanımı için kişisel hesap alma hakkı bulunan tez danışmanları, Enstitülerde görevlendirilen personeller, Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı'nda görevlendirilen kütüphaneciler tarafından alınır.
- 2-Sayfa sayısı 400'den az olan tezler için tez savunmasından önce ve başarılı olması durumunda düzeltmelerden sonra olmak üzere 2 kez TÇOR alınır.(400 sayfadan fazla olan tezler 400 ve katları şeklinde bölünerek Turnitin veri tabanına yüklenmesi gerekmektedir. Bu gibi durumlarda benzerlik oranının hesaplanmasına ilişkin detaylı forma, kütüphane web sayfasında bulunan Turnitin kullanım kılavuzlarının altından erişilebilir.)
- 3-TÇOR, tezin yalnızca Kapak Sayfası, Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan kısmının tek bir dosya olarak intihal tespit programına yüklenmesi ile alınır.
- 4-Programa yükleme yapılırken Dosya Başlığı (document title) olarak tez başlığının tamamı, Yazar Adı (author's first name) olarak öğrencinin adı, Yazar Soyadı (author's last name) olarak öğrencinin soyadı bilgisi yazılır.
- 5- TURNITIN İntihal tespit programına yüklenen dosyanın süreçlenmesinde, ilgili programdaki filtreleme seçenekleri aşağıdaki şekilde ayarlanır: - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 5 words)
- 5-*kteğe bağlı ayarlar kısmından; "Ödevleri şuraya gönder?" seçeneği mutlaka DEPO YOK şeklinde işaretlenmesi gerekmektedir*; aksi durumda aynı tezin ikinci kez yüklenmesi durumunda benzerlik %100 çıkacaktır ve depodan tezi silmek çok uzun süre gerektirecektir.
- 6- Raporlama işlemi tamamlandıktan sonra, kaydedilmiş olan ekranın görüntüsünü sağ üst köşesinde yüzdelik sayı olarak belirtilen "benzerlik oranı," raporlamaya tabi tutulmuş olan dosyanın "toplam sayfa sayısı" ve raporlama işleminin yapıldığı "tarih" bilgisi, "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orjinallik Raporu" formuna işlenir.
- 7- Benzerlik oranında tüm sorumluluk öğrenciye aittir.
- 8-Tez savunma sınavı sonrasında başarılı bulunan öğrenci, tez savunma sınavı tarihi sonrasında tezde yapılmış muhtemel değişiklikleri içeren dosya kullanılarak alınmış ikinci bir intihal raporundaki bilgiler kullanılarak hazırlanmış ve tez danışmanı tarafından onaylanarak imzalanmış ikinci bir "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orjinallik Raporu"nu Enstitüye teslim etmekle yükümlüdür.
- 9-Turnitin Hakkında Bilgiler: <http://kutuphane.cbu.edu.tr/turnitin.9370.tr.html>

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Demet	Soyadı	BULUT (TARHAN)
Doğum Yeri	İzmir	Doğum Tarihi	04.09.1988
Uyruğu	TC	Tel	05078418835
E-mail	demet- bulut88@hotmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğum Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2011- Devam etmekte
Lisans	Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümü	2007-2011
Lise	Eskişehir Yunus Emre Lisesi	2002-2005

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Biyoloji Öğretmeni	MEB Şehit Seyhan Yılmaz Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Köyceğiz, MUĞLA	2018-Devam ediyor
Biyoloji Öğretmeni	MEB Yenişehir Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, Silopi, ŞIRNAK	2015-2018
Biyoloji Öğretmeni	Bil Dershanesi, İZMİR	2015-2015
Biyolog	Özel Sissus Hastanesi, Çeşme, İZMİR	2012-2013

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Orta	Orta	Orta

Yabancı Dil Sınav Notu								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
-	-	-	-	-	-	-	-	-
				</				

ULUSAL VE ULUSLARARASI KATILIMLI KONGRE VE SEMPOZYUMLARDA ALINAN GÖREVLER

1. 6.Ulusal Hidatidoloji Kongresi (12-15 Eylül 2012), Gaziantep. Kongre Düzenleme Kurulu Üyesi.

2. KONGRE-SEMPOZYUM: 6. Uluslararası Hidatidoloji Kongresi (12-15 Eylül 2012), Uluslararası Katılımlı Genotiplendirme Sempozyumu (19.06.2013), Kanser Biyolojisi ve Genetiği Sempozyumu (31.03.2013).

KATILIM SERTİFİKALARI

1. Ulusal Hidatidoloji Kongresi (Uluslararası) Katılımı, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji, GAZİANTEP (12-15 Eylül 2012).

2. Optimization Techniques for Western Blot, Immunoprecipitation, and Immunohistochemistry, Kimera (27.04.2012).

3. Real-Time PCR Tabanlı Gen Ekspresyonu, Mutasyon ve Metilasyon Profilleme Semineri, QIAGEN (28.03.2012).

KURS SERTİFİKALARI

1. Laboratuvar Güvenliği Uygulamalı Eğitim, Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, MANİSA (16.03.2012).

2. Araştırma Planlama Ve Analiz Yöntemleri, Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, MANİSA (07.03.2013-19.03.2013).

3. Elginkan Vakfı Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi Milli Eğitim Bakanlığı, Bilgisayar ve Ofis Programları Kullanımı Sertifikası (13.11.2012 – 18.12.2012).

4. Microsoft Office Programları, MEB Onaylı Bilgisayar İşletmenliği Sertifikası

5. Pedagojik Formasyon Eğitimi (10.07.2014)