

İBRAHİM ALPER KAYA

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2023

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS DOKTORA TEZİ)

PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO
RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE
İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ

İBRAHİM ALPER KAYA

DANIŞMAN
PROF DR İBRAHİM HAKAN GÜRVİT

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL-2023

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN



İTHAF

Sevgili eşim Dr. Nazlı Seda Gökdereli Kaya'ya ithafen.



TEŞEKKÜR

İstanbul Tıp Fakóltesi Tıbbi biyoloji ABD başkanı Prof.Dr. Fatma Savran Ođuz ve oğretim üyesi Prof.Dr. Çiđdem Kekik'e,

İstanbul tıp fakóltesi Nöroloji ABD oğretim üyesi değerli danıőmanım Prof. Dr. İbrahim Hakan Gürvit'e

Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyoloji ABD başkanı Prof.Dr. Berna Demircan Tan'a

Değerli katkı ve desteklerinden ötürü teşekkür ederim



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Parkinson Hastalığı	3
2.1.1. Parkinson Hastalığı Klinik Özellikleri	3
2.1.2. Parkinson Hastalığı Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri	5
2.1.3. Parkinson Hastalığı Patofizyolojisi	7
2.1.3.1. PH ile İlişkilendirilmiş Moleküler Mekanizmalar ve Hücrel Patofizyoloji	9
2.1.3.2. PH Motor Sistem Patofizyolojisi	10
2.1.4. Parkinson Hastalığı Tanı	11
2.1.5. Parkinson Hastalığı Tedavi	13
2.2. Mikro RNA	14
2.3. Parkinson Hastalığı ve Mikro RNA	17
2.3.1. Dolaşan Mikro RNA 'lar ve Parkinson Hastalığı	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Gereçler.....	23
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	23
3.1.2. Kullanılan Kitler	24
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar	24
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Hasta ve Kontrol Örneklerin Toplanması	25

3.2.2. miRNA ile zenginleştirilmiş toplam RNA'nın izolasyonu.....	26
3.2.3. RNA konsantrasyonu ölçümü	26
3.2.4. Tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi.....	27
3.2.5. rt-qPCR	27
3.2.6. miRNA qPCR Verilerinin Analizi	28
3.2.7. Normalizasyon	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. miRNA Bulguları.....	30
4.2. Çalışma Populasyonu Verileri	35
4.3. miRNA Biyoinformatik verileri.....	36
5. TARTIŞMA	40
5.1. miR-24-3p ve Parkinson Hastalığı.....	40
5.2. miR-331 ve Parkinson Hastalığı	41
5.3. miR-34b ve Parkinson Hastalığı	42
5.4. Serum miRNA çalışmaları ve karşılaşılan zorluklar	42
KAYNAKLAR	46
HAM VERİLER	58
FORMLAR	74
GÖNÜLLÜ ONAY FORMU	80
GÖNÜLLÜ ONAY FORMU	87
ETİK KURUL KARARI	96
PATENT HAKKI İZİNİ	97
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	98
ÖZGEÇMİŞ	99

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: PH yaşa göre türleri (14).....	4
Tablo 2-2: PH ilişkili önemli genler (20).....	6
Tablo 2-3: PH hastalarında vücut sıvıları ve beyin dışı miRNA ekspresyon çalışmaları (81).....	20
Tablo 4-1: miRNA düzeylerinin gruplara göre tanımlayıcı değerleri†	30
Tablo 4-2: Değişkenler ile miRNA arasındaki ilişki ^b	31
Tablo 4-3: miRNA'ların ROC eğrisi altında kalan alanları.....	33
Tablo 4-4: Fold değişimi değerleri	35
Tablo 4-5: : Çalışma popülasyonu demografik ve klinik özellikleri	36
Tablo 4-6: Tarbase miR-331 deneysel olarak kanıtlanmış PH ilişkili gen interaksiyonları	36
Tablo 4-7: Tarbase miR-24-3p deneysel olarak kanıtlanmış PH ilişkili gen interaksiyonları	37
Tablo 4-8: miR-34b deneysel olarak kanıtlanmış PH ilişkili gen interaksiyonları.....	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: PH, Parkinsonizm ve ilgili klinik tanımlamalar (14).	4
Şekil 2-2: a-Kontrol ve PH substantia nigra pigment kaybı, b-Sağlıklı bireyde hematoksilin eozin boyamada dopaminerjik nöron pigmentasyonu, c,d-PH pigmentasyon kaybı, e,f,g-İmmunhistokimya boyama ile Lewy cisimciği gösterimi (41)	7
Şekil 2-3: Braak Sınıflamasına göre evreleme ve Lewy cisimciklerinin yayılımı (41)....	8
Şekil 2-4: PH’da azalan substantia nigra dopaminerjik etkisinin D1 ve D2 reseptörleri aracılığı ile talamaokortikal eksitator etkiyi azaltması (42).....	11
Şekil 2-5: PH motor ve non-motor semptom ve olası komplikasyonların hastalık progresyonu ve zamana dağılımı (46)	12
Şekil 2-6: Dicer ve Drosha miRNA kesme bölgeleri	15
Şekil 2-7: pri ve pre miRNA’dan olgun miRNA ve RISC oluşma süreci (55)	15
Şekil 2-8: Kanonik ve non-Kanonik miRNA üretimi (62)	17
Şekil 2-9: PH patolojik miRNA’lar, ilgili genler ve patofizyolojik yollar (78).....	19
Şekil 3-1: rt-qPCR versiyon 2.1.0.9 ekspresyon analizi grafiği	28
Şekil 3-2: PH ve kontrol grubu eksternal kontrol cel-miR-39 düzeyleri arasında fark olmaması örnekler boyunca izolasyon işleminin yüksek ve stabil verimini göstermekte	29
Şekil 4-1: miR-24’ ün grupları ayırma başarısı (ROC eğrisi)	33
Şekil 4-2: miR-24-3p ve miR-34b’ nin gruplara göre tanımlayıcı değerleri	34
Şekil 4-3: miR-331 PH gen interaksiyonları ve PH ilişkili yollar analizi	37
Şekil 4-4: miR-24-3p gen interaksiyonları ve PH ilişkili yollar analizi.....	38
Şekil 4-5: miR-34b gen interaksiyonları ve PH ilişkili yollar analizi	39

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- PH: Parkinson Hastalığı
- RNA: Ribonükleik Asit
- DNA: Deoksiribonükleik Asit
- miRNA: Mikro ribonükleik asit
- PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu
- PCR: Polymerase Chain Reaction
- H&Y: Hoehn and Yahr
- UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale
- MDS: Movement Disorder Society
- MIGB: Metaiodobenzilguanidin
- Hz: Hertz
- MTPT: 1-metil-4-fenil tetrahidropuridin
- OD: Otozomal dominant
- OR: Otozomal resesif
- EBPH: Erken başlangıçlı Parkinson hastalığı
- GBPH: Geç başlangıçlı Parkinson hastalığı
- LRRK2: Leucine rich repeat kinase 2
- SNCA: Alfa sinüklein geni
- GBA: Glukoserebrozidaz
- PINK1: Pten indüke putatif kinaz
- PRKN: Parkin
- SN: Substantia Nigra
- GABA: Gama aminobutirik asit
- SPECT: Single photon emission computer tomography
- PET: Pozitron emisyon tomografi
- AB42: Amiloid beta 42
- L-DOPA: Levodopa
- DBS: Derin beyin stimülasyonu

TRBP: Transactivating response RNA binding protein

Ago: Argonaute

RISC: RNA induced silencing complex

SNP: Single nucleotide polymorphism

shRNA: short hairpin ribonükleik asit

rt-qPCR: real time-quantitative polymerase chain reaction

NGS: Next generation sequencing

Ex-miR: eksozomal mikro RNA

Nm: nanometre

LEDD: Levodopa equivalent dose

ROC: Receiver operating characteristics

CT: Cycle Threshold

ÖZET

İA Kaya Parkinson Hastalarında Belirli Serum Mikro RNA Seviyelerinin Ve Hastalık Seyri İle İlişkilerinin Gösterilmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD Doktora Tezi. İstanbul. 2021

Parkinson hastalığı (PH) en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan biridir ve hastalığın etiopatogenezi, tanısı ve tedavisi konusunda çalışmalar devam etmektedir. Son yıllarda birçok hastalığın tanısı ve tedavisi konularında gözde araştırma konularından biri olan mikro RNA'ların (miRNA) PH tanısında biyobelirteç, hastalığın seyri ve takibi için ise bir gösterge olarak kullanılabilme potansiyelleri bulunmaktadır. miRNA'lar eksprese edildikleri dokulardan eksozomlar içerisinde dolaşıma geçebilmekte ve dolaşan miRNA'lar olarak periferik kandan izole edilebilmektedirler. Periferik kan kolay erişilebilir ve minimal invazif olması dolayısıyla avantajlı bir kaynaktır. Yaptığımız çalışmada, PH'da ekspresyonlarının değiştiği öngörülen miRNA'lardan serum seviyelerinin değerlendirilmesi için miR-16-1, miR-24-3p, miR-30a, miR-30e, miR-34a, miR-34b, miR-331 olmak üzere toplamda 7 miRNA ve normalizasyon için miR-191 ve miR-1228, 2 internal, cel-mir-39, 1 eksternal, olmak üzere toplamda 10 adet miRNA belirlendi, miRNA serum seviyeleri her örnek için gerçek zamanlı kantitatif PCR ile gösterildi. Çalışılan miRNA'ların serum seviyeleri, yaşları 40-80 arasında değişen, hipertansiyon dışında ek hastalığı bulunmayan ve Hoehn and Yahr 1,2 ve 3 hasatlık şiddetinde toplam 51 PH hastası ve cinsiyet, yaş ve eğitim itibariyle eşleşen 20 sağlıklı kontrolde, hasta ve kontroller arasındaki, ayrıca hastalığa sahip kişilerin kişisel ve hastalık karakteristikleri arasındaki farklar açısından incelendi. PH'lı hastalar ile kontrol grubu arasında mir-24-3p 1,7 kat artmış ve miR-34b serum seviyeleri 1,65 kat azalmış olarak anlamlı derecede farklı bulundu (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,023$). Hastalar arasında yapılan değerlendirmede mir-30e'nin serum seviyelerinin yaş ile birlikte anlamlı derecede değiştiği ($p=0,019$), UPDRS skorları ile ise mir-331 serum seviyelerinin anlamlı derecede değiştiği ($p=0,027$) gösterildi. PH ile ilişkili bulunan mikro RNA'ların bioinformatik analizleri yapıldı, PH ilişkili gen interaksiyonları gösterildi.

Anahtar Kelimeler : PARKİNSON HASTALIĞI, MİKRORNA, KANTİTATİF PCR, DOLAŞAN MİKRORNA, MİRNA

ABSTRACT

KAYA I.A (2021). Specific Serum Micro Rna Levels and Their Relationship with Disease Course in Parkinson's Patients, İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology. Doctoral Thesis. İstanbul.

Parkinson's Disease is one of the most common neurodegenerative diseases and studies are ongoing on etiopathogenesis, diagnosis and treatment of the disease. MicroRNAs, which have been one of the favorite research topics in the diagnosis and treatment of many diseases in recent years, have the potential to be used as biomarkers in the diagnosis of Parkinson's Disease and as an indicator for the course and follow-up of the disease. MicroRNAs can circulate in exosomes from the tissues they are expressed in and can be isolated from peripheral blood as circulating microRNAs. Peripheral blood is an advantageous source because it is easily accessible and minimally invasive. In our study miR-16-1, miR-24-3p, miR-30a, miR-30e, miR-34a, miR-34b, miR-331, a total of 7 micro RNAs were selected to evaluate their serum levels, from micro RNAs which their expression levels were predicted to change in Parkinson's Disease patients. For normalization, including miR-191 and miR-1228, 2 internal and cel-mir-39, 1 external, a total of 10 micro RNAs were studied and their serum levels were shown with real-time quantitative PCR for each sample. Serum levels of the microRNAs studied were examined for differences between patients and controls and personal and disease characteristics of patients, with a total of 51 Hoehn and Yahr 1,2 and 3 Parkinson's Disease patients aged between 40-80 with no other severe disease except for hypertension and 20 healthy controls matching gender, age and education. Between patients with Parkinson's Disease and the control group, miR-24-3p serum levels were found increased 1.7 times and miR-34b serum levels decreased by 1.65 times significantly ($p=0.001$, $p=0.023$, respectively). In the evaluation among patients, it was shown that the serum levels of miR-30e changed significantly with age ($p=0.019$) and miR-331 serum levels changed significantly with UPDRS scores ($p=0.027$). Bioinformatic analyses of micro RNAs associated with Parkinson's Disease have been performed and gene interactions associated with Parkinson's Disease have been shown.

Key Words: PARKINSON'S DISEASE, MICRORNA, QUANTITATIVE PCR, CIRCULATING MICRORNA, MIRNA

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Parkinson hastalığı (PH) dünya genelinde Alzheimer hastalığından sonra en sık ikinci görülen progresif nörodejeneratif hastalıktır. Total popülasyonun %0.3 kadarını etkilediği düşünülse de yaşla birlikte görülme sıklığı %2-4 oranlarına çıkmaktadır (1) (2). Klinik olarak istirahat tremoru, rijidite, bradikinezi ve postüral instabilite motor semptomlarına, kognitif bozukluklar, psikiyatrik semptomlar, otonomik disfonksiyonlar ve uyku problemleri gibi non-motor semptomlar eşlik edebilir (3). Parkinson hastalığında görülen patofizyolojik değişiklikler substantia nigra pars compacta dopaminerjik nöronlarının progresif kaybı ve α -sinüklein ve diğer moleküllerin Lewy cisimcikleri içinde sitoplazmik birikimi olarak bilinmektedir (4). Hastalığa sebep olan moleküler mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olsalar da lipid metabolizması ve lizozomal ve mitokondrial süreçler olası şüpheliler arasında görülmektedir (5).

Mikro RNA (miRNA) lar ortalama 22 nükleotid uzunluğunda, evrimsel süreç boyunca korunmuş, translasyon regülasyonunda görev aldıkları bilinen RNA molekülleri olup, translasyon baskılaması ile regülatuar görevlerini yerine getirirler ve farklı dokularda ortak üretilebildikleri gibi doku spesifik olabilirler (6). Birçok moleküler yolakta ve gelişimsel süreçte rol aldıkları belirlenmiş, farklı hastalıkların patofizyolojilerinde rol aldıkları bulunmuş, diyagnostik ve tedavide hedef molekül olma potansiyelleri çok defa gösterilmiştir.

Parkinson hastalığının tanısı günümüzde klinik olarak konulmakta olup standart yaklaşım hasta ve hastanın aile öyküsü ile birlikte bradikinezi, rijidite, tremor gibi ortak nörolojik semptom ve işaretlerin varlığını belirlemek ve bunun yanında %60-80 gibi limitli bir sensitiviteye sahip olsa da manyetik rezonans (MRI) ile multisistem atrofi, progresif supranükleer palsi veya kortikal dejenerasyon gibi hastalıklar ile ayırıcı tanıyı gerçekleştirmektedir, fakat yine de hastalık tanısında altın standart nöropatolojik inceleme ile dopaminerjik nöron kaybını ve beyinde Lewy Cisimcikleri ve Lewy nöritlerini göstermek olup klinik semptomlar ile tanı konulduğunda dopaminerjik nöronların %60-70 kadarı kaybedilmiş olmakta ve günümüzde hastalığın güvenilir bir test veya erken tanı yöntemi bulunmamaktadır (7).

Biyobelirteçler, fizyolojik ve patolojik süreçleri ve terapötik girişimlere farmakolojik cevabı objektif olarak ölçüp değerlendirebilme imkânı sağlayan

göstergelerdir (8). PH hastaları farklı ve spesifik klinik fenotipler, genetik profiller, görüntüleme bulguları ve altta yatan nöropatolojik mekanizmalar sergilerler (9). PH için önemli çalışmalar yapılmış olsa da, hastalığın heterojenik yapısından da dolayı günümüzde hala güvenilir bir biyobelirteci bulunmamaktadır ve PH erken dönem nörodejenerasyon tanısı, hastalık progresyonunun takibi ve tedavinin etkisini belirleme amaçlı sensitif ve spesifik bir biyobelirteç bulma çabaları devam etmektedir.

Farklı çalışmalar ile beyin spesifik pek çok miRNA tanımlanmış ve miRNA'ların farklı biyolojik sıvılarda eksozomal veziküller içerisinde sirküle oldukları anlaşılmıştır (10,11). Farklı miRNA'ların birçok farklı nörodejeneratif hastalıkta beyin dokusunda ekspresyon seviyelerinin değiştiği gösterilmiştir (12). Kan-beyin bariyerini eksozomal veziküller içerisinde geçebilen bu miRNA'lar böylelikle farklı vücut sıvılarından izole edilebilirler (13). Dolayısıyla miRNA'lar PH patofizyolojisi, tanı ve tedavisi için potansiyel yeni bir çalışma alanı olmuşlardır.

Bu çalışmada PH patofizyolojisinin aydınlatılmasında literatüre katkıda bulunabilmeyi ve hastalığın tanısı, takibi ve tedavisi için biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyeli olan miRNA adaylarını belirleyip, bu miRNA'ların hastalık karakteristikleri ile ilişkilerini göstermeyi, bu amaçla PH ile ilişkili olduğu öngörülen miR-16-1, miR-24-3p, miR-30a, miR-30e, miR-34a, miR-34b, miR-331 serum seviyelerini miR-191, miR-1228, cel-miR-39 ile normalize edip uygun kriterlere göre seçilmiş 51 PH hastası ve 20 kontrol örneğinde çalışmayı hedeflemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı

2.1.1. Parkinson Hastalığı Klinik Özellikleri

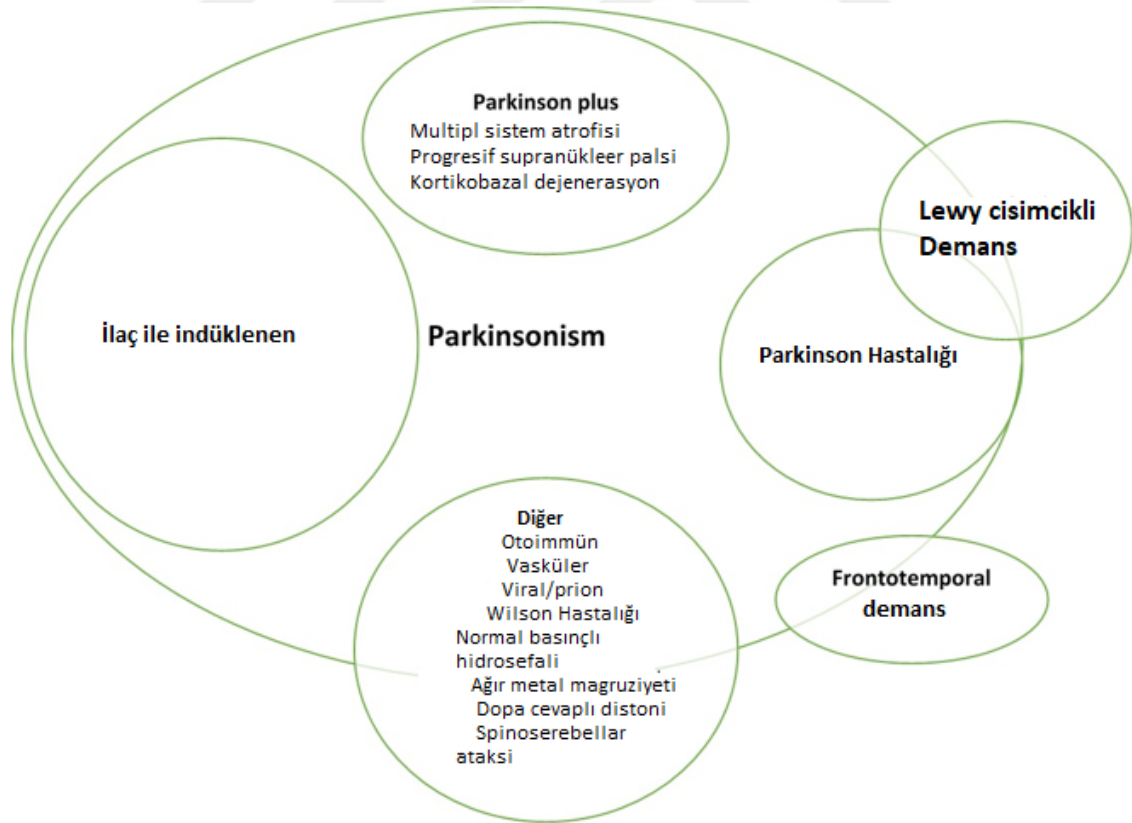
Nörodejeneratif bir karakterde olan Parkinson Hastalığı (PH) dinlenme tremoru, kas rijiditesi, bradikinezi veya yavaşlamış hareketler ve sıklıkla postural instabilite ile karakterizedir, ilerleme süreci genelde unilateral olmakla birlikte semptomlara postüral veya hareket tremoru veya uzuvlarda distoni eklenebilir. Eşlik eden yaygın non-motor bulgular olarak insomnia, depresyon, anksiyete bozuklukları, uyku bozuklukları, yorgunluk, kabızlık, hipozmi görülebilir. Prodromal dönemde non-motor bulgular PH tanısından yıllar önce oluşmaya başlayabilir. Hastalık ilerledikçe bilateral bulgular, denge bozuklukları ve levodopa ile indüklenen diskinezi ve motor bozukluklar gibi diğer komplikasyonlar gelişebilir. %30-40 oranında demans ve psikoz eşlik eder (14).

Parkinsonizm ise temel olarak hastada bradikinezi ve istirahat tremoru ve/veya rijidite varlığına dayanır. Parkinsonizm varlığı gösterildikten sonra destekleyici kriterlerden en az 2 tanesinin varlığı ve belirli ayırıcı tanıların mutlak dışlanması PH tanısını belirler. Dopaminerjik tedaviye verilen güçlü cevap, levodopa ile indüklenen diskinezi, geçmişte veya muayene anında bir uzuvda dinlenme tremoru, olfaktör kayba bağlı anozmi veya hipozmi veya MIBG sintigrafide kardiyak sempatik denervasyon tanısını destekleyici kriterlerdir. Bradikinezi harekette yavaşlama ve hareket boyunca hız ve amplitüdün azalması olarak, rijidite ise hasta rahat bir pozisyondayken muayene edenin, hastanın uzuvları ve boynunu manipüle etmesine hastanın majör eklemlerindeki yavaş ve pasif direnç hareketi olarak tanımlanır. Dinlenme tremoru tam olarak serbest bırakılmış dinlenme halindeki uzvun 4-6 Hz frekansında, hareket başlangıcı ile baskılanan istemsiz titreme hareketidir (15). PH başlangıcı ortalama olarak 60 yaş civarındadır ve başlangıç yaşına göre PH 3'e ayrılır (tablo 2.1).

Tablo 2-1: PH yaşa göre türleri (14).

Juvenil başlangıçlı PH	<20 yaş
Erken başlangıçlı PH	20-50 yaş
Geç başlangıçlı PH	>50 yaş

PH ile ilgili birçok klinik terim mevcuttur; parkinsonizm bradikinezi, rijidite, tremor ve imbalans içeren herhangi bir bozukluğa refere eden genel terim iken, parkinson-plus parkinsonizmin majör bulgu olduğu multipl sistem atrofisi, progresif supranükleer palsi, kortikobazal dejenerasyon gibi nörodejeneratif kondisyonlara verilen isimdir (şekil 2.1) (14).

**Şekil 2-1: PH, Parkinsonizm ve ilgili klinik tanımlamalar (14).**

PH pre-motor veya prodromal evrenin başlangıcı klinik tanıdan 12-14 yıl öncesine kadar dayanabilir. Hastalığın önce periferik otonom sinir sistemi ve/veya olfaktör bulbusta başlayıp, patolojinin merkezi sinir sistemine alt beyin sapı merkezlerini substantia nigradan önce etkilemeye başlayarak yayıldığını düşündüren kanıtlar artmaktadır (16). Dolayısıyla non-motor semptomların daha erken evrede ortaya çıkması bu şekilde açıklanabilmektedir. Hastalığın heterojenik yapısı itibarı ile alt tiplendirmeye ihtiyaç duyulsa da henüz bir konsensüs oluşmamıştır, fakat yine de yaygın görüş tremor dominant ve non-tremor dominant iki alt tip olduğu yönündedir. Tremor dominant PH hastası diğer motor semptomları çok göstermez ve genel olarak dopamin yerine koyma tedavisine iyi cevap verirken, non-tremor dominant PH hastasının akinetik-rijid sendromu, postural instabilitesi ve non-motor semptomları daha sık ve baskın olabilir. Alt tipler arasında hastalık seyri ve prognoz farklılık gösterir (17).

PH ilerledikçe motor semptomlar zamanla kötüleşir ve uzun dönem levodopa tedavisine bağlı diskinezi veya psikoz gibi komplikasyonlar başlar. İleri evrede hem motor hem non-motor semptomlar medikasyona dirençli hale gelebilir. Postural instabilite ve yürümenin bozulması düşmelere ve kırıklara sebep olabilir, demans ve halüsinasyonlar semptomlara eklenebilir. Bozulmuş olfaktör kabiliyetler, ortostatik hipotansiyon gibi otonom fonksiyon bozuklukları, ağrı, yorgunluk, uyku bozuklukları, kognitif ve psikiyatrik bozukluklar gibi non-motor semptomlar da zaman içinde baş edilmesi daha zor bir hale gelir (18).

2.1.2. Parkinson Hastalığı Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Gelişmiş ülkelerde genel popülasyonda PH prevalansı 0.3% civarında olmakla birlikte 60 yaş üstünde %1, 80 yaş üstünde %3' e kadar çıkmakta; PH insidansı ise 100.000'de 8-18 aralığında olduğu düşünülmekte, yaş ise hastalık için en önemli risk faktörü olarak gösterilmektedir (19).

Belli pestisitler ve kırsal yaşam gibi bazı çevresel faktörler PH riski ile ilişkilendirilmektedir; 1-methyl-4-phenyl tetrahydropyridine (MPTP) ve annonacin nigrostriatal hücre ölümüne sebep olup atipik parkinsonizm geştirebilirler. Manganez, trichloroethylen, karbon monoksit toksik seviyelerde maruziyeti klinik ve patolojik

olarak PH'dan farklı parkinsonizm tabloları meydana getirebilir. b2-adrenoreseptör antagonistleri artmış PH riskiyle ilişkilendirilmişken, b2-adrenoreseptör agonistleri riski düşürüyor gözükmektedir. Sigara kullanımı, kahve tüketimi, kalsiyum kanal blokerleri ve statinlerin PH riskini düşürdüğü gösterilmiştir. Aile hikayesi PH için önemli bir risk faktörü olmakta ve birinci derece akrabalarda PH hikayesi riski 2-3 kat arttırmaktadır. Ailesel form bütün PH vakalarının %10-15 kadarını oluşturmakta, PH ile ilişkili olduğu belirlenmiş birçok önemli gen ve protein bulunmaktadır (tablo 2.2) (20).

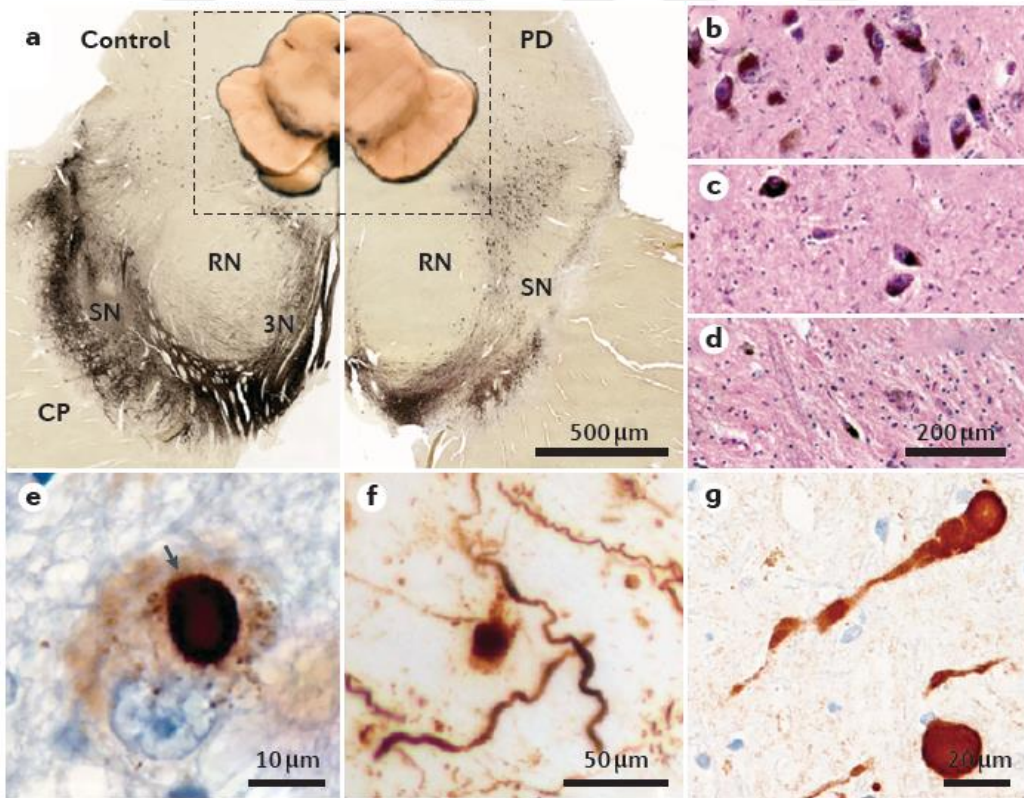
Tablo 2-2: PH ilişkili önemli genler (20)

*OD otozomal dominant, OR otozomal resesif, EBPH erken başlangıçlı PH, GBPH geç başlangıçlı PH

Gen	Lokus	Protein	Kromozom	Geçiş	Klinik	Frekans	Fonksiyon
SNCA	PARK1/4	A-sinüklein	4q21-23	OD*	EBPH*	<% 1	Sinaptik ubikitin ligaz
PRKN	PARK2	Parkin	6q25-27	OR*	EBPH	% 1-5	Sinaptik ubikitin ligaz
UCHL1	PARK5	UCHL-1	4p14	OD	EBPH,GBPH	<% 1	Belli değil
PINK1	PARK6	PTEN indüke putatif kinaz 1	1p35-37	OR	EBPH	% 2-5	Mitokondrial kinaz
DJ-1	PARK7	Protein DJ1	1p36	OR	EBPH	% 1	Oksidatif stres sensör
LRRK2	PARK8	Protein kinaz 2	12p11-q13	OD	GBPH*	% 1-5	Birçok işlev
ATP13A2	PARK9	ATPaz tip 13A2	1p36	OR	Atipik parkinsonizm	<% 1	Lizozomal protein
PLA2G6	PARK14	A2 fosfolipaz	22q13	OR	EBPH	<% 1	Belli değil
FOXB7	PARK15	F-box protein 7	22q12-13	OR	EBPH	<% 1	Belli değil
VPS35	PARK17	Vakuolar protein ilgili protein 35	16q11	OD	GBPH	<% 1	Belli değil
GBA		Glukoserebrozidaz	1q21	Risk faktörü	Erken başlangıç+ demans	% 5-25	Lizozomal protein

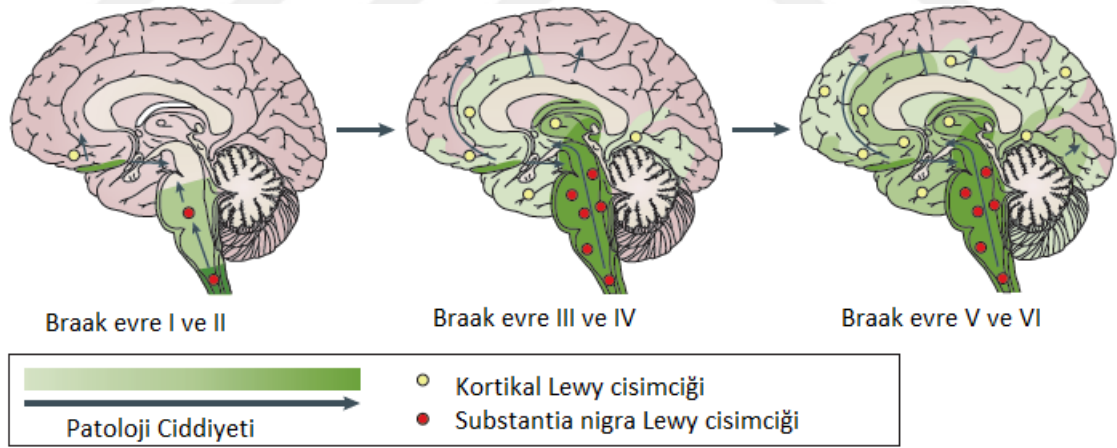
2.1.3. Parkinson Hastalığı Patofizyolojisi

PH ana patolojik bulguları substantia nigra pars compactada dopaminerjik nöron kaybı ve depigmentasyon ve Lewy cisimciklerinin varlığıdır. Lewy cisimcikleri intranöronal, yuvarlak, eozinofilik inklüzyonlardır ve hiyalin bir merkez ile 90'dan fazla proteinden oluşan çevresel bir halkaya sahiptirler, ana bileşenleri α -sinüklein ve ubiquitindir (21) (Şekil 2.2.). α -sinüklein yanlış katlanma eğilimi göstererek suda çözünmeyen β -sheet zengin amiloid agregatlarına dönüşür ve birikerek hücre içinde inklüzyonlar oluşturur (20). Bu süreç sonucu oluşan toksik oligomer ve proto-fibriler formasyon mitokondrial (22), lizozomal ve proteozomal (23) fonksiyonları bozar, biyolojik membranlara (24) ve sitoskelete (25) zarar verir, sinaptik organizasyonu değiştirir (26) ve nörodejenerasyona sebep olur, tanı anında dopaminerjik nöronların %60 kadarının kaybedilmiş olduğu düşünülmektedir (20).



Şekil 2-2: a-Kontrol ve PH substantia nigra pigment kaybı, b-Sağlıklı bireyde hematoxilen eozin boyamada dopaminerjik nöron pigmentasyonu, c,d-PH pigmentasyon kaybı, e,f,g-İmmunhistokimya boyama ile Lewy cisimciği gösterimi (41)

Lewy cisimciklerinin oluşumu ve α -sinüklein birikiminin glosofaringeal ve vagal sinirlerin dorsal motor nükleusları ve anterior olfaktor nükleusta başlayıp progresif bir şekilde sırasıyla beyin kökü, ilerleyen aşamalarda mezokorteks ve allokorteks ve sonunda neokortekse ilerlediği görüşü önerilmektedir ve 6 evreden oluşan Braak evrelemesi bu progresyon paterni göz önünde bulundurularak yapılmıştır (27) (Şekil 2.3.). α -sinükleinin nöronlar arası prion benzeri bir yayılma şekli sergilediği öngörülmekte ve bu yayılım şekli hastalığın patolojik progresyonunu açıklıyor gözükmemektedir (28). α -sinüklein agregasyonunun otonomik barsak plexusları ve/veya olfaktor bulbusta başlayıp trans-sinaptik hücreden hücreye bir yayılım ile merkezi sinir sistemine ulaştığı önermesi, hastalığın koku almada bozukluklar ve konstipasyon gibi non-motor semptomlarının motor semptomlardan yıllar önce dahi ortaya çıkabiliyor olmasını destekler nitelikte olmakla birlikte, bu bulgular PH'nin etiolojisinde viral ve/veya toksik madde maruziyeti gibi etkenlerin tahmin edilenden daha baskın olabileceğini düşündürmektedir (29).



Şekil 2-3: Braak Sınıflamasına göre evreleme ve Lewy cisimciklerinin yayılımı (41)

2.1.3.1. PH ile İlişkilendirilmiş Moleküler Mekanizmalar ve Hücrel Patofizyoloji

SNCA, α -sinüklein kodlayan genidir ve ilk tanımlanan patolojik SNCA A53T mutasyonunda, α -sinükleinin yanlış katlanma dolayısıyla agregatlar oluşturma eğiliminin arttığı gösterilmiştir (30). Daha sonraları SNCA farklı mutasyonlarının ekspresyon seviyelerini artırma, proteinin post translasyonel modifikasyonlarında ve organel ve transport ilişkilerinde değişikliklere sebep olma gibi etkileri olduğu bulunmuştur. Ayrıca α -sinükleinin direkt olarak immünolojik cevabı tetikleyebildiği ve mikrogial hücreleri aktive edebildiği gösterilmiştir (31). Sporadik PH hastalarında α -sinüklein ekspresyonunun artmış bulunması, tek başına α -sinüklein vahşi tip formunun dahi, artmış ekspresyonda toksik etkilerinin olabileceğini önermektedir (32).

Bozulmuş mitokondrial fonksiyonlar PH patolojisinde etkin bir diğer moleküler mekanizmadır. Ailesel PH formlarında tanımlanmış bazı genlerin mitokondrial fonksiyonları regüle ettiği bilinmektedir. PINK1 (33) ve Parkin (34) genlerinin mitokondrial yolaklarda rol aldıkları bilinmektedir, PINK1 bir serin/treonin kinaz olup hasarlı mitokondrileri işaretler ve bir ubiquitin ligaz olan Parkin aracılığıyla mitofaji yolağını aktive eder, hasarlı mitokondrilerin uzaklaştırılmasını sağlar. DJ-1 mitokondride kalsiyum akışını regüle eder ve dopaminerjik nöronların elektrik sinyal oluşturmaları işlemi sonucu oluşan oksidatif strese karşı hücreyi korur (35). PH hastalarında ayrıca substantia nigra nöronlarında mitokondrial DNA hasarı gösterilmesi de PH etiyopatogenezinde mitokondrial regülasyonun önemini vurgulamaktadır (36).

Hücrenin temizlik, otofaji ve lizozomal yolaklarında rol alan LRRK2 ve ATP132A genlerinin hastalıkla ilişkisi toksik α -sinüklein ve ilgili proteinlerin ortamdan uzaklaştırılmasındaki bir takım problemlere işaret eder. Mutant LRRK2 otofajiyi ve α -sinüklein degradasyonunu yavaşlatır (37). ATP132A mutasyonları lizozomal disfonksiyona ve erken başlangıçlı parkinsonizme (Kufor Rakeb sendromu) sebep olur, PH hastalarında hayatta kalan dopaminerjik hücrelerde ekspresyon seviyelerinin artmış bulunması, nöronal ölüme karşı koruyucu etkisinin olduğunu düşündürmektedir (38). Lizozomal bir enzim olan glikoserbrozidazı kodlayan GBA1 geni mutasyonlarının PH ile ilişkili en önemli genetik risk faktörü olduğu ve mutasyonun türüne göre erken başlangıç, hızlı progresyon ve artmış eşlik eden kognitif bozukluk riskiyle ilişkisi,

ayrıca tüm PH hastaları arasında %5 ila %25 prevalansta GBA1 mutasyonu görüldüğü bildirilmiştir (39).

Substantia nigra pars compacta dopaminerjik nöronlarının, nörodejenerasyona özellikle daha yatkın olmalarının nedenleri henüz tam net olmasa da bu bölgenin otonom elektrik sinyali üretebilme özelliği ile kalsiyum homeostazının önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (40).

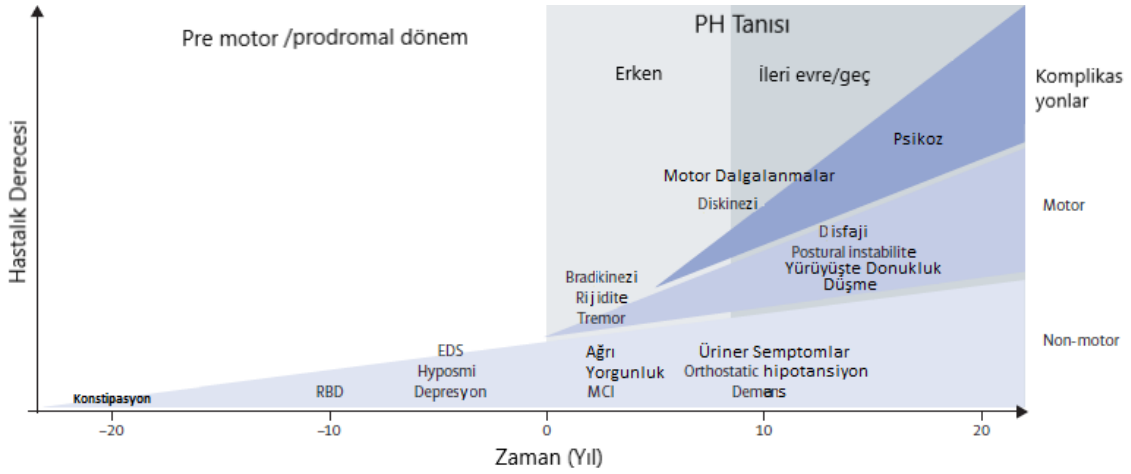
2.1.3.2. PH Motor Sistem Patofizyolojisi

Bazal ganglia birkaç paralel fakat anatomik olarak ayrılmış talamo-kortiko-bazal devrelerin bir parçasıdır ve fiziksel eylemler ile amaca yönelik hareketlerin kontrolünde önemli bir rol üstlenmektedir. Bu devreler, kortikal girdilerin görece az sayıdaki subtalamik çıktı nöronlarına oradan da korktekte geri iletilmesiyle ve dolayısıyla bir filtre görevi görmeleriyle karakterizelerdir. Fonksiyonel olarak benzer fakat topografik olarak farklı 4 devre, limbik, prefrontal asosiyatif, okulomotor ve motor fonksiyonlara, ilgili frontal kortikal alanlar ile talamusun alt bölgeleri ve bazal gangliayı bağlayarak hizmet eder (42).

Parkinsonizm, striatumun motor bölgelerindeki azalmış dopaminerjik etkinin, direkt ve indirekt yollarda zıt etki göstererek talamokortikal projeksiyonlarda gama aminobutirik asit (GABA) inhibisyonunu arttırmasından kaynaklanır (42). Direkt ve indirekt yolların yanında hiperdirekt yolak olarak tanımlanan motor kortikal bölgeler ve subtalamik nukleusu bağlayan monosinaptik bağlantı, subtalamik nukleusun pasif bir filtre olmak dışında bazal ganglia için ikincil bir girdi kaynağı olabileceğini göstermiştir (43). Azalan direkt yol ve artan indirekt yol etkisinden dolayı bazal ganglia nöronlarının GABAerjik ateşleme miktarı artar ve talamokortikal yol üzerinde artmış inhibisyon bradikineziyi açıklamak için önemlidir (42) (Şekil 2.4.)

PH'da serebellar aktivite ve bazal ganglia ile serebellum interaksiyonlarının değişmesi tremor patofizyolojisini açıklayan önemli bir bulgudur (44), yürümede donukluk ve postural instabilite gibi semptomların, orta beyin lokomotor bölgeye (pedunkulopontin ve kuneiform nükleuslar) anormal bazal ganglia çıktısının projeksiyonları kaynaklı olduğu düşünülmektedir (45).

ürogenital disfonksiyon, konstipasyon, hipozmi başta olmak üzere sensöryal bozukluklar ve ağrı. Non-motor semptomlar sıklıkla motor semptomlardan önce başlar ve prevalansları hastalık ilerledikçe artar (46) (Şekil 2.5)



Şekil 2-5: PH motor ve non-motor semptom ve olası komplikasyonların hastalık progresyonu ve zamana dağılımı (46)

PH hastalarında motor bozukluk seviyesi ve progresyonu gösterebilmek için Birleşmiş Parkinson Hastalığı Derecelendirme Skalası (UPDRS) en yaygın kullanılan ölçektir ve standardizasyon yöntemidir (47).

Klasik motor semptomlar oturmuş bir vakada tanı kolay gözükse de özellikle erken dönemde hatalı tanı oranları %24'e kadar çıkabilmektedir. En sık karşılaşılan karışıklıklar multipl sistem atrofisi, progresif supranükleer palsi, kortikobazal dejenerasyon, esansiyel tremor, ilaç ilişkili parkinsonizm ve vasküler parkinsonizm ile olmaktadır, postmortem patolojik inceleme ise altın standarttır (48).

Taniya yardımcı görüntüleme teknikleri arasında I-ioflupane single-photon emisyon tomografisi (SPECT) klinik rutin kullanım için onaylanmış olup, ayırıcı tanıya yardımcı olabileceği gösterilmiştir (49). Yapısal manyetik rezonans görüntüleme teknikleri semptomatik parkinsonizmi belirlemede yardımcı olabilir, atipik parkinsondaki basal ganglia ve infratentoryal yapılardaki değişiklikleri göstermek için

kullanılabilirler (50). SPECT veya PET ile miyokardiyal sempatik denervasyon bulgusu tanıya yardımcı olabilir (15).

Serebrospinal sıvı ve kandan izole edilen güvenilir bir biyobelirteç bulma çabaları çoğunlukla sonuçsuz kalmıştır. Gelecek vadettiği düşünülen serebrospinal sıvı α -sinüklein seviyelerinin, çeşitli çalışmalarda spesivite ve sensitivite değerleri optimal bulunamadığından, henüz bir klinik kullanımı yoktur, bununla beraber serebrospinal sıvıda A β 42 ve tau ile serum plazma ürat seviyeleri çeşitli şekillerde PH ile ilişkili gösterilseler de biyobelirteç olarak herhangi bir kullanımları bulunmamaktadır (51).

Hoehn and Yahr klinik evrelemesi hastalığın klinik ciddiyetini belirlemede kullanılan PH skalasıdır, 5 evreden oluşur ve hastalığı evre 1 fonksiyon kaybı olmayan unilateral tutulum ile evre 5 yatağa bağımlı hasta arasında derecelendirir (52).

2.1.5. Parkinson Hastalığı Tedavi

L-DOPA hastalık tedavisinde günümüzde hala altın standart olmaya devam etmektedir. Bunun yanında catechol-O-methyltransferase inhibitörleri kullanımı L-DOPA metabolizmasını azaltarak L-DOPA miktarını ve yarı ömrünü arttırmayı hedefler, Monoamin Oksidaz Tip B inhibitörleri sinaptik dopamin konsantrasyonunu arttırmaktadır, dopamin agonistleri L-DOPA'dan uzun yarı ömürleri ile dopaminerjik reseptör uyarımı yaparlar ve bu tedavi altında motor semptom dalgalanmaları L-DOPA tedavisine göre daha az görülür, fakat etki güçleri L-DOPA'dan daha azdır, yan etki olarak baş dönmesi ve impuls kontrol bozuklukları görülebilir, L-DOPA ile indüklenen akineziye amantadine, N-methyl-d-aspartat antagonisti olarak kullanılır, non-motor semptomlar dopamin yerine koyma tedavilerine sıklıkla cevap vermez (41).

Kolinesteraz inhibitörleri PH ilişkili kognitif bozukluklarda etkilidir, psikotik semptomlarda en etkili medikasyon seçeneği klozapin, depresyonda özellikle trisiklik antidepressanlar, otonomik disfonksiyonlar söz konusu olduğunda mineralokortikoid, adrenerjik ajanlar ve noradrenalin prekürsörleri ortostatik hipotansiyonda, antimuskarinikler ürogenital semptomlarda, konstipasyon için ise pro-kinetik ajanlar kullanılabilir (53).

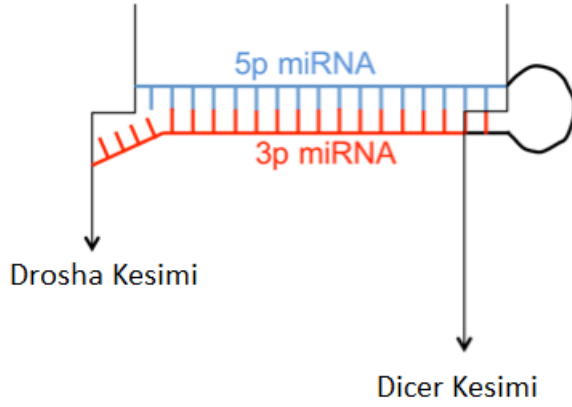
Derin Beyin Stimülasyonu (DBS), L-DOPA tedavisi altında motor dalgalanmaları olan ve/veya L-DOPA tedavisine cevap veren fakat dirençli tremoru olan hastalarda kullanılabilecek başka bir seçenektir. Genel olarak L-DOPA'ya iyi cevap veren fakat L-DOPA sebepli motor komplikasyonlar gelişmeye başlamış idiopatik PH hastaları DBS tedavisi için ideal adaylardır, bununla birlikte demans, akut psikoz ve majör depresyon kontraendikasyon kriterlerindedir (54).

Hastalığın bilinen bir kürü olmamakla birlikte tüm tedavi stratejileri dopaminerjik kaybı gidermek ve tedavi sırasında ve/veya tedavi kaynaklı oluşabilen komplikasyonların önüne geçebilmek, non-motor semptomları kontrol altında tutabilmek, hastanın yaşam kalitesini arttırabilmek üzerine kuruludur.

2.2. Mikro RNA

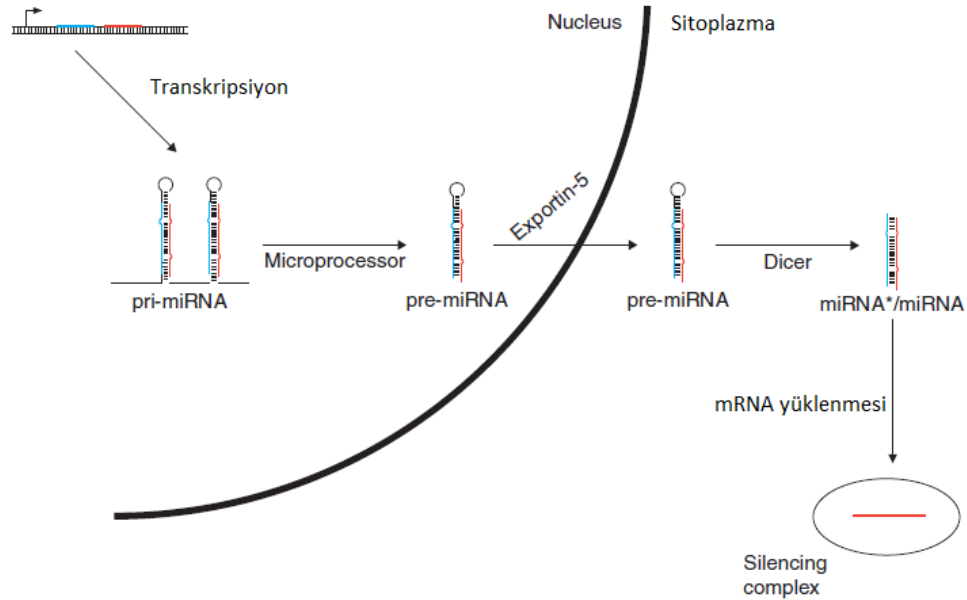
Mikro RNA'lar (miRNA) non-coding RNA ailesinden, intron, ekzon veya intergenik yerleşimli, 18-24 nükleotid uzunluğunda, mRNA stabilizasyonunu bozarak veya translasyonunu baskılayarak protein üretimini regüle eden, tek bir miRNA'nın birçok mRNA'ya bağlanıp fonksiyon gösterebilme kapasitesinden ötürü hücre transkriptozom ve proteozom profilini dramatik bir şekilde değiştirebilen, gelişimsel progres, hücre metabolizması regülasyonu, hücre farklılaşması, apoptoz, spesifik hücre fonksiyonları gibi birçok alanda önemleri gösterilmiş düzenleyici moleküllerdir (55).

miRNA'lar DNA'dan hairpin denilen katlanma karakteristiklerine sahip pri-miRNA olarak daha uzun bir öncül formda RNA polimeraz II tarafından sentezlenir, hairpin katlanma yapıları Dgcr8 tarafından tanınır, RNase III içeren Drosha enzimi ile Dgcr8 mikroprosesör kompleksi bu hairpin yapıları uzaklaştırarak çift zincirli pre-miRNA'yı oluşturur (56). Pre-miRNA eksportin-5 ile çekirdekten sitoplazmaya transfer oluduktan sonra RNase III içeren ikinci bir enzim, Dicer, human immunodeficiency virus-1 transactivating response RNA-binding protein (TRBP) ile kompleks oluşturarak, olgun miRNA yı oluşturmak üzere pre-miRNA kesimi yapar, TBRP çift zincirli pre-miRNA'nın doğru zincirinin seçilmesinde önemlidir (57) (Şekil 2-6).



Şekil 2-6: Dicer ve Drosha miRNA kesme bölgeleri

Dicer ile kesilmenin ardında olgun miRNA, RNA-induced silencing complex (RISC) ismi verilen susturucu komplekse katılır, Argonaute proteinleri içeren bu kompleks, miRNA temelli susturma işlemi için kritiktir, daha az stabil olan 5' zincir komplekse girmek üzere tercih edilmeye yatkın iken (58), Argonaute-2 (Ago-2) miRNA'nın sürece katılmayacak olan zincirini uzaklaştırır (59) (Şekil 2.7)



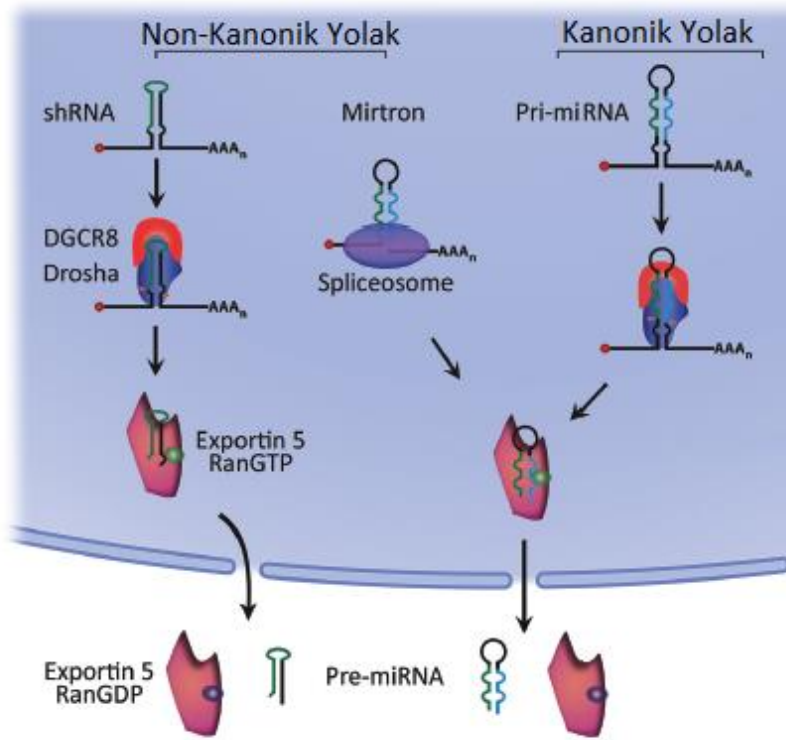
Şekil 2-7: pri ve pre miRNA'dan olgun miRNA ve RISC oluşma süreci (55)

miRNA içeren RISC kompleksi ilgili bağlandığı mRNA'yı destabilize ederek ve/veya translasyona girmesini önleyerek protein üretimini regüle eder, ilgili mRNA molekülüne bağlanırken en önemli hedef mRNA belirleyici faktör 5' ucundaki 2-7 pozisyonlarında bulunan evrimsel olarak korunmuş 7 nükleotidlik seed sekansıdır. Seed sekansı, komplementer mRNA'lara miRNA hedef tahmini için kullanılan en önemli ve birincil araç olma niteliğindedir, seed sekansı komplementer hedef mRNA adayları tahmini yapıldıktan sonra miRNA-mRNA bağlantısının seed dışı nükleotid bağlantılarının termodinamik stabilite hesaplaması yapılır, uygun miRNA-mRNA eşleşmeleri ise son olarak laboratuvar deneyleri ile kanıtlanma yoluna gidilir. Ayrıca seed sekansı dışında 12-17 arası pozisyonlu nükleotidlerin ve bu bölgedeki kompleksiyonun da hedef mRNA belirlenmesinde önemli olduğu bilinmektedir (60).

miRNA'ların intrinsik regülasyonu da miRNA mekanizmasında bir diğer regülatuar basamaktır; tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), pre-miRNA'nın kuyruk üridilasyonu ile olgunlaşmasının önlenmesi, adenilasyonu ile stabilizitesinin artırılması, adenozin-inozin dönüşümü ve nükleotid metilasyonu ile miRNA maturasyonunun baskılanması, matur miRNA'ların çeşitli endo/ekzo-ribonükleazlar aracılığı ile sitoplazma miktarlarının düzenlenmesi miRNA'ların tanımlanmış regülatuar mekanizmalarındandır (61).

Klasik Dicer ve Drosha miRNA oluşum yolağının dışında non-kanonik yolak olarak isimlendirilen farklı bir mekanizmaya göre, Drosha veya Dicer bağımsız üretilen miRNA'ların varlıkları tanımlanmıştır. mRNA'nın splicing ile olgunlaşması aşamasında mRNA intron bölgelerinden üretilen mirtronlar ve kısa hairpin RNA transkriptlerinden (shRNA) üretilen pre-miRNA'lar non-kanonik yolağa örnek gösterilebilirler (62) (Şekil 2.8).

miRNA'ların hedef mRNA üzerindeki etkisi birkaç farklı mekanizma yoluyla gerçekleşir. Tamamen komplementer miRNA-mRNA sekans eşleşmesi durumunda RISC kompleksindeki Ago proteini aracılı endonükleaz aktivitesi indüklenir ve mRNA degradasyonu gerçekleşir, miRNA-mRNA (mismatch) tam komplementer olmayan eşleşme varlığında Ago aracılı mRNA degradasyonu yerine mRNA translasyonel inhibisyonu ve mRNA poli-A kuyruk deadenilasyonu sonrası eksonükleazlar ile ortamdaki uzaklaştırılma gerçekleşir (63).



Şekil 2-8: Kanonik ve non-Kanonik miRNA üretimi (62)

Farklı çalışmalar ışığında miRNA'ların, bilinen sitoplazmik posttranskripsiyonel mRNA down-regülasyon etkilerinin yanında up-regülatuar etkileri ve sitoplazma dışında nükleusta transkripsiyonel regülatuar görevleri olduğu düşünülmektedir (64,65).

2.3. Parkinson Hastalığı ve Mikro RNA

Birçok farklı hücre tipi barındıran kompleks bir organ olan beyinde bilinen tüm miRNA'ların %70'i bulunmakta, fakat sadece bir kısım miRNA beyin spesifik veya beyinde zenginleşmiş bir şekilde sentezlenmektedir, bu spesifik miRNA'lar nöronal gelişimsel süreçte dinamik bir şekilde regüle edilirler ve farklı hedef ve fonksiyonları bulunmaktadır (66). miR-7, -9, -124a, -124b, -125a, -125b, -128, -132, -135, -137, -139, -153, -149, -183, -190, -219 insan ve fare beyinde ortak sentezlenen miRNA'lardan bazılarıdır ve nöronal diferansiyasyon, maturasyon ve nöronal sağ kalım fonksiyonlarında görev aldıkları gösterilmiştir (67). miR-9 ve miR-132 sentezi hipokampus ve medial frontal girusa sınırlıyken (68), miR-124 ve miR-128'in nöronlara

spesifik olduğu ve miR-23,-26,29'un spesifik olarak astrositlerde sentezlendikleri gösterilmiştir (69). Yıllar boyunca spesifik miRNA'lar ve miRNA biyosentezinde rol alan proteinlerin knock-out hayvan modelleri ile beyin gelişiminde miRNA süreçleri anlaşılmasına çalışılmış ve bir farklı çalışmada nöronal gelişme ve hayatta kalım için miRNA'ların fonksiyonları ve gerekliliği gösterilmiştir, bununla birlikte miRNA süreçlerindeki değişiklik ve patolojilerin çeşitli nörodejeneratif hastalıklar ve gelişim bozuklukları ile ilişkili oldukları görülmektedir (70) (Şekil 2.9).

PH ve miRNA ilişkisine dair ilk çalışmalardan birinde orta beyin dopaminerjik nöron devamlılığı için miRNA'ların varlığının gerekliliği bildirilmiştir, miRNA üretiminde rol alan Dicer olmayan farelerde spesifik olarak orta beyin dopaminerjik nöron ve nigro-striatal akson kaybı gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada orta beyin, serebral korteks ve serebellum miRNA profillerine bakıldığında PH hastalarında sağlıklı kontrollere göre sadece orta beyinde ekspresyonu değişmiş 8 adet miRNA gösterilmiştir (71).

PH ve kontrollerin substantia nigra miRNA profillerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada 11 farklı miRNA ekspresyonunun anlamlı derecede farklı olduğu görülmüştür (72).

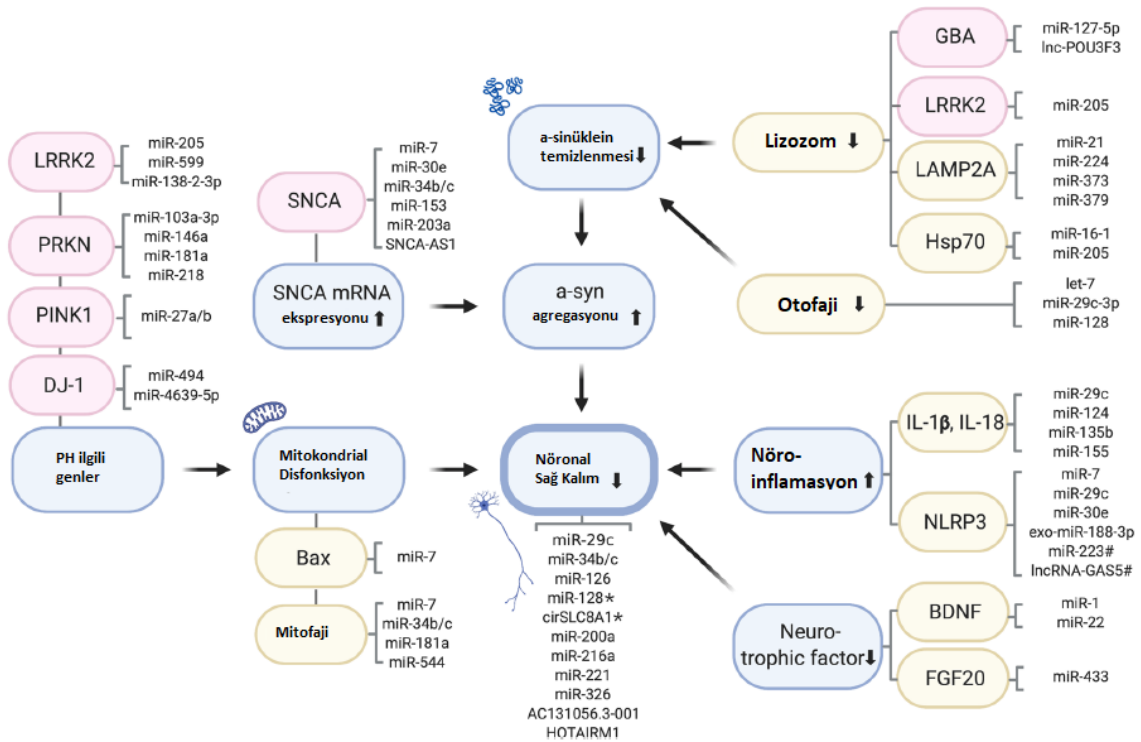
Sporadik PH hastalarının kortekslerinden alınan örneklerle yapılan bir çalışma miR-205 seviyelerini artmış bulurken LRRK2 geni ekspresyonunun düşmüş olduğunu göstermiştir. Hücre kültürü ve hayvan deneyleri ile miR-205 seviyeleri artarken LRRK2 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiş ve miR-205'in LRRK2 proteinine bağlanarak LRRK2 mRNA degradasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir. LRRK2 PH patolojisinde daha önceden tanımlanmış majör genlerden bir tanesidir ve toksik α -sinükleinin uzaklaştırılmasında rol aldığı bilinmektedir (73). let-7a ve miR-184 miRNA'larının da majör PH patogenezi geni olan LRRK2 ekspresyonu regülasyonunda görevli oldukları gösterilmiştir (74).

miR-34b/c PH hastalarında ileri dönemde azalmış ekspresyonu gösterilmiş, bu miRNA'nın PH patogenezinde önemli rolü olan mitokondrial fonksiyonlar ve hücre sağ kalımı ile ilgili olduğu anlaşılmıştır (75).

PH patolojisinde patognomonik bulgu olan Lewy cisimciklerinde biriken α -sinüklein proteini ekspresyonu ve regülasyonu ile ilgisi olduğu anlaşılan farklı miRNA'lar bildirilmiştir. miR-7 ve miR-153 α -sinüklein mRNA 3' UTR ucuna

bağlandığı in-vitro deneylerle kanıtlanmış (76), α -sinüklein ekspresyonunda regülatuar görevi olan FGF20 transkripsiyon faktörünün miR-433 ile ilişkisi gösterilmiştir (77).

miR-29c'nin PH fare modelleri ve hücre serilerinde nöroinflamasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Birden fazla çalışmada PH hastalarında miR-29c seviyelerinin düştüğü bildirilmiştir. miR-16-1 heat shock protein 70 (hsp70) baskılanmasına sebep olarak α -sinükleinin ortamdaki uzaklaştırılmasını engelleyebilir (78).



Şekil 2-9: PH patolojik miRNA'lar, ilgili genler ve patofizyolojik yollar (78)

2.3.1. Dolaşan Mikro RNA'lar ve Parkinson Hastalığı

miRNA'lar mRNA'lar ile birlikte hücrelerden eksozom denilen veziküller aracılığı ile ayrılıp başka hücelere endositotik yollar ile girebilir ve girdikleri yeni hücrelerde aktivite gösterebilir (79). Bu veziküler yapılar ve içerikleri kan beyin bariyerini endotelial hücre aktivitesi sayesinde geçebilirler ve serebrospinal sıvı, serum, plazma, salivaya gibi vücut sıvılarından izole edilebilir ve içerikleri tanımlanabilir (80).

Birçok hastalık ve kanser türüyle ilgili yapılmış ve vücut sıvılarından izole edilen eksozomal miRNA'ların değişmiş ekspresyonunu gösteren çalışma bulunmaktadır. Parkinson Hastalığında da çeşitli çalışmalar ile serebrospinal sıvı, serum, plazma gibi sıvılarda kontrollere göre miktarları değişmiş farklı miRNA'lar gösterilmiştir. Bu çalışmalar arasında fakat PH hastalarında azaldığı veya arttığı gösterilen miRNA'lar göz önüne alındığında yüksek bir tutarlılık bulunmamaktadır, her çalışma benzer sonucu gösterememektedir. Bunun sebepleri arasında kullanılan yöntem, kullanılan araç ve kitler, kullanılan normalizasyon yöntemleri, farklı veri analizi yöntemleri, miRNA ve eksozomal içeriğin farklı saklanma koşulları ve işlemlere maruz bırakılmaları ve miktarlarının vücut sıvılarında çok az olmaları gibi sebepler sayılabilir. Bu bağlamda çeşitli kaynaklardan elde edilen nükleik asitler ile ekspresyon seviyelerinin incelenmesinde çok sayıda değişkeni standardize edebilmek adına MIQE yönergeleri, farklı laboratuvarlar, farklı çalışma şartları ve ekipmanları ile yapılan çalışmaların sonuçlarının tekrarlanabilirliğini arttırmayı hedeflemektedir (81).

PH hastalarında yapılan çalışmalar özellikle serebrospinal sıvı ve serum/plazma'dan izole edilen miRNA'lar üzerine yoğunlaşmıştır. Farklı çalışmalarda birçok farklı miRNA'nın seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı değişikliği gösterilmiştir (Tablo 2.3) (81). Bu çalışmalar sonucunda PH tanısı, hastalık progresyon takibi ve tedaviye cevabı değerlendirebilmek için bir biyobelirteç olarak kullanılacak sensitif ve spesifik bir miRNA henüz bulunamamıştır.

Tablo 2-3: PH hastalarında vücut sıvıları ve beyin dışı miRNA ekspresyon çalışmaları (81)

Örnek	Analiz Metodu	artan miRNA ekspresyonu	azalan miRNA ekspresyonu	Çalışma açıklaması
İnsan Plazma	rt-qPCR	miR-27a	Let-7a, let-7f, miR-142-3p, miR-222	25 PH, 25 SK
	rt-qPCR	–	MiR-1, miR-22*, miR-29a	15 PH, 8 SK
	rt-qPCR, eksozom	ex-miR-331-5p	ex-miR-505	52 PH, 48 SK
	rt-qPCR	miR-7-5p, miR-22-3p, miR-124-3p, miR-136-3p, miR-139-5p, miR-330-5p, miR-433-3p	–	99 (idiopatik) PH, 101 SK

	rt-qPCR	miR-22-3p, miR-139-5p, miR-154-5p, miR-330-5p	–	109 PH, 92 SK
	rt-qPCR	miR-105-5p	–	317PH, 273SK
	rt-qPCR	miR-132	–	46 PH
	rt-qPCR	miR-331-5p	–	31 PH, 25 SK
	NGS + rt-qPCR	miR-338-3p, miR-30e-3p, miR-30a-3p	miR-16-2-3p, miR-1294	50 PH, 65 SK, (53 AD); serum + CSF;
	rt-qPCR eksozom	ex-miR-30c-2-3p	ex-miR-15b-5p, ex-miR-106b-3p, ex-miR-138-5p, ex-miR-338-3p	30 PH, 30 SK
	rt-qPCR	miR-137	miR-124	60 PH, 60 SK
	rt-qPCR, eksozom	ex-miR-34a-5p	–	15 PH, 14 SK
	rt-qPCR	miR-30a-5p	–	(Set 1) 50 PH, 50 SK; (Set 2) 49 PH, 49 SK; meta-analiz
İnsan Serum	rt-qPCR	–	miR-132-3p, miR-146-5p	82 PH, 44 SK
	rt-qPCR	miR-29c	–	51 PH, 20 SK
	rt-qPCR	miR-30c-5p, miR-373	–	148 PH, 126 SK
	rt-qPCR	–	miR-29a, miR-29b, miR-29c	80 PH, 80 SK
	rt-qPCR, eksozom	ex-miR-24, ex-miR-195	ex-miR-19b	109 PH, 43 SK
	rt-qPCR	let-7d, miR-22*, miR-23a, miR-24, miR-142-3p, miR-222	–	30 PH, 30 SK
	rt-qPCR	–	miR-29c, miR-146a, miR-214, miR-221	138 PH, 112 SK
	NGS (Illumina Solexa seq) + rt-qPCR	miR-195	miR-15b, miR-181a, miR-185, miR-221	106 PH, 91 SK
	NGS (Illumina Solexa seq) + rt-qPCR	–	miR-141, miR-146b-5p, miR-193a-3p, miR-214	169 PH, 180 SK
	NGS (Illumina NextSeq PPMI kohortunda) + microarray (NCER-PH kohortunda)	miR-6836-3p, miR-6777-3p	miR-487b-3p, miR-493-5p, miR-15b-5p	toplam 1614 PPMI kohort; 440 PH, 485 SK NCER-PH kohort
İnsan Periferel monositik hücreler	Microarray + rt-qPCR	–	miR-335, miR-374a, miR-199a-3p/miR-199b-3p, miR-126* , miR-151-3p, miR-199a-5p, miR-151-5p, miR-126, miR-29b, miR-147, miR-28-5p, miR-30b, miR-374b, miR-19b, miR-30c, miR-29c, miR-301a, miR-26a	19 PH, 13 SK; sadece miR-126* rt-qPCR ile valide edildi

	rt-qPCR	miR-155-5p	miR-146a-5p	37 PH, 43 SK
İnsan Lökosit	NGS + rt-qPCR	miR-199b, miR-1274b, miR-21, miR-150, miR-671, miR-1249, miR-20a, miR-18b*, miR-378c, iR-4293	miR-320a, miR-320b, miR-320c, miR-769, miR-92b, miR-16	7 PH, 6 SK
İnsan Serebrospinal Sıvı	NGS (Illumina HiSeq) + rt-qPCR, eksozom	ex-miR-126-5p, ex-miR-99a-5p	–	Keşif Kohortu (RNA-seq): 42 PH, 43 SK; Validasyon kohortu (rt-qPCR): 25 PH, 25 SK
	Microarray + rt-qPCR, eksozom	ex-let-7c-3p, ex-miR-10a-5p, ex-miR-153, and ex-miR-409-3p	ex-miR-1, ex-miR-19b-3p	Keşif kohortu: 47 PH, 27 SK; Validasyon kohortu: 78 PH, 35 SK
	NGS (SOLiD) + rt-qPCR	miR-19a-3p, miR-19b-3p, let-7 g-3p,	miR-10a-5p, miR-127-3p, miR-128, miR-132-5p, miR-136-3p, miR-212-3p, miR-370, miR-409-3p, miR-431-3p, miR-433, miR-485-5p, miR-873-3p, miR-1224-5p, miR-4448	57 PH, 65 SK, (62 AD); serum + CSF
	NGS (Illumina Nextseq 500)	let-7f-5p	miR-27a-3p, miR-423-5p	40 PH, 40 SK; 20-24nt
	rt-qPCR	miR-205	miR-24	28 PH, 28 SK (17 MSA)
	rt-qPCR	miR-144-5p, miR-200a-3p and miR-542-3p	–	44 PH, 42 SK
	rt-qPCR	–	miR-626	15 PH, 16 SK, 11 AD
İnsan Saliva	rt-qPCR	–	miR-153, miR-223	83 PH, 77 SK
	rt-qPCR	miR-145-3p, miR-874	–	30 PH, 30 SK

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (+ 4 °C Beko, Arçelik)
- Derin Dondurucu (-20 °C Beko)
- Çeker Ocak (Opas)
- Distile su cihazı (Millipore)
- Güç kaynağı (Stratagene)
- Hassas terazi (Shimadzu)
- Isı bloğu (Fisher scientific model 111004)
- Masaüstü mini santrifüj (Eppendorf) (Hettich)
- Pipetler (Eppendorf)(Thermo)
- PCR cihazı (Thermal Cycler) (Qiagen Rotor-Q)
- PCR cihazı (Biorad)
- Spektrofotometre (NanoDrop)
- Su banyoları (Fisher scientific)
- Laminar kabin (Hepa filtreli) (Thermo, Scientific)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich)
- Orbital çalkalayıcı (Thermo, Scientific)
- Güç kaynağı (E-C Apparatus Corporation)
- -80 C dondurucu (Thermo scientific)
- Tüpler (eppendorf, qiagen)

3.1.2. Kullanılan Kitler

- Qiagen mirneasy Serum Plasma RNA izolasyon kiti
- Qiagen miscript II reverse transkripsiyon kiti
- Qiagen Quantitech SYBR green PCR kiti
- Qiagen mirneasy serum/plasma spike-in kontrol kiti
- Qiagen miscript II primer kitleri
 1. miR-24-3p
 2. miR-30e
 3. mir-331
 4. miR-16-1
 5. miR-30a
 6. miR-34a
 7. miR-34b
 8. miR-191
 9. miR-1228
 10. cel-miR-39
- Qiagen rt-qPCR 0.1 ml strip tupler ve kapaklar

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

- Etil alkol (%99) (Merck)

3.2. Yöntem

3.2.1. Hasta ve Kontrol Örneklerin Toplanması

PH hastalarında belirli serum miRNA seviyelerinin belirlenmesi çalışması için örnekler Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD'da, 2017/0201 karar no 06.06.2017 tarihli etik kurul onayı ve hasta ve sağlıklı bilgilendirilmiş onay formu eşliğinde kriterlere uygun gönüllülerden toplandı.

PH hastalarının tanıları Birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Cemiyeti ve Hareket Bozuklukları Cemiyeti (MDS) klinik tanı kriterlerine uygun bir şekilde konulmuştu ve kontrol görüşmeleri boyunca aynı nörolog klinisyen tarafından takip altındalardı. Demografik özellikler ve cinsiyet, yaş, eğitim, hastalık süresi, hastalık başlangıç yaşı, tedavi süresi, aile öyküsü, levodopa ve eşleniği günlük tedavi dozu, UPDRS skalası gibi klinik veri ve skalalar kayıt altına alındı. Çalışmada gönüllü dışlama kriterleri; diğer nörolojik hastalıklar, ağır psikiyatrik ve psikotik hastalıklar, 24 altı mini-mental test skoru, immünsüpresif veya antiinflamatuvar kullanımı, DM, koroner kalp hastalığı, iskemik veya hemarojik inme öyküsü, enfeksiyöz hastalıklar, kanser, glokom, ağır işitme veya görme kaybı, sigara alkol veya madde istismarı, beyinle ilgili ameliyat öyküsü. Çalışmaya sadece hipertansiyon komorbiditesi dahil edildi.

Kanların alınmasında önceki gün hastalar detaylı nörolojik muayeneye tabi tutuldular. Postüral instabilite ve yürüme bozuklukları not edildi. Motor semptom başlangıç lateralizasyonu (sağ,sol) kayıt edildi. Hoehn and Yahr skalası ile hastalık şiddeti belirlendi, UPDRS skalası belirti ile bulgular nicelleştirildi. Bütün hastalar dopaminerjik medikasyon altındaydı, levodopa eşlenik doz (LEDD) hesabı yapıldı. Motor dalgalanmalar, diskinezi, halüsinasyonlar, delüzyonlar, dopamin disregülasyon sendromu, üriner inkontinans ve konstipasyon bulguları varlığı veya yokluğu kaydedildi.

Yaşları 40-80 arasında değişen toplam 51 PH hastası ve cinsiyet,yaş ve eğitim itibariyle eşleşen 20 sağlıklı kontrolün venöz kan örnekleri toplandı. Çalışmaya dahil edilen her gönüllüden pıhtılaşma aktivatörü içeren tüplerde 5ml venöz kan alındı.

Serum kısmı oda sıcaklığında 4000x g de 10 dk santrifüj ardından ayrılıp -80 C derecede saklandı.

3.2.2. miRNA ile zenginleştirilmiş toplam RNA'nın izolasyonu

miRNA'lar, üreticinin talimatlarına göre miRNeasy Serum/Plazma Kiti (Qiagen) kullanılarak hastaların serum örneklerinden ve kontrol serum örneklerinden izole edildi. Özetle, 500 µl QIAzol Lysis Reaktifi rna izolasyonundan önce pipetlenerek serum numunesinin 100 µl'sine eklendi. Homojenat oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra 3,5 µl miRNeasy Serum/Plazma Spike-In Kontrol (1.6×10^8 kopya/µl) eklendi ve iyice karıştırıldı. Daha sonra, 100 µl kloroform lysate tüpüne eklendi, 15 saniye santrifüj edildi ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Bunu $12000 \times g$ 'de 4°C'de 15 dakika santrifüj ile ayırma izledi. Daha sonra, üst akuatik fazın yaklaşık 300 µl'ı herhangi bir interfaz bölge kontaminasyonundan kaçınılarak yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Etanol (450 µl) bir pipet kullanılarak ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Daha sonra, numunenin 700 µl'ı 2 ml'lik bir toplama tüpündeki RNeasy MinElute tüpüne eklendi ve oda sıcaklığında 15 saniye boyunca $\geq 8000 \times g$ olarak santrifüj edildi. Sırasıyla, RWT (700 µl) ve RPE (500 µl) ve RNase içermeyen su ile hazırlanan %80 etanol (500 ul) tamponlar RNeasy MinElute spin sütununa eklendi ve $\geq 8000 \times g$ 'de 15 saniye santrifüj ve ardından tam hızda 2 dakikalık ek santrifüj, membranı kurutmak için de 5 dakika açık bir kapak ile santrifüj yapıldı. Filtrat ve toplama tüpü her adımda atıldı. Son olarak, mikroRNA ile zenginleştirilmiş toplam RNA 14 µl RNase içermeyen su kullanılarak tam hızda 1 dakika santrifüj ile elusyon yapıldı.

3.2.3. RNA konsantrasyonu ölçümü

İzole edilen RNA örnekleri konsantrasyon ve saflık bakımından nanodrop ile ölçüldü. 260/280 nm OD oranları ve 260/230 nm OD oranları bilgileri doğrultusunda izolasyon kalitesi değerlendirildi.

3.2.4. Tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi

cDNA, miScript II Ters Transkripsiyon (RT) Kiti (Qiagen) kullanılarak üretici firma yönergeleri doğrultusunda, 5 µl miRNA ile zenginleştirilmiş toplam RNA kullanılarak üretildi. Özetle, RT-PCR buz üzerinde kuruldu, 4 µl 5x miScript HiSpec Tampon, 2 µl 10 × Nucleic Mix, 2 µl miScript Ters Transkriptaz Mix, 7 µl RNase-free su, ve 5 ul RNA toplamda 20 µl reaksiyon volümünde gerçekleştirildi. Ters transkripsiyon 37°C'de 60 dakika, 95°C'de 5 dakikada PCR cihazında gerçekleştirildi. cDNA daha sonra gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda (rt-qPCR) kullanılmak üzere 100 µl nükleaz içermeyen su ile seyreltildi.

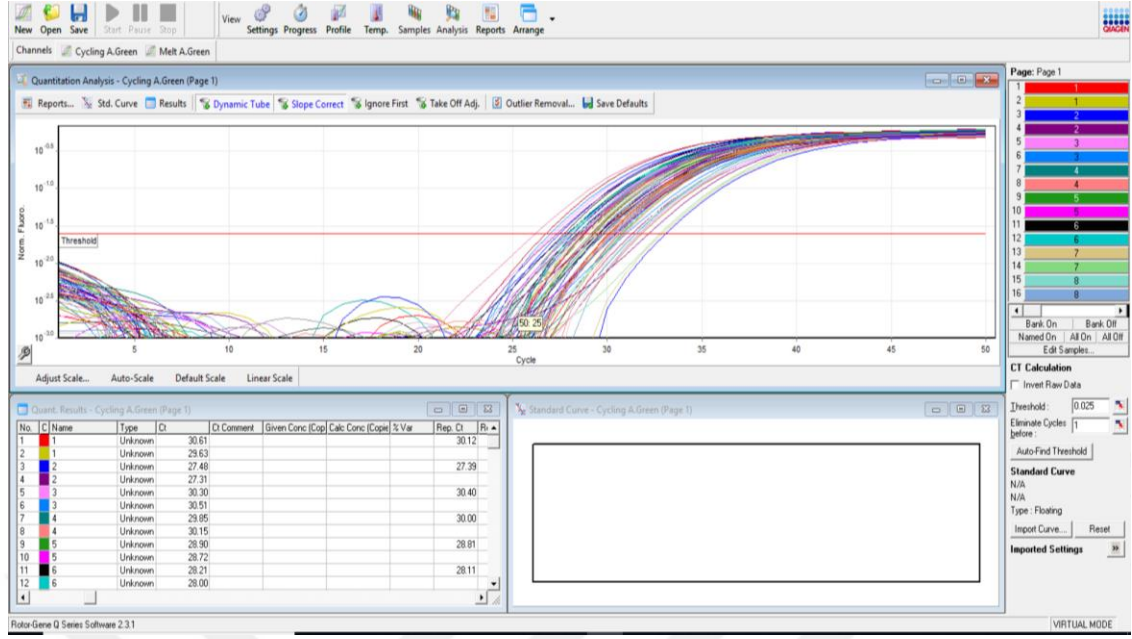
3.2.5. rt-qPCR

Olgun miRNA'ların ekspresyon düzeyleri Rotor-Gene® Q cihazı ile 2.1.0.9 yazılımı ve quantiTech SYBR Yeşil PCR Kiti (Qiagen) ile kantitatif gerçek zamanlı PZR (rt-qPCR) kullanılarak analiz edildi (Şekil 3.1). rt-qPCR, arka plan gürültüsünü önlemek adına DNA ve nontemplate kontrolleri değerlendirmek için ters transkripsiyon kontrolleri de dahil olmak üzere optimizasyondan sonra duplike olarak gerçekleştirildi. rt-qPCR reaksiyonu aşağıdaki gibi üreticinin talimatlarında minimal değişiklikler ile kuruldu:

5 µL 2x QuantiTect SYBR Yeşil PCR Master Mix, 1 µL 10x miScript Universal Primer, 1 µL 10x primer assay, ve 1 µL RNase içermeyen su ve cDNA 2 µL.

miR-16-1, miR-24-3p, miR-30a, miR-30e, miR-34a, miR-34b, miR-331, cel-miR-39, miR-191, miR-1228 primerleri kullanılarak her örnek için aynı şartlarda ikişer reaksiyon hazırlandı, bütün çalışma duplike analiz verileri ile yürütüldü.

95°C'de 10 dakika sıcak başlangıç Taq polimeraz aktivasyonundan sonra, reaksiyon 15 saniye boyunca 95°C'de, 30 saniye için 55°C ve 15 saniye boyunca 72°C ile 40 döngü olarak gerçekleştirildi ve ardından Melt analizi ile 55°C-95°C'den erime noktaları gösterildi.



Şekil 3-1: rt-qPC versiyon 2.1.0.9 ekspresyon analizi grafiği

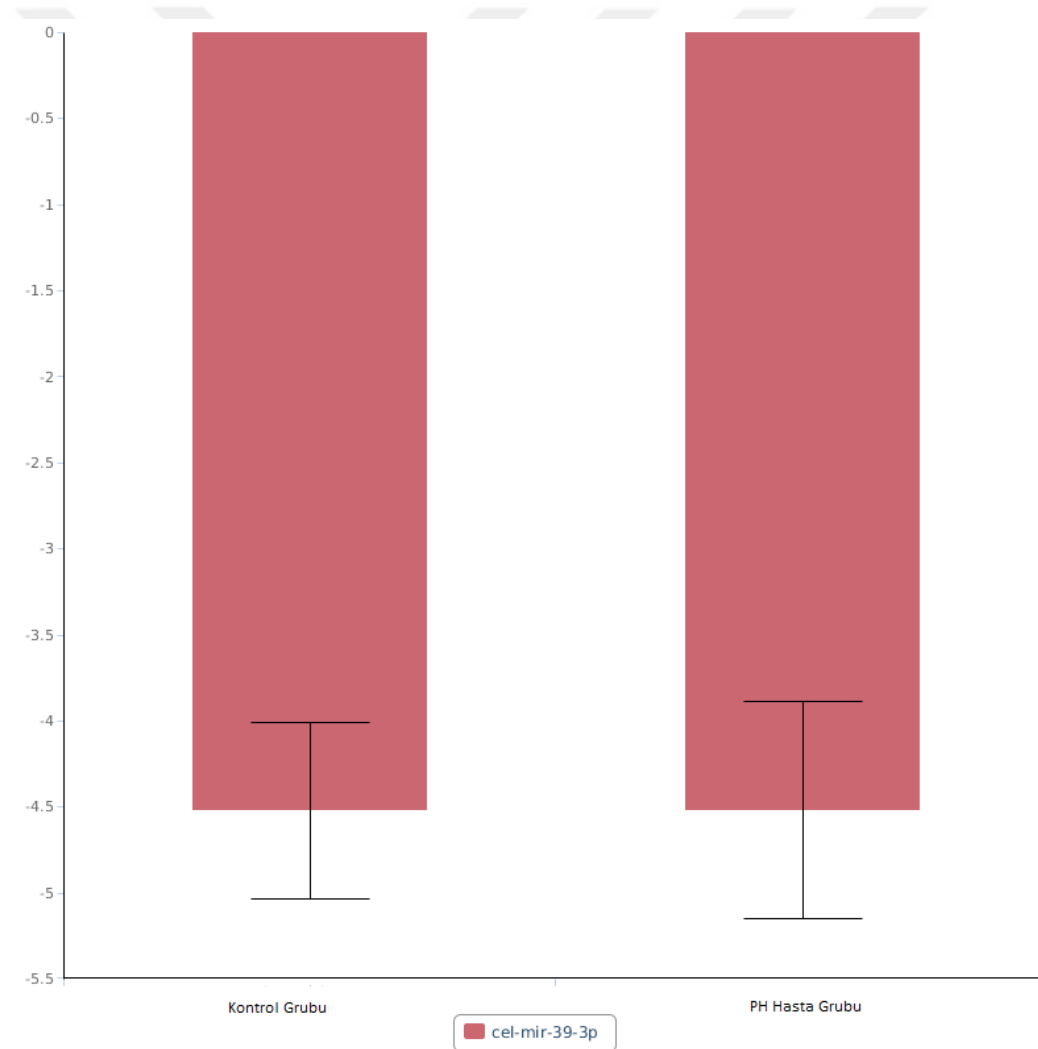
3.2.6. miRNA qPCR Verilerinin Analizi

miRNA ct düzeyleri Qiagen GeneGlobe Veri Analiz Merkezi'ne uygun şekilde yüklendi. Ct cut off değeri 40 olarak ayarlandı. Treshold değeri 0.025 olarak belirlendi. Normalizasyon için miRNA'lar uygun şekilde seçildi. Hasta ve kontroller arasındaki ekspresyon farklarına ilişkin sonuçlar Qiagen Veri Analiz Merkezi web aracı vs SPSS istatistik aracı kullanılarak elde edildi. Klinik verilerin değerlendirilmesi ise SPSS istatistik aracı kullanılarak gerçekleştirildi. miRNA hastalık ilişkisi ve hedef prediksyon analizi için DianaTools web aracı kullanıldı. İç normalizatör olarak miR-191 ve miR-1228, dış normalizatör olarak cel-miR-39 kullanıldı, normalizatör miRNA seviyelerinin geometrik ortalamaları değerleri son normalizatör değer olarak kullanıldı. miRNA ekspresyon dataları $2^{-\Delta\Delta CT}$ (82) yöntemi ile karşılaştırıldı.

3.2.7. Normalizasyon

miRNA verileri normalizasyonu 2 internal 1 eksternal miRNA ile yapıldı. miR-191 PH eksozomal miRNA çalışmalarında PH ile ilişkisi olmadığı ve hasta ve kontroller arasında seviyesinin değişmediği gösterilmiş uygun bir normalizatör olarak seçildi, ayrıca miR-191'in genel olarak tüm dokularda en stabil seviyelerde sentezlenen miRNA'lardan biri olması dolayısıyla da normalizasyon için uygun olduğu belirlendi

(83) (84). miR-1228, serum eksozomal çalışmalarda bir çok defa stabil bir endojen kontrol olabileceği gösterilen, housekeeping rolü olduğu düşünülen, hematolojik sistem gelişimi ile ilişkisi gösterilmiş dolayısıyla kanda stabil seviyelerde bulunan ve normalizasyon için bir diğer uygun adaydı (84). Cel-mir-39'un, sentetik bir miRNA olarak izolasyonun en başından tüm örnekler eşit miktarda eksternal olarak eklenerek, izolasyon, ters transkripsiyon ve gerçek zamanlı PZR sonrası tüm örnekler arasında seviyeleri karşılaştırıldı. Her örneğin tüm aşamalardan benzer verim ve şartlarda geçtiği cel-miR-39 rt-qPCR ölçümleri ile gösterildi (Şekil 3.2). Ayrıca eksojen normalizatör olarak diğer 2 endojen normalizatör ile birlikte kullanıldı.



Şekil 3-2: PH ve kontrol grubu eksternal kontrol cel-miR-39 düzeyleri arasında fark olmaması örnekler boyunca izolasyon işleminin yüksek ve stabil verimini göstermekte

4. BULGULAR

4.1. miRNA Bulguları

Gruplar arasında miRNA ölçümleri bakımından karşılaştırma sonuçları yer almaktadır (Tablo 4-1). miR-24-3p ve miR-34b düzeylerinin gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği belirlendi (sırasıyla $p=0.001$ ve $p=0.023$). Bu sonuca göre Parkinson hastalarının miR-24-3p ve miR-34b düzeyleri kontrollere göre anlamlı düzeyde farklıdır. Diğer miRNA'ların ise gruplara göre bir farklılık göstermediği bulundu.

Tablo 4-1: miRNA düzeylerinin gruplara göre tanımlayıcı değerleri†

	PD ($2^{-\Delta\Delta CT}$)	Kontrol ($2^{-\Delta\Delta CT}$)	p
	(n=51)	(n=20)	
miR-30e	0,066 [0,051]	0,064 [0,049]	0,908
miR-24-3p	0,121 [0,060]	0,072 [0,023]	0,001
miR-331	0,005 [0,004]	0,005 [0,005]	0,645
miR-16-1	0,028 [0,040]	0,032 [0,025]	0,858
miR-30a	0,014 [0,012]	0,017 [0,016]	0,808
miR-34a	0,003 [0,004]	0,004 [0,004]	0,413
miR-34b	0,001 [0,0014]	0,017 [0,05]	0,023

a: Mann Whitney-U testi

†Verilerin özet gösterimi median [IQR].

Bireylerin yaş, cinsiyet, eğitim süresi, hastalık süresi, hastalık klinik şiddeti, hastalık başlangıç bulgusu, hastalık başlangıç tarafı, aile hikayesi, kullanılan dopaminerjik tedavi dozu (LEDD), Schwab&England günlük yaşam skalası skorları ve UPDRS skorlarının miRNA düzeyleri ile ilişkisi incelendi. Bu sonuçlara göre, sadece yaş ile miR-30e arasında ve UPDRS III ve UPDRS toplam ile miR-331 düzeyleri arasında anlamlı negatif ilişki olduğu (p değerleri sırasıyla 0.019, 0.013 ve 0.027), diğer ilişkilerin anlamlı olmadığı görüldü (Tablo 4.2)

Tablo 4-2: Değişkenler ile miRNA arasındaki ilişki^b

		mir16	mir24	mir30a	mir30e	mir34a	mir34b	mir331
Yaş	Correlation Coefficient	-.198	-.080	-.051	-.278*	-.005	.011	.182
	P	.098	.506	.676	.019	.966	.929	.130
	N	71	71	71	71	71	71	71
Cinsiyet	Correlation Coefficient	-.032	-.058	.096	.022	.007	.004	.056
	P	.789	.633	.428	.852	.954	.972	.641
	N	71	71	71	71	71	71	71
Eğitim süresi (yıl)	Correlation Coefficient	.114	.215	.003	.116	.111	-.166	.066
	P	.342	.072	.977	.336	.356	.166	.584
	N	71	71	71	71	71	71	71
Hastlık Süresi	Correlation Coefficient	.142	.191	-.008	.176	-.192	.072	-.033
	P	.319	.179	.954	.216	.178	.614	.819
	N	51	51	51	51	51	51	51
H&Y	Correlation Coefficient	.051	.101	-.191	.053	-.156	.045	.079
	P	.721	.479	.179	.711	.273	.756	.581
	N	51	51	51	51	51	51	51
Aile hikayesi	Correlation Coefficient	.185	.215	.252	.268	-.084	.054	.020
	P	.195	.130	.075	.057	.558	.708	.888
	N	51	51	51	51	51	51	51
Ek Hastalık	Correlation Coefficient	-.003	.026	-.018	-.149	.017	-.184	.065
	P	.980	.832	.881	.215	.891	.125	.592
	N	71	71	71	71	71	71	71
LEDD	Correlation Coefficient	.129	.173	.031	.181	-.232	-.029	-.045
	P	.368	.225	.831	.203	.102	.838	.754
	N	51	51	51	51	51	51	51
UI	Correlation Coefficient	.116	.060	-.134	.026	-.273	.087	-.019
	P	.419	.678	.350	.857	.053	.544	.895
	N	51	51	51	51	51	51	51
UII	Correlation Coefficient	.104	.065	-.081	.043	-.275	.051	-.273
	P	.466	.649	.572	.767	.051	.725	.052
	N	51	51	51	51	51	51	51
UIII	Correlation Coefficient	-.073	-.216	-.096	-.061	-.120	-.002	-.347*
	P	.612	.128	.504	.673	.401	.987	.013
	N	51	51	51	51	51	51	51
UIVA	Correlation Coefficient	.011	-.060	-.230	-.067	-.011	.064	.009
	P	.938	.678	.105	.639	.941	.655	.949
	N	51	51	51	51	51	51	51

UIVB	Correlation Coefficient	.076	.062	-.056	.061	-.098	.076	-.121
	P	.594	.664	.695	.671	.493	.594	.398
	N	51	51	51	51	51	51	51
UIVC	Correlation Coefficient	-.049	-.141	-.145	-.142	.066	-.072	-.265
	P	.735	.323	.310	.320	.647	.613	.061
	N	51	51	51	51	51	51	51
UIV	Correlation Coefficient	.033	.001	-.123	.018	-.108	.020	-.121
	P	.818	.994	.390	.898	.451	.887	.398
	N	51	51	51	51	51	51	51
UPDRS toplam	Correlation Coefficient	.018	-.074	-.130	-.028	-.216	.025	-.310*
	P	.901	.608	.364	.847	.129	.860	.027
	N	51	51	51	51	51	51	51
Schwab England skor	Correlation Coefficient	-.120	-.025	.186	-.018	.112	-.089	-.066
	P	.402	.861	.191	.898	.433	.537	.646
	N	51	51	51	51	51	51	51
ilk tremor	Correlation Coefficient	-.131	-.066	-.060	-.084	-.045	.075	.054
	P	.358	.647	.677	.560	.755	.603	.708
	N	51	51	51	51	51	51	51
bradikinezi taraf	Correlation Coefficient	-.196	-.157	-.353	-.275	0.000	-.471	-.157
	P	.502	.592	.216	.342	1.000	.089	.592
	N	14	14	14	14	14	14	14
ilk bradikinezi	Correlation Coefficient	.131	.066	.060	.084	.045	-.075	-.054
	P	.358	.647	.677	.560	.755	.603	.708
	N	51	51	51	51	51	51	51
baslangıç bulgusu	Correlation Coefficient	.131	.066	.060	.084	.045	-.075	-.054
	P	.358	.647	.677	.560	.755	.603	.708
	N	51	51	51	51	51	51	51

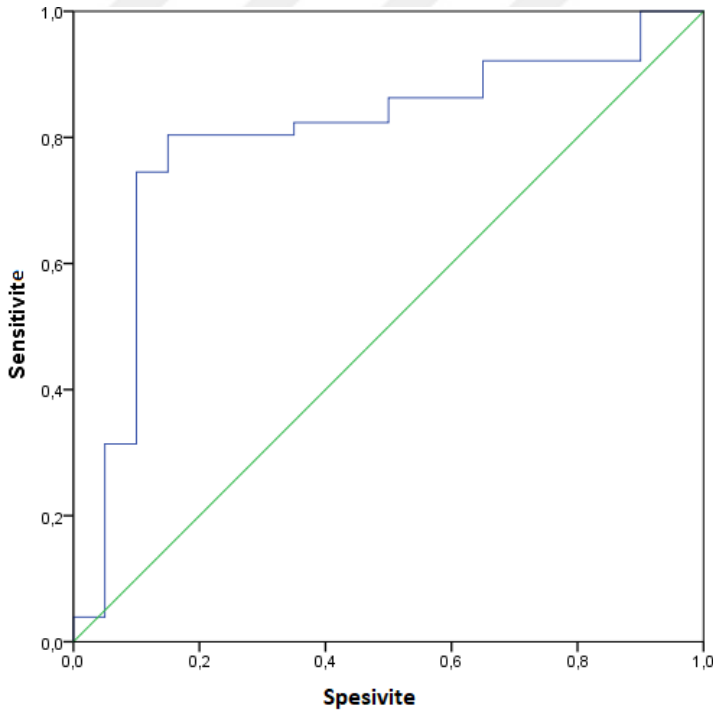
^bSpearman's rho korelasyon analizi

Sadece miR-24'ün PH hastaları ve kontrol bireylerini ayırt etmedeki başarısı anlamlı bulunduğu için ayırıcı cutoff değeri ROC analizi ile incelendi ve diğer miRNA türleri ile birlikte ayırıcılık başarıları topluca verildi (Tablo 4.3).

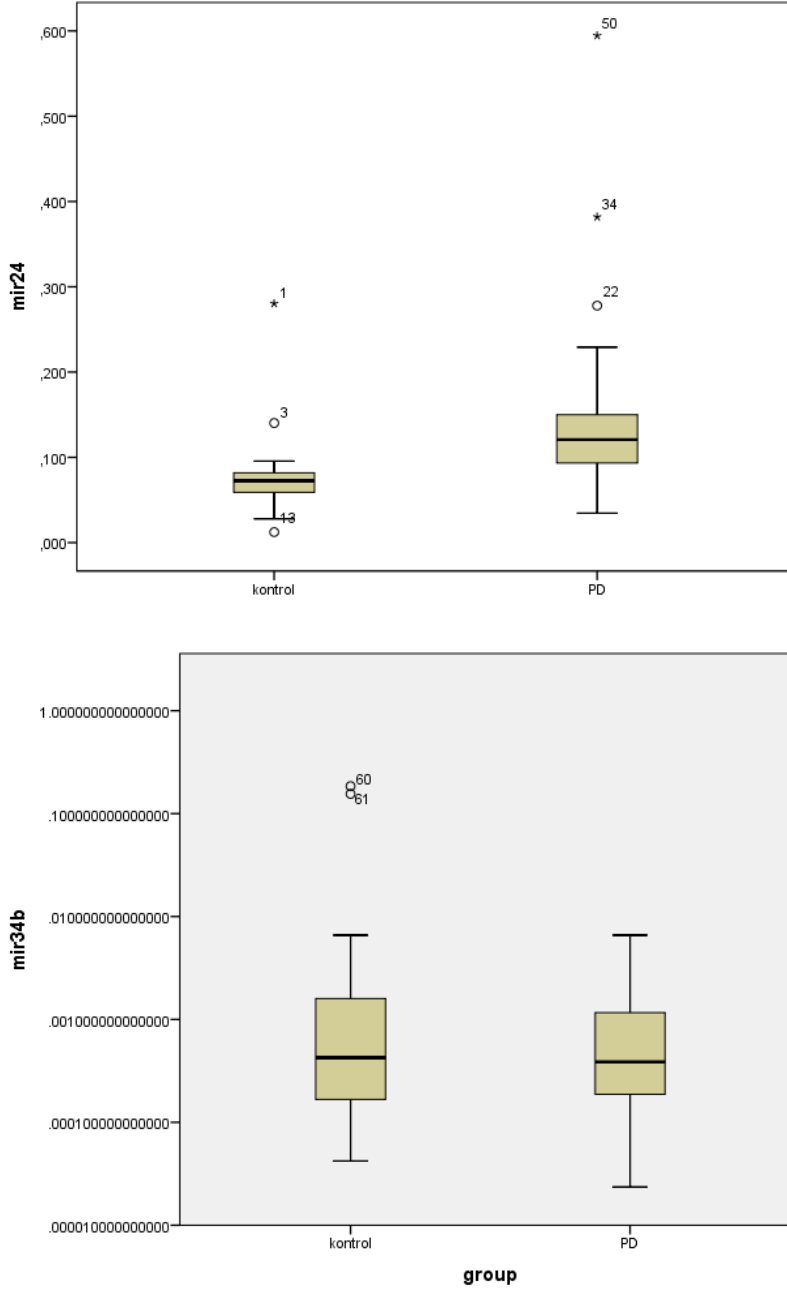
Tablo 4-3: miRNA'ların ROC eğrisi altında kalan alanları

	Area Under the ROC Curve (AUC)	95% CI for AUC	p
miR-30e	0,509	(0,357-0,661)	0,908
miR-24-3p	0,799	(0,678-0,920)	0,001
miR-331	0,535	(0,374-0,696)	0,645
miR-16-1	0,486	(0,343-0,629)	0,858
miR-30a	0,481	(0,334-0,629)	0,808
miR-34a	0,437	(0,293-0,582)	0,413
miR-34b	0,473	(0,316-0,629)	0,72

miR-24-3p düzeylerinin cutoff değeri, 0.085 alındığında ve bu değerden yüksek olanlar PH olarak tanı konulduğunda, hastaları ayırma başarısı (sensitivite) %80.4, sağlamları ayırma başarısının ise (spesivite) %85 olduğu görüldü. ROC eğrisi gösterildi (Şekil 4.1).

**Şekil 4-1: miR-24' ün grupları ayırma başarısı (ROC eğrisi)**

Ayrıca miR-24-3p ve miR-34b açısından gruplar farklılık gösterdiği için miR-24'e ait tanımlayıcı değerlerin grafiği verildi (şekil 4.2).



Şekil 4-2: miR-24-3p ve miR-34b' nin gruplara göre tanımlayıcı değerleri

Tablo 4-4: Fold değişimi değerleri

	Mean 2 ⁻ ΔCT Kontrol	Mean 2 ⁻ ΔCT PH	Fold Change PH/Kontrol
miR-30e	0,07269	0,07577	1.04
miR-24-3p	0,08055	0,13670	1.7
miR-331	0,00661	0,00642	0.97
miR-16-1	0,03546	0,03924	1.11
miR-30a	0,01752	0,01902	1.09
miR-34a	0,00449	0,00401	0.89
miR-34b	0,000762	0,00046	-1,65

Ayrıca miRNA türleri için 2⁻ΔCT ve 2⁻ΔΔCT Fold Change değerleri hesaplandı (Tablo 4.4). miR-24-3p' nin PH hastalarında kontrollere göre anlamlı düzeyde (p=0,001) 1,7 kat daha yüksek salgılandığı (upregüle olduğu), miR-34b nin 1,65 kat daha az salgılandığı (downregüle olduğu), buna karşın diğer miRNA'lar açısından hasta ve kontroller arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü.

4.2. Çalışma Populasyonu Verileri

PH hastaları ortalama yaşı 64.04±9, 43-79 yaş aralığındaydı. Tüm gönüllülerde sağ el dominant eldi ve sigara kullanımı yoktu. 16 hasta ve 5 kontrolde esansiyel hipertansiyon hikayesi vardı. PH hastaları ve kontroller arasında cinsiyet, eğitim ve hipertansiyon dağılımı açısından anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla p = 0.951, p = 0.309 ve p = 0.597). Yaşa bakıldığında PH hasta grubu ortalama yaşı, kontrol grubundan fakat anlamlı derecede yüksekti (p=0.011) (Tablo 4.5).

51 hastadan 37'sinde (%73) tremor-rijid form PH hastalığı vardı ve %57'sinde hastalık sağ taraf başlangıçlıydı. Bradikinezi baskın forma sahip olanlarda %72 sağ taraf başlangıçlı olduğu görüldü. 10 hastada (%20) PH pozitif aile öyküsü vardı. H&Y skalasına göre hasta dağılımı; 12 hasta evre 1, 26 hasta evre 2, 13 hasta evre 3 şeklindeydi. Tüm hastalardan 7 (%14) hastada dopamin disregülasyon sendromu, 17

(%33) hastada diskinezi, 18 (%34) hastada motor dalgalanmalar görüldü. Tüm hastalar dopaminerjik tedavi altındaydı, 7 (%14) hasta rapinirol tedavisi alıyordu.

Tablo 4-5: : Çalışma popülasyonu demografik ve klinik özellikleri

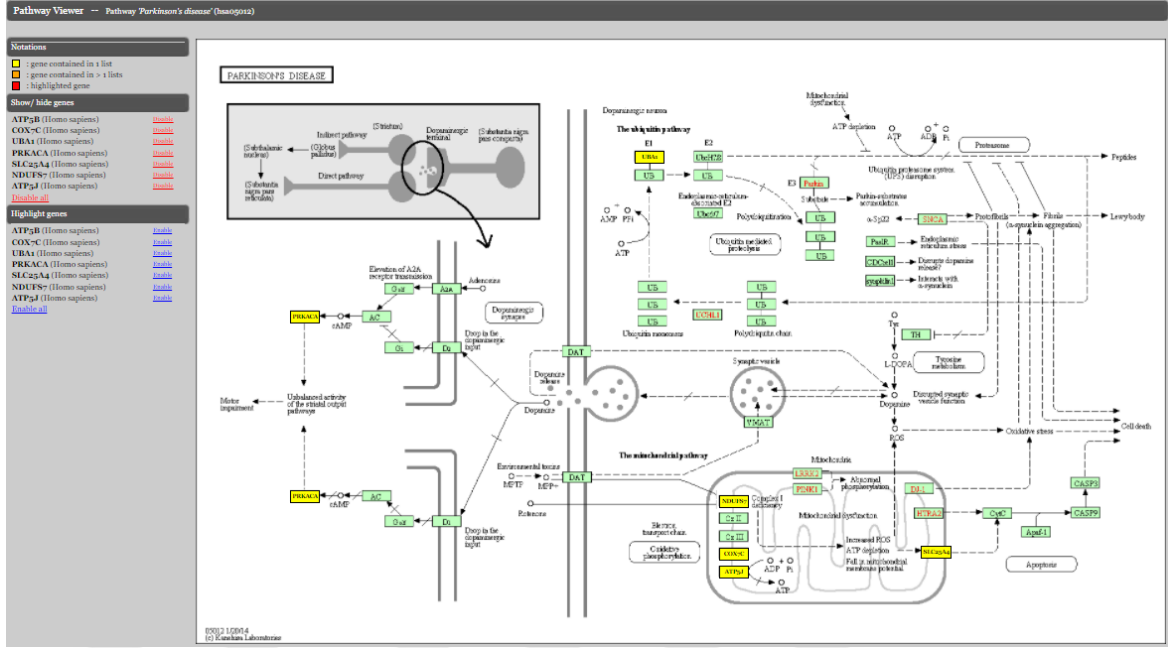
Değişkenler	PH hastaları (n=51)	Kontrol (n=20)	p değeri
Yaş	64.33 ± 8.83	58.55 ± 7.11	0.011
Cinsiyet, erkek%	31 (61)	12 (60)	0.951
Eğitim (yıl)	5 (10)	5 (6)	0.309
Hipertansiyon geçmişi	16(31.4)	5(25)	0.597
Hastalık süresi	5.7 ± 3.8		
HY evresi	2.02 ± 0.70		
LEDD (mg/gün)	938.71 ± 507.60		
UPDRS I	1.14 ± 1.11		
UPDRS II	7.71 ± 4.62		
UPDRS III	11.61 ± 5.87		
UPDRS total	22.73 ± 11.76		

4.3. miRNA Biyoinformatik verileri

Total UPDRS ve UPDRS III skorları ile arasında anlamlı negatif ilişki bulunan miR-331, ubikitinizasyon ve toksik materyalin ortamdaki uzaklaştırılması, mitokondrial yolaklar ve nigrostriatal dopaminerjik yolaklarda çeşitli genleri regüle ediyordu, PH patojenik mekanizmalarında aktif rol oynuyordu (Tablo 4.6) (Şekil 4.3)

Tablo 4-6: Tarbase miR-331 deneysel olarak kanıtlanmış PH ilişkili gen interaksiyonları

#	Gen Adı	Gen Ensembl kodu
1.	ATP5B	ENSG00000110955
2.	COX7C	ENSG00000127184
3.	UBA1	ENSG00000130985
4.	PRKACA	ENSG00000072062
5.	SLC25A4	ENSG00000151729
6.	NDUFS7	ENSG00000115286
7.	ATP5J	ENSG00000154723

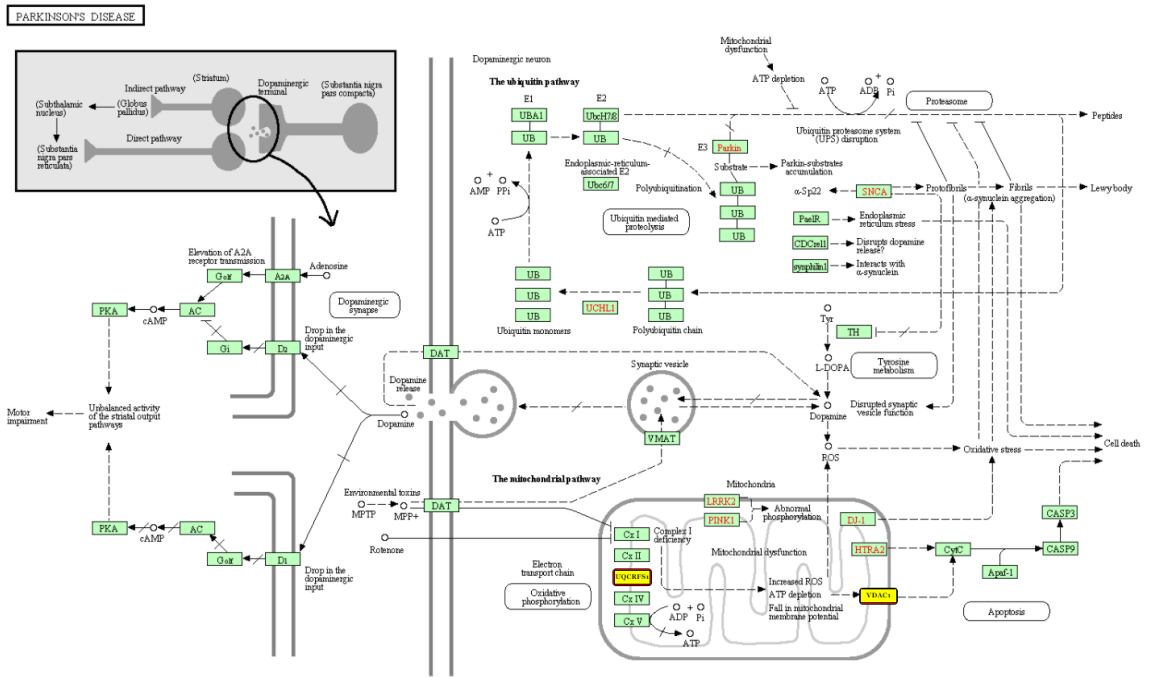


Şekil 4-3: miR-331 PH gen interaksiyonları ve PH ilişkili yolak analizi

PH hastalarında kontrollere göre ekspresyon miktarı 1,7 kat artmış bulunan miR-24-3p, özellikle mitokndriyal yollarda PH hastalığı ile ilişkisi gösterilmiş PINK1 regülasyonunda görev alıyordu. Bunun yanında PH patogenezinde aktif olarak bulunduğu yollar, ubiquitinizasyon ve NDUFA7 geni üzerinden bozulmuş dopaminerjik regülasyona bağlı PH motor semptomlar ile ilişkiliydi (Tablo 4.7) (Şekil 4.4).

Tablo 4-7: Tarbase miR-24-3p deneysel olarak kanıtlanmış PH ilişkili gen interaksiyonları

#	Gene Name	Gene Ensembl id
1.	ATP5D	ENSG00000099624
2.	PINK1	ENSG00000158828
3.	UBE2J1	ENSG00000198833
4.	ATP5B	ENSG00000110955
5.	ATP5A1	ENSG00000152234
6.	NDUFV2	ENSG00000178127
7.	NDUFA2	ENSG00000131495
8.	NDUFA7	ENSG00000267855



Şekil 4-5: miR-34b gen interaksiyonları ve PH ilişkili yolak analizi

DianaTools web sitesi (diana.imis.athena-innovation.gr/DianaTools/index.php) üzerinden MirPath V.3 web aracı kullanılarak yapılan analizler ile çalışmamızda anlamlı bulunan miRNA ların PH hastalığı ile ilişkileri gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada, PH'da ekspresyonlarının değiştiği öngörülen miRNA'lerden serum seviyelerinin değerlendirilmesi için miR-16-1, miR-24-3p, miR-30a, miR-30e, miR-34a, miR-34b, miR-331 olmak üzere toplamda 7 miRNA ve normalizasyon için miR-191 ve miR-1228, 2 internal, cel-mir-39, 1 eksternal, olmak üzere toplamda 10 adet miRNA belirlendi, miRNA serum seviyeleri her örnek için gerçek zamanlı kantitatif PCR ile gösterildi. Çalışılan miRNA'ların serum seviyeleri, yaşları 40-80 arasında değişen, hipertansiyon dışında ek hastalığı bulunmayan ve Hoehn and Yahr 1,2 ve 3 hasatlık şiddetinde toplam 51 PH hastası ve cinsiyet, yaş ve eğitim itibarıyla eşleşen 20 sağlıklı kontrolde, hasta ve kontroller arasındaki, ayrıca hastalığa sahip kişilerin kişisel ve hastalık karakteristikleri arasındaki farklar açısından incelendi. PH'lı hastalar ile kontrol grubu arasında mir-24-3p 1,7 kat artmış ve miR-34b serum seviyeleri 1,65 kat azalmış olarak anlamlı derecede farklı bulundu (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,023$). Hastalar arasında yapılan değerlendirmede mir-30e'nin serum seviyelerinin yaş ile birlikte anlamlı derecede değiştiği ($p=0,019$), UPDRS skorları ile ise mir-331 serum seviyelerinin anlamlı derecede değiştiği ($p=0,027$) gösterildi. mir-24-3p, miR-34b, mir-331 miRNA'larının özellikle mitokondrial yollar, mitofaji ve hücrenin enerji metabolizmasındaki ortak varlıkları, PH'da özellikle hücresel enerji ve mitokondriyal apoptoz mekanizmalarının önemini vurguluyor gözükmektedir.

5.1. miR-24-3p ve Parkinson Hastalığı

miR-24-3p, PH ilişkili PARK9 (ATP13A2) ve PINK1 geninin regülasyonu ile ilişkilendirilen bir miRNA'dır. PARK9 mutasyonları otozomal resesif karakterde olup kalıtsal monogenik PH formları ile ilişkilidir, Kufor-Rakeb sendromu olarak adlandırılan atipik PH sebebi oldukları bilinmektedir, bozulmuş lizozomal fonksiyonlarla ilgili oldukları düşünülmektedir ve normalde lizozomal membranlarda bulunması gereken PARK9 proteininin PH varlığında endoplazmik retikulumdan çıkamadığı saptanmıştır (85). PINK1 mitokondrial yollarda görevli ve otofajiyi sağlayan,

bozulmuş mitokondri işaretlenmesi, PH patogenezi ve PH monogenik ailesel formları ile yakın ilişkisi gösterilmiş bir diğer gendir (33).

Günümüze kadar yapılan sınırlı sayıda eksozomal dolaşan miRNA'lar ve PH ilişkisini araştıran çalışmalarda, verilerimizle uyumlu ve PH hastalarında serum miR-24-3p seviyesinin anlamlı derecede arttığını ve miR-24-3p'nin PH tanısı için bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini belirten az sayıda çalışma mevcuttur (86) (87).

PH ayırımında kullanılabilecek bir serum biyobelirteci olarak miR-24-3p seviyeleri bir başka çalışmada anlamlı bulunmuştur, ayrıca miR-24-3p nörodejenerasyonun anlamlı bir göstergesi olarak belirtilmiştir (88).

Multipl sistem atrofisi vs PH ayırımında miR-24-3p seviyelerinin iki hastalık arasında anlamlı bir şekilde değiştiği ifade edilmiş, ayırıcı tanıda kullanılabilme potansiyeli olduğu belirtilmiştir (89).

Buna karşın serebrospinal sıvıdan alınan örneklerle yapılan bir başka çalışma ise PH hastalarında miR-24-3p seviyesinin kontrol grubuna göre azaldığını söylemektedir (90).

PH'da anlamlı bir rolü olduğu görülen miR-24-3p, henüz tam aydınlatılmamış olan ve çeşitli zorluklarla karşılaşılan hem hastalık mekanizmalarında patolojik genlerle ilişkisi hem de hastalığın tanısı açısından önemli bir yere sahip gözükmektedir. Kolay ve hızlı bir şekilde ulaşılabilen serum materyalinde PH hastalarında anlamlı bir şekilde yüksek olduğu çalışmamızla saptanan miR-24-3p'nin fonksiyonu ve potansiyel klinik kullanımı yapılacak ileri çalışmalarla desteklenmelidir.

5.2. miR-331 ve Parkinson Hastalığı

Nörojenezis ve nörodejenerasyon yollarında rolü olduğu düşünülen miR-331 insan serum/plazma eksozomal dolaşan miRNA çalışmalarında PH hastaları ve kontroller arasında sayılı çalışmada (91) (92) anlamlı farklı bulunan bir diğer miRNA'dır. Çalışmamızda artmış UPDRS skorları ile anlamlı ilişkisi bulunan miR-331'in fakat sağlıklı kontrollerle serum seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır.

Erken ve geç başlangıçlı PH arasında plazma seviyeleri anlamlı derecede farklı bulunan miR-331 PH progresyonuyla ilişkili olabileceği gösterilmiş, nöroprotektif yollarda etkili olduğu vurgulanmıştır (93).

Hastalık şiddetindeki artış ile anlamlı ilişkisi olabilecek olan miR-331'in hastalık patofizyolojisindeki rolü net olmamakla birlikte hastalık progresyon takibi açısından kullanılabilme potansiyeli için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5.3. miR-34b ve Parkinson Hastalığı

Pre-motor evreden itibaren beyinde ekspresyon seviyeleri düştüğü düşünülen miR-34b, oksidatif stres yolları ile mitokondrial yollar ve mitofajide rol alan VDAC1 ile direkt, PH genetik altyapısındaki en önemli genlerden olan DJ-1 ve Parkin regülasyonunda ise indirekt etkisi olduğu bildirilen bir mikro RNA'dır (75).

Aynı zamanda miR-34b baskılanmasının α -sinüklein ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (94).

Lewy cisimciklerinin limbik sistemden neokortekse progresyonuyla ilişkili bulunan miR-34b aynı zamanda PH demans ile de bağlantılıdır (95). Ayrıca major depresyon hastalarında yapılan çalışmada miR-34b/c ailesinin kognüsyon ve hipokampal nörosinaptik ve yapısal plastisite disfonksiyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (96).

Alzheimer hastalığı ile de ilişkisi olduğu bilinen miR-34b (95), hafıza ve kognüsyon ile ilişkili yollarda rol aldığı da öngörülen bir miRNA olduğundan dolayı, özellikle PH kognitif bozukluklarında tanı ve takip için ileri çalışmalar yapılması uygun görünen bir miRNA adaydır.

5.4. Serum miRNA çalışmaları ve karşılaşılan zorluklar

Farklı çalışmalarda serumdan izole edilen dolaşan miRNA seviyeleri farklı sonuçlar vermektedir. Çalışılan materyalin saklanma koşulları, kullanılan kitler, kullanılan normalizasyon stratejilerindeki standardizasyon eksiklikleri ve vücut

sıvılarında dolaşan miRNA seviyelerinin çok düşük olması karşılaşılan başlıca zorluklardandır.

Standardizasyon eksikliği ve normalizasyon stratejilerinden kaynaklı yanlış sonuçların önüne geçmek için alınabilecek önlemler belirlenmiş ve çalışmamızda uygulanmıştır (81) (82). Örneklerin toplanması, saklanması ve izolasyonu aşamasında deney sonuçlarını etkileyebilecek trombosit kalıntılarının ortamdaki uzaklaştırılması için önerilen ek önlem aşamaları uygulanmıştır (97). rt-qPCR çalışmalarında güvenilir sonuçlara ulaşabilmek için en önemli adımlardan biri olan normalizasyon seçimi toplamda 3 miRNA kullanılarak yapılmıştır, seçilen miRNA'lar PH ilişkili olduklarına dair bir kanıt olmamasının yanında kanda stabil seviyelerde bulunan muhtemel housekeeping görevleri olan 2 adet internal miRNA ve çalışmadaki tüm örnekler boyunca çalışma basamaklarının verimini de göstermesi açısından 1 adet eksternal miRNA olarak belirlenmişlerdir. Farklı miRNA çalışmalarında sıklıkla kullanılan U6 gibi snRNA, snoRNA veya ribozomal RNA'lar normalizatör olarak miRNA'lardan farklı yapıları itibarıyla seçilmemişlerdir. Kullandığımız normalizatör miRNA'lar hasta ve kontrol bütün örneklerde benzer ekspresyon seviyelerine sahiptirler.

Tüm basamaklar boyunca negatif ve pozitif kontroller her işlemde tekrar kullanılmış ve her basamakta kurulan deney düzeneklerinin doğru çalıştığından ve kontaminasyon olmadığından emin olunmuştur. Her primer için rt-qPCR verimliliği gösterilmiş ve örnekler boyunca benzer verimlilikte olduklarından emin olunmuştur. Her örnek için her miRNA ekspresyon seviyesi duplike çalışılmış ve iki değerin ortalaması alınmış, rt-qPCR kaynaklı okuma varyasyonlarının önüne geçilmiştir. CT threshold değeri 40 olarak belirlenmiş, üzerindeki değerler çalışmaya dahil edilmemiş, gerekirse deney tekrarlanmıştır. Literatürde güvenilirliği gösterilmiş yöntem ve metodlar çalışmamıza implemente edilmiş ve bulunan sonuçların tekrarlanabilirliği güvence altına alınmıştır.

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışma ile belirlediğimiz miRNA'lar bilginiz dahilinde Türk popülasyonunda PH'da ilk kez çalışılmıştır. Literatürde şimdiye kadar yapılan ve az sayıdaki farklı çalışmada gösterilen miRNA ekspresyon düzeyleri sonuçları çok tutarlı gözükmemektedir. Bunun sebepleri arasında kullanılan gerçek zamanlı kantitatif PCR yönteminin getirdiği zorluklar, kullanılan normalizasyon

yöntemleri farklılıkları, miRNA'ların stabil olmayan yapıları ve vücut sıvılarında çok düşük konsantrasyonlarda bulunmaları gösterilebilir. Çalışmamızın güçlü yanlarından bazıları, bu zorluklar ve tutarsızlıkların üstesinden gelebilmek adına serum örneklerinin toplanması ve saklanması uygun koşullarda gerçekleştirilip, uzun saklama sürelerinin önüne geçilmiş, gerçek zamanlı kantitatif PCR sonuçları her örnek için duplike çalışılarak elde edilmiş, normalizasyon için 2 internal 1 eksternal olmak üzere 3 adet farklı normalizatör seçilmiş ve internal normalizatörlerin miRNA olmalarına ve housekeeping karakter taşımalarına dikkat edilmiş, gerçek zamanlı kantitatif PCR verilerinde duplike veriler birbirinden 1 CT'den fazla farklı ise ilgili örnekte deney tekrarına gidilmiş olması olarak gösterilebilir.

Çalışmamızda miR-24-3p düzeylerinin cutoff değeri 0.085 alındığında ve bu değerden yüksek olanlar PH olarak tanı konulduğunda, hastaları ayırma başarısının (sensitivite) %80.4, sağlamları ayırma başarısının ise (spesivite) %85 olduğu görülmüş ve ileri çalışmalar ışığında miR-24-3p'nin PH'da tanıya yardımcı bir yöntem olarak kullanılabileceği saptanmıştır. Çalışmamızda PH'da anlamlı bulduğumuz miRNA değişimlerinin hastalığın temel mekanizmalarını aydınlatmada ve son yıllarda popülerliği gittikçe artan vücut sıvılarından izole edilen miRNA seviyelerinin çeşitli hastalıklar açısından değerlendirilmesi çalışmalarının standardizasyonunda sağlayacağı katkılar olduğu öngörülmektedir.

Çalışma bütçesi dahilinde çalışılan toplam 51 PH ve 20 sağlıklı kontrol sayısı çalışmamızın kısıtlayıcılarından bir tanesidir. Ayrıca literatürdeki çalışmalar ve biyoinformatik öngörülerden seçtiğimiz toplam 7 miRNA'dan çok daha fazla sayıda PH ile ilgili miRNA olduğu düşünülmektedir. Özellikle miRNA'ların çoklu yolak etkilerinin olması tek bir metabolik yolak ve mekanizmaya işaret etmeyi zorlaştırmaktadır. miRNA'ların PH klinik pratikte kullanımını destekleyici nitelikte daha fazla sayıda çalışma ve daha büyük örneklem kümelerine ihtiyaç olduğunu düşünmekte ve literatüre bu yolda yaptığımızı düşündüğümüz katkının ileriki çalışmalar için bir basamak olmasını umut etmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Simon, D. K., Tanner, C. M., & Brundin, P. (2020). Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clinics in geriatric medicine*, 36(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2019.08.002>
2. de Lau, L. M., & Breteler, M. M. (2006). Epidemiology of Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology*, 5(6), 525–535. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70471-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70471-9)
3. Jankovic J. (2008). Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 79(4), 368–376. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.131045>
4. Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., de Vos, R. A., Jansen Steur, E. N., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*, 24(2), 197–211. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00065-9)
5. Hallett, P. J., Engelender, S., & Isacson, O. (2019). Lipid and immune abnormalities causing age-dependent neurodegeneration and Parkinson's disease. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 153. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1532-2>
6. Ambros V. (2001). microRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell*, 107(7), 823–826. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00616-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00616-x)
7. Arshad AR, Sulaiman SA, Saperi AA, Jamal R, Mohamed Ibrahim N and Abdul Murad NA (2017) MicroRNAs and Target Genes As Biomarkers for the Diagnosis of Early Onset of Parkinson Disease. *Front. Mol. Neurosci.* 10:352. doi: 10.3389/fnmol.2017.00352
8. Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 69(3), 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
9. Selikhova, M., Williams, D. R., Kempster, P. A., Holton, J. L., Revesz, T., & Lees, A. J. (2009). A clinico-pathological study of subtypes in Parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*, 132(Pt 11), 2947–2957. <https://doi.org/10.1093/brain/awp234>
10. Cao, X., Yeo, G., Muotri, A. R., Kuwabara, T., & Gage, F. H. (2006). Noncoding RNAs in the mammalian central nervous system. *Annual review of*

- neuroscience*, 29, 77–103.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112839>
11. Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A. *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* **9**, 654–659 (2007). <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
 12. Eacker, S. M., Dawson, T. M., & Dawson, V. L. (2009). Understanding microRNAs in neurodegeneration. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(12), 837–841. <https://doi.org/10.1038/nrn2726>
 13. Haqqani, A. S., Delaney, C. E., Tremblay, T. L., Sodja, C., Sandhu, J. K., & Stanimirovic, D. B. (2013). Method for isolation and molecular characterization of extracellular microvesicles released from brain endothelial cells. *Fluids and barriers of the CNS*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-10-4>
 14. Cook Shukla L, Schulze J, Farlow J, et al. Parkinson Disease Overview. 2004 May 25 [Updated 2019 Jul 25]. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1223/>
 15. Postuma, R. B., Berg, D., Stern, M., Poewe, W., Olanow, C. W., Oertel, W., Obeso, J., Marek, K., Litvan, I., Lang, A. E., Halliday, G., Goetz, C. G., Gasser, T., Dubois, B., Chan, P., Bloem, B. R., Adler, C. H., & Deuschl, G. (2015). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 30(12), 1591–1601. <https://doi.org/10.1002/mds.26424>
 16. Schrag, A., Horsfall, L., Walters, K., Noyce, A., & Petersen, I. (2015). Prediagnostic presentations of Parkinson's disease in primary care: a case-control study. *The Lancet. Neurology*, 14(1), 57–64. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70287-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70287-X)
 17. J. Jankovic, M. McDermott, J. Carter, S. Gauthier, C. Goetz, L. Golbe, S. Huber, W. Koller, C. Olanow, I. Shoulson, M. Stern, C. Tanner, W. Weiner, Parkinson Study Group (Oct 1990) Variable expression of Parkinson's disease A base-line analysis of the DAT ATOP cohort. *Neurology*, 40 (10) 1529; DOI: 10.1212/WNL.40.10.1529
 18. Stoker, T. B., & Greenland, J. C. (Eds.). (2018). *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Codon Publications.

19. Lee, A., & Gilbert, R. M. (2016). Epidemiology of Parkinson Disease. *Neurologic clinics*, 34(4), 955–965. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.012>
20. Balestrino, R. and Schapira, A.H.V. (2020), Parkinson disease. *Eur J Neurol*, 27: 27-42. <https://doi.org/10.1111/ene.14108>
21. Wakabayashi, K., Tanji, K., Mori, F., & Takahashi, H. (2007). The Lewy body in Parkinson's disease: molecules implicated in the formation and degradation of alpha-synuclein aggregates. *Neuropathology : official journal of the Japanese Society of Neuropathology*, 27(5), 494–506. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2007.00803.x>
22. Hsu, L. J., Sagara, Y., Arroyo, A., Rockenstein, E., Sisk, A., Mallory, M., Wong, J., Takenouchi, T., Hashimoto, M., & Masliah, E. (2000). alpha-synuclein promotes mitochondrial deficit and oxidative stress. *The American journal of pathology*, 157(2), 401–410. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64553-1](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64553-1)
23. Snyder, H., Mensah, K., Theisler, C., Lee, J., Matouschek, A., & Wolozin, B. (2003). Aggregated and monomeric alpha-synuclein bind to the S6' proteasomal protein and inhibit proteasomal function. *The Journal of biological chemistry*, 278(14), 11753–11759. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208641200>
24. Karin M. Danzer, Dorothea Haasen, Anne R. Karow, Simon Moussaïd, Matthias Habeck, Armin Giese, Hans Kretzschmar, Bastian Hengerer, Marcus Kostka (22 August 2007). Different Species of α -Synuclein Oligomers Induce Calcium Influx and Seeding. *Journal of Neuroscience*, 27 (34) 9220-9232; DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2617-07.2007
25. Alim, M. A., Ma, Q. L., Takeda, K., Aizawa, T., Matsubara, M., Nakamura, M., Asada, A., Saito, T., Kaji, H., Yoshii, M., Hisanaga, S., & Uéda, K. (2004). Demonstration of a role for alpha-synuclein as a functional microtubule-associated protein. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, 6(4), 435–449. <https://doi.org/10.3233/jad-2004-6412>
26. Scott DA, Tabarean I, Tang Y, et al. A pathologic cascade leading to synaptic dysfunction in alpha-synuclein-induced neurodegeneration (2010). *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*. 2010 Jun;30(24):8083-8095. DOI: 10.1523/jneurosci.1091-10.2010. PMID: 20554859; PMCID: PMC2901533.

27. Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., de Vos, R. A., Jansen Steur, E. N., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*, *24*(2), 197–211. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00065-9)
28. Brundin, P., Ma, J., & Kordower, J. H. (2016). How strong is the evidence that Parkinson's disease is a prion disorder?. *Current opinion in neurology*, *29*(4), 459–466. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000349>
29. Klingelhofer, L., & Reichmann, H. (2015). Pathogenesis of Parkinson disease--the gut-brain axis and environmental factors. *Nature reviews. Neurology*, *11*(11), 625–636. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.197>
30. Polymeropoulos, M. H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S. E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenroos, E. S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou, A., Papapetropoulos, T., Johnson, W. G., Lazzarini, A. M., Duvoisin, R. C., Di Iorio, G., Golbe, L. I., & Nussbaum, R. L. (1997). Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science (New York, N.Y.)*, *276*(5321), 2045–2047. <https://doi.org/10.1126/science.276.5321.2045>
31. Rocha, E. M., De Miranda, B., & Sanders, L. H. (2018). Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, *109*(Pt B), 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.04.004>
32. Chiba-Falek, O., Lopez, G. J., & Nussbaum, R. L. (2006). Levels of alpha-synuclein mRNA in sporadic Parkinson disease patients. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, *21*(10), 1703–1708. <https://doi.org/10.1002/mds.21007>
33. Valente, E. M., Abou-Sleiman, P. M., Caputo, V., Muqit, M. M., Harvey, K., Gispert, S., Ali, Z., Del Turco, D., Bentivoglio, A. R., Healy, D. G., Albanese, A., Nussbaum, R., González-Maldonado, R., Deller, T., Salvi, S., Cortelli, P., Gilks, W. P., Latchman, D. S., Harvey, R. J., Dallapiccola, B., ... Wood, N. W. (2004). Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science (New York, N.Y.)*, *304*(5674), 1158–1160. <https://doi.org/10.1126/science.1096284>

34. Kitada, T., Asakawa, S., Hattori, N. *et al.* Mutations in the *parkin* gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* **392**, 605–608 (1998). <https://doi.org/10.1038/33416>
35. Bonifati, V., Rizzu, P., van Baren, M. J., Schaap, O., Breedveld, G. J., Krieger, E., Dekker, M. C., Squitieri, F., Ibanez, P., Joosse, M., van Dongen, J. W., Vanacore, N., van Swieten, J. C., Brice, A., Meco, G., van Duijn, C. M., Oostra, B. A., & Heutink, P. (2003). Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science (New York, N.Y.)*, *299*(5604), 256–259. <https://doi.org/10.1126/science.1077209>
36. Bender, A., Krishnan, K. J., Morris, C. M., Taylor, G. A., Reeve, A. K., Perry, R. H., Jaros, E., Hersheson, J. S., Betts, J., Klopstock, T., Taylor, R. W., & Turnbull, D. M. (2006). High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nature genetics*, *38*(5), 515–517. <https://doi.org/10.1038/ng1769>
37. Yue, Z., & Yang, X. W. (2013). Dangerous duet: LRRK2 and α -synuclein jam at CMA. *Nature neuroscience*, *16*(4), 375–377. <https://doi.org/10.1038/nn.3361>
38. Ramirez, A., Heimbach, A., Gründemann, J., Stiller, B., Hampshire, D., Cid, L. P., Goebel, I., Mubaidin, A. F., Wriekat, A. L., Roeper, J., Al-Din, A., Hillmer, A. M., Karsak, M., Liss, B., Woods, C. G., Behrens, M. I., & Kubisch, C. (2006). Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nature genetics*, *38*(10), 1184–1191. <https://doi.org/10.1038/ng1884>
39. Balestrino, R., & Schapira, A. H. V. (2018). Glucocerebrosidase and Parkinson Disease: Molecular, Clinical, and Therapeutic Implications. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, *24*(5), 540–559. <https://doi.org/10.1177/1073858417748875>
40. Calì, T., Ottolini, D., & Brini, M. (2011). Mitochondria, calcium, and endoplasmic reticulum stress in Parkinson's disease. *BioFactors (Oxford, England)*, *37*(3), 228–240. <https://doi.org/10.1002/biof.159>
41. Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., Volkman, J., Schrag, A. E., & Lang, A. E. (2017). Parkinson disease. *Nature reviews. Disease primers*, *3*, 17013. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>

42. Alexander, G. E., Crutcher, M. D., & DeLong, M. R. (1990). Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Progress in brain research*, 85, 119–146.
43. Nambu, A., Tokuno, H., Hamada, I., Kita, H., Imanishi, M., Akazawa, T., Ikeuchi, Y., & Hasegawa, N. (2000). Excitatory cortical inputs to pallidal neurons via the subthalamic nucleus in the monkey. *Journal of neurophysiology*, 84(1), 289–300. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.289>
44. Dirx, M. F., den Ouden, H., Aarts, E., Timmer, M., Bloem, B. R., Toni, I., & Helmich, R. C. (2016). The Cerebral Network of Parkinson's Tremor: An Effective Connectivity fMRI Study. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 36(19), 5362–5372. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3634-15.2016>
45. Windels, F., Thevathasan, W., Silburn, P., & Sah, P. (2015). Where and what is the PPN and what is its role in locomotion?. *Brain : a journal of neurology*, 138(Pt 5), 1133–1134. <https://doi.org/10.1093/brain/awv059>
46. Kalia, L. V., & Lang, A. E. (2015). Parkinson's disease. *Lancet (London, England)*, 386(9996), 896–912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
47. Goetz, C. G., Tilley, B. C., Shaftman, S. R., Stebbins, G. T., Fahn, S., Martinez-Martin, P., Poewe, W., Sampaio, C., Stern, M. B., Dodel, R., Dubois, B., Holloway, R., Jankovic, J., Kulisevsky, J., Lang, A. E., Lees, A., Leurgans, S., LeWitt, P. A., Nyenhuis, D., Olanow, C. W., ... Movement Disorder Society UPDRS Revision Task Force (2008). Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 23(15), 2129–2170. <https://doi.org/10.1002/mds.22340>
48. Tolosa, E., Wenning, G., & Poewe, W. (2006). The diagnosis of Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology*, 5(1), 75–86. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70285-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70285-4)
49. Stoessl, A. J., Lehericy, S., & Strafella, A. P. (2014). Imaging insights into basal ganglia function, Parkinson's disease, and dystonia. *Lancet (London, England)*, 384(9942), 532–544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60041-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60041-6)
50. Mahlknecht, P., Hotter, A., Hussl, A., Esterhammer, R., Schocke, M., & Seppi, K. (2010). Significance of MRI in diagnosis and differential diagnosis of Parkinson's

- disease. *Neuro-degenerative diseases*, 7(5), 300–318.
<https://doi.org/10.1159/000314495>
51. Chen-Plotkin A. S. (2014). Unbiased approaches to biomarker discovery in neurodegenerative diseases. *Neuron*, 84(3), 594–607.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.031>
52. Hoehn, M. M., & Yahr, M. D. (1967). Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*, 17(5), 427–442. <https://doi.org/10.1212/wnl.17.5.427>
53. Bronstein, J. M., Tagliati, M., Alterman, R. L., Lozano, A. M., Volkmann, J., Stefani, A., Horak, F. B., Okun, M. S., Foote, K. D., Krack, P., Pahwa, R., Henderson, J. M., Hariz, M. I., Bakay, R. A., Rezai, A., Marks, W. J., Jr, Moro, E., Vitek, J. L., Weaver, F. M., Gross, R. E., ... DeLong, M. R. (2011). Deep brain stimulation for Parkinson disease: an expert consensus and review of key issues. *Archives of neurology*, 68(2), 165.
<https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.260>
54. Seppi, K., Weintraub, D., Coelho, M., Perez-Lloret, S., Fox, S. H., Katzenschlager, R., Hametner, E. M., Poewe, W., Rascol, O., Goetz, C. G., & Sampaio, C. (2011). The Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Review Update: Treatments for the non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 26 Suppl 3(0 3), S42–S80. <https://doi.org/10.1002/mds.23884>
55. Babiarz JE, Blelloch R. Small RNAs – their biogenesis, regulation and function in embryonic stem cells. 2009 May 31. In: *StemBook* [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27046/> doi: 10.3824/stembook.1.47.1
56. Han, J., Lee, Y., Yeom, K. H., Kim, Y. K., Jin, H., & Kim, V. N. (2004). The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes & development*, 18(24), 3016–3027. <https://doi.org/10.1101/gad.1262504>
57. Haase, A. D., Jaskiewicz, L., Zhang, H., Lainé, S., Sack, R., Gatignol, A., & Filipowicz, W. (2005). TRBP, a regulator of cellular PKR and HIV-1 virus expression, interacts with Dicer and functions in RNA silencing. *EMBO reports*, 6(10), 961–967. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400509>

58. Schwarz, D. S., Hutvagner, G., Du, T., Xu, Z., Aronin, N., & Zamore, P. D. (2003). Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell*, *115*(2), 199–208. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00759-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00759-1)
59. Rand, T. A., Petersen, S., Du, F., & Wang, X. (2005). Argonaute2 cleaves the anti-guide strand of siRNA during RISC activation. *Cell*, *123*(4), 621–629. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.020>
60. Bartel D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, *136*(2), 215–233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>
61. Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, *15*(8), 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>
62. O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
63. Myung Hyun Jo, Soochul Shin, Seung-Ryoung Jung, Eunji Kim, Ji-Joon Song, Sungchul Hohng. Human Argonaute 2 Has Diverse Reaction Pathways on Target RNAs, *Molecular Cell*, Volume 59, Issue 1, 2015, Pages 117-124, ISSN 1097-2765. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.04.027>
64. Truesdell, S., Mortensen, R., Seo, M. *et al.* MicroRNA-mediated mRNA Translation Activation in Quiescent Cells and Oocytes Involves Recruitment of a Nuclear microRNP. *Sci Rep* **2**, 842 (2012). <https://doi.org/10.1038/srep00842>
65. Nishi, K., Nishi, A., Nagasawa, T., & Ui-Tei, K. (2013). Human TNRC6A is an Argonaute-navigator protein for microRNA-mediated gene silencing in the nucleus. *RNA (New York, N.Y.)*, *19*(1), 17–35. <https://doi.org/10.1261/rna.034769.112>
66. Adlakha, Y.K., Saini, N. Brain microRNAs and insights into biological functions and therapeutic potential of brain enriched miRNA-128. *Mol Cancer* **13**, 33 (2014). <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-33>
67. Sempere, L. F., Freemantle, S., Pitha-Rowe, I., Moss, E., Dmitrovsky, E., & Ambros, V. (2004). Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome biology*, *5*(3), R13. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-3-r13>

68. John, Cogswell & Ward, James & Taylor, Ian & Waters, Michelle & Shi, Yunling & Cannon, Brian & Kelnar, Kevin & Kempainen, Jon & Brown, David & Chen, Caifu & Prinjha, Rabinder & Richardson, Jill & Saunders, Ann & Roses, Allen & Richards, Cynthia. (2008). Identification of miRNA Changes in Alzheimer's Disease Brain and CSF Yields Putative Biomarkers and Insights into Disease Pathways. *Journal of Alzheimer's Disease*. 14. 27-41. 10.3233/JAD-2008-14103.
69. Zeng Y. (2009). Regulation of the mammalian nervous system by microRNAs. *Molecular pharmacology*, 75(2), 259–264. <https://doi.org/10.1124/mol.108.052118>
70. Quinlan, S., Kenny, A., Medina, M., Engel, T., & Jimenez-Mateos, E. M. (2017). MicroRNAs in Neurodegenerative Diseases. *International review of cell and molecular biology*, 334, 309–343. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.04.002>
71. Kim, J., Inoue, K., Ishii, J., Vanti, W. B., Voronov, S. V., Murchison, E., Hannon, G., & Abeliovich, A. (2007). A MicroRNA feedback circuit in midbrain dopamine neurons. *Science (New York, N.Y.)*, 317(5842), 1220–1224. <https://doi.org/10.1126/science.1140481>
72. Cardo, L. F., Coto, E., Ribacoba, R., Menéndez, M., Moris, G., Suárez, E., & Alvarez, V. (2014). MiRNA profile in the substantia nigra of Parkinson's disease and healthy subjects. *Journal of molecular neuroscience : MN*, 54(4), 830–836. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0428-y>
73. Hyun Jin Cho, Guoxiang Liu, Seok Min Jin, Loukia Parisiadou, Chengsong Xie, Jia Yu, Lixin Sun, Bo Ma, Jinhui Ding, Renée Vancaenenbroeck, Evy Lobbstaël, Veerle Baekelandt, Jean-Marc Taymans, Ping He, Juan C. Troncoso, Yong Shen, Huaibin Cai, MicroRNA-205 regulates the expression of Parkinson's disease-related leucine-rich repeat kinase 2 protein, *Human Molecular Genetics*, Volume 22, Issue 3, 1 February 2013, Pages 608–620, <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt470>
74. Gehrke, S., Imai, Y., Sokol, N., & Lu, B. (2010). Pathogenic LRRK2 negatively regulates microRNA-mediated translational repression. *Nature*, 466(7306), 637–641. <https://doi.org/10.1038/nature09191>
75. Miñones-Moyano, E., Porta, S., Escaramís, G., Rabionet, R., Iraola, S., Kagerbauer, B., Espinosa-Parrilla, Y., Ferrer, I., Estivill, X., & Martí, E. (2011). MicroRNA profiling of Parkinson's disease brains identifies early downregulation of miR-34b/c

- which modulate mitochondrial function. *Human molecular genetics*, 20(15), 3067–3078. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr210>
76. Doxakis E. (2010). Post-transcriptional regulation of alpha-synuclein expression by mir-7 and mir-153. *The Journal of biological chemistry*, 285(17), 12726–12734. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.086827>
77. Junn, Eunsung & Lee, Kang-Woo & Jeong, Byeong & Chan, Teresa & Im, Joo-Young & Mouradian, M. Maral. (2009). Repression of -synuclein expression and toxicity by microRNA-7. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106. 13052-7. 10.1073/pnas.0906277106.
78. Kuo, M. C., Liu, S. C., Hsu, Y. F., & Wu, R. M. (2021). The role of noncoding RNAs in Parkinson's disease: biomarkers and associations with pathogenic pathways. *Journal of biomedical science*, 28(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s12929-021-00775-x>
79. Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötval, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*, 9(6), 654–659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
80. Haqqani, A. S., Delaney, C. E., Tremblay, T. L., Sodja, C., Sandhu, J. K., & Stanimirovic, D. B. (2013). Method for isolation and molecular characterization of extracellular microvesicles released from brain endothelial cells. *Fluids and barriers of the CNS*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-10-4>
81. Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical chemistry*, 55(4), 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
82. Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nature protocols*, 3(6), 1101–1108. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.73>
83. Chen, Y., Gao, C., Sun, Q., Pan, H., Huang, P., Ding, J., & Chen, S. (2017). MicroRNA-4639 Is a Regulator of DJ-1 Expression and a Potential Early Diagnostic Marker for Parkinson's Disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 9, 232. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00232>

84. Schwarzenbach, H., da Silva, A. M., Calin, G., & Pantel, K. (2015). Data Normalization Strategies for MicroRNA Quantification. *Clinical chemistry*, 61(11), 1333–1342. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.239459>
85. Heman-Ackah, S. M., Hallegger, M., Rao, M. S., & Wood, M. J. (2013). RISC in PD: the impact of microRNAs in Parkinson's disease cellular and molecular pathogenesis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 6, 40. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2013.00040>
86. Barbagallo, C., Mostile, G., Baglieri, G. *et al.* Specific Signatures of Serum miRNAs as Potential Biomarkers to Discriminate Clinically Similar Neurodegenerative and Vascular-Related Diseases. *Cell Mol Neurobiol* 40, 531–546 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00751-y>
87. Vallelunga, A., Ragusa, M., Di Mauro, S., Iannitti, T., Pilleri, M., Biundo, R., Weis, L., Di Pietro, C., De Iuliis, A., Nicoletti, A., Zappia, M., Purrello, M., & Antonini, A. (2014). Identification of circulating microRNAs for the differential diagnosis of Parkinson's disease and Multiple System Atrophy. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8, 156. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00156>
88. Barbagallo, C., Mostile, G., Baglieri, G. *et al.* Specific Signatures of Serum miRNAs as Potential Biomarkers to Discriminate Clinically Similar Neurodegenerative and Vascular-Related Diseases. *Cell Mol Neurobiol* 40, 531–546 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00751-y>
89. Uwatoko, H., Hama, Y., Iwata, I. T., Shirai, S., Matsushima, M., Yabe, I., Utsumi, J., & Sasaki, H. (2019). Identification of plasma microRNA expression changes in multiple system atrophy and Parkinson's disease. *Molecular brain*, 12(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s13041-019-0471-2>
90. Marques, T. M., Kuiperij, H. B., Bruinsma, I. B., van Rumund, A., Aerts, M. B., Esselink, R. A. J., Bloem, B. R., & Verbeek, M. M. (2017). MicroRNAs in Cerebrospinal Fluid as Potential Biomarkers for Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy. *Molecular neurobiology*, 54(10), 7736–7745. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0253-0>
91. Cardo, L. F., Coto, E., de Mena, L., Ribacoba, R., Moris, G., Menéndez, M., & Alvarez, V. (2013). Profile of microRNAs in the plasma of Parkinson's disease patients and healthy controls. *Journal of neurology*, 260(5), 1420–1422. <https://doi.org/10.1007/s00415-013-6900-8>

92. Yao, Y. F., Qu, M. W., Li, G. C., Zhang, F. B., & Rui, H. C. (2018). Circulating exosomal miRNAs as diagnostic biomarkers in Parkinson's disease. *European review for medical and pharmacological sciences*, 22(16), 5278–5283. https://doi.org/10.26355/eurev_201808_15727
93. Arshad AR, Sulaiman SA, Saperi AA, et al. MicroRNAs and Target Genes As Biomarkers for the Diagnosis of Early Onset of Parkinson Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017 ;10:352. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00352. PMID: 29163029; PMCID: PMC5671573.
94. Kabaria, S., Choi, D. C., Chaudhuri, A. D., Mouradian, M. M., & Junn, E. (2015). Inhibition of miR-34b and miR-34c enhances α -synuclein expression in Parkinson's disease. *FEBS letters*, 589(3), 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.12.014>
95. Burgos, K., Malenica, I., Metpally, R., Courtright, A., Rakela, B., Beach, T., Shill, H., Adler, C., Sabbagh, M., Villa, S., Tembe, W., Craig, D., & Van Keuren-Jensen, K. (2014). Profiles of extracellular miRNA in cerebrospinal fluid and serum from patients with Alzheimer's and Parkinson's diseases correlate with disease status and features of pathology. *PloS one*, 9(5), e94839. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094839>
96. Sun, N., Yang, C., He, X., Liu, Z., Liu, S., Li, X., Wang, Y., Jin, R., & Zhang, K. (2020). Impact of Expression and Genetic Variation of microRNA-34b/c on Cognitive Dysfunction in Patients with Major Depressive Disorder. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 16, 1543–1554. <https://doi.org/10.2147/NDT.S247787>
97. Cheng, H. H., Yi, H. S., Kim, Y., Kroh, E. M., Chien, J. W., Eaton, K. D., Goodman, M. T., Tait, J. F., Tewari, M., & Pritchard, C. C. (2013). Plasma processing conditions substantially influence circulating microRNA biomarker levels. *PloS one*, 8(6), e64795. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064795>

HAM VERİLER

- **rt-qPCR CT ölçümleri**

Örnek	Gen #	1	2	3	4	5	6	7
	Gen Sembol	mir-30e	mir-24	mir-331	mir-16	miR-30a	miR-34a	miR-34b
	Assay Catalog #							
c1	Kontrol Grup	27.5	26.19	34.11	28.41	29.24	31.82	36.84
c1	Kontrol Grup	27.54	26.73	32.98	28.48	29.73	32.23	34.68
c2	Kontrol Grup	31.52	31.83	35.68	33.5	34.7	34.88	40
c2	Kontrol Grup	31.79	30.81	36	33.02	33.05	39.07	34.69
c3	Kontrol Grup	28.5	28.19	34.13	29.5	31.13	32.77	40
c3	Kontrol Grup	28.24	28.41	34.7	30.51	30.26	34.8	40
c4	Kontrol Grup	31.45	29.71	35.29	31.23	32.84	32.82	40
c4	Kontrol Grup	30.37	30.47	34.44	32.42	34.06	35.41	35.49
c5	Kontrol Grup	30.78	31.32	34.49	32.89	33.44	34.34	36.93
c5	Kontrol Grup	31.66	31.36	34.54	33.37	32.51	36.13	37.25
c6	Kontrol Grup	31.59	30.41	34.14	31.96	33.1	34.27	40
c6	Kontrol Grup	31.76	30.34	34	32.46	33.62	34.04	40
c7	Kontrol Grup	32.92	30.17	34.3	31.97	33.41	33.87	40
c7	Kontrol Grup	30.8	30.42	34.97	32.24	33.36	37.14	37.99
c8	Kontrol Grup	29.72	30.09	34.62	31.83	32.44	37.42	34.14
c8	Kontrol Grup	30.39	30.13	33.89	33.76	33.19	37.14	40
c9	Kontrol Grup	31.32	33.07	35.77	33.05	34.97	35.7	30.61
c9	Kontrol Grup	33.92	32.19	36.46	31.4	33.97	35.73	31.86
c10	Kontrol Grup	31.21	31.76	34.39	33	32.54	36.81	30.1
c10	Kontrol Grup	31.87	31.01	32.69	32.1	32.52	35.48	30.09
c11	Kontrol Grup	29.22	29.4	34.76	30.38	31.52	33.28	40
c11	Kontrol Grup	28.89	29.95	34.21	30.38	31.56	34.81	38.1
c12	Kontrol Grup	33.17	33.58	33.38	34.31	34.17	36.1	36.33
c12	Kontrol Grup	32.41	34.92	35.4	34.24	35.14	38.11	36.33
c13	Kontrol Grup	31.35	34.2	34.52	34.26	33.72	38.97	34.58
c13	Kontrol Grup	31.74	33.95	34.67	34.32	36.69	34.37	38.59
c14	Kontrol Grup	31.31	30.49	34.75	31.84	32.82	34.28	40
c14	Kontrol Grup	31.04	30.7	34.51	31.54	34.16	35.83	36.3
c15	Kontrol Grup	32.27	31.96	36	31.19	32.14	33.79	35.14
c15	Kontrol Grup	32.2	31.15	34.8	32.4	34.24	32.88	36.28
c16	Kontrol Grup	30.73	31.28	36.66	32.06	32.9	33.75	37.96
c16	Kontrol Grup	30.91	30.75	36.15	30.56	33.14	35.65	40
c17	Kontrol Grup	30.31	29.32	33	31.16	31.36	36.13	36.05
c17	Kontrol Grup	30.25	29.98	33.54	30.96	33	37.79	36.05
c18	Kontrol Grup	29.79	30.39	32.97	31.02	32.33	33.82	40
c18	Kontrol Grup	30.44	29.99	34.26	31.31	31.87	35.34	40

c19	Kontrol Grup	29.59	31.22	33.9	32.49	32.65	34.16	38.25
c19	Kontrol Grup	30.3	30.99	33.8	32.09	31.8	36.07	40
c20	Kontrol Grup	31.55	30.29	34.21	32.49	34.12	34.33	40
c20	Kontrol Grup	33.76	31.68	34.03	32.06	35.11	34.45	40
1	PH	31.31	30.61	34.71	31.59	32.95	33.38	36.38
1	PH	30.6	29.63	33.55	30.62	34.18	36.37	40
2	PH	28.54	27.48	33.65	28.46	31.61	34.11	37.36
2	PH	28.55	27.31	32.74	29.71	31.65	33.86	37.03
3	PH	33.65	30.3	33.29	32.61	38.81	34.41	40
3	PH	31.35	30.51	33.99	34	32.62	33.84	39.63
4	PH	31.94	29.85	33.41	32.58	32.33	33.83	35.1
4	PH	30.67	30.15	34.04	32.44	33.43	33.71	39.48
5	PH	29.47	28.9	35.36	32.69	31.65	38.55	36.1
5	PH	29.97	28.72	35.45	31.12	32.01	36.36	36.36
6	PH	28.03	28.21	32.7	30.4	30.59	33.8	38.97
6	PH	27.75	28	32.9	30.69	31	34.39	36.67
7	PH	32.1	32.91	32.94	35.02	36.53	36.7	38.04
7	PH	33.03	32.79	33.39	36.27	33.68	36.91	38.04
8	PH	31.81	30.75	33.74	33.76	33.08	35.13	35.33
8	PH	31.83	31.63	33.65	33.17	32.56	34.16	36.87
9	PH	29.77	30.09	34.33	30.84	31.84	33.87	40
9	PH	30.42	30.24	34.42	31.02	31.08	35.53	38.24
10	PH	29.23	29.34	34.37	30.4	30.66	33.92	34.39
10	PH	30.89	29.52	33.95	30.78	31.18	33.33	36.45
11	PH	29.58	29.12	33.41	30.32	32.06	33.56	38.36
11	PH	31.01	29.27	34.27	30.23	33.73	33.23	35.85
12	PH	29.66	28.52	34.11	28.7	31.22	32.45	36.54
12	PH	29.64	28.73	34.24	28.68	32.93	33.82	36.05
13	PH	29.75	29.59	33.47	31.84	32.23	35.35	36.19
13	PH	30.52	29.5	34.17	32.12	30.84	32.8	34.4
14	PH	28.92	28.52	33.99	32.07	30.54	34.74	34.75
14	PH	29.35	28.57	33.51	31.93	31.17	37.88	34.29
15	PH	31.47	29.37	33.78	32.15	33.09	33.8	34.7
15	PH	31.12	29.8	35.17	32.11	32.35	33.8	36.65
16	PH	30.44	29.11	34.47	30.86	31.37	32.57	38.99
16	PH	29.5	29.23	33.94	31.86	31.41	33.76	39.89
17	PH	29.48	28.8	34.05	31.09	31.11	35.28	40
17	PH	28.82	28.67	34.72	30.88	31.8	35.36	38.99
18	PH	28.51	27.86	33.73	30.44	30.51	34.12	34.08
18	PH	28.66	28.37	34.1	30.52	31.1	33.93	39.88
19	PH	27.89	27.14	34.82	28.89	30.43	37.36	40
19	PH	28.59	26.94	33.6	28.43	32.03	36.1	39.75
20	PH	33.27	31.51	35.12	33.1	32.86	36.53	39.54
20	PH	34.22	30.92	33.78	34.03	32.91	34.17	37.9
21	PH	29.54	27.92	32.78	30.44	31.61	34.26	35.11
21	PH	28.93	28.12	32.69	30.5	31.1	34.48	37.28
22	PH	29.4	27.69	32.6	31.17	30.92	33.83	34.3

22	PH	28.78	28.15	33.11	30.34	31.91	35.92	40
23	PH	29.81	28.92	33.93	30.85	32.48	36.34	40
23	PH	29.8	28.48	34.08	30.1	32.18	36.25	35.31
24	PH	33.63	30.7	34.6	32.54	34.95	33.74	37.03
24	PH	31.76	30.83	34.67	33.19	33.64	37.41	40
25	PH	29.85	28.56	34.02	32.41	32.24	33.95	35.55
25	PH	30.9	28.62	33.49	32.17	32.71	33.34	34.29
26	PH	30.35	29.38	33.66	31.17	32.01	33.34	35.99
26	PH	30.2	29.15	33.78	31.05	31.07	34.86	37.98
27	PH	29.51	29.17	33.9	28.47	31.41	33.5	39.73
27	PH	29.94	29.29	34.87	28.85	33.47	34.41	39.03
28	PH	31.09	29.47	32.03	31.04	32.36	35.95	36.35
28	PH	30.38	29.9	33.64	31.6	33.69	34.22	34.92
29	PH	31.67	29.56	34.1	32.47	34.58	33.84	40
29	PH	30.56	29.91	32.95	33.5	32.84	32.17	34.2
30	PH	26.78	25.2	33.63	28.58	28.68	32.7	33.87
30	PH	26.53	25.35	33.39	28.71	28.88	33.98	37.85
31	PH	30.45	30	33.58	30.49	32.77	35.63	38.72
31	PH	30.62	29.03	33.72	31	32.12	34.6	40
32	PH	30.03	28.13	34.05	29.49	32.21	36.31	40
32	PH	30.15	28.2	33.03	29.41	32.83	34.16	39.06
33	PH	29.59	29	33.82	29.77	32.58	35.68	40
33	PH	29.96	29.5	33.37	30.43	31.9	38.17	36.84
34	PH	31.18	31.62	33.1	32.87	34.19	32.8	40
34	PH	32.83	31.21	32.64	32.97	33.23	33.46	40
35	PH	29.2	28.78	33.87	31.46	31.24	34.01	34.74
35	PH	29.46	28.68	34.4	32.44	31.79	34.56	40
36	PH	30.28	29.68	34.02	31.95	36.16	32.76	33.92
36	PH	30.91	30.19	34.46	31.42	33.13	33.84	33.92
37	PH	29.81	28.64	33.13	31.51	34.88	33.84	35.18
37	PH	30.42	28.54	33.22	30.33	32.09	33.95	33.3
38	PH	30.42	29.57	34.11	31.96	32.98	34.25	40
38	PH	31.33	30.96	33.81	32.18	35.47	35.71	35.72
39	PH	29.92	28.62	32.81	31.94	31.99	33.41	40
39	PH	30.15	28.68	33.38	31.92	31.71	33.62	36.62
40	PH	31.5	30.69	34.69	34.3	33.03	37.89	40
40	PH	31.98	30.51	34.59	34.11	33.24	36.4	38.13
41	PH	30.06	29.73	34.3	32.39	32.81	37.11	40
41	PH	31.33	29.62	33.82	33.43	33.94	36.21	34.01
42	PH	29.18	29.62	33.63	29.65	30.85	33.84	40
42	PH	29.35	29.2	33.14	29.96	30.57	35.03	40
43	PH	29.17	28.15	33.44	30.68	30.93	36.74	35.76
43	PH	29.12	28.39	33.47	30.87	31.28	36.67	34.48
44	PH	29.01	28.13	33.14	30.78	30.68	36.28	35.46
44	PH	28.87	28.73	32.95	31.17	30.96	40.5	33.84
45	PH	29.87	29.82	33.61	30.53	32.33	34.03	40
45	PH	30.29	29.66	34.51	30.78	33.16	37.26	38.04

46	PH	30.63	30.44	34.29	31.05	32.54	33.57	39.87
46	PH	30.05	29.62	34.06	31.61	33.01	33.93	35.88
47	PH	30.27	30.13	34.35	31.03	34.64	35.6	35.68
47	PH	30.64	29.76	34.82	31.42	31.65	38.4	34.32
48	PH	31.15	29.72	34.3	30.59	33.94	33.28	38.45
48	PH	31.19	29.87	33.89	30.9	31.72	34.32	40
49	PH	30.37	29.71	34.81	30.98	32.07	34.44	33.14
49	PH	29.18	29.57	33.88	30.97	33.31	34.98	40
50	PH	32.18	31.43	34.86	33.36	34.09	32.78	33.78
50	PH	31.94	32.52	34.31	33.84	32.84	35.38	39.44
52	PH	30.96	29.51	33.66	31.63	32.37	35.49	37.7
52	PH	31.42	29.99	34.09	32.32	32.37	34.02	40

Örnek		cel-mir-39-3p (external Kontrol)	hsa-mir-191 (internal Kontrol)	hsa-mir-1228 (internal Kontrol)	normalizasyon geo ortalama
		MS00019789	MS00003682	MS00042385	
c1	Kontrol Grup	19.45	24.12	31.01	24.41
c1	Kontrol Grup	19.95	24.26	31.66	24.84
c2	Kontrol Grup	23.04	28.65	31.14	27.39
c2	Kontrol Grup	23.02	28.95	31.57	27.61
c3	Kontrol Grup	20.98	24.76	31.26	25.32
c3	Kontrol Grup	21.02	25.26	31.63	25.61
c4	Kontrol Grup	21.69	27.19	31.5	26.48
c4	Kontrol Grup	21.71	26.63	30.56	26.05
c5	Kontrol Grup	22.32	29.33	31.56	27.44
c5	Kontrol Grup	22.29	29.39	30.98	27.28
c6	Kontrol Grup	21.58	28.02	31.8	26.79
c6	Kontrol Grup	21.99	28.1	30.81	26.70
c7	Kontrol Grup	21.3	27.53	31.04	26.30
c7	Kontrol Grup	21.67	27.95	31.63	26.76
c8	Kontrol Grup	20.4	26.92	30.81	25.67
c8	Kontrol Grup	20.42	27.29	31.54	26.00
c9	Kontrol Grup	23.77	31.19	31	28.43
c9	Kontrol Grup	23.45	31.04	32.39	28.67
c10	Kontrol Grup	22.78	29.69	30.74	27.50
c10	Kontrol Grup	23.22	29.18	31.74	27.81
c11	Kontrol Grup	22.52	26.25	30.07	26.10
c11	Kontrol Grup	22.77	26.55	30.7	26.48
c12	Kontrol Grup	25.29	32.38	30.55	29.25
c12	Kontrol Grup	25.2	30.54	31.39	28.91

c13	Kontrol Grup	23.09	29.98	30.27	27.57
c13	Kontrol Grup	23.37	30.11	30.82	27.89
c14	Kontrol Grup	23.14	27.77	30.39	26.93
c14	Kontrol Grup	22.75	27.5	31.59	27.04
c15	Kontrol Grup	23.44	28.17	30.24	27.13
c15	Kontrol Grup	23.68	28.13	31.68	27.63
c16	Kontrol Grup	23.35	28.54	30.57	27.31
c16	Kontrol Grup	23.4	29.17	29.81	27.30
c17	Kontrol Grup	20.4	26.66	30.43	25.48
c17	Kontrol Grup	20.49	27.02	30.44	25.64
c18	Kontrol Grup	22.53	27.81	30.32	26.68
c18	Kontrol Grup	22.06	27.62	30.63	26.53
c19	Kontrol Grup	22.66	27.62	31.76	27.09
c19	Kontrol Grup	23.05	28.28	31.9	27.50
c20	Kontrol Grup	23.04	29.39	30.57	27.46
c20	Kontrol Grup	23.07	28.77	30.62	27.29
1	PH	22.48	29.02	30.89	27.21
1	PH	22.8	28.73	29.64	26.88
2	PH	20.78	25.58	31.04	25.46
2	PH	20.96	25.57	31.44	25.64
3	PH	22.48	28.35	31.08	27.06
3	PH	22.41	28.76	31.31	27.23
4	PH	20.84	28.09	31.21	26.34
4	PH	20.87	27.47	31.09	26.12
5	PH	21.13	26.34	31.48	25.97
5	PH	20.95	26.34	31.49	25.90
6	PH	20.29	25.7	31.23	25.35
6	PH	20.5	25.63	31.45	25.47
7	PH	24.26	29.76	31.15	28.23
7	PH	24.21	29.48	30.93	28.05
8	PH	25.42	27.8	30.65	27.88
8	PH	25.91	28.87	31.24	28.59
9	PH	21.95	27.56	32.02	26.86
9	PH	21.59	28.52	30.3	26.52
10	PH	22.99	26.94	31.52	26.93
10	PH	23.16	27.1	30.65	26.79
11	PH	21.68	27.19	31.19	26.39
11	PH	21.38	27.64	31.26	26.43
12	PH	21.48	25.42	31.71	25.87
12	PH	21.56	25.31	31.79	25.89
13	PH	22.38	27.3	30.16	26.41
13	PH	22.37	27.8	30.58	26.69
14	PH	23.69	26.92	30.85	27.00
14	PH	24.19	27.27	30.9	27.32
15	PH	21.76	28.29	29.98	26.43
15	PH	21.75	29.19	31.15	27.04
16	PH	20.59	27.13	30.58	25.75

16	PH	20.69	26.89	31.34	25.93
17	PH	20.34	26.58	31.13	25.63
17	PH	20.33	26.71	31.82	25.85
18	PH	20.66	26.5	30.64	25.60
18	PH	20.88	26.37	30.79	25.69
19	PH	19.74	24.64	29.8	24.38
19	PH	19.61	25.06	30.37	24.62
20	PH	24.05	28.71	30.22	27.53
20	PH	24.59	29.08	30.25	27.86
21	PH	21.65	25.56	31.67	25.98
21	PH	21.49	25.75	31.08	25.81
22	PH	20.72	25.24	30.74	25.24
22	PH	20.65	25.33	30.32	25.12
23	PH	21.26	26.07	30.35	25.62
23	PH	21.51	25.94	30.72	25.78
24	PH	21.49	28.29	30.09	26.35
24	PH	21.5	28.38	30.66	26.55
25	PH	19.88	27.31	30.46	25.48
25	PH	20.28	27.07	30.23	25.51
26	PH	22.04	26.96	29.27	25.91
26	PH	21.84	27.2	29.96	26.11
27	PH	21.12	26.22	30.69	25.71
27	PH	21.51	26.39	30.95	26.00
28	PH	21.51	27.58	30.31	26.20
28	PH	21.12	27.73	30.74	26.21
29	PH	21.5	26.97	30.19	25.97
29	PH	21.61	26.68	30.81	26.09
30	PH	20.59	23.31	30.94	24.58
30	PH	20.44	23.35	30.7	24.47
31	PH	23.32	27.62	30.9	27.10
31	PH	23.46	27.94	29.26	26.77
32	PH	21.89	25.81	30.59	25.85
32	PH	21.52	26.31	30.14	25.75
33	PH	22.01	26.66	29.8	25.96
33	PH	22.19	27.27	29.65	26.18
34	PH	21.09	28.49	30.16	26.27
34	PH	21.58	29.41	30.51	26.85
35	PH	21.2	26.4	29.7	25.52
35	PH	20.9	26.85	30.73	25.84
36	PH	22.28	28.62	29.55	26.61
36	PH	22.14	28.62	30.16	26.74
37	PH	21.17	27.28	29.69	25.79
37	PH	21.34	27.64	30.48	26.20
38	PH	21.46	28.73	29.95	26.43
38	PH	21.25	29.08	29.91	26.44
39	PH	20.28	26.96	30.01	25.41
39	PH	20.42	27.59	29.64	25.56

40	PH	21.46	30.19	29.36	26.69
40	PH	21.47	30.25	30.19	26.97
41	PH	21.78	28.4	30.73	26.69
41	PH	21.87	27.73	31.77	26.81
42	PH	23.08	26.33	30.66	26.51
42	PH	22.52	26.51	31.1	26.48
43	PH	21.06	25.74	30.04	25.35
43	PH	20.91	25.61	31.75	25.71
44	PH	22.58	26.28	30.58	26.28
44	PH	22.64	26.06	30.49	26.20
45	PH	22.83	27.52	30.73	26.83
45	PH	23.04	27.98	30.46	26.98
46	PH	21.55	26.86	30.79	26.12
46	PH	21.52	27.59	29.9	26.09
47	PH	21.1	27.73	30.11	26.02
47	PH	21.57	27.47	29.78	26.03
48	PH	21.58	28.27	29.92	26.33
48	PH	21.74	28.74	31	26.86
49	PH	22.01	27.05	30.88	26.39
49	PH	22.5	27.67	29.95	26.52
50	PH	22.88	30.85	30.34	27.77
50	PH	22.83	30.36	30.38	27.61
52	PH	21.25	28.78	30.25	26.45
52	PH	21.25	29.1	31.12	26.80

• **2^{-ΔCT} Değerleri**

Örnek		mir-30e 2 ^{ΔCT}	mir-24 2 ^{ΔCT}	mir-331 2 ^{ΔCT}	mir-16 2 ^{ΔCT}	mir30a 2 ^{ΔCT}	miR-34a 2 ^{ΔCT}
k1	kontrol						
k1	Grup	0.117586	0.291544	0.001204	0.062577	0.035202	0.005887155
k1	kontrol						
k1	Grup	0.153669	0.269415	0.00354	0.080097	0.033677	0.005953277
k2	kontrol						
k2	Grup	0.057239	0.046171	0.003202	0.01451	0.006316	0.005574837
k2	kontrol						
k2	Grup	0.055031	0.108546	0.002974	0.023461	0.022978	0.000354085
k3	kontrol						
k3	Grup	0.110567	0.137071	0.002233	0.055284	0.017861	0.005730961
k3	kontrol						
k3	Grup	0.161404	0.143463	0.001833	0.033464	0.039796	0.00171064
k4	kontrol						
k4	Grup	0.032008	0.106918	0.002235	0.037281	0.012213	0.012383654
k4	kontrol						
k4	Grup	0.049901	0.04656	0.002971	0.01205	0.003866	0.001516777
k5	kontrol						
k5	Grup	0.098742	0.067912	0.007545	0.022873	0.015623	0.008372121
k5	kontrol						
k5	Grup	0.047928	0.059007	0.006511	0.01465	0.02659	0.002162666

	Grup						
	kontrol						
k6	Grup	0.035911	0.081367	0.006132	0.027788	0.012609	0.005603667
	kontrol						
k6	Grup	0.030015	0.080316	0.006354	0.018476	0.008268	0.006180047
	kontrol						
k7	Grup	0.010201	0.068624	0.003919	0.019707	0.007263	0.005280356
	kontrol						
k7	Grup	0.060689	0.078977	0.003371	0.022368	0.010291	0.000749163
	kontrol						
k8	Grup	0.060469	0.04679	0.002025	0.014008	0.009178	0.000290807
	kontrol						
k8	Grup	0.047696	0.057115	0.004216	0.004613	0.006849	0.00044313
	kontrol						
k9	Grup	0.135058	0.040153	0.006179	0.040714	0.010759	0.006486479
	kontrol						
k9	Grup	0.026355	0.087428	0.004532	0.151169	0.025458	0.007516281
	kontrol						
k10	Grup	0.076269	0.052094	0.008415	0.022055	0.030338	0.001572472
	kontrol						
k10	Grup	0.059911	0.108741	0.033936	0.051082	0.03818	0.004906683
	kontrol						
k11	Grup	0.114879	0.101404	0.002469	0.05141	0.023328	0.006887467
	kontrol						
k11	Grup	0.187658	0.090007	0.004698	0.066809	0.029486	0.003099345
	kontrol						
k12	Grup	0.065919	0.049612	0.05699	0.029911	0.03296	0.008649551
	kontrol						
k12	Grup	0.088275	0.015497	0.011111	0.024829	0.013305	0.001698115
	kontrol						
k13	Grup	0.072751	0.01009	0.008083	0.009679	0.014073	0.000369818
	kontrol						
k13	Grup	0.069201	0.014957	0.00908	0.011573	0.002239	0.011178959
	kontrol						
k14	Grup	0.048	0.08474	0.004423	0.033243	0.016853	0.006126128
	kontrol						
k14	Grup	0.06236	0.078932	0.005628	0.044095	0.007173	0.002254082
	kontrol						
k15	Grup	0.028351	0.035146	0.002137	0.059934	0.031024	0.009885421
	kontrol						
k15	Grup	0.042221	0.08742	0.006964	0.036756	0.010267	0.026353042
	kontrol						
k16	Grup	0.093525	0.063879	0.001534	0.037201	0.020782	0.011529648
	kontrol						
k16	Grup	0.081931	0.09154	0.002168	0.104426	0.017464	0.003065954
	kontrol						
k17	Grup	0.035251	0.070014	0.005463	0.019557	0.017025	0.000623983
	kontrol						
k17	Grup	0.040904	0.049322	0.004182	0.025005	0.00608	0.000219786
	kontrol						
k18	Grup	0.116044	0.07656	0.012804	0.049472	0.019953	0.007103482
	kontrol						
k18	Grup	0.066302	0.090572	0.004695	0.036277	0.024607	0.002220659
	kontrol						
k19	Grup	0.176616	0.057063	0.008904	0.023662	0.021178	0.007435736
	kontrol						
k19	Grup	0.143467	0.088929	0.012681	0.041487	0.050723	0.00262912
	kontrol						
k20	Grup	0.058614	0.140378	0.009274	0.030551	0.009871	0.008533685

k20	kontrol Grup	0.011278	0.047683	0.009353	0.036642	0.004424	0.00699056
1	PH	0.058421	0.094905	0.005534	0.048115	0.018745	0.013913523
1	PH	0.075736	0.148355	0.009801	0.074694	0.006333	0.00138791
2	PH	0.118085	0.2462	0.003419	0.124818	0.014062	0.002485758
2	PH	0.132775	0.313613	0.007274	0.059419	0.015485	0.003346938
3	PH	0.010358	0.10561	0.013293	0.021297	0.00029	0.006116078
3	PH	0.057321	0.102608	0.009196	0.009132	0.023769	0.010203528
4	PH	0.020587	0.08765	0.007432	0.013211	0.015711	0.005554588
4	PH	0.042738	0.061284	0.004134	0.012531	0.006309	0.005196119
5	PH	0.088552	0.131458	0.001493	0.009503	0.019541	0.000163624
5	PH	0.0596	0.141753	0.001335	0.026857	0.014493	0.000710664
6	PH	0.155733	0.137466	0.006117	0.030126	0.026408	0.002853889
6	PH	0.205999	0.173224	0.005802	0.026843	0.021653	0.002065504
7	PH	0.068239	0.038922	0.038121	0.009016	0.003166	0.002813792
7	PH	0.031735	0.037479	0.024727	0.003359	0.020224	0.002155488
8	PH	0.065386	0.136326	0.017159	0.016923	0.027113	0.006547376
8	PH	0.105815	0.12155	0.029969	0.041799	0.063797	0.021045004
9	PH	0.132699	0.106301	0.005626	0.063207	0.031604	0.007738279
9	PH	0.067103	0.07602	0.004194	0.044272	0.042468	0.001943037
10	PH	0.202522	0.187654	0.005744	0.090005	0.075162	0.007845873
10	PH	0.058498	0.1512	0.007014	0.063133	0.047846	0.010780201
11	PH	0.109831	0.151077	0.007723	0.06576	0.019687	0.006960257
11	PH	0.041953	0.140139	0.004379	0.07204	0.006367	0.009004953
12	PH	0.07231	0.159357	0.003308	0.140665	0.024524	0.010454973
12	PH	0.074157	0.139344	0.003058	0.144258	0.007582	0.004091164
13	PH	0.098962	0.110569	0.00751	0.023244	0.017738	0.002040329
13	PH	0.070419	0.142803	0.00561	0.023229	0.05641	0.014499034
14	PH	0.263512	0.347706	0.007845	0.029686	0.08573	0.004664501
14	PH	0.244277	0.419456	0.013665	0.040853	0.069184	0.000660841
15	PH	0.030324	0.130001	0.006115	0.018927	0.009865	0.006030911
15	PH	0.05924	0.147903	0.003576	0.029826	0.025255	0.009243956
16	PH	0.038854	0.097679	0.002378	0.02904	0.020393	0.00887639
16	PH	0.084252	0.101591	0.003882	0.016411	0.022419	0.004397351
17	PH	0.069196	0.110862	0.002913	0.022669	0.022356	0.001241963
17	PH	0.127855	0.141864	0.002141	0.030662	0.016205	0.001373979
18	PH	0.132947	0.208616	0.003567	0.034889	0.033237	0.002722071
18	PH	0.127553	0.155952	0.002938	0.035138	0.023506	0.003305701
19	PH	0.087895	0.147821	0.000721	0.043948	0.015113	0.00012394
19	PH	0.063846	0.200371	0.001981	0.071334	0.005883	0.000350267
20	PH	0.018717	0.063395	0.005192	0.021058	0.024869	0.001953815
20	PH	0.012199	0.120148	0.016549	0.013916	0.030246	0.012629019
21	PH	0.084495	0.259715	0.008943	0.04528	0.020123	0.003206028
21	PH	0.11523	0.202023	0.008505	0.03881	0.025605	0.002459513
22	PH	0.055875	0.182802	0.00608	0.016383	0.019483	0.002592126
22	PH	0.079349	0.122797	0.003945	0.026911	0.009064	0.000562581
23	PH	0.054882	0.101706	0.003156	0.02669	0.008623	0.000593885
23	PH	0.061794	0.15428	0.003181	0.050193	0.011871	0.000706814

24	PH	0.00643	0.049002	0.003282	0.013687	0.002575	0.005957747
24	PH	0.026952	0.051351	0.003586	0.010003	0.007322	0.000536745
25	PH	0.048276	0.118049	0.002682	0.008186	0.00921	0.002815198
25	PH	0.023803	0.115608	0.003953	0.00987	0.006789	0.004386595
26	PH	0.04604	0.090186	0.004642	0.026079	0.014569	0.005795082
26	PH	0.058673	0.121485	0.004906	0.032551	0.032103	0.002320823
27	PH	0.071811	0.090895	0.003425	0.147659	0.019241	0.00451938
27	PH	0.064992	0.101984	0.002132	0.138352	0.005626	0.002932641
28	PH	0.033687	0.103545	0.017559	0.034875	0.013969	0.001159988
28	PH	0.055511	0.077424	0.005795	0.02383	0.005597	0.003876379
29	PH	0.019175	0.082776	0.003558	0.011013	0.002551	0.004260828
29	PH	0.045192	0.070913	0.008622	0.005889	0.009305	0.014804749
30	PH	0.217562	0.650444	0.001886	0.062478	0.058294	0.003593228
30	PH	0.239829	0.543397	0.002065	0.052925	0.047042	0.001371604
31	PH	0.098077	0.133977	0.011203	0.095395	0.019642	0.002705402
31	PH	0.069233	0.208426	0.008075	0.053201	0.024478	0.004387482
32	PH	0.055345	0.206555	0.003411	0.08047	0.012213	0.000712213
32	PH	0.04722	0.182447	0.006414	0.078866	0.007368	0.002930874
33	PH	0.08053	0.121217	0.004291	0.071084	0.010136	0.001182179
33	PH	0.072753	0.100075	0.006844	0.052525	0.018961	0.000245696
34	PH	0.033178	0.024457	0.008767	0.010283	0.004119	0.010794004
34	PH	0.015878	0.048806	0.018114	0.01441	0.012034	0.010260259
35	PH	0.078078	0.104463	0.003067	0.016301	0.018986	0.002783397
35	PH	0.081083	0.139231	0.002641	0.010277	0.016126	0.002364171
36	PH	0.078572	0.119093	0.005881	0.024691	0.001334	0.014083569
36	PH	0.05539	0.091238	0.004729	0.038896	0.011889	0.00726803
37	PH	0.061489	0.138357	0.006157	0.018925	0.001831	0.003763954
37	PH	0.053543	0.19708	0.007688	0.05699	0.016826	0.004635221
38	PH	0.062997	0.113553	0.004881	0.021664	0.010683	0.004429728
38	PH	0.033719	0.043577	0.006044	0.018707	0.001913	0.001619432
39	PH	0.043913	0.108125	0.005924	0.010827	0.010458	0.003908354
39	PH	0.041523	0.115028	0.004426	0.012175	0.014083	0.003747283
40	PH	0.035752	0.062681	0.003918	0.005134	0.01238	0.000426302
40	PH	0.030935	0.085698	0.005067	0.007067	0.012917	0.001445114
41	PH	0.096576	0.121397	0.005111	0.019207	0.014356	0.000728799
41	PH	0.043539	0.142444	0.00775	0.010156	0.007132	0.001478618
42	PH	0.157192	0.115872	0.007192	0.113487	0.049398	0.006217727
42	PH	0.136757	0.151741	0.009887	0.089603	0.058707	0.002667467
43	PH	0.070646	0.143264	0.003662	0.024805	0.020858	0.000371783
43	PH	0.094337	0.156471	0.004626	0.028047	0.021109	0.000503392
44	PH	0.150538	0.277046	0.008598	0.044139	0.047307	0.000975344
44	PH	0.157355	0.173391	0.009304	0.031953	0.03696	4.96481E-05
45	PH	0.12133	0.125609	0.009081	0.076787	0.022051	0.006787104
45	PH	0.100735	0.155894	0.005405	0.071726	0.013779	0.000803529
46	PH	0.043915	0.050097	0.003474	0.032823	0.011686	0.005722539
46	PH	0.064117	0.086381	0.00398	0.021745	0.00824	0.004354898
47	PH	0.052571	0.057929	0.003108	0.031043	0.002542	0.001306953

47	PH	0.04107	0.075584	0.002266	0.023918	0.020393	0.000189465
48	PH	0.035396	0.095373	0.003988	0.052183	0.005118	0.008086451
48	PH	0.049572	0.123765	0.007629	0.060609	0.034331	0.005662561
49	PH	0.063503	0.10034	0.002926	0.041607	0.019545	0.003780954
49	PH	0.157925	0.120517	0.006076	0.045668	0.00902	0.002834504
50	PH	0.047038	0.079109	0.00734	0.02076	0.012517	0.03103374
50	PH	0.049865	0.033358	0.009646	0.013361	0.026722	0.004594612
52	PH	0.043826	0.119736	0.006745	0.027545	0.016492	0.001896994
52	PH	0.040602	0.1094	0.00638	0.021758	0.021017	0.006696757

sıra	No	dogum_yili	yas	cinsiyet	egt_sure	el_domn	Sigara	Alkol
1	2	1962	56	0	5	1	0	0
2	4	1961	57	0	8	1	0	0
3	6	1945	73	0	12	1	0	0
4	7	1973	45	0	5	1	0	0
5	8	1961	57	0	5	1	0	0
6	9	1962	56	1	5	1	0	0
7	10	1947	71	0	5	1	0	0
8	12	1950	68	1	5	1	0	0
9	13	1950	68	1	5	1	0	0
10	15	1947	71	1	5	1	0	0
11	16	1954	64	1	5	1	0	0
12	17	1958	60	1	5	1	0	0
13	18	1948	70	1	5	1	0	0
14	19	1948	70	0	7	1	0	0
15	23	1942	76	1	5	1	0	0
16	26	1962	56	0	12	1	0	0
17	27	1950	68	1	5	1	0	0
18	28	1961	57	0	8	1	0	0
19	29	1960	58	1	5	1	0	0
20	30	1950	68	0	5	1	0	0
21	31	1959	59	0	8	1	0	0
22	32	1962	66	1	5	1	0	0
23	33	1952	66	0	5	1	0	0
24	35	1939	79	1	5	1	0	0
25	36	1964	54	0	5	1	0	0
26	37	1941	77	0	5	1	0	0
27	38	1969	49	1	5	1	0	0
28	40	1943	75	0	5	1	0	0
29	42	1959	59	0	12	1	0	0
30	43	1948	69	0	12	1	0	0
31	44	1952	66	0	12	1	0	0
32	46	1957	61	0	8	1	0	0
33	49	1943	75	0	5	1	0	0
34	51	1940	78	0	5	1	0	0
35	53	1953	65	0	5	1	0	0

36	56	1960	58	0	11	1	0	0
37	66	1966	52	1	5	1	0	0
38	67	1947	71	1	11	1	0	0
39	70	1945	73	0	5	1	0	0
40	71	1942	76	1	5	1	0	0
41	72	1942	76	0	15	1	0	0
42	73	1950	68	1	5	1	0	0
43	74	1956	62	1	5	1	0	0
44	75	1959	59	0	5	1	0	0
45	76	1963	55	0	15	1	0	0
46	79	1948	70	0	8	1	0	0
47	80	1947	71	0	5	1	0	0
48	81	1950	68	1	5	1	0	0
49	82	1974	43	0	11	1	0	0
50	84	1967	51	1	7	1	0	0
51	85	1969	49	1	5	1	0	0
52	87	1957	61	0	11	1	0	0

sıra	No	başlangıç bulgu	ilk tremor	tremor taraf	ilk bradikinezi	b.kinezi taraf	hastalık yili	H&Y skoru	SE skoru
1	2	2	0		1	1	7	2	80
2	4	1	1	0	0		7	1	90
3	6	1	1	1	0		5	2	90
4	7	2	0		1	1	3	1	100
5	8	1	1	1	0		11	2	80
6	9	1	1	1	0		6	1	100
7	10	1	1	1	0		8	3	80
8	12	1	1	1	0		3	1	90
9	13	1	1	1	0		5	1	90
10	15	1	1	1	0		4	1	90
11	16	1	1	1	0		9	3	80
12	17	2	0		1	0	8	2	80
13	18	1	1	1	0		15	3	80
14	19	2	0		1	0	11	3	80
15	23	1	1	0	0		5	1	90
16	26	2	0		1	1	6	2	90
17	27	1	1	0	0		11	2	80
18	28	1	1	0	0		9	2	90
19	29	1	1	1	0		4	2	90
20	30	1	1	0	0		6	2	90
21	31	1	1	1	0		4	2	90
22	32	2	0		1	1	3	2	80
23	33	2	0		1	1	13	2	80
24	35	1	1	0	0		3	1	90
25	36	1	1	0	0		12	3	80

26	37	1	1	1	0		8	2	80
27	38	1	1	0	0		8	3	70
28	40	1	1	0	0		12	3	70
29	42	2	0		1	1	7	2	90
30	43	2	0		1	1	3	2	90
31	44	2	0		1	1	13	2	90
32	46	1	1	1	0		12	3	80
33	49	1	1	0	0		6	2	90
34	51	1	1	1	0		5	2	80
35	53	1	1	0	0		5	2	90
36	56	1	1	1	0		15	3	70
37	66	1	1	1	0		7	2	80
38	67	1	1	0	0		3	2	90
39	70	1	1	0	0		15	3	70
40	71	1	1	1	0		10	2	80
41	72	1	1	1	0		10	3	70
42	73	1	1	1	0		10	2	80
43	74	1	1	0	0		11	2	90
44	75	1	1	0	0		7	2	80
45	76	2	0		1	1	11	3	70
46	79	2	0		1	1	3	1	100
47	80	1	1	1	0		5	1	90
48	81	1	1	1	0		6	2	80
49	82	2	0		1	0	13	3	70
50	84	1	1	0	0		3	1	90
51	85	2	0		1	1	12	2	80
52	87	2	0		1	0	3	1	90

sıra	No	aile hikayesi	kronik hasta	hastal ik	levodopa dozu	DA kullanımı	DA tip	Mo tili um	Dop reg.	dop reg sendromu
1	2	0	1	ht	660	1	2	0	0	
2	4	1	0		550	1	1	0	0	
3	6	0	0		1050	1	1	0	0	
4	7	0	0		550	1	1	0	0	
5	8	1	0		1040	1	1	0	1	para
6	9	1	0		550	1	1	0	0	
7	10	0	1	HT	1350	1	1	1	0	
8	12	0	1	ht	600	1	1	0	0	
9	13	1	0		800	1	1	0	0	
10	15	0	1	ht	450	1	1	0	0	
11	16	1	0		820	1	2	0	0	
12	17	0	0		800	1	1	0	0	
13	18	1	0		920	1	1	1	0	
14	19	0	0		2000	1	1	0	0	
15	23	0	1	ht	950	1	1	0	0	

16	26	0	1	ht	816	1	1	0	1	takıntı, para
17	27	0	1	HT	1080	1	1	0	0	harcama
18	28	0	0		1780	1	1	0	0	
19	29	0	1	HT	700	1	1	0	0	
20	30	1	1		750	1	1	0	0	
21	31	0	0		400	1	1	0	1	internet
22	32	0	0		720	1	2	0	0	
23	33	0	0		1250	1	1	0	0	
24	35	0	0		733	1	1	0	0	
25	36	0	0		450	1	1	0	1	hiperseksüal
26	37	0	1	HT	980	1	1	0	0	
27	38	0	1	HT	2350	1	1	0	0	
28	40	0	1	HT	2230	1	1	1	0	
29	42	0	0		550	1	1	0	0	
30	43	0	0		620	1	2	0	0	
31	44	0	0		1200	1	1	0	0	
32	46	1	1	HT	2350	1	1	1	1	para
33	49	0	0		800	1	1	1	0	
34	51	0	0		430	1	1	0	0	
35	53	0	0		1090	1	2	0	0	
36	56	0	0		1510	1	1	0	0	
37	66	0	0		1230	1	1	0	0	
38	67	0	0		250	1	1	0	0	
39	70	0	0		1380	1	1	0	0	
40	71	0	1	HT	1200	0		0	0	
41	72	0	1	HT	780	1	1	0	0	
42	73	0	0		1165	1	1	1	1	kıskançlık
43	74	0	0		1050	1	1	0	0	
44	75	1	0		950	1	1	0	0	
45	76	0	1	HT	980	1	2	0	0	
46	79	0	0		300	1	1	0	0	
47	80	0	0		400	1	1	0	0	
48	81	0	0		400	1	1	0	0	
49	82	1	0		1060	1	2	1	1	hepsi
50	84	0	0		550	1	1	0	0	
51	85	1	0		800	1	2	0	1	cinsel
52	87	0	0		300	1	1	0	0	

sıra	No	UPDRS							UPDRS toplam
		I	II	III	IVA	IVB	IVC	IV	
1	2	2	8	19	1	2	0	3	32
2	4	0	2	6	0	0	0	0	8
3	6	1	1	5	0	0	0	0	7
4	7	0	1	6	0	0	0	0	7
5	8	1	11	16	3	5	0	8	36
6	9	0	0	3	0	0	0	0	3
7	10	2	5	10	1	0	0	1	18
8	12	0	3	9	0	0	0	0	12
9	13	1	9	17	0	0	0	0	27
10	15	2	2	5	0	0	0	0	9
11	16	4	9	7	3	1	1	5	25
12	17	0	10	10	0	0	0	0	20
13	18	1	10	16	4	5	1	10	37
14	19	3	15	20	0	5	0	5	43
15	23	0	6	13	0	0	0	0	19
16	26	0	5	12	0	0	1	1	18
17	27	0	4	12	0	2	0	2	18
18	28	1	5	10	0	2	0	2	18
19	29	3	9	9	0	0	0	0	21
20	30	3	4	7	0	0	0	0	14
21	31	0	2	7	0	0	0	0	9
22	32	1	15	8	0	0	0	0	24
23	33	2	12	20	0	1	1	2	36
24	35	3	4	11	0	0	2	2	20
25	36	2	11	19	0	2	1	3	35
26	37	0	9	19	0	2	0	2	30
27	38	1	12	14	6	6	1	13	40
28	40	2	12	10	5	6	0	11	35
29	42	0	4	9	0	0	0	0	13
30	43	1	9	14	0	0	0	0	24
31	44	0	7	3	1	0	0	1	11
32	46	3	9	11	3	3	0	6	29
33	49	2	2	5	0	0	0	0	9
34	51	1	4	12	0	0	0	0	17
35	53	2	8	15	1	0	0	1	26
36	56	3	16	19	2	2	0	4	42
37	66	1	5	0	3	4	0	7	13
38	67	0	3	10	0	0	0	0	13
39	70	0	16	14	4	6	0	10	40
40	71	2	13	19	4	5	0	9	43
41	72	0	21	22	0	0	0	0	43
42	73	2	12	13	0	2	0	2	29
43	74	2	5	3	0	0	0	0	10
44	75	1	6	1	0	0	0	0	8

45	76	1	9	15	0	0	0	1	26
46	79	0	6	10	0	0	0	0	16
47	80	1	12	21	0	0	0	0	34
48	81	0	9	17	0	0	0	0	26
49	82	1	11	24	1	4	0	5	41
50	84	0	2	5	0	0	0	0	7
51	85	1	3	6	5	1	0	6	16
52	87	0	8	10	0	0	0	0	18



FORMLAR**1. Hasta takip formu:****PARKINSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ**

Hastanın Adı Soyadı:

Tarih:

Adresi:

Telefon:

Gönderen doktor:

Yaşı ve Cinsiyeti:

Boy:

Ağırlık:

BMI:

Sigara:

Alkol:

Meslek:

Tanı:

Kullandığı ilaçlar :

Laboratuvar bulguları:

Bilinen rahatsızlığı var mı ? Varsa belirtiniz.

UPDRS Skoru:

Hoehn ve Yahr Klinik Evrelendirmesi:

Schwab-england günlük yaşam etkinlik ölçeği skoru:

Fizik Muayene Bulguları :

2. Bilgilendirilmiş gönüllü onam formu:

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ

Hastalık Adı: Parkinson Hastalığı

Araştırmanın süresi: 18 ay

Versiyon no:1

Tarih:02.11.2018

Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı: 120

“PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ” adını verdiğimiz çalışmaya katılma üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla ve nasıl yapılacağını anlamanız ve katılıp katılmama doğrultusundaki kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Araştırma hakkında sözlü olarak size aktaracağım bilgiler yazılı olarak da bir sonraki bölümde sunulacaktır. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz. Bu belgedeki son bölüm onay işlemleri ile ilgilidir. Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz lütfen bu bölümü imzalayınız. Okuma ve yazma konusunda engelleriniz olduğu takdirde bir tağın gözetiminde bu belgeyi onaylamanız istenecek ve gerektiğinde parmak iziniz alınacaktır.

Araştırmanın Konusu:

Parkinson hastalığı, dünyada 4.000.000’ dan fazla kişiyi etkileyen, sık rastlanan nörolojik bir hastalıktır. 65 yaş üzerindeki her 100 kişiden biri Parkinson hastasıdır. Bu nörodejeneratif hastalık, beyinde dopamin adlı maddenin sentezlendiği sinir hücrelerinin kaybı sonucu ortaya çıkar. Parkinson hastalığı yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Hayatı etkilediği halde yaşamı tehdit etmez.

Günümüzde Parkinson ve benzeri beyin hastalıkları ile ilgili çalışmalar içinde, özellikle de hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen mikroRNA moleküllerinin test edilmeleri önemlidir. Parkinson hastalığı ile ilişkili olabilecek mikroRNA’ların saptanması ve özelliklerinin

anlaşılması, bu hastalığa yol açan mekanizmaların tanınması ve tedavi geliştirilebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Toplumumuzda Parkinson hastalarının mikroRNA altyapısının belirlenmesi, hastalığın moleküler temelini aydınlatılmasına katkıda bulunacaktır.

PARKİNSON HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ OLABİLECEK SERUM mikroRNA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI isimli çalışma ile miR19a, miR19b, miR29a, miR29c, miR181, miR195 ve miR221'in ekspresyon düzeyleri araştırılacakken bu çalışmada aynı serum örneklerinden miR-16, miR-24, miR-30, miR-34 ve miR-331 ekspresyon düzeyleri araştırılacaktır.

Araştırmanın Amacı:

Yapacağımız genetik çalışmasında Parkinson Hastalığında hastalığın seyri ve şiddeti ile ilgili olduğunu düşündüğümüz mikro RNA değişimlerinin Türk hastalardaki seviyelerini moleküler yöntemlerle incelemek istiyoruz. Ulaşacağımız sonucun hastalık oluşumunda etkili olacak mikro RNA lardaki değişimlerin keşfi ile erken tanı ve potansiyel tedavi yöntemleri geliştirilmesinde etkili olacağını düşünmekteyiz. Böylesi bir çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki **Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Olur Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı verirseniz formu lütfen imzalayınız.

Bu çalışmada, Parkinson hastalığı ile ilişkili olabilecek mikroRNA düzeyleri incelenecektir. Bunun size yararlı olup olmayacağı şimdiden söylemek mümkün değildir ve size bu konuda söz veremeyiz. Araştırmanın ileride başka bireylere yarar sağlaması olasılığı yüksektir. Çalışmaya kan vererek gösterilecek gerekli toplumsal duyarlılık, çalışma açısından büyük önem taşımaktadır.

Parkinson Hastalığı Hasta Grubu Genetik Materyali İçin Bilgilendirme Onamı

“PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ” başlıklı doktora tez projesinde amaç Parkinson hastalığının gelişiminde rol oynadığı düşünülen aday mikro RNAların İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji AD da toplanan Parkinson hasta ve sağlıklı kan örneklerinden genetik yöntemler kullanılarak hastalığın moleküler ilerleyişinde doğrudan ya da dolaylı ilişkileri ortaya çıkarmaktır.

Bu amaçla geriye dönük bu projede kullanılan hasta ve kontrol grubundaki kişiler bilgilendirilerek, bilgilendirilmiş onamları alınacaktır. Yapılan genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olduğu düşünülen veya hastalık seyri sırasında miktarı değişen mikro RNA ların tayini amacı ile önceden toplanmış serum materyalinden yapılacak analizler için sizden

herhangi bir ücret ve kan materyali istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır.

1.Yapılacak işlemin tanımı ve izlenecek yöntem:

Çalışmada, İstanbul Medeniyet Üniversitesi nöroloji AD'da sözel ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu ile yazılı olarak aydınlatılmış ve onamları alınmış, birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası klinik tanı kriterlerine göre idiyopatik Parkinson hastalığı (PH) tanısıyla takip edilmekte olan, Hoehn ve Yahr klinik evrelendirmesinde evre 2, 3, 4, 5 olan hastalardan, uygun tedavi altında takip edilen 40-75 yaş arası 70 gönüllü hasta ile bu hastaların yaş ve cinsiyetleriyle uyumlu 50 gönüllü sağlıklı kontrolden 2017-2018 yıllarında kan örnekleri alınmış olup alınan örneklerden kanın serum kısmı ayrılmıştır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji AD öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim Hakan Gürvit tarafından yürütülecek, serumlardaki mikro RNA ların seviyelerinin belirlenmesi için gereken deneyler İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıbbi Biyoloji AD Arş. Gör. Dr. İbrahim Alper Kaya tarafından gerçekleştirilecektir.

Çalışmaya katılımınız tamamen isteğinize bağlıdır. Sizden ücret talep edilmeyecektir ve size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde sizden on mililitre kan örneği alınacaktır. Ek olarak tarafınızca doldurulmak üzere bazı anket formları verilecektir. Yapacağımız araştırmanın size bir risk getirmesi beklenmemektedir. Kan aldırmanın genelde hiç bir zararı olmamasına karşın, nadiren çok az kanama ve morarmaya yol açabilir.

Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda sizden yeniden kan örneği istenmeyecektir, sadece eldeki materyalde araştırmalar yapılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır. Sizden alınan kanlardan elde edilecek biyoloji materyal (DNA/RNA/ Serum) örnekleri yukarıda bahsi geçenden başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

2. Olası riskler ve faydalar:

Yapılacak genetik çalışmada getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebilir. Sizdeki mikro RNA seviyelerini saptadığımızda bulgularımızı istediğiniz takdirde size bildireceğiz. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin iznimize bağlı olacaktır.

Olası yararlar: Bu çalışmanın esas amacı Parkinson hastalığına neden olduğu düşünülen veya ortaya çıkmasını kolaylaştıran genetik değişimleri öğrenmek, bu değişimlerin tanı ve tedavide ileriki kullanılabilmesine ön ayak olmaktır. Biz bu aşamada size doğrudan ya da dolaylı bir yararının olup olmayacağını henüz bilmemekteyiz. Fakat kesin olan bu hastalığın nedenleri konusunda daha çok şey öğrenebileceğimiz ve böylece gelecekte diğer hastalara daha çok yardımcı olabileceğimizeyizdir.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahibsiniz. Bu durumda sizden almış olduğumuz örnek, eğer arzu ederseniz imha edilecektir.



Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan,

(Doktor Adı)

hastaya,

(Gönüllü Adı)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Araştırma süresince 24 saat ulaşılabilecek kişiler:

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD Arş Gör, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Doktora Öğrencisi

Arş. Gör. Dr. İbrahim Alper KAYA

Ulaşılabilecek Tel. No.' ları: 05542567960

Ulaşım Adresi: İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Kuzey Yerleşkesi Kadıköy/İstanbul

Elektronik Posta Adresi: alperkaya@istanbul.edu.tr

İzin: Sayın Dr tarafından (kurum adı) (anabilim dalı adı, ünite adı vb.)' da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. (Doktor ismi),

..... (telefon ve adres)' ten arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersen, bu durumun tıbbi bakımımı ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir dūřünme sūresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde 'katılımcı (denek)' olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

Tanık olan kişinin Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

Araştırmacının Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

3. Sağlıklı bilgilendirilmiş gönüllü onam formu

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**

**MOLEKÜLER ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR
FORMU**

Araştırmanın Adı: PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ

Hastalık Adı: Parkinson Hastalığı

Araştırmanın süresi: 18 ay

Versiyon no:1

Tarih:02.11.2018

Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı: 120

“PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ” adını verdiğimiz çalışmaya katılma üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla ve nasıl yapılacağını anlamanız ve katılıp katılmama doğrultusundaki kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Araştırma hakkında sözlü olarak size aktaracağım bilgiler yazılı olarak da bir sonraki bölümde sunulacaktır. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz. Bu belgedeki son bölüm onay işlemleri ile ilgilidir. Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz lütfen bu bölümü imzalayınız. Okuma ve yazma konusunda engelleriniz olduğu takdirde bir tanığın gözetiminde bu belgeyi onaylamanız istenecek ve gerektiğinde parmak iziniz alınacaktır.

Araştırmanın Konusu:

Parkinson hastalığı, dünyada 4.000.000’ dan fazla kişiyi etkileyen, sık rastlanan nörolojik bir hastalıktır. 65 yaş üzerindeki her 100 kişiden biri Parkinson hastasıdır. Bu nörodejeneratif

hastalık, beyinde dopamin adlı maddenin sentezlendiği sinir hücrelerinin kaybı sonucu ortaya çıkar. Parkinson hastalığı yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Hayatı etkilediği halde yaşamı tehdit etmez.

Günümüzde Parkinson ve benzeri beyin hastalıkları ile ilgili çalışmalar içinde, özellikle de hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen mikroRNA moleküllerinin test edilmeleri önemlidir. Parkinson hastalığı ile ilişkili olabilecek mikroRNA'ların saptanması ve özelliklerinin anlaşılması, bu hastalığa yol açan mekanizmaların tanınması ve tedavi geliştirilebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Toplumumuzda Parkinson hastalarının mikroRNA altyapısının belirlenmesi, hastalığın moleküler temelini aydınlatılmasına katkıda bulunacaktır.

PARKİNSON HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ OLABİLECEK SERUM mikroRNA DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI isimli çalışma ile miR19a, miR19b, miR29a, miR29c, miR181, miR195 ve miR221'in ekspresyon düzeyleri araştırılacakken bu çalışmada aynı serum örneklerinden miR-16, miR-24, miR-30, miR-34 ve miR-331 ekspresyon düzeyleri araştırılacaktır.

Araştırmanın Amacı:

Yapacağımız genetik çalışmada Parkinson Hastalığında hastalığın seyri ve şiddeti ile ilgili olduğunu düşündüğümüz mikro RNA değişimlerinin Türk hastalardaki seviyelerini moleküler yöntemlerle incelemek istiyoruz. Ulaşacağımız sonucun hastalık oluşumunda etkili olacak mikro RNA lardaki değişimlerin keşfi ile erken tanı ve potansiyel tedavi yöntemleri geliştirilmesinde etkili olacağını düşünmekteyiz. Böylesi bir çalışmaya katılma kararı vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz. Aşağıdaki **Moleküler Araştırmalar için Bilgilendirilmiş Olur Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı verirseniz formu lütfen imzalayınız.

Bu çalışmada, Parkinson hastalığı ile ilişkili olabilecek mikroRNA düzeyleri incelenecektir. Bunun size yararlı olup olmayacağı şimdiden söylemek mümkün değildir ve size bu konuda söz veremeyiz. Araştırmanın ileride başka bireylere yarar sağlaması olasılığı yüksektir.

Çalışmaya kan vererek gösterilecek gerekli toplumsal duyarlılık, çalışma açısından büyük önem taşımaktadır.

Sağlıklı Kontrol Grubu Genetik Materyali İçin Bilgilendirme Onamı

“PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ” başlıklı doktora tez projesinde amaç Parkinson hastalığının gelişiminde rol oynadığı düşünülen aday mikro RNAların İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji AD da toplanan Parkinson hasta ve sağlıklı kan örneklerinden genetik yöntemler kullanılarak hastalığın moleküler ilerleyişinde doğrudan ya da dolaylı ilişkileri ortaya çıkarmaktadır.

Bu amaçla geriye dönük bu projede kullanılan hasta ve kontrol grubundaki kişiler bilgilendirilerek, bilgilendirilmiş onamları alınacaktır. Yapılan genetik çalışmalar, bu hastalığa genetik faktörlerin yol açabileceğini düşündürmektedir. Hastalığa neden olduğu düşünülen veya hastalık seyri sırasında miktarı değişen mikro RNA ların tayini amacı ile önceden toplanmış serum materyalinden yapılacak analizler için sizden herhangi bir ücret ve kan materyali istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır.

1.Yapılacak işlemin tanımı ve izlenecek yöntem:

Çalışmada, İstanbul Medeniyet Üniversitesi nöroloji AD’da sözel ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu ile yazılı olarak aydınlatılmış ve onamları alınmış, birleşik Krallık Parkinson Hastalığı Derneği Beyin Bankası klinik tanı kriterlerine göre idiyopatik Parkinson hastalığı (PH) tanısıyla takip edilmekte olan, Hoehn ve Yahr klinik evrelendirmesinde evre 2, 3, 4, 5 olan hastalardan, uygun tedavi altında takip edilen 40-75 yaş arası 70 gönüllü hasta ile bu hastaların yaş ve cinsiyetleriyle uyumlu 50 gönüllü sağlıklı kontrolden 2017-2018 yıllarında kan örnekleri alınmış olup alınan örneklerden kanın serum kısmı ayrılmıştır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji AD öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim Hakan Gürvit tarafından yürütülecek, serumlardaki mikro RNA ların seviyelerinin belirlenmesi için gereken deneyler İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıbbi Biyoloji AD Arş. Gör. Dr. İbrahim Alper Kaya tarafından gerçekleştirilecektir.

Çalışmaya katılımınız tamamen isteğinize bağlıdır. Sizden ücret talep edilmeyecektir ve size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırmaya katılmayı kabul ettiğiniz takdirde sizden on

mililitre kan örneği alınacaktır. Ek olarak tarafınızca doldurulmak üzere bazı anket formları verilecektir. Yapacağımız araştırmanın size bir risk getirmesi beklenmemektedir. Kan aldırmanın genelde hiçbir zararı olmamasına karşın, nadiren çok az kanama ve morarmaya yol açabilir.

Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda sizden yeniden kan örneği istenmeyecektir, sadece eldeki materyalde araştırmalar yapılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmada gönüllü katılım esas alınmıştır. Sizden alınan kanlardan elde edilecek biyoloji materyal (DNA/RNA/ Serum) örnekleri yukarıda bahsi geçenden başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

2. Olası riskler ve faydalar:

Yapılacak genetik çalışmada getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebilir. Sizdeki mikro RNA seviyelerini saptadığımızda bulgularımızı istediğiniz takdirde size bildireceğiz. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin iznimize bağlı olacaktır.

Olası yararlar: Bu çalışmanın esas amacı Parkinson hastalığına neden olduğu düşünülen veya ortaya çıkmasını kolaylaştıran genetik değişimleri öğrenmek, bu değişimlerin tanı ve tedavide ileriki kullanılabilmesine ön ayak olmaktır. Biz bu aşamada size doğrudan ya da dolaylı bir yararının olup olmayacağını henüz bilmemekteyiz. Fakat kesin olan bu hastalığın nedenleri konusunda daha çok şey öğrenebileceğimiz ve böylece gelecekte diğer hastalara daha çok yardımcı olabileceğimizeyizdir.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Bu durumda sizden almış olduğumuz örnek, eğer arzu ederseniz imha edilecektir.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan,

(Doktor Adı)

hastaya,

(Gönüllü Adı)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Araştırma süresince 24 saat ulaşılabilir kişiler:

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD Arş Gör, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Doktora Öğrencisi

Arş. Gör. Dr. İbrahim Alper KAYA

Ulaşılabilir Tel. No.' ları: 05542567960

Ulaşım Adresi: İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Kuzey Yerleşkesi Kadıköy/İstanbul

Elektronik Posta Adresi: alperkaya@istanbul.edu.tr

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji AD öğretim üyesi

Doç. Dr. Fatma Betül Özdilek

Ulaşılabilir Tel No: 05325220053

Ulaşım Adresi: İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroloji AD Göztepe Kadıköy/İstanbul

Elektronik posta adresi: ozdilekbetul@gmail.com

İzin: Sayın Dr tarafından (kurum adı) (anabilim dalı adı, ünite adı vb.)' da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi

durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr.

..... (Doktor ismi),

..... (telefon ve adres)' ten

arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde 'katılımcı (denek)' olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağınının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

Tanık olan kişinin Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

Araştırmacının Adı-Soyadı-İmzası-Tarih -----

İletişim Bilgileri

4. Mini mental test:

Psikiyatride Kullanılan Klinik Ölçekler

STANDARDİZE MİNİ MENTAL TEST

YÖNELİM (Toplam puan 10)

- Hangi yıl içindeyiz ()
 Hangi mevsimdeyiz ()
 Hangi aydayız ()
 Bu gün ayın kaç. ()
 Hangi gündeysiz ()
 Hangi ülkede yaşıyoruz ()
 Şu an hangi şehirde bulunmaktasınız. ()
 Şu an bulunduğunuz semt neresidir ()
 Şu an bulunduğunuz bina neresidir ()
 Şu an bu binada kaçınıcı kattasınız. ()

KAYIT HAFIZASI (Toplam puan 3)

Size birazdan söyleyeceğim üç ismi dikkatlice dinleyip ben bitirdikten sonra tekrarlayın (Masa, Bayrak, Elbise) (20 sn süre tanınır) Her doğru isim 1 puan ()

DİKKAT VE HESAP YAPMA (Toplam puan 5)

100'den geriye doğru 7 çıkartarak gidin. Dur deyinceye kadar devam edin.
 Her doğru işlem 1 puan. (100, 93, 86, 79, 72, 65) ()

HATIRLAMA (Toplam puan 3)

Yukarıda tekrar ettiğiniz kelimeleri hatırlıyor musunuz? Hatırladıklarınızı söyleyin.
 (Masa, Bayrak, Elbise). ()

LİSAN (Toplam puan 9)

- a) Bu gördüğünüz nesnelere isimleri nedir? (saat, kalem) 2 puan (20 sn tut) ()
 b) Şimdi size söyleyeceğim cümleyi dikkatle dinleyin ve ben bitirdikten sonra tekrar edin.
 "Eğer ve fakat istemiyorum" (10 sn tut) 1 puan ()
 c) Şimdi sizden bir şey yapmanızı isteyeceğim, beni dikkatle dinleyin ve söylediğimi yapın.
 "Masada duran kâğıdı sağ/sol elinizle alın, iki elinizle ikiye katlayın ve yere bırakın lütfen"
 Toplam puan 3, süre 30 sn, her bir doğru işlem 1 puan ()
 d) Şimdi size bir cümle vereceğim. Okuyun ve yazıda söylenen şeyi yapın. (1 puan)
"GÖZLERİNİZİ KAPATIN" (arka sayfada) ()
 e) Şimdi vereceğim kâğıda aklınıza gelen anlamlı bir cümleyi yazın. (1 puan) ()
 f) Size göstereceğim şeklin aynısını çizin. (arka sayfada) (1 puan) ()

5. MDS UPDRS:

Hareket Bozuklukları Derneği Birleşik Parkinson Hastalığı Değerleme Ölçeği (HBD BPHDÖ)

Hareket Bozuklukları Derneği sponsoruğundaki yeni Birleşik Parkinson Hastalığı Değerleme Ölçeği, Parkinson Hastalığında Değerleme Ölçeği Çalışma Komisyonu'nun eleştirileri doğrultusunda hazırlanmıştır (*Mov Disord* 2003;18:738-750). HBD bu amaçla orijinal BPHDÖ'nün genel biçimini koruyup aynı zamanda zayıf ve kafa karıştırıcı tarafları için yapılan eleştirileri göz önüne alarak yeni BPHDÖ'yü oluşturmak için program organize edecek bir genel başkan görevlendirdi. Genel başkan da üyeler ve kurullardan oluşan alt gruplar belirledi. Her bölüm uygun grup üyeleri tarafından yazıldı ve ekibin tamamı tarafından incelenip onaylandı. Bu üyeler aşağıda sıralanmıştır.

HBD BPHDÖ dört bölümden oluşuyor; Bölüm 1 (non motor sorunlar), Bölüm 2 (motor sorunlar), Bölüm 3 (motor muayene) ve Bölüm 4 (motor komplikasyonlar). Birinci bölümün iki kısmı var; 1A araştırmacının hasta ve bakıcısından edindiği bilgiyle değerlendirdiği bir grup davranışla ilgili kısım, 1B araştırmacıdan bağımsız olarak bakıcısının yardımıyla veya tek başına hastanın doldurduğu kısım. Değerlendiren kişi bu kısmı ancak bütün cevapların net olduğundan emin olmak veya anlaşılamayan yerleri açıklamak için inceleyebilir. Bölüm 2 de bölüm 1A gibi kişinin tek başına dolduracağı bir anket olarak tasarlanmıştır; değerlendiren kişi tarafından ancak cevapların tamamlanmış ve anlaşılır olduğundan emin olunması için incelenebilir. Dikkat edilmesi gereken yer, bölüm 1A, 1B ve 2'nin on ve off için farklı değerlendirmesinin olmamasıdır. Ancak bireysel programlar ve protokoller için aynı sorular ayrı ayrı hem on hem de off için kullanılabilir. Üçüncü bölümde değerlendiren kişinin hastaya vermesi gereken talimatlar vardır ve bu bölüm değerlendirilen kişi tarafından doldurulur. Dördüncü bölümün hem değerlendirilen kişi için hem de hastaya okunması gereken yönergeleri vardır. Bu bölüm değerlendirilen kişinin klinik gözlemi ve kararıyla hastadan alınan bilgiyi birleştirir ve değerlendirilen kişi tarafından doldurulur.

Yeni sürümün yazarları:

Genel başkan: Christopher G. Goetz

Bölüm I: Werner Poewe (başkan), Bruno Dubois, Anette Schrag

Bölüm II: Matthew B. Stern (başkan), Anthony E. Lang, Peter A. LeWitt

Bölüm III: Stanley Fahn (başkan), Joseph Jankovic, C. Warren Olanow

Bölüm IV: Pablo Martinez-Martin (başkan), Andrew Lees, Olivier Rascol, Bob van Hilten

Geliştirme Standartları Glenn T. Stebbins (başkan), Robert Holloway, David Nyenhuis

Ekler: Cristina Sampaio (başkan), Richard Dodel, Jaime Kulisevsky

İstatistik testler: Barbara Tilley (başkan), Sue Leurgans, Jean Teresi,

Danışman: Stephanie Shaftman, Nancy LaPelle

İrtibat için: Christopher G. Goetz, MD

Rush University Medical Center

1725 W. Harrison Street, Suite 755

Chicago, IL USA 60612

Telefon 312-942-8016

Email: cgoetz@rush.edu

1 Temmuz 2008

Bölüm 1 Non Motor Sorunlar

Genel bilgi: Ölçeğin bu kısmı hastaların günlük hayatlarında Parkinson hastalığının yol açtığı non motor sorunları inceler. On üç soru vardır. Bölüm 1A değerlendiren tarafından uygulanır (6 soru) ve karmaşık davranışlar üzerine yoğunlaşır. Bölüm 1B kişinin kendisi tarafından doldurulan hasta anketinin bir parçasıdır ve günlük hayatta yapılan işlerin non motor yanlarını inceleyen yedi sorudan oluşmuştur.

Bölüm 1A

Değerlendiren kişi Bölüm 1A'yı uygularken aşağıdaki yönergeyi kullanmalıdır:

1. Sayfanın en üst bölümünde, öncelikle bilgi alınan kişi olarak hasta, hasta bakıcısı veya hasta ve hasta bakıcısı birlikte eşit oranda seçeneklerinden birini işaretleyin.
2. Her madde görüşmenin yapıldığı günü de içermek üzere son yedi günü kapsmalıdır.
3. Bütün maddelerin cevabı tam sayı olmalıdır (yarım puan, eksik puan olmamalı). Hasta için geçerli olmayan veya değerlendirilemeyen madde olması durumunda, "değerlendirilemedi" D yazılmalıdır.
4. Cevaplar fonksiyonun genel derecesini yansıtmalı; hastalara çoğunlukla, genellikle, çoğu zaman gibi kelimeler kullanılabilir.
5. Her sorunun sizin okumanız için metni vardır (hasta ve hasta bakıcısı için yönergeler). Bu metinden sonra değerlendiren için verilmiş yönergede belirtilen hedef semptomlara dayanarak detaya inebilirsiniz. Hasta ve hasta bakıcısına CEVAP SEÇENEKLERİNİ tıbbi terminolojiyle yazılmış olmasından dolayı OKUMAYIN. En uygun cevabı bulmak için görüşmeyle varacağınız tıbbi kararınızı kullanın.
6. Hastaların fonksiyonlarını etkileyecek komorbiditeleri veya çeşitli tıbbi durumları olabilir. Siz ve hastanız hastadaki sorunları olduğu gibi değerlendirmeli ve Parkinson hastalığına ait unsurları hastanın diğer mevcut durumundan ayırmaya çalışmamalısınız.

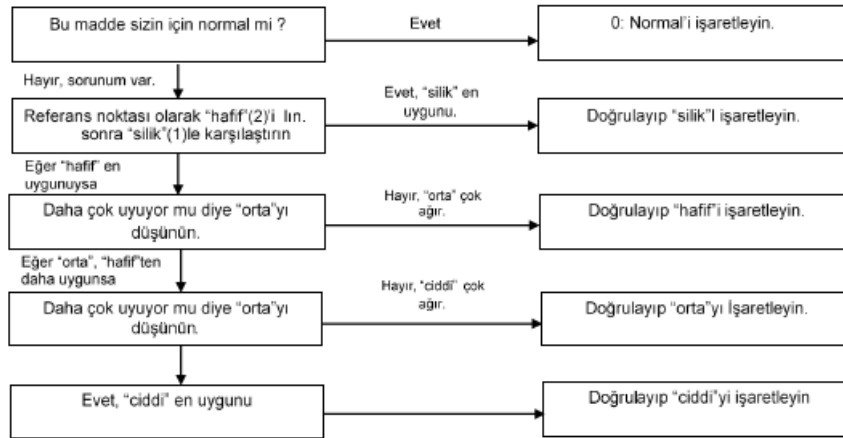
BÖLÜM 1A'DA UYGUN SEÇENEĞİ İŞARETLEMELİK İÇİN ÖRNEKLER

En geçerli cevabı bulmak için önerilen stratejiler:

Hastaya yönergeyi okuduktan sonra normal mi sorunlu mu diye karar vermek için konunun tamamını tartışarak ölçmeniz gerekecek; eğer sorularınız bu konuda hiçbir probleme işaret etmiyorsa 0'ı işaretleyip sonraki soruya geçin.

Eğer sorularınız o konuda bir problemi tespit ettiyse hastanın fonksiyonu o seviyeden daha mı iyi daha mı kötü anlamak için ortadaki şıkkı (seçenek 2 veya hafif) referans noktası olarak almalısınız. Cevaplar tıbbi terminoloji içerdiği için cevap şıklarını hastaya okumamalısınız. Hangi cevabı seçeceğinize karar vermek için gereken soruları soruyor olacaksınız.

Hastaya en uygun cevabı bulmak için yukarıdan aşağı ve aşağıdan yukarı bütün seçenekleri değerlendirin ve seçtiğiniz şıkkın üstündeki ve altındaki şıkları elelediğinizi son bir kez kontrol edin.



<p>1.2 VARSANILAR VE PSİKOZ</p> <p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Hem illüzyonları (gerçeğin yanlış yorumlanması) hem de varsanılları (spontan yanlış algı) göz önüne alın. Bütün ana duyu alanlarını değerlendirin (görme, duyma, dokunma, koklama ve tatma). Biçimlenmemiş (örneğin bir varlık hissi veya geçici yanlış izlenim) ve biçimlenmiş (tamamen gelişmiş ve ayrıntılı) algıların varlığını değerlendirin. Hastanın varsanıllara dair içgörüsünü değerlendirin, sanrıları ve psikotik düşünceyi tespit edin.</p> <p><u>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge:</u> Geçtiğimiz hafta içinde aslında olmayan bir şey gördüğünüz, duyduğunuz, hissettiğiniz veya kokusu aldığınız oldu mu? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</p> <p>0: Normal. Varsanı veya psikotik davranış yok.</p> <p>1: Silik. İllüzyonlar veya biçimlenmemiş varsanıllar; ancak hasta iç görüşünü kaybetmeden bunları fark edebiliyor.</p> <p>2: Hafif. Çevresel uyarandan bağımsız biçimlenmiş varsanıllar. İç görü kaybı yok.</p> <p>3: Orta. İçgörü kaybıyla birlikte biçimlenmiş varsanıllar.</p> <p>4: Şiddetli. Hastanın sanrıları veya paranoyası var.</p>	<p>SKOR</p> <p><input type="text"/></p>
<p>1.3 DEPRESYON</p> <p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Duygudurum düşüklüğü, üzüntü, umutsuzluk, boşluk hissi veya haz kaybını değerlendirin. Geçtiğimiz hafta içinde olup olmadığını ve ne kadar sürdüğünü belirleyin, hastanın günlük rutinlerini devam ettirme ve sosyal etkileşimde bulunma yeteneğinin ne kadar etkilendiğini ölçün.</p> <p><u>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge:</u> Geçtiğimiz hafta içinde mutsuz, üzgün, umutsuz ve hiçbir şeyden keyif alamadığınızı hissettiniz mi? Eğer evetse, bu his tek seferde bir günden uzun sürdü mü? Sizin normal işlerinizi yapmanızı veya başka insanlarla vakit geçirmenizi zorlaştırdı mı? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</p> <p>0: Normal. Depresyon yok.</p> <p>1: Silik. Tek seferde bir günden uzun sürmeyen depresif duygudurum dönemleri var. Normal işlerini veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.</p> <p>2: Hafif. Günlerce süren depresif duygudurum; ancak normal iş veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.</p> <p>3: Orta. Normal işleri veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştıran ancak engellemeyen depresif duygudurum.</p> <p>4: Ağır. Normal işleri ve sosyal etkileşimi sürdürmeyi engelleyen depresif duygudurum.</p>	<p>SKOR</p> <p><input type="text"/></p>

<p>1.4 ANKSİYETE</p> <p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Sinirlilik, gerginlik, endişe veya anksiyete gibi duyguları değerlendirin (panik atakları dahil). Geçtiğimiz hafta içinde olup olmadığını ve ne kadar sürdüğünü belirleyin, hastanın günlük rutinlerini devam ettirme ve sosyal etkileşimde bulunma yeteneğinin ne kadar etkilendiğini ölçün.</p> <p><i>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde sinirli, gergin veya endişeli hissettiniz mi? Eğer evetse, bu his tek seferde bir günden uzun sürdü mü? Sizin normal işlerinizi yapmanızı veya başka insanlarla vakit geçirmenizi zorlaştırdı mı? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</i></p> <p>0: Normal. Anksiyete yok.</p> <p>1: Sılık. Anksiyete var; ancak tek seferde bir günden uzun sürmüyor. Normal iş veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.</p> <p>2: Hafif. Anksiyete tek seferde bir günden uzun sürüyor; ancak normal iş veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştırmıyor.</p> <p>3: Orta. Normal işleri veya sosyal etkileşimi sürdürmeyi zorlaştıran ancak engellemeyen anksiyete.</p> <p>4: Şiddetli. Normal işleri ve sosyal etkileşimi sürdürmeyi engelleyen anksiyete.</p>	<p>SKOR</p> <p><input type="text"/></p>
<p>1.5 APATİ</p> <p><u>Değerlendiren için yönerge:</u> Spontan aktivite, kendine güven, motivasyon ve girişkenlik seviyelerini değerlendirin ve performans düşüklüğünün normal aktivitelere ve sosyal etkileşime etkisini ölçün. Burada değerlendiren kişi apati ile, depresyonla daha iyi açıklanabilen benzer semptomları, birbirinden ayırmaya çalışmalı.</p> <p><i>Hasta ve hasta bakıcısı için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde günlük işleri yapmaya veya başka insanlarla vakit geçirmeye isteksiz olduğunuzu hissettiniz mi? (Eğer evetse, değerlendiren kişi cevabı detaylandırmalı.)</i></p> <p>0: Normal. Apati yok.</p> <p>1: Sılık. Hasta veya hasta bakıcısı tarafından apati fark edilmiş; ancak hastanın normal işlerini ve sosyal etkileşimini etkilemiyor.</p> <p>2: Hafif. Apati bazı işler ve sosyal etkileşimleri etkiliyor.</p> <p>3: Orta. Apati çoğu işi ve sosyal etkileşimi etkiliyor.</p> <p>4: Şiddetli. Pasif ve içine kapanık. Girişkenlik tamamen kaybedilmiş.</p>	<p>SKOR</p> <p><input type="text"/></p>

<p>1.6 DOPAMİN DİSREGÜLASYON SENDROMU</p> <p>Değerlendiren için yönerge: Atipik veya aşırı kumarbazlık (örneğin kumarhaneler ve piyango biletleri), atipik veya aşırı cinsel istek veya merak (örneğin pornografiye, mastürbasyona karşı alışılmamış merak, partnerden cinsel talepler), diğer tekrarlayıcı aktiviteler (örneğin hobiler, nesnelere parçalarına ayırma, sınıflandırma veya düzenleme) veya fiziksel olmayan nedenler (örneğin bağımlılık) için reçetesiz ilaçların fazla kullanımını kapsayan çeşitli aktivitelere yönelimi değerlendirin. Bu anormal aktivite/davranışların kişinin kendi hayatı, ailesi ve sosyal ilişkileri (borç alma gereksinimi veya kredi kartlarının iptali gibi finansal sıkıntılar, aile içi büyük kavgalar, işten kaybedilen zaman veya aktivite yüzünden kaçırılan öğün veya azalan uyku dahil) üzerindeki etkilerini ölçün.</p> <p>Hasta ve hasta yakını için yönerge: Geçtiğimiz hafta içinde normalde hissetmediğiniz, kontrol edilmesi zor, güçlü istekleriniz oldu mu? Bir şeyi yapmak zorunda olduğunuzu veya bir şey hakkında düşünüp bunu durdurmanın zor olduğunu düşünüyor musunuz? (Kumar oynamak, temizlik yapmak, bilgisayar kullanmak, ekstra ilaç almak, yemek veya seksle ilgili takıntı gibi tamamen hastaya bağlı şeylerden örnek verin.)</p> <p>0: Normal. Hiçbir problem yok.</p> <p>1: Silik. Bu problemler var; ancak hasta veya hasta bakıcısı/ailesi açısından herhangi bir soruna yol açmıyor.</p> <p>2: Hafif. Bu problemler var ve hastanın kişisel hayatı ve aile hayatında bir takım zorluklara yol açıyor.</p> <p>3: Orta. Bu problemler var ve hastanın kişisel hayatı ve aile hayatında pek çok zorluğa yol açıyor.</p> <p>4: Şiddetli. Bu problemler var ve hastanın normal işleri veya sosyal etkileşimlerini sürdürmesini veya hastanın kişisel hayatı ve aile hayatında önceki standartlarını yakalamasını engelliyor.</p>	<p>SKOR</p> <p><input type="text"/></p>
<p>Bölüm 1'den kalan sorular (Günlük Yaşamda Nonmotor Sorunlar) (uyku sorunları, gündüz uyuklama, ağrı ve diğer duyuşsal sorunlar, üriner sorunlar, konstipasyon, ayakta dururken iç geçme, halsizlik), Bölüm 2 (Günlük Yaşamda Motor Sorunlar) sorularıyla birlikte Hasta Anketinde yer almaktadır.</p> <p>Official MDS Translation Copyright © 2016 International Parkinson and Movement Disorder Society (MDS). All rights reserved.</p> <p>6</p>	

Hasta Anketi

Yönerge:

Bu anket günlük hayatınızda yaşadıklarınıza dair sorulardan oluşmaktadır.

Anket 20 soru içermektedir. Titiz davranmaya çalışıyoruz, bazı sorulardaki problemler sizde hiç bir zaman olmayacaktır. Eğer soruda belirtilen konuda herhangi bir sorunuz yoksa "hayır" cevabı için 0'ı işaretlemeniz yeterlidir.

Lütfen her soruyu dikkatlice okuyun ve size en uygun cevabı işaretlemeden önce bütün seçeneklere göz gezdirin.

Bugün de dahil olmak üzere geçtiğimiz haftadaki ortalama olarak yapabildiklerinizle ilgileniyoruz (en iyi ya da en kötü halinizi düşünmeyin). Her soru için yalnızca bir cevap verilmesi gerekmektedir, bu yüzden günün büyük kısmında yapabildiklerinizi belirten cevabı işaretleyin.

Parkinson hastalığı dışında başka hastalıklarınız da olabilir. Parkinson hastalığınızı diğer hastalıklarınızdan ayrı olarak değerlendirerek soruları cevaplamaya çalışmanıza gerek yok. Sadece size en yakın cevabı işaretlemeniz yeterlidir. Örneğin yürümeniz Parkinson'a değil de diz ağrısına bağlı olarak kötüyse, yine de "yürümem kötü" seçeneğini işaretleyin.

Cevap olarak sadece 0,1,2,3,4'ü kullanın. Cevaplanmamış soru bırakmayın.

Doktorunuz veya hemşireniz soruları sizinle birlikte gözden geçirebilir; ancak bu anket sadece hastalar ve eğer varsa hasta yakınları içindir.

Bu anketi kim dolduruyor? (En uygun cevabı işaretleyin)

Hasta Hasta yakını Hasta ve hasta yakını birlikte eşit oranda

ETİK KURUL KARARI



PATENT HAKKI İZİNİ



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PARKİNSON HASTALARINDA BELİRLİ SERUM MİKRO RNA SEVİYELERİNİN VE HASTALIK SEYRİ İLE İLİŞKİLERİNİN GÖSTERİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 15	% 13	% 8	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.ncbi.nlm.nih.gov İnternet Kaynağı	% 5
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
3	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
4	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
5	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	% 1
6	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	% 1
7	Betul Ozdilek, Berna Demircan. "Serum microRNA expression levels in Turkish patients with Parkinson's disease", International Journal of Neuroscience, 2020 Yayın	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

