

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( DOKTORA TEZİ )**

**OBSESİF KOMPULSİF BOZUKLUK HASTALARINDA  
DNA TAMİR GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**RAMAZAN ÇELİK**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. BEDİA AĞAÇHAN**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI/  
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

**İSTANBUL-2013**

**TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Moleküler Tıp Programında Ramazan Çelik tarafından hazırlanan "Obsesif Kompulsif Bozukluk Hastalarında DNA Tamir Genlerin Araştırılması" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

28 / 06 / 2013

**Tez Sınav Jürisi**

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)

İmzası

- 1.Prof. Dr. İlhan YAYLIM İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 2.Prof. Dr. Bedia AĞAÇHAN (Danışman) İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 3.Prof. Dr. Ahmet BELCE Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi
- 4.Doç. Dr.Ş. Ümit ZEYBEK İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı
- 5.Doç Dr. H.Arzu ERGEN İ.Ü.DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ramazan ÇELİK



## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum...

## TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı kurucusu, emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Turgay İsbir'e, DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan Yaylın'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, her konuda bana destek olan saygıdeğer hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Bedia Çakmakoglu'na, hasta ve kontrol kan örneklerini bizler için İstanbul Erenköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi'nden temin eden Uzman Nörolog Dr. Cem İsmail Küçükali'ye,

Tez çalışmam süresince yardımları ve destekleri için, DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Tezimin yapımı ve yazımı sırasındaki yardımları ve destekleri için çok değerli arkadaşlarım, Bio. Abdullah Özdemircan'a, Uzm. Bio. Selçuk Daşdemir, Uzm. Bio. Z. Birsu Çinçin, Uzm. Bio. Ender Coşkunpınar, Uzm. Bio. Gülay Özel, Bio. Çağla Rencüzoğulları, Uzm. Bio. Elif Sinem Bireller'e ve

Hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 20606

## İÇİNDEKİLER

|                                                                              |      |
|------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEZ ONAYI .....                                                              | İİ   |
| BEYAN.....                                                                   | İİİ  |
| İTHAF.....                                                                   | İV   |
| TEŞEKKÜR.....                                                                | V    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                            | VI   |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                        | Vİİİ |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                       | İX   |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....                                        | X    |
| ÖZET .....                                                                   | Xİİ  |
| ABSTRACT.....                                                                | Xİİİ |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                        | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                      | 2    |
| 2.1. Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB).....                                   | 2    |
| 2.1.1. Tanım .....                                                           | 2    |
| 2.1.2. Epidemiyoloji.....                                                    | 2    |
| 2.1.3. Başlama yaşı ve cinsiyet .....                                        | 3    |
| 2.1.4. Klinik görünüm .....                                                  | 3    |
| 2.1.5. Etyoloji.....                                                         | 4    |
| 2.1.5.1. Görüntüleme çalışmaları .....                                       | 5    |
| 2.1.5.2. Nörobiyolojik çalışmalar - Nörotransmitter Anormallikleri .....     | 6    |
| 2.1.6. Genetik Çalışmalar.....                                               | 6    |
| 2.1.6.1. Aile Çalışmaları .....                                              | 7    |
| 2.1.6.2. İkiz çalışmaları .....                                              | 7    |
| 2.1.6.3. Bağlantı (Linkage) Çalışmaları .....                                | 8    |
| 2.1.6.4. İlişkilendirme (Asosiyasyon) Çalışmaları .....                      | 8    |
| 2.2. DNA Tamir Mekanizmaları .....                                           | 8    |
| 2.2.1. BER (Baz Kesip Çıkarma Onarımı-Base Excision Repair):.....            | 9    |
| 2.2.2. NER (Nükleotid Kesip Çıkarma onarımı-Nucleotid excision repair):..... | 11   |
| 2.2.3. DSB (DNA çift kırık onarımı -DNA double break repair): .....          | 13   |
| 2.2.4. MMR (DNA yanlış eşleşme tamiri - DNA mismatch repair):.....           | 15   |

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3. APE1 (Apürinik/Apirimidik endonükleaz 1).....                               | 16 |
| 2.4. hOGG1 (İnsan oksoguanin glikozilaz 1 - human oxoguanine glycosylase 1)..... | 16 |
| 2.5. XPG (Xeroderma pigmentosum grup G).....                                     | 17 |
| 2.6. XPD (Xeroderma pigmentosum grup D).....                                     | 17 |
| 2.7. XRCC1 ve XRCC3 (X-ray repair cross-complementing protein group 1 ve 3)....  | 18 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                          | 20 |
| 3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı.....                                              | 20 |
| 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....                                           | 20 |
| 3.3. İncelenen Polimorfik Gen Bölgelerine Ait Primer Dizileri.....               | 20 |
| 3.4. Kullanılan Gereçler.....                                                    | 21 |
| 3.5. Kullanılan Çözeltiler.....                                                  | 21 |
| 3.5.1. Agaroz Jel Elektrophorezi’nde Kullanılan Çözeltiler.....                  | 21 |
| 3.6. Kullanılan Yöntemler.....                                                   | 22 |
| 3.6.1. İnvitrogen Purelink Genomik DNA Kit ile Kandan DNA İzolasyonu.....        | 22 |
| 3.6.2. PZR’de Kullanılan Kimyasal Maddeler.....                                  | 24 |
| 3.6.3. İncelenen Gen Bölgelerinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması.....              | 25 |
| 3.6.4. %3'lük Agaroz Jel Hazırlanması.....                                       | 27 |
| 3.6.4.1. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel’e Yüklenmesi.....                            | 27 |
| 3.6.4.2. PZR Ürünlerinin Kontrolü.....                                           | 27 |
| 3.6.5. APE1 Asp148Glu polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi.....              | 28 |
| 3.6.6. XRCC1 Arg399Gln polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi.....             | 29 |
| 3.6.7. XRCC3 Thr241Met polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi.....             | 30 |
| 3.6.8. XPD Lys751Gln Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi.....               | 31 |
| 3.6.9. XPG Asp1104His Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi.....              | 32 |
| 3.6.10. hOGG1 Ser326Cys Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi.....            | 33 |
| 3.7. Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntemler.....                         | 34 |
| 4. BULGULAR.....                                                                 | 35 |
| 5. TARTIŞMA.....                                                                 | 41 |
| KAYNAKLAR.....                                                                   | 46 |
| FORMLAR.....                                                                     | 53 |
| ETİK KURUL KARARI.....                                                           | 56 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                    | 58 |

## TABLOLAR LİSTESİ

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 3-1: Çoğaltılacak polimorfik bölgelere ait primer dizileri .....            | 21 |
| Tablo 3-2: APE1 Asp148Glu polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları .....   | 25 |
| Tablo 3-3: XRCC1 Arg399Gln polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları .....  | 25 |
| Tablo 3-4: XRCC3 Thr241Met polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları .....  | 26 |
| Tablo 3-5: XPD Lys751Gln polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları .....    | 26 |
| Tablo 3-6: XPG Asp1104His polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları .....   | 26 |
| Tablo 3-7: hOGG1 Ser326Cys polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları .....  | 27 |
| Tablo 3-8: FspBI (MaeI) enzimi için kesim protokolü .....                         | 28 |
| Tablo 3-9: PvuII enzimi için kesim protokolü .....                                | 29 |
| Tablo 3-10: Hsp92 enzimi için kesim protokolü .....                               | 30 |
| Tablo 3-11: PstI enzimi için kesim protokolü .....                                | 31 |
| Tablo 3-12: Hsp92 (NlaIII) enzimi için kesim protokolü .....                      | 32 |
| Tablo 3-13: Fnu4HI enzimi için kesim protokolü .....                              | 33 |
| Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait demografik veriler .....                        | 35 |
| Tablo 4-2: Hasta grubuna ait demografik veriler .....                             | 36 |
| Tablo 4-3: Kontrol ve Hasta gruplarında APE Asp148Glu genotip dağılımları .....   | 37 |
| Tablo 4-4: Kontrol ve Hasta gruplarında XRCC1 Arg399Gln genotip dağılımları ..... | 37 |
| Tablo 4-5: Kontrol ve Hasta gruplarında XRCC3 Thr241Met genotip dağılımları ..... | 38 |
| Tablo 4-6: Kontrol ve Hasta gruplarında XPD Lys751Gln genotip dağılımları .....   | 38 |
| Tablo 4-7: Kontrol ve Hasta gruplarında XPG Asp1104His genotip dağılımları .....  | 40 |
| Tablo 4-8: Kontrol ve Hasta gruplarında hOGG1 Ser326Cys genotip dağılımları ..... | 40 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2-1: BER (Baz Kesip Çıkarma Onarımı) mekanizması.....       | 10 |
| Şekil 2-2: NER (Nükleotid Kesip Çıkarma Onarımı) mekanizması..... | 11 |
| Şekil 2-3: DSBR (DNA çift kırık onarımı) mekanizması.....         | 14 |
| Şekil 2-4: MMR (DNA yanlış eşleşme onarımı) mekanizması.....      | 15 |
| Şekil 3-1: APEI Asp148Glu polimorfizmine ait jel görüntüsü.....   | 28 |
| Şekil 3-2: XRCC1 Arg399Gln polimorfizmine ait jel görüntüsü.....  | 29 |
| Şekil 3-3: XRCC3 Thr241Met polimorfizmine ait jel görüntüsü.....  | 30 |
| Şekil 3-4: XPD Lys751Gln polimorfizmine ait jel görüntüsü.....    | 31 |
| Şekil 3-5: XPG Asp1104His polimorfizmine ait jel görüntüsü.....   | 32 |
| Şekil 3-6: hOGG1 Ser326Cys polimorfizmine ait jel görüntüsü.....  | 33 |
| Şekil 4-1: XPD Lys+ genotipi taşıma frekansları.....              | 39 |

## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

|               |                                                                         |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------|
| <b>OKB</b>    | : Obsesif Kompulsif Bozukluk                                            |
| <b>DNA</b>    | : Deoksiribo nükleik asit                                               |
| <b>APE1</b>   | : Apürinik/apirimidinik endonükleaz 1                                   |
| <b>hOGG1</b>  | : İnsan 8-okzoguanin DNA glikozilaz                                     |
| <b>XPB</b>    | : Kseroderma Pigmentosum grup D                                         |
| <b>XPG</b>    | : Kseroderma Pigmentosum grup G                                         |
| <b>XRCC1</b>  | : X-ray cross complementing grup 1                                      |
| <b>XRCC3</b>  | : X-ray cross complementing grup 3                                      |
| <b>ICD-10</b> | : International Classification of Diseases-Tenth Edition                |
| <b>DSM-IV</b> | : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- Fourth Edition |
| <b>CT</b>     | : Bilgisayarlı beyin tomografisi                                        |
| <b>MRI</b>    | : Manyetik rezonans görüntülemesi                                       |
| <b>SPECT</b>  | : Tek foton emisyon bilgisayarlı tomografisi                            |
| <b>PET</b>    | : Pozitron emisyon tomografisi                                          |
| <b>SSRI</b>   | : Seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin                           |
| <b>m-CPP</b>  | : meta-klorofenilpiperazinin                                            |
| <b>BOS</b>    | : Beyin omurilik sıvısında                                              |
| <b>BER</b>    | : Baz kesip çıkarma onarımı                                             |
| <b>NER</b>    | : Nükleotid kesip çıkarma onarımı                                       |
| <b>GGR</b>    | : Global genom tamiri                                                   |
| <b>TCR</b>    | : Transkripsiyon ile eşleşmiş genom tamiri                              |
| <b>DSBR</b>   | : Çift zincir kırık onarımı                                             |
| <b>MMR</b>    | : Yanlış eşleşme onarımı                                                |
| <b>AP</b>     | : Apirimidinik veya apürinik                                            |
| <b>CSA</b>    | : Cockayne sendromu grup A                                              |
| <b>CSB</b>    | : Cockayne sendromu grup B                                              |
| <b>XPA</b>    | : Kseroderma pigmentosum grup A                                         |
| <b>XPB</b>    | : Kseroderma pigmentosum grup B                                         |

|               |                                                                                         |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>XPC</b>    | : Kseroderma pigmentosum grup C                                                         |
| <b>XPF</b>    | : Kseroderma pigmentosum grup F                                                         |
| <b>ERCC1</b>  | : Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency, complementation group 1 |
| <b>RPC</b>    | : Replikasyon proteini C                                                                |
| <b>PCNA</b>   | : Prolifere hücre nükleer antijen                                                       |
| <b>HR</b>     | : Homolog rekombinasyon                                                                 |
| <b>NHEJ</b>   | : Non-homologous end-joining                                                            |
| <b>8-OHdG</b> | : 8-hidroksi-2-deoksiguaninin                                                           |
| <b>PZR</b>    | : Polimeraz zincir reaksiyon                                                            |
| <b>RFLP</b>   | : Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi                                             |
| <b>SNP</b>    | : Tek nükleotid polimorfizmi                                                            |
| <b>OR</b>     | : Risk katsayısı                                                                        |
| <b>CI</b>     | : Güvenilirlik aralığı                                                                  |

## ÖZET

Çelik, R. (2013). Obsesif Kompulsif Bozukluk Hastalarında DNA Tamir Genlerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB) obsesyon ve kompulsyonlarla tanımlanan önemli psikiyatrik hastalıklardan biridir. Obsesyonlar zorlayıcı ve rahatsız edici düşünceler, kompulsyonlar ise genellikle anksiyete ve endişe ile ilişkili tekrarlayan stereotipik davranışlardır. Aile ve ikiz durumlarını içeren gen ekspresyon ve moleküler genetik çalışmalar OKB’de genetik geçişin olabileceğine işaret etmektedir. DNA tamir sistemleri OKB’de bir moleküler marker olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada OKB’li Türk hastalarda DNA tamirinde rol alan XRCC1, XRCC3, XPD, XPG, APE1, HOGG1 genlerinin polimorfizmlerinin dağılımını değerlendirmeyi amaçladık. Analizde OKB tanısı konmuş 100 hasta ve 122 vaka dışı birey baz alındı. Genotipleme PZR-RFLP yöntemi ile yapıldı. Çalışma sonrasında XRCC3 Thr+ bireylerin hasta grubunda %88 kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (P:0,03). Ek olarak XRCC3 Thr/Met genotipli bireyler hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (P:0,002). İstatiksel sonuçlara göre XPD Lys+ bireyler hasta grubunda %95 iken kontrole %86.1 göre anlamlı olarak yüksek olup OKB hastalığına yakalanma riskleri yaklaşık 3 kat arttığı gözlenmiştir (P:0,027). Lys/Lys taşıyan bireylerin yine hasta grubunda (%60) kontrole (%34.4) göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (P:0,000). XPD Gln+ bireyler kontrolde %65,6 iken hasta grubuna %40 göre anlamlı olarak yüksek olup OKB hastalığı için yaklaşık 2.8 katlık bir koruyuculuk sağladığı izlenimi edinilmiştir (P:0,000). Lys/Gln genotipli bireylerin kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (P:0,013). Hasta ve kontrol grubu arasında APE Asp148Glu, XPG Asp1104His, HOGG1 Ser326Cys ve XRCC1 Arg399Gln polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bulgularımız XRCC3 Thr+, XRCC3 Thr/Met, XPD genotiplerinin OKB gelişimini kolaylaştırabileceğini ileri sürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Obsesif kompulsif bozukluk, DNA tamir, polimorfizm, XRCC3, XPD

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 20606

## ABSTRACT

Çelik, R. (2013). Investigation of DNA Repair Genes in Patients with Obsessive Compulsive Disorder. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Medicine. Doctoral Thesis. İstanbul.

Obsessive–compulsive disorder (OCD) is one of the important psychiatric disorders identified by mostly obsessions and compulsions. While obsessions have intrusive and disturbing thoughts, compulsions have repetitive stereotypic behaviors, which are usually associated with anxiety or dread. Several studies have pointed that molecular genetic and gene expression including familial and twin situations has alteration on OCD. It was thought that DNA repair system could be use as a molecular marker on OCD. In this study it is aimed to evaluate the distribution between polymorphisms in the DNA repair, which are XRCC1, XRCC3, XPD, XPG, APE1, HOGG1, and OCD in Turkish patients. The present analyses are based on 100 case subjects with Obsessive Compulsive Disorder and 122 non-case subjects. Genotyping were detected by PCR-RFLP. The results have shown that the study groups who have XRCC3 Thr+, statistically significant differences between patients %88 than control groups (P:0,03). In addition to this, in patients group, who have XRCC3 Thr/Met genotype, has found statistically significant differences than controls (P:0,002). According to statistical results, XPD Lys+ genotype was significantly increased in patients (95%) compared with controls (86.1%) and carriers of Lys+ genotype had a 3-fold increased risk for OCD (P:0,027). Lys/Lys genotype was found increased in patients (60%) compared with controls (34.4%) (P:0,000). XPD Gln+ frequencies was found increased in controls (65.6%) compared with patients (40%) and analyzed that Gln+ genotype had 2.8-fold preservative for OCD (P:0,000). Moreover, it was seen that Lys/Gln genotypes has found statically increased in controls than the patients (P:0,013). We did not find any significant differences for APE Asp148Glu, XPG Asp1104His, HOGG1 Ser326Cys and XRCC1 Arg399Gln genotype and allele frequencies between patients with OCD and controls (p>0.05). Our findings have suggest that XRCC3 Thr+, XRCC3 Thr/Met, XPD genotype could faciliate the development of OCD.

**Key Words:** Obsesive Compulsive Disorder, DNA repair, polymorphism, XRCC3, XPD

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 20606

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obsesif kompulsif bozukluk (OKB), obsesyon ve/veya kompulsiyonlar ile karakterize ruhsal bir bozukluktur. Obsesyon veya saplantı kendiliğinden bilinç alanına giren, yineleyici, sıkıntı yaratan, kişinin saçma ve yanlış olduğunu bildiği düşünce, dürtü yada imajlardır. Kompulsiyon ise genelde bir obsesyona engel olmak için belli kurallarla yapılan motor veya mental eylemlerdir. Obsesyonlar zaman kaybettirici olabilir, kişinin normal rutinine, mesleki işlevlerine, olağan sosyal aktivitelerine, arkadaş ve aile ilişkilerine önemli ölçüde engel teşkil edebilir. OKB ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar genetik geçişin olabileceğini göstermekte, fakat bu genetik özelliğin ne olduğunu, geçişte majör bir gen etkisinin olup olmadığı konusunda tanımlama yapmaya yetmemektedir.

Bütün hücreler DNA hasarlarının tamir edilmesinden sorumlu sistem ya da yollar içerir. Eğer hücreler DNA tamirini gerçekleştiremezlerse hücrenin anormal olarak bölünmesin önlemek için programlanmış hücre ölümüne (apoptozis) uğrarlar. DNA tamiri hücrenin canlı olarak kalabilmesi için hayati önem taşıdığından, hücreler DNA tamiri ile ilgili yollar içerirler.

DNA tamir sistemindeki bozukluklardan kaynaklanan Friedrich ataksisi, Alzhemier ve ataxia telangiectasia gibi nörodejeneratif birkaç hastalık rapor edilmiştir. Robbins tarafından ileri sürüldüğü gibi DNA tamir genleri erken dönemdeki nöron ölümünü engellemek için gereklidir. Genetik olarak kalıtsallık gösteren hastalıklar için, 'nöronal DNA bütünlük teorisi' tamir edilememiş bir DNA lezyonunun kalıtımının, zararlı DNA oluşumu ile sonuçlandığını ve bunu takiben nöronal dejenerasyonların oluştuğu belirtilmektedir (Hung ve ark 2005, Robertson ve ark 2009).

DNA tamir mekanizmalarında oluşabilecek bir fonksiyon bozukluğu mutasyona, genom kararsızlığına ve hücre ölümüne neden olur. Bu ise zararlı DNA oluşumuna ve nöronal dejenerasyona katkı verebilecek bir gelişmedir. Hipotezimizin temelini oluşturan bu çalışma ile ilgili henüz yayınlanmış bir makale bulunmamaktadır. Bu bilgilerin ışığında, obsesif kompulsif tanısı konmuş hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda DNA tamir mekanizması genlerinden APE1, hOGG1, XRCC1, XRCC3, XPD ve XPG genleri incelenecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB)

#### 2.1.1. Tanım

Obsesif kompulsif bozukluk (OKB), irrasyonel veya mantıksız bulunan, belirgin gerginliğe neden olan veya işlevselliği önemli ölçüde etkileyen; yineleyici, zorlayıcı düşünceler, imgeler ve/veya kompulsiyonların varlığı ile karakterize nöropsikiyatrik bir hastalıktır (Işıklı ve Gönül 2012, Karşlıoğlu ve Yüksel 2007). Obsesyonlar; gereksiz, saçma veya mantıksız olarak tekrarlayıcı ve istemsiz bir şekilde ortaya çıkan istenmeyen düşünce, hayal veya dürtüler olarak tanımlanabilir. Kişide anksiyete ve rahatsızlık hissi oluşturan bu takıntılar kişinin kendi mental süreçlerinden kaynaklanmakla birlikte oluşumu kişinin kendisine aittir. Gittikçe artan şekilde zihinde oluşan kelimeler, düşünceler, korkular, hatırlatıcılar, imajlar, görüntüler bulunabilir. Kompulsiyonlar ise sıklıkla obsesyonlara bir cevap olarak oluşan davranışlar olarak belirtilebilir. Obsesyonlar sonucu oluşan kaygı, stres ve baskıyı hafifletmeye dönük tekrarlayıcı, gereksiz, saçma, mantıksız olabilen hareketler olup istemsiz ve sekonder olarak kişinin kendini rahatlatmaya yönelik oluştuğu bilinir (Stein 2002, Abalı 2012).

Obsesyonlar genellikle bulaşma, kuşku, simetri, dini veya cinsel konularla aşırı uğraşları içerir ve özgün bir ritüel yerine getirilmezse kötü şeyler olacağı önsezisi ile birliktelik gösterir. Obsesyonlar koşullanmış uyaranlar olarak anksiyeteye neden olur ve ortaya çıkan kaygı kompulsiyonlarla giderilmeye çalışılır. Kompulsiyonlar yıkama, temizlik, kontrol, tekrarlama, sayma, düzenleme ve biriktirme şeklindedir. Kompulsiyonlar çoğunlukla fiziksel bir hareketi içermesine karşın, özgün duaları veya düşünceleri tekrarlama gibi mental ritüeller şeklinde ve daha basit tik benzeri bir karakterde olabilir. Bunlar, huzursuzluğun ortadan kalkması ve "şimdi oldu" duygusu yaşanana kadar tekrarlamaları gerektirebilir (Karşlıoğlu ve Yüksel 2007, Atmaca 2012, Yorulmaz 2012).

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

OKB yarattığı işlev bozukluğu ve yaşam kalitesinde düşme meydana getirmesi nedeni ile Dünya Sağlık Örgütü tarafından dünya üzerinde en fazla işlev kaybı yaratan ilk on tıbbi durum arasında kabul edilmiştir (Pauls 2008, Şengül ve Herken 2012, Yorulmaz 2012) OKB genel popülasyonda polar bozukluk ile şizofreniden daha

yaygındır. Farklı toplum ve kültürlerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda OKB'nin yaşam boyu prevalansının %1-3 arasında olduğu saptanmıştır (Maia ve ark 2008, Pauls 2008, Karaman ve ark 2011, Yorulmaz 2012). Ülkemizde yapılan bir çalışmada çocuk ve ergen psikiyatrisi polikliniğine başvuran hastaların %2.7'sinde OKB saptanmıştır (Karaman ve ark 2011). Bununla birlikte ICD-10 (Dünya Sağlık Örgütü,1994) kriterlerine göre ülkemizdeki yaygınlık oranının %0,5 olduğu, DSM (Amerikan Psikiyatri Birliği, 2000) kriterlerine göre ise bu oranın %3 olduğu bildirilmiştir (Yorulmaz 2012).

### **2.1.3. Başlama yaşı ve cinsiyet**

Bozukluk ortalama olarak 20-25 yaş dolaylarında başlar (Işıklı ve Gönül 2012). Bununla birlikte 9-11 yaşlarında başladığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Ulay 2010). Başlama yaşı erkeklerde biraz daha erken; kadınlarda biraz daha geçtir. Daha önceki çalışmalarda kadınlarda daha sık olduğu belirtilmesine rağmen daha sonraki çalışmalarda böyle bir farklılık saptanmamıştır (de Mathis ve ark 2011, Yorulmaz 2012). Erişkin hastaların 1/3-1/2 kadarında OKB belirtilerinin çocukluk çağında başladığı bilinir. OKB çocukluk çağında erkeklerde 1,5 kat daha fazla görülürken, ergenlik döneminde kız ve erkeklerde yaklaşık olarak aynı oranlarda ortaya çıkmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar tedavi edilmezse çocukluk döneminde başlayan OKB'nin oldukça kronik seyredebileceğini göstermektedir (Ulay 2010). Her ne kadar OKB'nin genel olarak kadın ve erkeklerde görülme sıklığının benzer olduğu düşünülse de cinsiyet farklılığı esas olarak belirti alttıplerinde gözlendiği bilinmektedir. Örneğin temizlik alttıpi kadınlarda, kontrol alttıpi erkeklerde daha sık rapor edilmektedir (Boileau 2011, Yorulmaz 2012).

### **2.1.4. Klinik görünüm**

OKB rahatsızlık yaratan obsesyonların ya da kompulsiyonların bulunmaları ile karakterizedir (Bayraktar 1997, Yorulmaz 2012). OKB Amerikan Psikiyatri Birliği'nin hazırladığı DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- Fourth Edition) sınıflandırma sisteminde anksiyete bozuklukları grubunda; ICD-10 (International Classification of Diseases-Tenth Edition)'da ise "Nevrotik, strese bağlı ve somatoform bozukluklar" başlığı altında sınıflandırılmaktadır (Bayraktar 1997).

Tanıya yönelik değerlendirmeler esnasında ayrıntılı görüşmeler yapılmakta bunun yanı sıra, psikometrik özellikleri desteklenmiş ve uluslararası geçerliğe sahip bir

dizi ölçüm aracı kullanılmaktadır. Bunların başında DSM-IV için Yapılandırılmış Klinik Görüşmeler Formu, DSM-IV için Kaygı Bozuklukları Görüşme Formu ve Yale-Brown Obsesif Kompulsif Ölçeği gelmektedir. Ayrıca Clark-Beck Obsesif Kompulsif Envanteri, Obsesif Kompulsif Envanteri- Gözden Geçirilmiş Form, Maudsley Obsesif Kompulsif Envanteri gibi ölçekler de bulunmaktadır. Bu formlar DSM tanı kriterleri doğrultusunda bilimsel araştırmalarda ve uygulamadaki klinik değerlendirmede sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca hastanın kendisinin de doldurabileceği bir öz-bildirim formu da bulunmaktadır (Yorulmaz 2012).

Klinikte hemen hemen her zaman obsesyon ve kompulsiyonların her ikisi birden bulunur. Bir bozukluk tanısı koymak için semptomlar belirgin sıkıntı yaratmalı, günde en azından bir saatin boşa harcanmasına sebep olmalı ve işlevselliği bozmalıdır. DSM IV'teki değişiklikler OKB'yi diğer bozukluklardan daha açıkça ayırır. Çocuk ve ergenlerde en sık görülen belirti bulaşma obsesyonudur. Bunu yıkama, yıkanma, temizleme ya da bulaşmış olduğu düşünülen nesneden kompulsif tarzda kaçınma izler. Korkulan nesne genellikle kaçınılması zor olan bir nesnedir (feçes, idrar, toz ya da mikrop gibi). Korkulan nesneye karşı en çok duyulan duygusal tepki anksiyete olursa da obsesif utanç, iğrenme ve tikslenme de sık görülür. En sık obsesyonun bulaşma (%49) en sık görülen kompulsiyonun ise temizlenme (%68) ve bu kompulsiyon kümesi içinde de en sık görülen el yıkamanın olduğunu bildirilmiştir. En sık gözlenen ikinci belirti örüntüsü kuşku obsesyonudur. Bu obsesyonu kontrol etme kompulsiyonu izler. Üçüncü en sık görülen tablo kompulsiyon olmaksızın, zihne yerleşen obsesyonel düşüncelerin bulunmasıdır. Bu obsesyonlar genellikle cinsel ya da saldırgan bir eylemle ilişkili yineleyici düşüncelerdir ve hasta bu düşüncelerinden dolayı kendi kendini kınar. Daha az olarak da simetri ya da kesin olma obsesyonları saptanmaktadır. Bunu yavaşlama kompulsiyonu izler. Bu hastaların yemek yemeleri, tıraş olmaları saatler alır. Obsesif kompulsif hastalarda dinsel obsesyonlar ve istifçilik de sık gözlenir (Bayraktar 1997, Stein 2002, Boileau 2011, Yorulmaz 2012).

### **2.1.5. Etyoloji**

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, OKB'nin etyolojisinin tek bir kuramla açıklanamayacağını göstermektedir. Pavlov ve Maseran gibi yazarlar, obsesyonel nevrozun hatalı koşullanmaya bağlı olarak ortaya çıktığını, Freud ve onu izleyen psikoanalitik kuramcılar bilinç dışındaki dürtülerin baskısı ile ruhsal ve cinsel gelişimin

anal sadistlik dönemine gerilemenin obsesyon sorununu doğurduğunu ifade ederken, davranışçı görüş de öğrenme ilkeleri üzerine yerleştirilmiştir (Boileau 2011, Abalı 2012). Son yıllardaki çalışmalarda ise daha çok biyolojik teoriler üzerinde durulmaktadır.

#### **2.1.5.1. Görüntüleme çalışmaları**

OKB ile bilgilerin elde edilmesinde nörogörüntüleme çalışmaları önemli yer tutmakta ve bozukluğun nöroanatomisine ilişkin veriler elde edilmesini sağlamaktadır. OKB nöroanatomisi konusunda anahtar bölgeler olarak nitelendirilen orbitofrontal korteks, talamus, kaudat çekirdek ve anterior singulat korteks ile ilgili çalışmalar uzun yıllardır incelenirken; hipokampus ve amigdala kompleksi, hipofiz bezi gibi diğer alanlar da hormonal ve nörotransmitter ilişkileri nedeniyle önem kazanmaya başlamıştır. Nörogörüntüleme çalışmalarında bilgisayarlı beyin tomografisi (CT), manyetik rezonans görüntülemesi (MRI), tek foton emisyon bilgisayarlı tomografisi (SPECT) ve pozitron emisyon tomografisi (PET) teknikleri kullanılmaktadır. Bunlarla birlikte ilaç tedavileri ve psikoterapötik yaklaşımların bu bölgeler üzerindeki yapısal etkilerinin incelenmesi ile ilgili çalışmalar da yapılmaktadır (Topçuoğlu ve ark 2007, Atmaca 2012).

Nörogörüntüleme çalışmalarından elde edilen verilere göre OKB'nin kortikostriatotalamokortikal yolakta işlevsel patoloji olması sonucu gelişen bir hastalık olduğu belirtilmektedir (Karşlıoğlu ve Yüksel 2007, Topçuoğlu ve ark 2007, Atmaca 2012). Günümüzdeki bilgiler bu yolağın, bazal gangliyonlarını içeren hareket bozukluklarından birçok psikiyatrik hastalığa kadar önemli bir grup nöropsikiyatrik hastalıkta bozukluk gösterdiğine işaret etmektedir (Atmaca 2012). Özellikle orbitofrontal korteks ve anterior singulat kortekste aktivite artışı söz konusudur. Bu yolakta önemli role sahip nörotransmitterler ve reseptörleri bu bozukluktan sorumlu olabilirler. Bu alanda yapılan çok sayıda çalışma olmasına karşın, sonuçların yeterli ölçüde tutarlı olmaması, hastalığın heterojen doğası ve patogenezinin karmaşıklığı ile ilgili olabilir. Serotonin ve dopamin ile ilgili nisbeten çok veri olmasına karşın bu yolakta önemli rol oynayan glutamat, norepinefrin ve Gama-aminobutirik asit (GABA) gibi nörotransmitterler kısıtlı sayıdaki araştırmaya konu olmuştur. Serotonin ve dopamin arasındaki etkileşim gibi serotonin ve glutamat arasındaki etkileşim de hastalığın seyrinde önemli olabilir (Nestadt 2011, Atmaca 2012).

### **2.1.5.2. Nörobiyolojik çalışmalar - Nörotransmitter Anormallikleri**

#### **Serotonin**

OKB’de serotonin nörotransmitteriyle ilgili anormalliklerin depresif bozukluk tanısı nedeniyle klomipramin kullanan hastaların OKB belirtilerinde düzelme olmasıyla başlamıştır. Bunun ardından yayınlanan klomipraminin OKB hastalarında etkili olduğunu belirten olgu bildirimleri OKB’nin etyolojisinde serotonin işlev bozukluğu olduğuna ilişkin hipotezin gelişmesine yol açmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda klomipraminin OKB tedavisinde desimipramin ve amitriptiline üstünlüğünün gösterilmesi bu hipotezi güçlendirmiştir. Günümüzde seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) OKB tedavisinde en etkili ilaçlar olarak kabul edilmesi serotonin hipotezini desteklemektedir. Ayrıca serotonin reseptör agonistleri olan sumatriptan ve meta-klorofenilpiperazinin (m-CPP) OKB hastalarında belirtilerin alevlendirmesi serotonin hipotezi ile uyumludur (Karaman ve ark 2011).

#### **Dopamin**

SSRI’larla yapılan tedaviden yeterince fayda görmeyen OKB hastalarının eklenen antipsikotik ilaç tedavisinden fayda görmesi OKB’nin etyopatogenezinde dopamin reseptörlerinde işlev anormalliği olduğunu düşündürmektedir. OKB hastalarında anterior singulat kortekste dopamin D1 reseptörlerinde işlev bozukluğu olduğu gösterilmiştir. (Karaman ve ark 2011).

#### **Glutamat**

Glutamat beynin birincil uyarıcı nörotransmitteridir. OKB’nin etyopatogenezinde glutamat işlevi bozukluğu olduğu ilk kez 1998’de bir olgu sunumunda bildirilmiştir. OKB olgularının beyin omurilik sıvısında (BOS) glutamat düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bir glutamat antagonisti olan riluzolün tedaviye dirençli OKB hastalarında tedaviye eklenmesiyle olumlu sonuçlar alınması OKB’nin etyolojisinde glutamatın rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (Karaman ve ark 2011).

### **2.1.6. Genetik Çalışmalar**

Günümüzde OKB ile ilgili yapılan araştırmaların önemli bir kısmını da genetik araştırmalar oluşturmaktadır. OKB genetiği çalışmalarının seyri de, şizofreni ve depresyon gibi diğer psikiyatrik hastalıklarla yapılan genetik çalışmalara

benzemektedir. OKB genetiği çalışmaları da klasik aile ve ikiz araştırmaları ile başlamış, sonrasında ilişki ve bağlantı analizi gibi temel moleküler biyolojik çalışmalar ile devam etmiş ve son yıllarda tüm genomun aynı anda incelendiği araştırmalar ile sürmektedir (Demet 2005)

#### **2.1.6.1. Aile Çalışmaları**

OKB’de ailesel geçiş 1930’lardan bu yana araştırılan bir konudur. Aile çalışmaları gözden geçirildiğinde özellikle erken başlangıçlı ve tik bozukluğunun eşlik ettiği OKB olgularında genetik geçişi destekleyen sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Swedo ve arkadaşları ile Lenane ve arkadaşları OKB’li çocuk ve ergenlerin birinci derece akrabalarında %20-25 gibi yüksek oranda OKB belirlemişlerdir. Bu yüksek sonuçlar örneklemenin ortalama yaşının düşük olmasına bağlı olarak erken başlangıcın daha fazla ailesel yüklülük ve daha yüksek geçişe neden olabileceğine bağlanmıştır. Pauls ve arkadaşlarının yaptıkları bir aile çalışmasında 100 OKB ve 100 kontrol ailesi incelenmiş, OKB’li grubun birincil derece akrabalarında %18.2 oranında OKB saptandığı bildirilmiştir. Nestadt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada OKB olgularının birinci derece akrabalarında OKB tanısı kontrol yakınlarına göre yaklaşık beş kat daha fazla bulunmuştur (sırasıyla %11.7 ve %2.7) (Demet 2005, Pauls 2008, Nestad ve ark 2011, Şengül ve Herken 2012).

#### **2.1.6.2. İkiz çalışmaları**

İkiz çalışmalarını incelediğimizde özellikle tek yumurta ikizlerinde yüksek OKB konkordansı olduğu gösterilmiştir. Carey ve Gottesman monozigot ikizlerde obsesif kompulsif belirtilerde %87, dizigot ikizlerde ise %47 konkordans saptadıklarını bildirmişlerdir. Groothuis ve ark. 2005 yılında yayınladığı kapsamlı bir gözden geçirme yazısında 1929 ila 2005 yılları arasında yayınlanmış OKB ile ilgili ikiz çalışmalarını incelemiş ve çocuklarda yapılan çalışmalarda genetik kalıtılabilirliğin %45-65, erişkinlerde ise %27-47 olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarda tek yumurta ikizlerinde genetik yapıların aynı olmasına rağmen konkordans oranının %100 olmadığı belirtilmiş; bu durum hastalığın ortaya çıkmasında çevresel faktörlerin de etkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Demet 2005, Kim 2006, Pauls 2010, Walitza ve ark 2010).

### 2.1.6.3. Bağlantı (Linkage) Çalışmaları

Klasik aile ve ikiz çalışmalarında genetik geçişin gösterilmesinin ardından bu geçişten sorumlu olan gen lokusları tespit edilmeye çalışılmıştır. Weissbeck ve ark.'nın 4p13 kromozom alanında OKB ile bir bağlantı saptamışken Hanna ve ark.'nın ise 9p24 kromozom alanını bağlantılı buldukları belirtilmiştir. Ancak genel olarak tüm psikiyatri genetiği araştırmalarında bağlantı analizi çalışmalarının farklı sonuçlar vermesi nedeni ile, son zamanlarda bu çalışmalar yerlerini tüm genomun incelendiği bağlantı araştırmalarına bırakmaktadır (Nestadt 2000, Şengül ve Herken 2012).

### 2.1.6.4. İlişkilendirme (Asosiyasyon) Çalışmaları

Bu çalışmalarda aynı anda tüm genomun incelenebilmesi bağlantılı kromozom yerini ve ilişkili gen polimorfizmini saptamada büyük avantaj sağlayacağı düşünülmektedir. Bu tekniklerin OKB hastalarında kullanılması ile ilgili yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. OKB'da ilk tüm genomun incelendiği bağlantı çalışması Shugart ve ark. 2006 tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada 1, 3, 6, 7 ve 15 numaralı kromozomlarda OKB ile bağlantılı bölgeler bulunmakla beraber en önemli bağlantı 3q27-28 kromozom bölgesinde bulunmuştur. OKB hastaları ile yapılan tüm genomun incelendiği başka bir bağlantı çalışmasında 1p21, 15q14, 16q24 ve 17p12 kromozom alanlarının OKB ile bağlantılı olduğunu saptamışlardır. Bu alanlardan OKB'la en güçlü bağlantılı olduğu düşünülen alanın 15q14 kromozom bölgesi olduğunu bildirmişlerdir (Şengül ve Herken 2012).

OKB ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar yalnızca genetik geçişin olabileceğini göstermekte, fakat bu genetik özelliğin ne olduğunu, geçişte majör bir gen etkisinin olup olmadığı konusunda tanımlama yapmaya yetmemektedir.

## 2.2. DNA Tamir Mekanizmaları

DNA onarımı, hücre ölümünü, mutasyonu, replikasyon hatalarını, DNA hasarının devamlılığını ve genomik kararsızlığı azaltan bütün işlemlerde kullanılır. Genomik DNA'nın bütünlüğü, farklı DNA hasarlarına neden olan ultraviyole, X-ışınları, kimyasal bileşikler gibi çevresel ajanlar ile sürekli tehdit altındadır. Hücresel metabolizmanın yan ürünü olarak üretilen serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA hasarına neden olmaktadır. Hücre, DNA hasarlarını DNA tamir mekanizmaları ile

onarabilir. DNA hasarı replikasyon sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa neden olur. BER (Baz Eksizyon Onarımı), NER (Nükleotid Eksizyon Onarımı), DSB (DNA Çift Zincir Onarımı), MMR (Hatalı Eşleşme Onarımı) olmak üzere 4 ana DNA tamir mekanizması bulunmaktadır. Şimdiye kadar insan hücrelerindeki DNA tamir mekanizmalarında görev alan 100'den fazla protein saptanmıştır. Ultraviyole ışığının neden olduğu siklobütan pirimidin dimerleri gibi çeşitli DNA hasarları NER mekanizması, oksidatif hasarlar ise BER mekanizması ile tamir edilmektedir (de Boer ve Hoeijmakers 2000, Sancar ve ark 2004, Robertson ve ark 2009, Jeppesen ve ark 2011) .

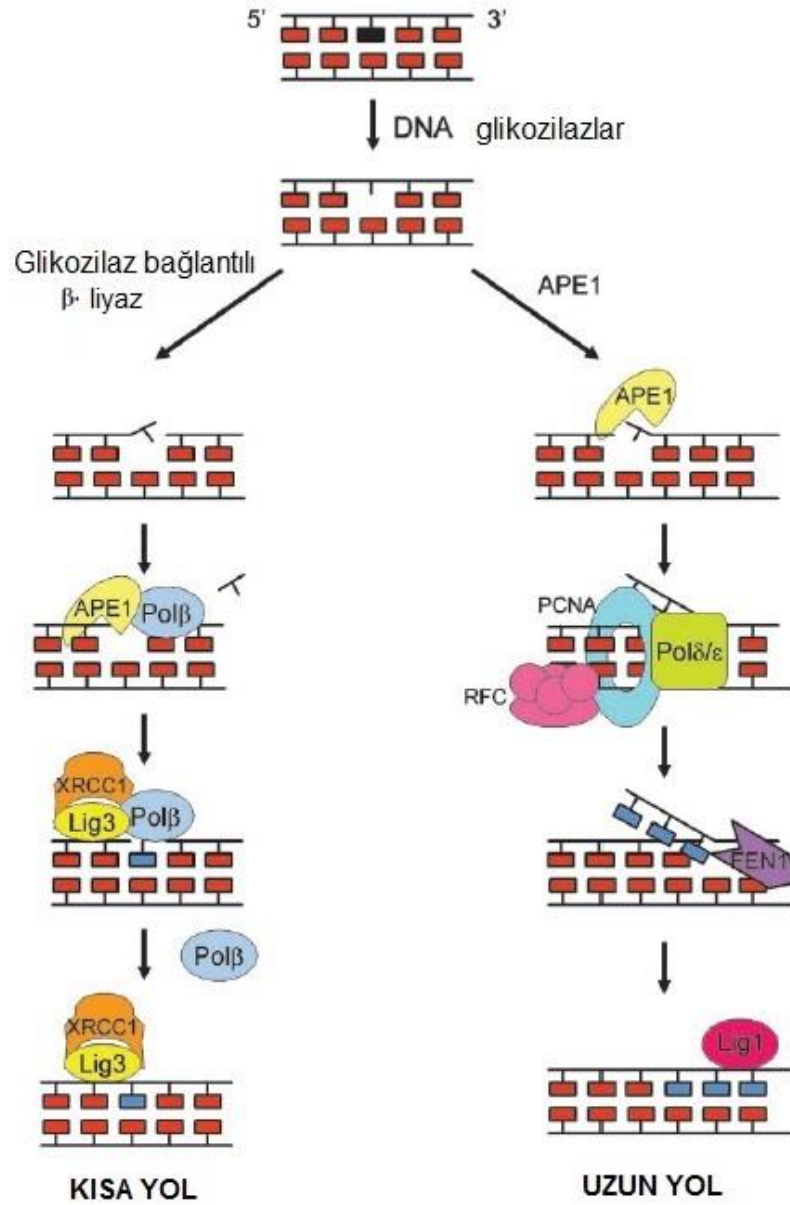
### **2.2.1. BER (Baz Kesip Çıkarma Onarımı-Base Excision Repair):**

BER (DNA-baz kesip çıkarma onarımı) ile okside/redükte, alkillenmiş (çoğunlukla metillenmiş), deamine olmuş (urasil, ksantin gibi) veya yanlış eşleşmiş bazların onarımını sağlar. BER tamir mekanizması iki alt yolak bulunur; kısa yolda tek nükleotid değişimi varken, uzun yollarda 2-10 arası nükleotidin hasarlı bölgeye yerleştirilmesi ile sonuçlanır. BER genel bir onarım mekanizması olup hasarlı ve yanlış yerleştirilen bazların uzaklaştırılmasında işlev görmektedir (Sancar ve ark 2004, Robertson ve ark 2009).

Baz kesip çıkarma onarımı, baz uzaklaştırılması ve apürinik veya apirimidik (AP) bölge oluşması, AP bölgesinin kesilip çıkarılarak uzaklaştırılması, sentez ve ligasyon aşamalarından oluşur. BER'de; DNA glikozilazlar, APE (AP endonükleaz), DNA polimeraz ve DNA ligaz enzimleri yer alır (Robertson ve ark 2009).

BER mekanizmasında ilk adım, DNA glikozilazlar tarafından hatalı bazların tanınmasıdır. DNA glikozilazlar, bazın sadece hidrolitik uzaklaştırılmasını ve apürinik/apirimidik bölgelerin oluşturulmasını sağlarken bazıları ise liyaz mekanizması ile bazı ayırır ve AP liyaz reaksiyonunu katalizler. Hasarlı baz tanındıktan sonra uygun bir DNA glikozilaz tarafından N-glikozidik bağından kopartılarak AP bölgesi oluşturulur. Apürinik veya apirimidik bölgelerin APE1 endonükleaz tarafından zincirden çıkarılması takip eder. Reaksiyon sonunda 5'fosfomonoester ve 3'doymamış şeker fosfat kalıntısı meydana gelir. Liyaz reaksiyonundan sonra 3'-şeker kalıntısı bir AP endonükleaz aracılığıyla uzaklaştırılır ve DNA polimeraz ile doldurulan bir boşluk oluşur. Boşluklar, nükleotid(ler) ile kısa BER alt yolağında DNA polimeraz- $\beta$  (Polb), uzun BER alt yolağında Polb ve/veya Pol  $\epsilon$  veya  $\delta$  aracılığıyla doldurulur. Zincir

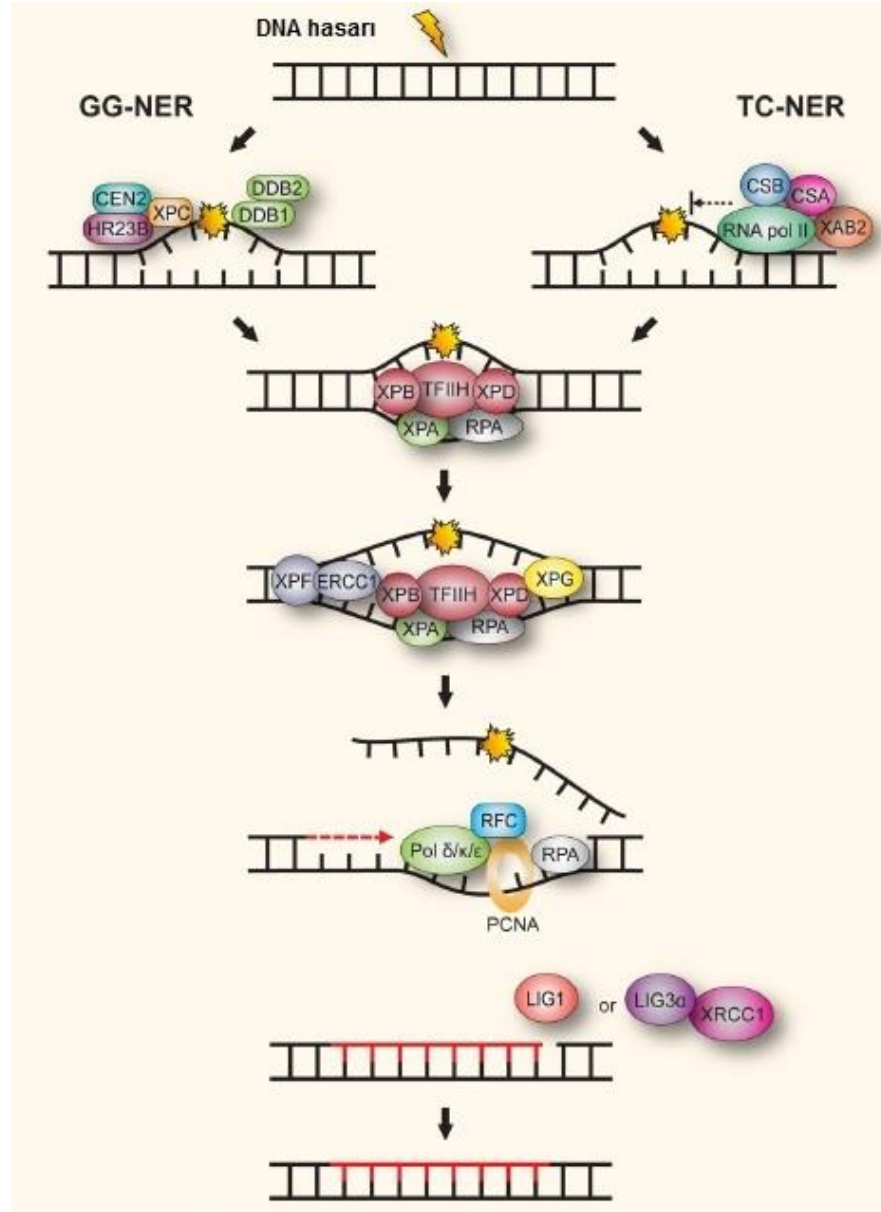
uzaması, kısa BER alt yolağında XRCC1/ligazIII kompleksi tarafından gerçekleştirilir. Uzun BER alt yolağında, ligasyon gerçekleşmeden önce diğer proteinler tamir sürecinde görev alır. FEN1, PARP1 ve LigI üçlüsü DNA sentezi-ligasyonu adımlarına katılır ve 2-10 baz arasındaki bölgeyi değiştirebilir. Son olarak tamir DNA ligazlar tamir sürecini tamamlar ve boşluğun kapatılması ile sarmalın bütünlüğü tekrar sağlanır (Şekil: 2-1) (Sancar ve ark 2004, Hung ve ark 2005, Martin 2008).



Şekil 2-1: BER (Baz Kesip Çıkarma Onarımı) mekanizması (Sancar ve ark 2004)

### 2.2.2. NER (Nükleotid Kesip Çıkarma onarımı-Nucleotid excision repair):

NER (Nükleotid kesip çıkarma onarımı) hasarlı DNA bölgesinin tanınması ve tamirinden oluşan bir seri reaksiyondan oluşur. Bu mekanizma, primidin dimerler, ultraviyole radyasyonun indüklediği foto ürünler, kimyasal olarak indüklenmiş ürünler, çapraz bağlar gibi daha büyük hasarları onarma özelliğine sahiptir (Rao 2007, Jeppesen ve ark 2011).



Şekil 2-2: NER (Nükleotid Kesip Çıkarma Onarımı) mekanizması (Jeppesen ve ark 2011)

İki NER alt yolağı tanımlanmıştır. Bunlardan brincisi genom boyunca lezyonların tespiti ve uzaklaştırılması sağlayan global genom tamiri (GGR), diğeri aktif olarak transkribe edilen genleri tamir eden transkripsiyon ile eşleşmiş genom tamiri (TCR)'dir. NER, DNA lezyonun tanınması ile başlar, DNA lezyonun yanındaki bir bölgeden (kesilmesi ile takip eder, DNA lezyonu içeren oligonükleotidin uzaklaştırılması ile sonuçlanır. Daha sonra, DNA zincirinin DNA polimeraz I ile uzatılarak boşluğun doldurulması ve ligasyon basamağı izler. GGR ve TCR ortak proteinler içerir ve tamir aşamaları benzer olarak ilerler. Ancak DNA lezyonunun tanımlanması farklıdır (de Boer ve Hoeijmakers 2000, Sancar ve ark 2004, Jeppesen ve ark 2011). DNA'nın yapısını 6-4 fotoürünler (6-4PPs), siklobütan pirimidin dimerlerine göre daha çok bozar. 6-4 fotoürünlerin oluşturduğu hasar, çoğunlukla hızlı bir şekilde GGR onarımı ile tamir edilir. TCR onarımı ile bu hasarın tespiti daha zordur. Siklobütan pirimidinleri (CPDs), GGR onarımı ile yavaş bir şekilde uzaklaştırılır. Bu hasarın TCR ile onarımı, eksprese edilen genlerin transkribe olan zincirinden daha etkili yapılır. TCR ile transkribe olan DNA, transkribe olmayan DNA'ya göre daha hızlı tamir edilmektedir. TCR onarım mekanizmasında hasarın tanınması hariç diğer basamakların aynı olduğu belirtilmektedir. Hasarlı DNA bölgesinde RNA polimeraz II'nin ilerlemesi durur. Transkripsiyona kenetlenmiş onarım mekanizması XPC proteini hariç diğer onarım faktörleri, Cockayne sendromu grup A ve B [CSA, CSB] proteinlerinin varlığını gerektirmektedir. CSA ve CSB proteinlerinin transkripsiyonu onarım mekanizmasına nasıl kenetlediği henüz tam olarak bilinmemektedir. TCR mekanizmasının, hasarın daha hızlı tamirini sağladığı, böylece hasar nedeniyle durmuş transkripsiyonun hücre için öldürücü etkisinden hücreyi koruduğu düşünülmektedir. Lezyonun daha hızlı onarılması, transkripsiyonun durmasına bağlı zararlı etkileri en aza indirmektedir (de Boer ve Hoeijmakers 2000, Sancar ve ark 2004).

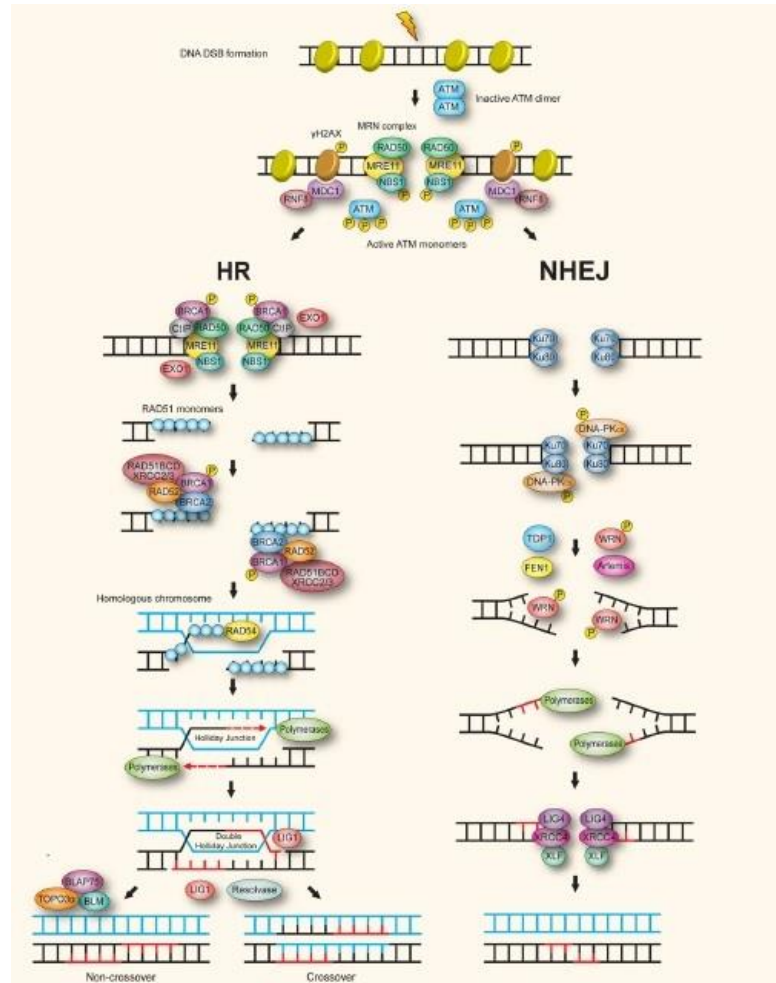
NER mekanizmasında hasarın tanınması ve hasar bölgesinin yaklaşık 24-32 nükleotid içeren oligonükleotid parçası olarak çıkarılması altı onarım faktörü [eksizyon nükleaz] ile sağlanır. Bu proteinler kseroderma pigmentozum grup A [XPA] proteini, replikasyon proteini A [RPA], kseroderma pigmentozum grup C [XPC] proteini, transkripsiyon faktörü IIIH [TFIIH], kseroderma pigmentozum grup G proteini [XPG], kseroderma pigmentozum grup F proteini ["Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency, complementation group 1" [ERCC1] proteini ile kompleks halde][XPF.ERCC1]] olarak tanımlanmıştır. Kseroderma pigmentozum grup A, RPA ve

genellikle TFIIH ile kompleks halde bulunan XPC proteinleri hasarlı DNA'nın tanınması basamağında işlev görmektedir. Onarım faktörleri normalde hasarlı olan veya olmayan DNA'ya bağlanma özelliği göstermektedir. Bu nedenle eksizyon onarım mekanizmasının hasarı tanıyarak hasarlı olan DNA'da onarım gerçekleştirirken, hasarlı olan/olmayan DNA ayrımını da yapabilmesi gereklidir. Kseroderma pigmentozum grup A, RPA ve genellikle TFIIH ile kompleks halde bulunan XPC proteinleri DNA hasarı bölgesine rastgele sırayla bağlanarak hasar olduğu düşünülen bölgede dörtlü bir kapalı kompleks oluştururlar. Bu dört proteinin bağlanması ile oluşan kapalı kompleks, o bölgede DNA hasarı bulunmuyorsa TFIIH'nin alt üniteleri olan helikaz özelliğe sahip kseroderma pigmentozum grup B [XPB] ve D [XPD] proteinler yardımıyla DNA'dan ayrılır. DNA, hasar içeriyorsa bu durumda ATP hidrolizi ile XPB ve XPD çift zincir DNA'daki hasar içeren bölgedeki yaklaşık 20-25 nükleotidlik kısmı çözerek burada bir tamir kabarcığı oluşturur. XPC proteininin bölgeden ayrılmasıyla XPG proteini tamir kompleksine katılır, XPF.ERCC1 proteinlerinin de bu komplekse eklenmesiyle ilk olarak hasarın 3' yönündeki  $6. \pm 3$ . fosfodiester bağından XPG, daha sonra da 5' yönündeki  $12. \pm 5$ . Fosfodiester bağından XPF.ERCC1 proteinleri kesme işlemini gerçekleştirir. Oluşan 24-32 nükleotidlik oligomer bu şekilde iki yönlü kesilerek bölgeden ayrılırken, oluşan boşluk tamir sentezi proteinleri olan replikasyon proteini C [RPC]/ proliferasyon hücre nükleer antijen [PCNA] ve DNA polimeraz  $\epsilon / \delta$  tarafından doldurulur. Son olarak DNA ligaz 1 ile ligasyon gerçekleşir (Şekil 2-2) (de Boer ve Hoeijmakers 2000, Sancar ve ark 2004, Cleaver ve ark 2009, Jeppesen ve ark 2011).

### 2.2.3. DSB (DNA çift kırık onarımı -DNA double break repair):

Genetik büyünlüğün kaybıyla sonuçlanabilen en toksik ve mutajenik lezyonlardan birisi DSB'dir. DSB'ler iyonize radyasyon ve genotoksik bileşenlerin etkisiyle direkt veya indirekt yollarla DNA hasarı yapan ekzojen kaynaklarla indüklenir. DSB'ler aynı zamanda hücre metabolizmadan kaynaklarının reaktif oksijen molekülleri, replikasyon sırasında replikasyon çatalının durması, mayotik rekombinasyon ve tamir sistemleri gibi endojen kaynaklarla da indüklenir. Sinir sistemindeki DSB'lerin varlığı sonucu hücre döngüsünün durmasına sebep olan veya hasarlı hücreleri apoptaza götüren sinyal yollarının başlamasına sebep olur. DSB tamiri için homolog rekombinasyon (HR) ve non-homologous end-joining (NHEJ) olmak üzere iki ana mekanizma bulunmaktadır. HR DNA replikasyonu ile bağlantılı

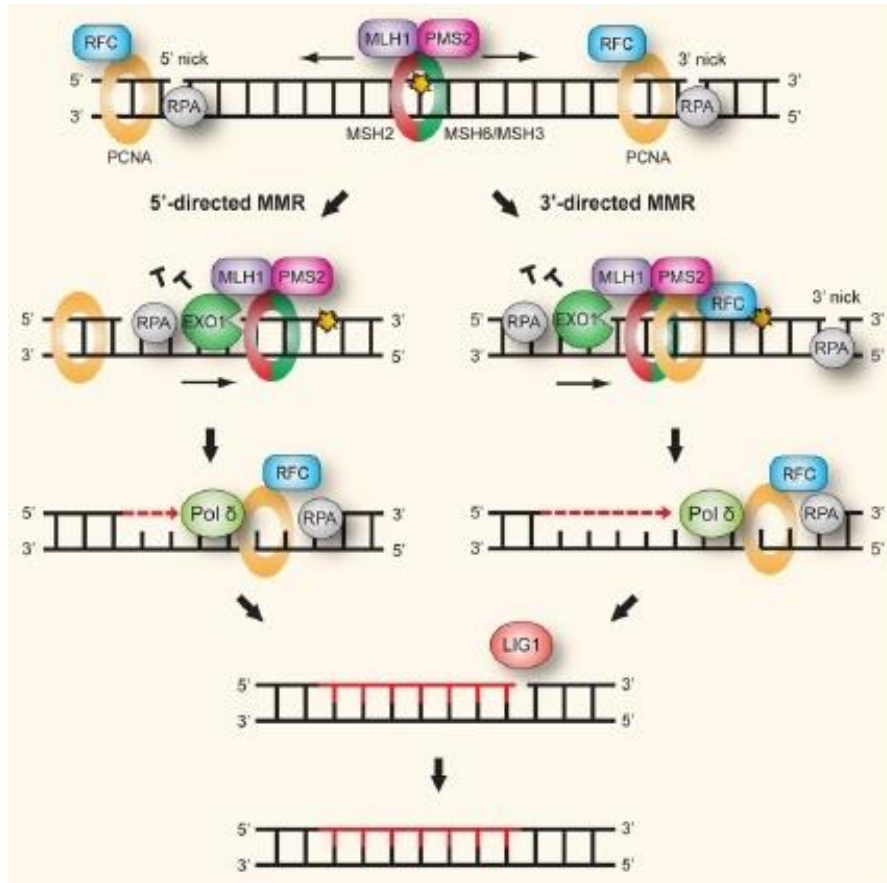
DSB'lerin kardeş kromatid iplikçiğın kalıp olarak kullanarak error-free tamirini sağlar. Bu sınırlamalar hücre bölünmesi esnasında sister kromatid varlığında gerçekleşir. Ek olarak HR replikasyon çatalı, telomer devamlılığın ve mayoz I'de kromozom segrasyonunun korunmasında esansiyeldir. HR embriyonik sinir sisteminin gelişiminin erken proliferatif evresi boyunca predominant DSB tamir mekanizması olarak kabul edilir. NHEJ DSB'nin iki kırık ucunu modifiye eder ve birbirine bağlar. Bu işlemde hasara uğramamış DNA kalıbına ihtiyaç olmadan DSB'lerin error-prone tamiri sağlanır. NHEJ hücre siklusu bağılı olmaksızın çalışabilir ve diferansiye olmuş hücrelerde tamir yapabilir. NHEJ sinir sistemin hücrelerinin post-mitotik hücrelerden oluşması sebebi ile beyindeki DNA DSB'lerinin tamirinde görev alan esas tamir mekanizmasıdır. Hangi mekanizmanın seçileceği hücre döngüsü ve bu mekanizmalara spesifik bileşenler ile düzenlenir. İki mekanizma DSB'lerin tamirinde koopere olarak işlev görebilirler (Sancar ve ark 2004, Jeppesen ve ark 2011).



Şekil 2-3: DSBR (DNA çift kırık onarımı) mekanizması (Jeppesen ve ark 2011)

#### 2.2.4. MMR (DNA yanlış eşleşme tamiri - DNA mismatch repair):

DNA yanlış eşleşme tamiri (MMR) baz-baz yanlış eşleşmeleri ile replikasyon ve rekombinasyon esnasında ortaya çıkan insersiyon delesyon loop'larının uzaklaştırılmasında ve kaldırılmasında görev alan mekanizmadır. Bu mekanizma ile replikasyonun 50-1000 kat daha güvenilir olması sağlanır. Baz-baz yanlış eşleşmeleri, oluşan hataların DNA polimerazların çerçeve okuma fonksiyonlarından kaçması ile ortaya çıkar. İnsersiyon-delesyon loop'lar ise primer ve kalıp iplikçiğin mikrosatellit-tekrar ünitelerinin yeni sentezlenen iplikçiğe farklı şekilde bağlanması ile oluşur. MMR'deki hatalar mutajenez oranının artmasına, genomik stabilitenin bozulmasına sebep olur ve kanserlerle ilişkilidir. MMR sistemi mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamış olup yeni bulunan protein yapıları ile tekrar değerlendirilmektedir ve bir kaç çalışma modeli oluşturulması ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Jeppesen ve ark 2011).



Şekil 2-4: MMR (DNA yanlış eşleşme onarımı) mekanizması (Jeppesen ve ark 2011)

DNA tamir sistemindeki bozukluklardan kaynaklanan Friedrich ataksisi, Alzhemier ve ataxia telangiectasia gibi nörodejeneratif birkaç hastalık rapor edilmiştir. Robbins tarafından ileri sürüldüğü gibi DNA tamir genleri erken dönemdeki nöron ölümlerini engellemek için gereklidir. Genetik olarak kalıtsallık gösteren hastalıklar için, ‘nöronal DNA bütünlük teorisi’ tamir edilememiş bir DNA lezyonunun kalıtımının, zararlı DNA oluşumu ile sonuçlandığını ve bunu takiben nöronal dejenerasyonların oluştuğunu söylemektedir (Hung ve ark 2005, Robertson ve ark 2009)

### **2.3. APE1 (Apürinik/Apirimidik endonükleaz 1)**

Apürinik/Apirimidik (AP) endonükleaz olan APE1, DNA baz eksizyon onarımında önemli bir rol oynar. Ayrıca okside ve redükte olmuş baz düzenlenmesinde, DNA adduktlarının düzeltilmesinde ve metillenme ajanlarının üretiminde etkisi vardır. APE1 BER’de hız kısıtlayıcı bir enzimdir. DNA iskeletinden hatalı bazın çıkartılmasıyla boş kalan abazik bölgede BER sürecini başlatır. APE1 geni kromozomun 14q11.2-q12 bölgesinde bulunur, yaklaşık 2.6 kilobazdır ve 5 ekzon içerir. Bu genin ürünü olan protein 317 amino asitten oluşur ve moleküler ağırlığı yaklaşık 35 kDa’dur. APE1 geninde ekzon 5’teki aspartik asit glutamik asit değişikliğine sebep olan G-T değişikliği (Asp148Glu) ve ekzon 3’teki glutamik asit histidin değişikliğine sebep olan C-G değişikliği (Gln51His) gibi tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) belirlenmiş olup bunların enzim fonksiyonu üzerinde etkili olabileceği belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda overyan, gastroözofagal ve pankreas kanserlerinin prognozu üzerinde etkisi olabileceğini göstermiştir (Hung ve ark 2005, Karahalil ve ark 2012, Chang-Claude ve ark 2012)

### **2.4. hOGG1 (İnsan oksoguanin glikozilaz 1 - human oxoguanine glycosylase 1)**

İnsan oksoguanin glikozilaz 1 (human oxoguanine glycosylase 1; hOGG1) kesip çıkarma tamir mekanizmalarında anahtar rol oynayan bir enzimdir. hOGG1 geni ile kodlanan insan 8 -oksoguanin glikozilaz 1 (human 8-oxoguanine glycosylase 1 ;hOGG1) hasarlı DNA’dan kesip çıkarma tamir mekanizması ile 8-hidroksi-2-deoksiguanini (8-OHdG) direk olarak çıkarır. hOGG1 geni kromozomun 3p26.2 bölgesinde bulunur, yaklaşık 8 kilobazdır ve 6 ekzon içerir. Bu genin ürünü olan protein 345/351/424 amino asitten oluşur ve moleküler ağırlığı yaklaşık 39/47 kDa’dur. hOGG1 geninde 420’den fazla SNP belirlenmiş olup en sık çalışma yapılan polimorfizm ekzon 7 üzerindeki kodon326’daki C>T, baz değişimine bağlı serin sistein

değişikliğidir. hOGG1 geni Cys 326 polimorfizmine sahiptir. Cys326 genotipi, insan hücrelerinde 8-OHdG aracılığıyla mutagenезisi engeller. Bu polimorfizmin hOGG1 geninin kodlama bölgesinde olmasından dolayı protein stabilitesi ve fonksiyonunu etkileyebileceği belirtilmiş; hOGG1 kodon 326 polimorfizminin akciğer, özofagus ve mide kanseriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ronen ve Glickman 2001, Blasiak ve ark 2012).

## **2.5. XPG (Xeroderma pigmentosum grup G)**

Xeroderma pigmentosum grup G (XPG) geni NER yollarında görev yapan proteinleri şifreleyen 7 genetik komplemantasyon gruplarından biridir. XPG enzimi, XP komplemantasyon grup 64'ten sorumlu olan yapıya özel bir endonükleazdır. XPG proteini, NER'deki 2 kopma basamağında önemli rol oynar. XPG DNA'nın 3' ucundaki yaklaşık 5 nükleotidin hatalı olan kısma ayrılmasını katalizler. Ayrıca DNA'nın 5' ucundaki koparılmaya da enzimatik olmayan biçimde katılır. XPG geni kromozomun 19q22-q33 bölgesinde bulunur, yaklaşık 32 kilobazdır ve 15 ekzon içerir. Bu genin ürünü olan protein 1186 amino asitten oluşur ve moleküler ağırlığı yaklaşık 133 kDa'dur. XPG NER mekanizmasının merkezi bir bileşeni olup ekspresyonu DNA hasarı cevap sürecinde upregüle edilir. Promoter bölgesindeki polimorfizmler transkripsiyonun azalmasına buna bağlı olarak DNA tamir kapasitesinin düşmesine sebep olabileceği belirtilmektedir (Ronen ve Glickman 2001, Zu ve ark 2012). XPG geninde 70'den fazla SNP belirlenmiş olup bunlardan geniş ölçüde DNA tamir mekanizmasını etkileyen birkaç polimorfizm çalışılmıştır XPG'deki His1104Asp polimorfizmi ile akciğer kanseri riski arasındaki ilişki çalışılmış ve XPG His1104Asp polimorfizminin, akciğer kanserine genetik yatkınlığın sebebi olabileceği sonucuna varılmıştır (Zu ve ark 2012)

## **2.6. XPD (Xeroderma pigmentosum grup D)**

Kimyasal karsinojenler, örneğin; polisiklik aromatik hidrokarbonlar, aromatik aminler, N-nitroz bileşenler çoğunlukla nükleotid eksizyon tamiri ile tamir edilir. Xeroderma pigmentosum tamamlayıcı grup; XPD geni, nükleotid eksizyon tamiri ile timidin dimerleri gibi ilişkisiz lezyonları tamir eden DNA tamir mekanizması genidir. XPD bazal transkripsiyon faktör IIIH kompleksine bağlı olarak 5'-3' helikaz olarak işlev görür. Proteini, RNA polimeraz II tarafından RNA transkripsiyonun başlanmasında rol alır. XPD geni kromozomun 19q13.3 bölgesinde bulunur, yaklaşık 19 kilobazdır ve 23 ekzon içerir. Bu genin ürünü olan protein 760 amino asitten oluşur ve moleküler

ağırlığı yaklaşık 87 kDa'dur. XPD geninde 500'den fazla SNP belirlenmiş olup bunlardan geniş ölçüde iki tek nükleotid polimorfizm (SNP) çalışılmıştır. XPD Asp321Asn 10'nuncu ekzonunda, XPD geninin korunmuş bölgesinde aminoasit yer değişimine neden olduğu bulunmuştur. XPD Lys751Gln 23 polimorfizminin proteinin C-terminal bölgesinde amino asit değişimine neden olduğu bulunmuş ve bunun düşük DNA tamir kapasitesine sebep olduğu düşünülmektedir XPD ekzon 23 ve XPD ekzon 10 varyant alleleri yüksek oranda akciğer kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu polimorfizmlerin prostat, mesane kanserleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Blasiak ve ark 2012, Xue ve ark 2012).

## 2.7. XRCC1 ve XRCC3 (X-ray repair cross-complementing protein group 1 ve 3)

Reaktif oksijen türleri aynı zamanda baz hasarı, abazik alanlar ve tek ve çift zincirde kırılmaları tetikleyebilir. Tek zincir kırılmaları baz eksizyon tamir yoluyla (örneğin x-ray repair cross-complementing protein group 1 (XRCC1), proliferating cell nuclear antigen (PCNA)) sayesinde tamir edilir. XRCC1 proteini BER'de temel rol oynar bununla birlikte NHEJ ve tek zincir kırıklarının tamir mekanizmasında da rol alacağı belirtilmektedir. Çift zincir kırıkları ise homolog rekombinasyon (örneğin XRCC2-3) veya homolog olmayan uç eklenmesi yollarının her ikisiyle doğrulanır. XRCC1 geni kromozomun 19q13.2~q13.3 bölgesinde bulunurken, XRCC3 geni 14q32.3 bölgesinde bulunur. XRCC3 proteini, DNA çift zincir kırılması/rekombinasyonel onarımı olayına katılır ve kromozom kararlılığını ve DNA hasarı tamirini sağlamak için homolog rekombinasyona katıldığı tahmin edilen, Rad-51-ilişkili protein ailelerinden birisinin üyesidir (Thacker ve Zdzienicka 2003, Wang ve ark 2010)

İnsan XRCC1 geni yaklaşık 33 kilobazdır ve 17 ekzon içerir. Bu genin ürünü olan protein 633 amino asitten oluşur moleküler ağırlığı yaklaşık 70 kDa'dur. XRCC1 geninde 700'den fazla SNP belirlenmiş olup bunlardan kodon280'deki G>A, kodon194'teki A>G ve kodon399'daki Arginin glutamin değişiklikleri geniş çapta çalışılmıştır. Bu polimorfizmlerin gastrik, kolorektal, deri, meme gibi kanserlerle ilişkilendirilmiştir (Blasiak 2012). İnsan XRCC3 geni yaklaşık 16.3 kilobazdır ve 9 ekzon içerir. Bu genin ürünü olan protein 346 amino asitten oluşur moleküler ağırlığı yaklaşık 37.8 kDa'dur. XRCC3geninde en sık çalışma yapılan polimorfizm ekzon 7 üzerinde kodon 241'deki C>T baz değişimine bağlı Treonin Metyonin değişikliğidir.

XRCC3 241Met taşıyıcılarının lenfosit DNA addukt seviyelerinin 241Thr taşıyan bireylere göre daha yüksek olmasının bu polimorfizmi taşıyan bireylerin daha düşük DNA tamir kapasitesine sahip olduklarını göstermektedir. Bununla birlikte XRCC3 polimorfizmin farklı kanser tiplerinde çalışmaları yapılmış ve ilişkili olduğu 241Met varyantının ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Ronen ve Glickman 2001, Salah ve ark 2012)

DNA tamir mekanizmalarında oluşabilecek bir fonksiyon bozukluğu mutasyona, genom kararsızlığına ve hücre ölümüne neden olur. Bu ise zararlı DNA oluşumuna ve nöronal dejenerasyona katkı verebilecek bir gelişmedir. Hipotezimizin temelini oluşturan bu çalışma ile ilgili henüz yayınlanmış bir makale bulunmamaktadır. Bu bilgilerin ışığında, obsesif kompulsif tanısı konmuş hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda DNA tamir mekanizması genlerinden APE1, hOGG1, XRCC1, XRCC3, XPD ve XPG genleri incelendi.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmadaki örnek grubu İstanbul Erenköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi tarafından takip edilen OKB tanısı konmuş 100 hastadan oluşmaktadır. Kontrol grubu herhangi bir mental rahatsızlığı bulunmayan 122 kişiden oluşturulmuştur. Diğer klinik parametrelere ait ayrımlar yukarıda belirtilen klinik tarafından yapılmıştır. Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin bilgisi dahilinde alınan kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere aktarılmıştır. Kan örnekleri bu birim tarafından sınıflandırılarak İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı'na gönderilmiştir. DNA'lar en geç bir gün içerisinde çalışılmak suretiyle elde edilmiş ve oda ısısında saklanmıştır.

#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agaroz (Promega MBG), Amonyum asetat (Sigma A-8920), Amonyum klorür (Sigma A-5666), Amonyum sülfat, Asetik asit (MERCK K-04134156), Borik asit (Sigma B6768), Bromfenol blue (Sigma B-6896), DNA marker (Fermentas), EDTA (Merck K90602121), Etanol (%99 Tekel), Etidyum Bromid (Sigma E-8751), Hidroklorik asit (%37 Merck K-13190114), İzopropanol, Potasyum bikarbonat (Merck K-126223552), Potasyum hidroksit (Sigma P 1767) Primerler (Fermentas), Proteinaz K (Stratagene 300-141) Sodyum dodesil (lauryl) sülfat (Sigma L-5750), Sodyum hidroksit (Merck C754962), Sodyum klorür (Carlo Erba 368257), Trizma baz (Sigma T-1503), dNTP'ler (100 µmol/ml) (Fermentas), Taq polimeraz (5U/µl) (Fermentas), Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X), Xylene blue (Fermentas), FspBI-MaeI kesim enzimi (Fermentas), Fnu4HI kesim enzimi (Fermentas), PstI kesim enzimi (Fermentas), NlaIII kesim enzimi (Fermentas), PvuII kesim enzimi (Fermentas), Hsp92 kesim enzimi (Fermentas).

#### 3.3. İncelenen Polimorfik Gen Bölgelerine Ait Primer Dizileri

Çalışmada incelenen genlerin polimorfik bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizileri tablo 3-1'de verildiği şekildedir.

**Tablo 3-1: Çoğaltılacak polimorfik bölgelere ait primer dizileri**

| <b>Gen Bölgeleri</b>          | <b>Primerler</b>                                                                                      |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| APE Asp148Glu<br>rs 3136820   | İleri primer: 5'- CTG TTT CAT TTC TAT AGG CTA - 3'<br>Geri primer: 5'- AGG AAC TTG CGA AAG GCT TC -3' |
| XRCC1 Arg399Gln<br>rs 25487   | İleri primer: 5'- GCC AGG GCC CCT CCT TCA A- 3'<br>Geri primer: 5'- TAC CCT CAG ACC CAC GAG T -3'     |
| XRCC3 Thr241Met<br>rs 861539  | İleri primer: 5'- GGT CGA GTG ACA GTC CAA AC - 3'<br>Geri primer: 5'- TGC AAC GGC TGA GGG TCT T -3'   |
| XPD Lys751Gln<br>rs 1052559   | İleri primer: 5'- CCT CTC CCT TTC CTC TGT TC - 3'<br>Geri primer: 5'- CAG GTG AGG GGG GAC ATCT -3'    |
| XPG Asp1104His<br>rs 17655    | İleri primer: 5'- GAC CTG CCT CTC AGA ATC ATC- 3'<br>Geri primer: 5'- CCT CGC ACG TCT TAG TTT CC -3   |
| hOGG1 Ser326Cys<br>rs 1052133 | İleri primer: 5'- ACT GTC ACT AGT CTC ACC AG - 3'<br>Geri primer: 5'- GGA AGG TGC TTG GGG AAT - 3'    |

### 3.4. Kullanılan Gereçler

Elektroforez için güç kaynağı(Titan plus Helena Laboratories), Elektroforez sistemi(LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis), Hassas terazi (Shimadzu AX200) , Isıtıcıli manyetik karıştırıcı(Elektromag) , Mikrodalga fırın(Philco), Mikrosantrifüj (TDX), PCR cihazı (Applied Biosystems), pHmetre (Hanna), Pipet takımı (Brand), Santrifüj (Hereaus), Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag), Kodak Görüntüleme sistemi KODAK EDAS 290/UV Transilluminatör), Vorteks karıştırıcı (Nuve mix).

### 3.5. Kullanılan Çözeltiler

#### 3.5.1. Agaroz Jel Elektroforezi'nde Kullanılan Çözeltiler

##### Etidyum Bromür (10 mg/ml)

10 gram etidyum bromür tartılarak steril ddH<sub>2</sub>O ile 10 mililitreye tamamlandı.

##### Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 molarlık Etilen diamin tetra asetat, 1 mililitre 1 molarlık Tris (pH 8.0), 200 miligram Brom fenol blue, 200 miligram

Xylen cyanol tartılarak steril ddH<sub>2</sub>O ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

#### **50x Tris - Asetik asit - Etilen Diamin Tetra Asetat (TAE) Tamponu**

242 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı. Üzerine 57,1 mililitre Glasiyal asetik asit ve 100 ml 0,5 molarlık Etilen diamin tetra asetat ve 800 mililitre ddH<sub>2</sub>O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Balon jojeye aktararak 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

#### **5X Tris-Borik Asit-Etilen Diamin Tetra Asetat (TBE) Tamponu**

54 gram Tris baz ve 27,5 gram Borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. Üzerine 20 mililitre 0.5 molarlık EDTA (pH'sı 8.0) ve 800 ml ddH<sub>2</sub>O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Çözelti balon jojeye aktararak 1 litreye tamamlandı ve 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Hazırlanan çözelti oda ısısında saklandı.

### **3.6. Kullanılan Yöntemler**

#### **3.6.1. İnvitrogen Purelink Genomik DNA Kit ile Kandan DNA İzolasyonu**

Invitrogen Purelink Genomic DNA Kit ile izolasyon yapıldı.

#### **DNA İzolasyonunda Kullanılan Kit İçeriği ve Hazırlık Aşaması**

Invitrogen Purelink Genomic DNA Kit içeriği; RNase, Proteinaz K, PureLink Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu , Elution Buffer, Yıkama Solüsyonu 1 ve Yıkama Solüsyonu 2, PureLink Koleksiyon tüpü .

Başlamadan önce, DNA izolasyon kiti içerisindeki yıkama solüsyonları, her etiketin üstündeki yönergelerle uygun olarak PureLink Genomik Yıkama Solüsyonu 1 ve PureLink Genomik Yıkama Solüsyonu 2'ye %96-100 etanol eklenir. Diğer solüsyonlar kullanıma hazır haldedir.

#### **Kan Örneklerinden Lizat Hazırlanması**

İlk olarak su banyosu veya ısı bloğu 55°C'ye ayarlanır. 200 µl taze veya dondurulmuş kan örneği steril bir mikrosantrifüj tüpü içine alınır. Örnek içine kit ile sağlanan Proteinaz K'dan 20 µl eklenir. Daha sonra örnek içine yine kit ile sağlanan RNaz A'dan 20 µl eklenir, vortekslenerek iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 2 dk inkübe edilir. 200 µl PureLink Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu eklenir, homojen bir solüsyon eklemek için vorteksleyerek iyice karıştırılır. Protein digesyonunu ilerletmek

için 55°C’de 10 dk. inkübasyon yapılır. Lizata 200 µl %96-100 etanol eklenir. Homojen bir solüsyon elde etmek için vortekleyerek 5 saniye iyice karıştırılır.

DNA’ya Bağlanma aşamasına geçilir.

### **DNA’ya Bağlanma**

Koleksiyon tüpü içinde sağlanan spin kolonu paketten çıkarılır. Genomik Liziz/Bağlama solüsyonu ve etanol ekli lizatu (~640 µl) PureLink spin kolona eklenir. Kolonu 1 dk. oda sıcaklığında 10.000xg’de santrifüj yapılır. Koleksiyon tüpünü atılır ve kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirilir. Koleksiyon tüpünü atılır ve kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirilir. DNA yıkama aşamasına geçilir.

### **DNA Yıkama Aşaması**

Kolona Etanol ile hazırlanan Yıkama solüsyonu I’dan 500 µl eklenir. Kolonu 1 dk. oda sıcaklığında 10.000xg’de santrifüj yapılır. Koleksiyon tüpünü atınız ve kit ile sağlanan yeni bir PureLink Koleksiyon tüpü içine yerleştirilir. Kolona Etanol ile hazırlanan Yıkama solüsyonu II’dan 500 µl eklenir. Kolonu oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dk. santrifüj yapılır. Toplama tüpünü atılır.

DNA Elüsyon aşamasına geçilir.

### **DNA Elüsyon Aşaması**

Kolonu steril bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüp içine konulur. Kolona 25-200 µl PureLink Genomik Elüsyon Çözeltisi eklenir. Oda sıcaklığında 1 dk. inkübasyon yapılır. Kolonu oda sıcaklığında 1 dk. maksimum hızda santrifüj yapılır. Tüp purifiye genomik DNA içermektedir. Daha fazla DNA kurtarmak için aynı miktarda elüsyon çözeltisi kullanarak yeni steril bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne ikinci bir elüsyon aşaması yapılır. Kolon oda sıcaklığında 1,5 dk. maksimum hızda santrifüj yapılır. Tüp purifiye genomik DNA içermektedir. Kolon atılır.

### **DNA Saklama**

Purifiye DNA -20°C’de saklanmalıdır.

### DNA Saflık Tayini

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. 260 nm’de DNA’nın ve 280 nm’de RNA ve proteinin vermiş olduğu absorbans Tris EDTA çözeltisi ile spektrofotometre sıfırlanarak ölçüldü.

260 nm’de okunan absorbans / 280 nm’de okunan absorbans oranından DNA saflığı saptandı. O.D.<sub>260</sub> / O.D.<sub>280</sub> oranı 1,7-1,8 olan DNA’lar temiz olarak kabul edildi. Bu oranın altında bir değere sahip olan DNA’lara temizleme işlemi uygulandı.

### DNA Konsantrasyonlarının Hesaplanması

Çift iplikli DNA’nın 260 nm’de vermiş olduğu 1 absorbans 50 µg/ml (50ng/µl)’dir. Bu temel bilgiden faydalananarak DNA formülü aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

---


$$\text{DNA Konsantrasyonu (ng/}\mu\text{l)} : \text{Sulandırma katsayısı (100)} \times A_{260} \times 50$$


---

### 3.6.2. PZR’de Kullanılan Kimyasal Maddeler

Genomik DNA örneklerinde APE1 Asp148Glu, XRCC1 Arg399Gln, XRCC3 Thr241Met, XPD Lys751Gln, XPG Asp1204His ve HOGG1 Ser326Cys lokuslarına ait aleller polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltıldı. DNA örneklerinin her birinin amplifikasyonu için toplam 25 µl’lik PZR karışımı hazırlandı. Bu PZR karışımı 100-200 ng DNA, herbir primerden 1µl, 1mM dNTP, 1.5mM MgCl<sub>2</sub> ve 1.0 U Taq DNA Polimeraz olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon reaksiyonları Thermal Cycler’da gerçekleştirildi.

### DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (Fermentas EPO402)

PZR reaksiyonundaki konsantrasyonu 2,5 unite olacak şekilde 25 µl’lik PZR karışımına 0,25 µl eklendi.

### 10 X DNA Taq PZR Tamponu (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>’lü (Fermentas EP0402)

Tris-HCl’den 100mM (pH 8,8, 25°C’de), 500mM KCl ve %0,8 Nonidet P40 içeren 10X Taq PZR tamponundan 25 µl’lik PZR karışımına 1,5 µl eklendi.

### MgCl<sub>2</sub> (25mM/ml, Fermentas EP0402)

MgCl<sub>2</sub>'den 25 µl'lik PZR karışımına 1,5 µl eklendi.

### dNTP'ler (100 µmol/ml) (Fermentas R0171)

dNTP'lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 10' ar µl alınıp (toplam 40 µl) 1 µl'lik tüpe kondu ve üzerine 960 µl distile su eklenerek (dH<sub>2</sub>O) 1000 µl 1mM'lık dNTP karışımı hazırlandı ve -20 °C derin dondurucuda saklandı. 25 µl'lik PZR karışımına 5 µl eklendi.

### 3.6.3. İncelenen Gen Bölgelerinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması

PZR karışımı her bir örnek için hazırlanarak Tablo 3-2'deki APE1 Asp148Glu, Tablo 3-3'deki XRCC1 Arg399Gln, Tablo 3-4'deki XRCC3 Thr241Met, Tablo 3-5'deki XPD Lys751Gln, Tablo 3-6'daki XPG Asp1204His ve Tablo 3-7'deki HOGG1 Ser326Cys için amplifikasyon şartlarına göre PZR cihazında çalışılmıştır.

**Tablo 3-2: APE1 Asp148Glu polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları**

|       |           |            |
|-------|-----------|------------|
| 95 °C | 2 dakika  |            |
| 95 °C | 30 saniye | } 35 döngü |
| 52 °C | 45 saniye |            |
| 75°C  | 45 saniye |            |
| 72°C  | 7 dakika  |            |

**Tablo 3-3: XRCC1 Arg399Gln polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları**

|      |           |            |
|------|-----------|------------|
| 95°C | 5 dakika  |            |
| 95°C | 30 saniye | } 35 döngü |
| 61°C | 35 saniye |            |
| 72°C | 45 saniye |            |
| 72°C | 10 dakika |            |

**Tablo 3-4: XRCC3 Thr241Met polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları**

|      |           |
|------|-----------|
| 95°C | 5 dakika  |
| 94°C | 60 saniye |
| 58°C | 60 saniye |
| 72°C | 60 saniye |
|      | 35 döngü  |
| 72°C | 10 dakika |

**Tablo 3-5: XPD Lys751Gln polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları**

|       |           |
|-------|-----------|
| 95°C  | 5 dakika  |
| 94 °C | 60 saniye |
| 60°C  | 60 saniye |
| 72°C  | 60 saniye |
|       | 35 döngü  |
| 72°C  | 10 dakika |

**Tablo 3-6: XPG Asp1104His polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları**

|      |           |
|------|-----------|
| 95°C | 5 dakika  |
| 94°C | 60 saniye |
| 62°C | 60 saniye |
| 72°C | 60 saniye |
|      | 35 döngü  |
| 72°C | 10 dakika |

**Tablo 3-7: hOGG1 Ser326Cys polimorfik bölgesine ait amplifikasyon şartları**

|      |           |            |
|------|-----------|------------|
| 95°C | 5 dakika  |            |
| 95°C | 60 saniye | } 35 döngü |
| 60°C | 60 saniye |            |
| 72°C | 60 saniye |            |
| 72°C | 7 dakika  |            |

**3.6.4. %3'lük Agaroz Jel Hazırlanması**

Agarozdan 6 gr tartılarak ölçülü kap içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml olarak şekilde 1X TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırında ısıtılarak çözündürüldü. Ölçülü kabın sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde çözünmüş agaroz jel içine 4µl etidyum bromür ilave edildi. Hazırlanan jel, jel yatağına dökülerek, yükleme kuyucuklarının oluşması için önceden yüksekliği ayarlanmış tarak yerleştirilerek çeker ocak içinde donmaya bırakıldı. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

**3.6.4.1. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel'e Yüklenmesi**

Jel hazırlandıktan sonra 1X TBE tamponu içeren elektroforez tankı içine uygun şekilde konuldu. TBE tamponun jelin üzerini 2-3 ml geçecek miktarda olmasına dikkat edildi. 20µl PZR ürününe, 2µl yükleme tamponu eklenip pipetleme yapılarak karıştırıldı. Örnek karışımından 20µl'lik alınarak kuyucuklara sırayla yükleme yapıldı. Yükleme işleminden sonra jel tankının kapağı dikkatlice kapatıldı. Güç kaynağı (E-C apparatus Corporation, E-C4000P) 500 miliamper ve 100 volt elektrik gücüne ayarlanarak elektroforez jel yürütülmesi gerçekleştirildi. Örneklerin jel içinde istenilenden fazla yürümemesi için elektroforez işleminin süresine dikkat edilmelidir.

**3.6.4.2. PZR Ürünlerinin Kontrolü**

Yürütme işleminden sonra jel UV ışık altında PZR ürünleri incelendi ve fotoğrafı UV transillüminator düzeneğinde çekildi. PZR ürünleri 100 bp'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. PZR reaksiyonları sonucu APE1 Asp148Glu için 164 bp'lik, XRCC1 Arg399Gln için 485 bp'lik, XRCC3 Thr241Met için 456 bp'lik, XPD

Lys751Gln için 734 bp'lik, XPG Asp1104His için 271 bp'lik ve HOGG1 Ser326Cys için 200 bp'lik ürün elde edilmesi beklendi.

### 3.6.5. APE1 Asp148Glu polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

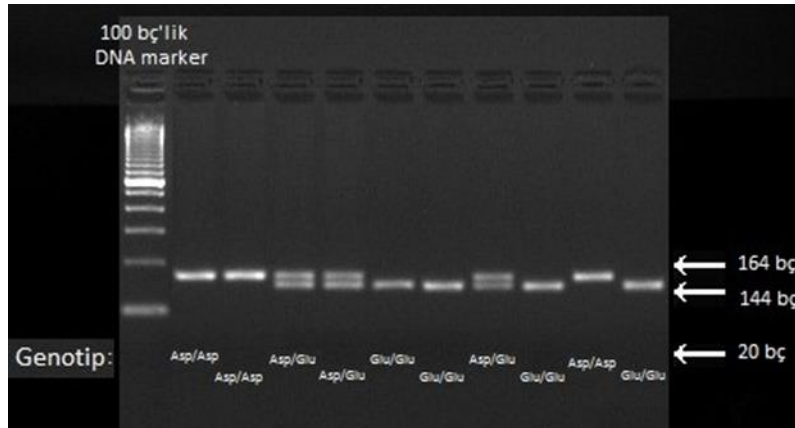
PZR ürünleri FspBI (MaeI) enzimi ile kesilmiş ve % 3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 3-8'de belirtilen çözeltilerin ve FspBI, MaeI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, FspBI, MaeI enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 2 saat sürmüştür.

**Tablo 3-8: FspBI (MaeI) enzimi için kesim protokolü**

| Malzeme Adı  | Miktarı |
|--------------|---------|
| Distile Su   | 2,5 µl  |
| Buffer Tango | 2 µl    |
| FspBI, MaeI  | 0,5 µl  |
| PZR ürünü    | 15 µl   |

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. Kesim ürünleri 100 bp'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. FspBI (MaeI) ile kesim sonrası; 164 bp, 144 bp ve 20 bp büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Kesim sonucu sadece 164 bp'lik bant görünürse Asp/Asp (polimorfizm yok), 144 bp ve 20 bp'lik bantlar görülürse Glu/Glu (homozigot mutant), 164 bp, 144 bp ve 20 bp'lik bantlar görülürse Asp/Glu (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi. (Şekil 3-1)



**Şekil 3-1: APE1 Asp148Glu polimorfizmine ait jel görüntüsü**

### 3.6.6. XRCC1 Arg399Gln polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

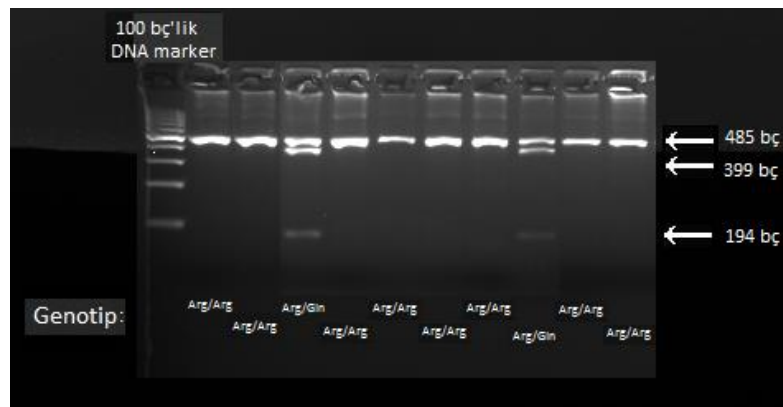
PZR ürünleri PvuII enzimi ile kesilmiş ve %3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 3-9'da belirtilen çözeltilerin ve PvuII enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, PvuII enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 12-16 saat sürmüştür.

**Tablo 3-9: PvuII enzimi için kesim protokolü**

| Malzeme Adı | Miktarı |
|-------------|---------|
| Distile Su  | 1,5 µl  |
| Buffer G    | 1,4 µl  |
| PvuII       | 0,3 µl  |
| PZR ürünü   | 15 µl   |

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. Kesim ürünleri 100 bç'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. PvuII ile kesim sonrası; 485 bç, 399 bç ve 194 bç büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Kesim sonucu sadece 485 bç'lik bant görünürse Arg/Arg (polimorfizm yok), 399 bç ve 194 bç'lik bantlar görülürse Gln/Gln (homozigot mutant), 485 bç, 399 bç ve 194 bç'lik bantlar görülürse Arg/Gln (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi. (Şekil 3-2)



**Şekil 3-2: XRCC1 Arg399Gln polimorfizmine ait jel görüntüsü**

### 3.6.7. XRCC3 Thr241Met polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

PZR ürünleri Hsp92 enzimi ile kesilmiş ve % 3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 3-10'da belirtilen çözeltilerin ve Hsp92 enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, Hsp92 enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 2 saat sürmüştür.

**Tablo 3-10: Hsp92 enzimi için kesim protokolü**

| Malzeme Adı  | Miktarı |
|--------------|---------|
| Distile Su   | 2,5 µl  |
| Buffer Tango | 2 µl    |
| Hsp92        | 0,5 µl  |
| PZR ürünü    | 15 µl   |

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. Kesim ürünleri 100 bç'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. PvuII ile kesim sonrası; 456 bç, 315 bç ve 141 bç büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Kesim sonucu sadece 456 bç'lik bant görünürse Thr/Thr (polimorfizm yok), 315 bç ve 141 bç'lik bantlar görülürse Met/Met (homozigot mutant), 436 bç, 315 bç ve 141 bç'lik bantlar görülürse Thr/Met (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi. (Şekil 3-3)



**Şekil 3-3: XRCC3 Thr241Met polimorfizmine ait jel görüntüsü**

### 3.6.8. XPD Lys751Gln Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

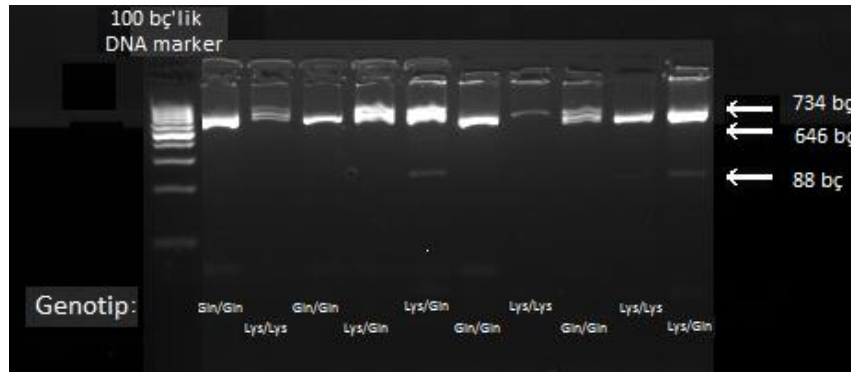
PZR ürünleri PstI enzimi ile kesilmiş ve % 3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 3-11'de belirtilen çözeltilerin ve PstI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, PstI enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 12-16 saat sürmüştür.

**Tablo 3-11: PstI enzimi için kesim protokolü**

| Malzeme Adı  | Miktarı |
|--------------|---------|
| Distile Su   | 1,5 µl  |
| Buffer O     | 0,7 µl  |
| Buffer Tango | 0,7 µl  |
| PstI         | 0,3 µl  |
| PZR ürünü    | 10 µl   |

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. Kesim ürünleri 100 bç'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. PstI ile kesim sonrası; 734 bç, 646 bç ve 88 bç büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Kesim sonucu sadece 734 bç'lik bant görünürse Lys/Lys (polimorfizm yok), 646 bç ve 88 bç'lik bantlar görülürse Gln/Gln (homozigot mutant), 734 bç, 646 bç ve 88 bç'lik bantlar görülürse Lys/Gln (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi. (Şekil 3-4)



**Şekil 3-4: XPD Lys751Gln polimorfizmine ait jel görüntüsü**

### 3.6.9. XPG Asp1104His Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

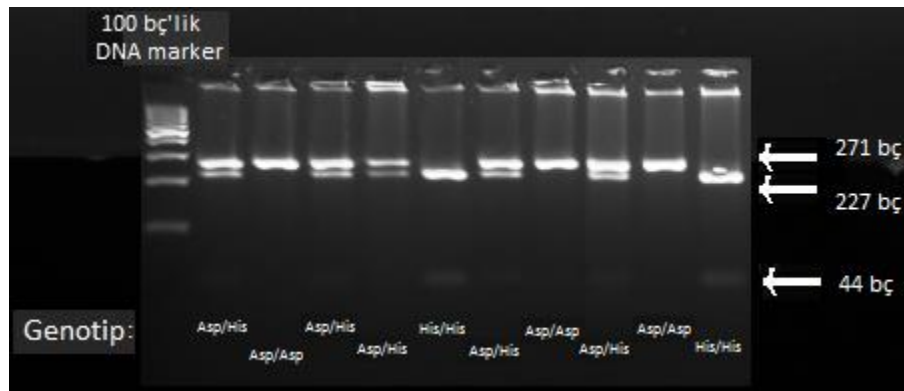
PZR ürünleri Hsp92 (NlaIII) enzimi ile kesilmiş ve % 3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 3-12'de belirtilen çözeltilerin ve Hsp92 (NlaIII) enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, Hsp92 (NlaIII) enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 12-16 saat sürmüştür.

**Tablo 3-12: Hsp92 (NlaIII) enzimi için kesim protokolü**

| Malzeme Adı    | Miktarı |
|----------------|---------|
| Distile Su     | 2,5 µl  |
| Buffer Tango   | 2 µl    |
| Hsp92 (NlaIII) | 0,5 µl  |
| PZR ürünü      | 15 µl   |

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. Kesim ürünleri 100 bç'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. PstI ile kesim sonrası; 271 bç, 227 bç ve 44 bç büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Kesim sonucu sadece 271 bç'lik bant görünürse Asp/Asp (polimorfizm yok), 227 bç ve 44 bç'lik bantlar görülürse His/His (homozigot mutant), 271 bç, 227 bç ve 44 bç'lik bantlar görülürse Asp/His (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi. (Şekil 3-5)



**Şekil 3-5: XPG Asp1104His polimorfizmine ait jel görüntüsü**

### 3.6.10. hOGG1 Ser326Cys Polimorfizminin RFLP Yöntemi ile Analizi

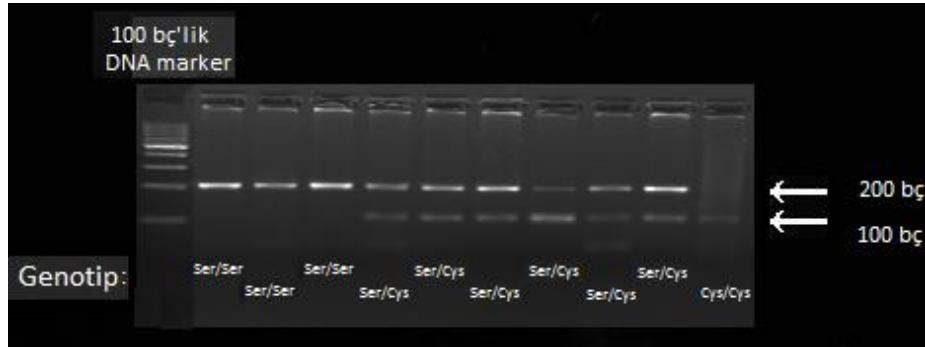
PZR ürünleri Fnu4HI enzimi ile kesilmiş ve %3'lük agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

PZR ürünü saptanmış örnekler için restriksiyon enzim kesimi Tablo 3-13'de belirtilen çözeltilerin ve Fnu4HI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirildi. Kesim işlemi, Fnu4HI enzimi için optimum sıcaklık olan 37°C'de 12-16 saat sürmüştür.

**Tablo 3-13: Fnu4HI enzimi için kesim protokolü**

| Malzeme Adı | Miktarı |
|-------------|---------|
| Distile Su  | 1,5 µl  |
| Buffer G    | 1,4 µl  |
| Fnu4HI      | 0,3 µl  |
| PZR ürünü   | 10 µl   |

DNA fragmanları etidyum bromid ile boyandıktan sonra UV altında görüntülenip ve genotipleme yapılmıştır. Kesim ürünleri 100 bç'lik DNA marker ile birlikte yürütüldü. Fnu4HI ile kesim sonrası; 200 bç ve 100 bç büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Kesim sonucu sadece 200 bç'lik bant görünürse Ser/Ser (polimorfizm yok), 100 bç'lik bantlar görülürse Cys/Cys (homozigot mutant), 200 bç ve 100 bç'lik bantlar görülürse Ser/Cys (heterozigot mutant) olarak değerlendirildi. (Şekil 3-6)



**Şekil 3-6: hOGG1 Ser326Cys polimorfizmine ait jel görüntüsü**

### 3.7. Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizinde SPSS 11.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $p<0.05$  olarak alınmıştır.

Genotip ve allelerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare ve Fisher testi kullanılmıştır.

Genotip ve allellerin aktivite üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için Student's t-testi ve Anova kullanılmıştır. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapılmıştır.

#### 4. BULGULAR

Çalışma gruplarına ait demografik bilgiler Tablo 4-1’de verilmiştir. Kontrol ve hasta grupları arasında yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı dağılımı açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır.

**Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait demografik veriler**

|                                           | KONTROL    | HASTA      | p     |
|-------------------------------------------|------------|------------|-------|
| <b>YAŞ</b>                                | 44,08±11,2 | 41,09±12,1 | 0,058 |
| <b>CİNSİYET (Kadın/Erkek)</b>             | 74/78      | 71/29      | 0,107 |
| <b>Sigara Kullanımı<br/>(%) (yok/var)</b> | 72,0/28,0  | 64,0/36,0  | 0,32  |
| <b>Alkol Kullanımı<br/>(%)(yok/var)</b>   | 96,0/4,0   | 97,0/3,0   | 0,74  |

Hasta grubuna ait demografik veriler Tablo 4-2’de verilmiştir.

Tablo 4-2: Hasta grubuna ait demografik veriler

|                           |                    | KONTROL | HASTA       | P     |
|---------------------------|--------------------|---------|-------------|-------|
| İlk Hastalık Yaşı         |                    |         | 26,18±10,59 |       |
| Hastalık Süresi           | 0-5 yıl            |         | 23,0        |       |
|                           | 6-10 yıl           |         | 26,0        |       |
|                           | 11 yıl üzeri       |         | 51,0        |       |
| Eğitim Düzeyi             | 0-5 yıl            | 24,0    | 47,0        |       |
|                           | 6-10 yıl           | 12,0    | 14,0        |       |
|                           | 11-15 yıl          | 18,0    | 32,0        |       |
|                           | 16 yıl üzeri       | 23,0    | 7,0         | 0,000 |
| Çalışma Durumu            | Çalışıyor          |         | 27,0        |       |
|                           | Çalışmıyor         |         | 38,0        |       |
|                           | Hiç çalışmamış     |         | 35,0        |       |
| Medeni Durum              | Evli               |         | 72,0        |       |
|                           | Bekar              |         | 19,0        |       |
|                           | Dul                |         | 9,0         |       |
| İntihar Girişimi          | Var                |         | 19,0        |       |
|                           | Yok                |         | 81,0        |       |
| Aile öyküsü               | Var                | 8,0     | 60,0        |       |
|                           | Yok                | 92,0    | 40,0        | 0,000 |
| Aile öyküsü               | Sch                |         |             |       |
|                           | Diğer              |         |             |       |
| Akraba evliliği           | Yok                | 85,7    | 78,0        |       |
|                           | Var                | 14,3    | 22,0        | 0,507 |
| Hastaneye yatış sayısı(%) | Yatmamış           |         | 72,0        |       |
|                           | 1 kez yatmış       |         | 21,0        |       |
|                           | 2-3 kez yatmış     |         | 4,0         |       |
|                           | 4 ve üzeri yatmış  |         | 3,0         |       |
| Tedavi süresi             | 0-5 yıl            |         | 60,0        |       |
|                           | 6-10 yıl           |         | 24,0        |       |
|                           | 11 yıl üzeri       |         | 16,0        |       |
| Obsesyon türü             | Saldırganlık       |         | 65,0        |       |
|                           | Kirlenme           |         | 66,0        |       |
|                           | Cinsel             |         | 30,0        |       |
|                           | Biriktirme/saklama |         | 21,0        |       |
|                           | Dini               |         | 50,0        |       |
|                           | Simetri            |         | 62,0        |       |
|                           | diğer              |         | 39,0        |       |
|                           | somatik            |         | 26,0        |       |
|                           | Temizleme/yıkama   |         | 68,0        |       |
| YBOCS obsesyon            |                    |         | 11,8±4,78   |       |
| YBOCS kompulsiyon         |                    |         | 11,71±4,59  |       |
| YBOCS total               |                    |         | 23,17±8,83  |       |

Y-BOCS: Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale

**Tablo 4-3: Kontrol ve Hasta gruplarında APE Asp148Glu genotip dağılımları**

| APE Asp148Glu<br>GENOTİPLERİ<br>rs 3136820 | KONTROL<br>N:122 |      | HASTA<br>N:100 |      |
|--------------------------------------------|------------------|------|----------------|------|
| Asp/Asp                                    | 58               | 47,5 | 47             | 47,0 |
| Glu/Glu                                    | 18               | 14,8 | 10             | 10,0 |
| Asp/Glu                                    | 46               | 37,7 | 43             | 43,0 |
| <b>ALLELLER</b>                            |                  |      |                |      |
| Asp                                        | 162              | 66,9 | 137            | 68,5 |
| Glu                                        | 82               | 33,6 | 63             | 31,5 |

Hasta ve kontrol grubu arasında APE Asp148Glu genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. ( $p>0,05$ )

**Tablo 4-4: Kontrol ve Hasta gruplarında XRCC1 Arg399Gln genotip dağılımları**

| XRCC1 Arg399Gln<br>GENOTİPLERİ<br>rs25487 | KONTROL<br>N:122 |      | HASTA<br>N:100 |      |
|-------------------------------------------|------------------|------|----------------|------|
| Arg/Arg                                   | 111              | 91,0 | 83             | 83,0 |
| Gln/Gln                                   | 0                | 0    | 0              | 0    |
| Arg/Gln                                   | 11               | 9,0  | 17             | 17,0 |
| <b>ALLELLER</b>                           |                  |      |                |      |
| Arg                                       | 233              | 95,4 | 183            | 91,5 |
| Gln                                       | 11               | 4,5  | 17             | 8,5  |

XRCC1 Gln+ bireylerin hasta grubunda %17 kontrole göre %9.0 yüksek olduğu ancak anlamlılık sınırına ulaşmadığı gözlenmiştir ( $P:0,07$ ,  $\chi^2:3,17$ ,  $OR:2,06$  %95CI:0,91-4,64).

**Tablo 4-5: Kontrol ve Hasta gruplarında XRCC3 Thr241Met genotip dağılımları**

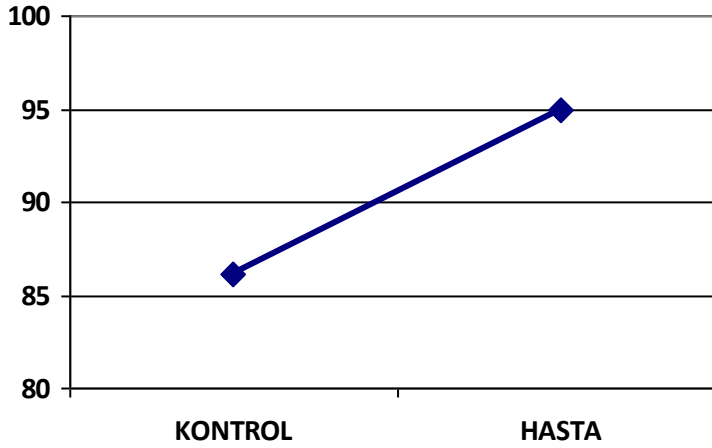
| <b>XRCC3 Thr241Met<br/>GENOTİPLERİ<br/>RS861539</b> | <b>KONTROL<br/>N:122</b> |       | <b>HASTA<br/>N:100</b> |      |
|-----------------------------------------------------|--------------------------|-------|------------------------|------|
| Thr/Thr                                             | 15                       | 12,3  | 5                      | 5,0  |
| Met/Met                                             | 28                       | 23,0  | 12                     | 12,0 |
| Thr/Met                                             | 79                       | 64,8  | 83                     | 83,0 |
| <b>ALLELLER</b>                                     |                          |       |                        |      |
| Thr                                                 | 109                      | 44,67 | 93                     | 46,5 |
| Met                                                 | 135                      | 55,32 | 107                    | 53,5 |

XRCC3 Thr+ bireylerin hasta grubunda %88 kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (P:0,03,  $\chi^2$ :4,46, OR:2,18 %95CI:1,04-4,56).

XRCC3 Thr/Met genotipli bireyler hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (P:0,002,  $\chi^2$ :9,27, OR:2,65 %95CI:1,40-5,04).

**Tablo 4-6: Kontrol ve Hasta gruplarında XPD Lys751Gln genotip dağılımları**

| <b>XPD Lys751Gln<br/>GENOTİPLERİ<br/>rs 1052559</b> | <b>KONTROL<br/>N:122</b> |      | <b>HASTA<br/>N:100</b> |      |
|-----------------------------------------------------|--------------------------|------|------------------------|------|
| Lys/Lys                                             | 42                       | 34,4 | 60                     | 60,0 |
| Gln/Gln                                             | 17                       | 13,9 | 5                      | 5,0  |
| Lys/Gln                                             | 63                       | 51,6 | 35                     | 35,0 |
| <b>ALLELLER</b>                                     |                          |      |                        |      |
| Lys                                                 | 147                      | 60,2 | 155                    | 77,5 |
| Gln                                                 | 97                       | 39,7 | 45                     | 22,5 |



**Şekil 4-1: XPD Lys+ genotipi taşıma frekansları**

XPD Lys+ bireyler hasta grubunda %95 iken kontrole %86.1 göre anlamlı olarak yüksek olup okb hastalığına yakalanma riskleri yaklaşık 3 kat arttığı gözlenmiştir (P:0,027,  $\chi^2$ :4,91, OR:3,07 %95CI:1,09-8,66).

Lys/Lys taşıyan bireylerin yine hasta grubunda (%60) kontrole(%34.4) göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (P:0,000,  $\chi^2$ :14,72, OR:2,85 %95CI:1,65-4,93).

XPD Gln+ bireyler kontrolde %65,6 iken hasta grubuna %40 göre anlamlı olarak yüksek olup okb hastalığı için yaklaşık 2.8 katlık bir koruyuculuk sağladığı izlenimi edinilmiştir. (P:0,000,  $\chi^2$ :14,47, OR:0,35 %95CI:0,20-0,60).

Gln/Gln genotipli bireylerin kontrol grubunda %13.9, hasta grubuna göre (%5) anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. (P:0,027,  $\chi^2$ :7,91, OR:0,32 %95CI:0,11-0,91).

Lys/Gln genotipli bireylerin kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. (P:0,013,  $\chi^2$ :6,17, OR:0,32 %95CI:0,29-0,86).

**Tablo 4-7: Kontrol ve Hasta gruplarında XPG Asp1104His genotip dağılımları**

| <b>XPG Asp1104His<br/>GENOTİPLERİ</b><br>rs 17655 | <b>KONTROL</b><br><b>N:122</b> |       | <b>HASTA</b><br><b>N:100</b> |      |
|---------------------------------------------------|--------------------------------|-------|------------------------------|------|
| Asp/Asp                                           | 69                             | 56,6  | 45                           | 45,0 |
| His/His                                           | 13                             | 10,7  | 17                           | 17,0 |
| Asp/His                                           | 40                             | 32,8  | 38                           | 38,0 |
| <b>ALLELLER</b>                                   |                                |       |                              |      |
| Asp                                               | 178                            | 72,95 | 128                          | 64,0 |
| His                                               | 66                             | 27,04 | 72                           | 36,0 |

Hasta ve kontrol grubu arasında XPG Asp1104His genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. ( $p>0,05$ )

**Tablo 4-8: Kontrol ve Hasta gruplarında hOGG1 Ser326Cys genotip dağılımları**

| <b>hOGG1 Ser326Cys<br/>GENOTİPLERİ</b><br>rs 1052133 | <b>KONTROL</b><br><b>N:122</b> |       | <b>HASTA</b><br><b>N:100</b> |      |
|------------------------------------------------------|--------------------------------|-------|------------------------------|------|
| Ser/Ser                                              | 74                             | 60,7  | 56                           | 56,0 |
| Cys/Cys                                              | 3                              | 2,5   | 0                            | 0    |
| Ser/Cys                                              | 45                             | 36,9  | 44                           | 44,0 |
| <b>ALLELLER</b>                                      |                                |       |                              |      |
| Ser                                                  | 193                            | 79,09 | 156                          | 78,0 |
| Cys                                                  | 51                             | 20,90 | 44                           | 22,0 |

Hasta ve kontrol grubu arasında hOGG1 Ser326Cys genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. ( $p>0,05$ )

## 5. TARTIŞMA

OKB yetişkin ve çocukları etkileyen yaygın ve ciddi bir mental rahatsızlıktır. OKB zorlayıcı istenmeyen düşünce ve/veya imajlar (obsesyonlar) ve ritüelize tekrarlayan davranışlar (kompulsiyonlar) ile karakterizedir. Tüm dünyada hayat boyu prevalansı %1 ile %3 arasında değişen oldukça yaygın bir rahatsızlık olup işlev kaybına sebep olan on medikal durumdan biridir. Yaklaşık 50 milyon insanı etkilediği tahmin edilmektedir. Aile ve ikiz çalışmalarından elde edilen bulgular OKB oluşumunda genetik faktörlerin önemi olduğunu göstermektedir. Bir çalışmada monozigotik ikizlerde %87, dizigotik ikizlerde ise %47 oranında konkordans olduğunu göstermektedir. Aile çalışmalarından elde edilen sonuçlar yetişkin ve çocuk OKB probandların akrabalarında hastalığın agregasyonunun arttığını göstermektedir. Kompleks segragasyon analizleri OKB'nin Mendeliyen dominant ve kodominant modellerini desteklemektedir. İkiz ve aile agregasyon çalışmalarından elde edilen bulgulara ek olarak fonksiyonel nörogörüntüleme ve farmokolojik çalışmalar da hastalığın biyokimyasal ve biyolojik doğasının anlaşılmasına yönelik bilgiler sağlamaktadır. Güncel moleküler genetik çalışmalar hastalığın ortaya çıkmasında rol oynayabilecek spesifik genlerle ilgili bazı kanıtlar sağlamaya başlamıştır. Tüm bu çalışmalar sonrasında OKB'nin kalıtım kalıbının belirlenmiş olması OKB'nin genetik olarak heterojenite gösterdiği fikrini vermektedir (Shugart ve ark 2006, Maia ve ark 2008, Pauls 2008, Pauls 2011).

Canlılığın devamı için gerekli olan tüm yaşamsal işlevlerde DNA hasarının tanınması ve bu hasarın düzeltilmesi yeteneği gereklidir. Hücrelerimiz sürekli olarak reaktif oksijen türleri gibi endojen kaynaklı; mutajen ve radyasyon gibi ekzojen kaynaklı oluşan DNA hasarlarına maruz kalır. Bu hasarlardan korunmak için tüm hücreler çeşitli DNA tamir mekanizmalarına sahiptir. DNA tamir mekanizmalarındaki bozukluklar, hücresel fonksiyon kaybına, mutajenez ve anormal fenotip oluşumuna sebep olarak genomik stabilitenin azalması ile sonuçlanabilir. Genomik karasızlık durumunun potansiyel olarak kansere yakalanma ve bazı kalıtsal DNA tamir bozukluğu hastalıklarına sahip olma riskini artırması beklenir (Örneğin Xeroderma pigmentosum). Bu bozuklukların diğer bir majör klinik özelliği nörolojik hastalıklardır

ve buna bağılı olarak DNA tamir bozuklukları nörodegenerasyonla seyreden çeşitli hastalıklarda etkilidir (Jeppesen ve ark 2011).

Beyin büyük oranda bölünmeyen nöronal hücrelerden oluşur ve bu hücreler defektif DNA tamirine karşı hassastır. Tamir edilmemiş DNA lezyonları beyin kan-beyin bariyeri ile bazı ekzojen kaynaklı DNA hasarlarından korunur. Bununla birlikte normal hücresel solunumdaki toksik ürünler sonucunda DNA hasarları meydana gelebilmektedir. Beyindeki yüksek oksidatif DNA hasarının kaynağı yüksek oksijen ihtiyacı ile bağlantılıdır. İnsan beyni vücut ağırlığının sadece %2'sini oluşturmalarına rağmen arteriyal kandaki oksijenin %50'sini ve glikozun %10'unu kullanır. Oksijen nöronlar arası elektrokimyasal transmisyonlar için gerekli yüksek metabolik oranın sağlanmasında aynı zamanda hücre devamlılığının korunmasında kullanılır. Yüksek metabolik oran reaktif oksijen türleri, süperoksid anyonları, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi moleküllerin oluşmasına sebep olur. Bu moleküller nükleus ve mitokondrilerdeki genetik materyalleri de içeren hücresel komponentlere zarar verebilir ve oksidatif hasara sebep olabilir. Sinir hücrelerinin yaşam sürelerinin uzun olması ve replikasyon yapamamaları bir arada düşünüldüğünde DNA tamirinin devamlılığı o hücrenin yaşamda kalması ve fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için esansiyeldir (Psimadas ve ark 2004, Jeppesen ve ark 2011, Sykora ve ark 2013).

İnsanlarda DNA tamir kapasitesini etkileyen en önemli faktörlerden biri onarım genlerindeki polimorfizmlerdir. Genin kodlama bölgesindeki baz değişiklikleri protein fonksiyonlarının değişimine sebep olabilir. DNA tamir genlerindeki polimorfizmler DNA tamir kapasitesini azaltabilir (Psimadas ve ark 2004, López-Cima ve ark 2007). DNA tamir genlerindeki polimorfizmlerin belirlenmesi ile genetik instabiliteye katkısı ve protein aktivitesindeki azalmaya bağılı farklılıklar belirlenebilir. Örneğin oksidatif DNA hasarının uzaklaştırılmasında kritik rol alan bir tamir geninde bulunan polimorfizm tamir aktivitesindeki azalmaya bağılı olarak bir hastalığın ortaya çıkma ihtimalini arttırabilir (Blasiak ve ark 2012, Karahalil ve ark 2013). Ağırlıklı olarak kanser vakalarında DNA tamir genleri ve hastalıklar arasındaki ilişki kurulmuştur (Wang ve ark 2010). Bununla birlikte psikiyatrik hastalıkların oluşumunda DNA tamir genlerindeki genetik farklılıkların katkısını araştıran çalışmalar oldukça az olup OKB ve DNA tamir genleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda OKB'nin doğasının anlaşılmasına katkı sağlayabilecek DNA tamir genlerindeki polimorfizmleri incelemeyi amaçladık.

Hasta ve kontrol grubu arasında XRCC3 Thr241Met genotip ve allel dağılımları açısından değerlendirildiğinde XRCC3 Thr+ bireylerin hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. XRCC3 Thr/Met genotipli bireyler hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

XRCC3 geninin kodladığı protein, DNA çift zincir kırılması/rekombinasyonel onarımı olayına katılır. Kromozom kararlılığını ve DNA hasarı tamirini sağlamak için homolog rekombinasyona katıldığı tahmin edilen, Rad-51-ilişkili protein ailelerinden birisinin üyesidir. Salah ve ark. kodon241'deki treonin (T)'in metiyonin (M)'e dönüşmesinin protein fonksiyonu üzerinde olası hasar verici etkisi olduğunu bildirmiştir. XRCC3'e ilişkin sistematik fonksiyonel ve yapısal çalışmalarda bu proteinin farklı bölgelerinin spesifik fonksiyonları henüz tam olarak belirlenmemiştir. XRCC3 proteininde Walker box A ve B olmak üzere sadece iki ATP-binding domain belirlenmiştir. Thr>Met değişimi Walker box B yanında meydana gelirse, hidrofilik treonin yerine hidrofobik metiyonin gelmesi sebebi ile ATP bağlanması ve DNA tamir etkinliği etkilenebilir. Hamster irs1SF hücre serisinde olduğu gibi XRCC3-lacking hücrelerde homolog rekombinasyonun azaldığı gösterilmiş, buna bağlı olarak spontan ve indüklenmiş kromozomal aberasyonlarının oranının arttığı görülmüştür. Aynı zamanda iyozone radyasyon sensitivitesi ve cisplatin ve mitomisin-C gibi ajanlara aşırı hassasiyet olduğu gözlenmiştir. Ek olarak XRCC3-deficient hücreler Rad51 formuna uygun olması gözlenmiş ve genetik instabilite ve DNA hasarına hassasiyetin arttığı gözlenmiştir. Bu fenotipik değişiklikler HR prosesindeki hatalar sonucu olduğunu göstermiştir. Bu bulgular Thr241Met değişikliğinin kanser riski ile bağlantılı olduğunu göstermektedir (Salah ve ark 2012)

Literatürde XRCC3 ve OKB ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte López-Cima ve ark. akciğer kanserli hastalarda ve Wang ve ark. kolon kanserli hastalarda yaptıkları çalışmalarda polimorfizm ve bu kanser tipleri arasında ilişki görmemişler; Narter ve ark. ise mesane kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca nörodegeneratif bir hastalık olan Parkinson hastalarında yapılan araştırmada XRCC3 Met/Met genotipine sahip bireylerde Parkinson hastalığı riskinde azalma olduğunu rapor etmişler; Thr+ genotipine sahip olmanın bu hastalık için

risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir (Gencer ve ark 2012). Çalışmamızla uyumlu olabileceği düşünülen bu araştırma ve kendi bulgularımız gözönüne alındığında homolog rekombinasyon da görev alan enzimi kodlayan XRCC3 genindeki Thr+ alleleline sahip bireylerde OKB görülme riskinde artış olabileceği söylenebilmektedir.

Kontrol ve hasta gruplarında XPD Lys751Gln genotip dağılımları XPD Lys+ bireyler hasta grubunda %95 iken kontrole %86.1 göre anlamlı olarak yüksek olup OKB hastalığına yakalanma riskleri yaklaşık 3 kat arttığı gözlenmiştir. Lys/Lys taşıyan bireylerin yine hasta grubunda (%60) kontrole (%34.4) göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. XPD Gln+ bireyler kontrolde %65,6 iken hasta grubuna %40 göre anlamlı olarak yüksek olup OKB hastalığı için yaklaşık 2.8 katlık bir koruyuculuk sağladığı izlenimi edinilmiştir. Gln/Gln genotipli bireylerin kontrol grubunda %13.9, hasta grubuna göre (%5) anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. Lys/Gln genotipli bireylerin kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir.

XPD geni, nükleotid eksizyon tamiri ile timidin dimerleri gibi ilişkisiz lezyonları tamir eden DNA tamir mekanizması genidir. XPD bazal transkripsiyon faktör IIIH kompleksine bağlı olarak 5'-3' helikaz olarak işlev görür. Proteini, RNA polimeraz II tarafından RNA transkripsiyonun başlanmasında rol alır. DNA tamir enzimlerinin fonksiyonel özelliklerinin değişimi ile mutant fenotipin daha düşük DNA tamir kapasitesi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Pabalan ve ark 2010, Salah ve ark 2012).

Salah ve ark. Kodon751'deki Lysin (K)'in Glutamin (Q)'e dönüşmesinin protein fonksiyonu üzerinde tolere edilebilir etkisi olduğunu bildirmiştir. Bu baz değişimi C-terminal domaininde lokalizedir, poli (A) bölgesinden yaklaşık 50 baz uzaklıktadır; bundan dolayı değişiklik XPD'nin ATP-binding bölgesini etkilemekte ve NER için önemli olan helikaz aktivitesini bozmakta bununla birlikte transkripsiyonel akyiviteyi etkilememektedir. Ek olarak XPD geninin T – G polimorfizminin kodlanmış proteinde konfigürasyon değişikliğine sebep olduğunu ve TFIIH kompleksinde bulunan helikaz aktivatör p44 proteini ile olan etkileşimini etkileyebileceğini belirtilmektedir. Aynı zamanda kodon751 XPD'nin substratı ile etkileşimi gösterilmiş, böylece bu residüdeki herhangi bir değişiklik DNA tamir kapasitesini azaltabilen bir fonksiyon değişikliği ile sonuçlanabileceği belirtilmiştir. Bu bulgular Lys751>Gln polimorfizminin zararlı

etkisini göstermekte ve belki kanser riskiyle ilişkisini açıklamaktadır (Pabalan ve ark 2010, Salah ve ark 2012, Xue ve ark 2012).

Günümüzde Lys751>Gln polimorfizmi ile kansere yatkınlık konusunda epidemiyolojik çalışmalar yapılmış olmakla birlikte sonuçlarda farklı görüşler bulunmaktadır. Bazı vaka-kontrol çalışmalarında 751Gln varyantları kanserle ilişkili gösterilirken, yapılan meta-analizlerde tüm çalışmalarda bağlantı olmadığının görüldüğü belirtilmektedir. Blasiak ve ark. bu polimorfizmin prostat ve mesane kanserleri ile ilişkili olduğunu; baş ve boyun kanserleri ile ilişkili olmadığını bildirmiştir. Bunun yanında akciğer, bazal hücre karsinoma ve kolorektal kanserlerle ilgili farklı sonuçların olduğu belirtilmektedir (Blasiak ve ark 2012, Xue ve ark 2012).

Pskiyatrik hastalıklar ve XPD gen polimorfizmleri ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. DNA tamirinde oldukça önemli görevi olan bu proteini kodlayan bölgedeki baz değişiminin enzim fonksiyonu etkilediği buna bağlı olarak hastalık gelişimine etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Hasta ve kontrol grubu arasında APE Asp148Glu, XPG Asp1104His, HOGG1 Ser326Cys ve XRCC1 Arg399Gln polimorfizmlerinin genotip ve allel dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgu DNA tamir mekanizmalarında rol alan bu genlere ait polimorfizmlerin OKB gelişimi ile ilişkili olmayabileceği fikrini vermektedir.

Sonuç olarak XRCC3 genindeki Thr741Met polimorfizmi ve XPD genindeki Lys751Gln polimorfizminin OKB gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte örneklenen hasta ve kontrol sayısının azlığı ve OKB’de DNA tamir genleri ile ilgili başka araştırmaların henüz olmayışı sebebi ile bu alanda daha fazla çalışma yapılması OKB’nin doğasının anlaşılmasında fayda sağlayabilecektir.

## KAYNAKLAR

- Abalı O. (2012) Pediatrik Obsesif Kompulsif Bozukluk, *Turkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*, 5(3):11-7.
- Atmaca A. (2012) Obsesif Kompulsif Bozuklukta Yapısal Beyin Görüntüleme Çalışmaları: Bir Gözden Geçirme, *Turkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*, 5(3):18-23.
- Attar R, Cacina C, Sozen S, Attar E, Agachan B. (2010) DNA repair genes in endometriosis, *Genetics and Molecular Research*, 9(2): 629-636.
- Bayraktar E. (1997) Obsesif-Kompulsif Bozukluk, *Psikiyatri Dünyası*, 1:25-32.
- Blasiak J, Synowiec E, Salminen A, Kaarniranta K. (2012) Genetic Variability in DNA Repair Proteins in Age-Related Macular Degeneration, *Int. J. Mol. Sci.*, 13:13378-13397.
- Boileau B. (2011) A review of obsessive-compulsive disorder in children and adolescents, *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 13(4):402-411.
- Caldecott KW. (2003) XRCC1 and DNA strand break repair, *DNA Repair*, 2:955–969.
- Chang-Claude J, Popanda O, Xiang-LinTan X-L, Kropp S, Helmbold I, von Fournier D et al. (2005) Association between Polymorphisms in the DNA Repair Genes, XRCC1, APE1, and XPD and Acute Side Effects of Radiotherapy in Breast Cancer Patients, *Clin Cancer Res*, 11:4802-4809.
- Cleaver JE, Lam ET, and Revet I. (2009) Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity, *Nature Reviews, Genetics*, 10:756-768.
- Coppede F, Mancuso M, Gerfo AL, Manca ML, Petrozzi L, Migliore L et al. (2007) A Ser326Cys polymorphism in the DNA repair gene hOGG1 is not associated with sporadic Alzheimer's disease, *Neuroscience Letters*, 414:282–285.
- de Boer J and Hoeijmakers JHJ. (2000) Nucleotid Excision Repair an Human Disease, *Carsinogenesis*, 21(3):453-460.

- de Mathis MA, de Alvarenga P, Funaro G, Torresan RC, Moraes I, Torres AR et al. (2011) Gender differences in obsessive-compulsive disorder: a literature review, *Rev Bras Psiquiatr.*, 33:390-399.
- Demet MM. (2005) Obsesif-Kompulsif Bozuklukta Genetik Çalışmalar, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 15:45-52.
- Ding D, Ma W, He X, Zhang Y. (2012) XPD Lys751Gln polymorphism and esophageal cancer susceptibility: a meta-analysis of case-control studies, *Mol Biol Rep*, 39:2533–2540.
- Emmert S, Schneider TD, Khan SG, Kraemer KH. (2001) The human XPG gene: gene architecture, alternative splicing and single nucleotide polymorphisms, *Nucleic Acids Research*, 29(7):1443-1452.
- Fagbemi AF, Orelli B, Schärer OD. (2011) Regulation of endonuclease activity in human nucleotide excision repair, *DNA Repair*, 10:722– 729.
- Fishel ML, Vasko MR, Kelley MR. (2007) DNA repair in neurons: So if they don't divide what's to repair?, *Mutation Research*, 614:24–36.
- Gdowicz-Klosok A, Widel M, Rzeszowska-Wolny J. (2013) The influence of XPD, APE1, XRCC1, and NBS1 polymorphic variants on DNA repair in cells exposed to X-rays, *Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.05.002>.
- Gencer M, Dasdemir S, Cakmakoglu B, Cetinkaya Y, Varlibas F, Tireli H. (2012) DNA Repair Genes in Parkinson's Disease, *Genetic Testing And Molecular Biomarkers*, 16(6):504–507.
- Hadi MZ, Coleman MA, Fidelis K, Mohrenwiser HW, Wilson III DM. (2000) Functional characterization of APE1 variants identified in the human population, *Nucleic Acids Research*, 28(20):3871-3879.
- Hung RJ, Hall J, Brennan P, Boffetta P. (2005) Genetic Polymorphisms in the Base Excision Repair Pathway and Cancer Risk: A HuGE Review, *Am J Epidemiol*, 162:925–942.
- Işıklı S ve Gönül AS. (2012) Obsesif Kompulsif Bozukluğun Nörobiyolojisi, *Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*, 5(3):24-32.

- İsbir O, Görmüş U, Ergen HA, Çakmakoglu B, Kahraman ÖT. (2011) XPD and hOGG1 gene polymorphisms in reperfusion oxidative stress reperfusion oxidative stress, *Genetics and Molecular Research*, 10(4):3157-3162.
- Jeppesen DK, Bohr WA, and Stevnsner T. (2011) DNA repair deficiency in neurodegeneration, *Progress in Neurobiology*, 94:166-200.
- Karahalil B and Kocabas NA. (2005) hOGG1 SER326CYS genetic polymorphism in a Turkish population, *Arch Toxicol*, 79:377–380.
- Karahalil B, Bohr VA, and Wilson III DM. (2012) Impact of DNA polymorphisms in key DNA base excision repair proteins on cancer risk, *Human and Experimental Toxicology*, 31(10):981–1005.
- Karaman D, Durukan İ ve Erdem M. (2011) Çocukluk Çağı Başlangıçlı Obsesif Kompulsif Bozukluk Childhood-Onset Obsessive Compulsive Disorder, *Psikiyatrie Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry*, 3(2):278-295.
- Karşlıoğlu EH ve Yüksel N. (2007) Obsesif Kompulsif Bozukluğun Nörobiyolojisi, *Klinik Psikiyatri*, 10(Ek 3):3-13.
- Kim C-H and Kim SJ. (2006) The Genetic Studies of Obsessive-Compulsive Disorder and Its Future Directions, *Yonsei Medical Journal*, 47(4): 443 - 454.
- Kocabas NA, and Karahalil B. (2006) XRCC1 Arg399Gln Genetic Polymorphism in a Turkish Population, *International Journal of Toxicology*, 25:419–422.
- Lahey BB, Hulle CAV and Singh AL. (2011) Higher-Order Genetic and Environmental Structure of Prevalent Forms of Child and Adolescent Psychopathology, *Arch Gen Psychiatry*, 68(2):181-189.
- López-Cima MF, González-Arriaga P, García-Castro L, Pascual T, Marrón MG, Puente XS, Tardón A. (2007) Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain, *BMC Cancer*, 7:162-174.
- Maia TV, Cooney RE, and Peterson BS. (2008) The Neural Bases of Obsessive-Compulsive Disorder in Children and Adults, *Dev Psychopathol.*, 20(4):1251–1283.

- Martin LJ (2008) DNA Damage and Repair: Relevance to Mechanisms of Neurodegeneration, *J Neuropathol Exp Neurol.*, 67(5): 377–387.
- Mathews CA, Badner JA, Andresen JM, Sheppard B, Himle JA, Grant, JE et al (2012) Genome-Wide Linkage Analysis of Obsessive-Compulsive Disorder Implicates Chromosome 1p36, *Biol Psychiatry*, 72:629–636.
- Narter KF, Ergen A, Ağaçhan A, Görmüş U, Timirci Ö, and İsbir T. (2009) Bladder Cancer and Polymorphisms of DNA Repair Genes (XRCC1, XRCC3, XPD, XPG, APE1, hOGG1), *Anticancer Research*, 29: 1389-1394.
- Nestadt G, Grados M, and Samuels JF. (2010) Genetics of OCD, *Psychiatr Clin North Am.*, 33(1): 141–158.
- Nestadt G, Lan T, Samuels J, Riddle M, Bienvenu III OJ, Liang KY et al. (2000) Complex Segregation Analysis Provides Compelling Evidence for a Major Gene Underlying Obsessive-Compulsive Disorder and for Heterogeneity by Sex, *Am. J. Hum. Genet.*, 67:1611–1616.
- Nicolini H, Arnold P, Nestadt G, Lanzagorta N, Kennedy JL. (2009) Overview of genetics and obsessive–compulsive disorder, *Psychiatry Research*, 170: 7–14.
- Pabalan N, Francisco-Pabalan O, Sung L, Jarjanazi H, Ozcelik H. (2010) Meta-analysis of two ERCC2 (XPD) polymorphisms, Asp312Asn and Lys751Gln, in breast cancer, *Breast Cancer Res Treat*, 124:531–541.
- Parıldar-Karpuzoglu H, Dogru-Abbasoglu S, Hanagasi HA, Karadag B, Gürvit H, Emre M, Uysal M. (2008) Single nucleotide polymorphisms in base-excision repair genes hOGG1, APE1 and XRCC1 do not alter risk of Alzheimer’s disease, *Neuroscience Letter*, 442:287–291.
- Pauls DL (2008) The Genetics of Obsessive Compulsive Disorder: A Review of the Evidence, *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*, 148C:133–139.
- Pauls DL (2008) The genetics of obsessive-compulsive disorder: a review, *Dialogues Clin Neurosci.*, 12:149-163.
- Pierce AJ, Johnson RD, Thompson LH, Jasin M. (1999) XRCC3 promotes homology-directed repair of DNA damage in mammalian cells, *Genes Dev.*, 13:2633-2638.

- Polat P, Eyüpoğlu H, Suma S, Eren S, Anaç S, Kirkpınar I. (2000) Obsesif-kompulsif bozuklukta kaudat nükleus ve putamen hacimleri: kantitatif MRG ile değerlendirme, *Tanıs ve Girişimsel Radyoloji*, 6:295-298.
- Psimadas D, Messini-Nikolaki N, Zafiropoulou M, Fortos A, Tsilimigaki S, Piperakis SM. (2004) DNA damage and repair efficiency in lymphocytes from schizophrenic patients, *Cancer Letters*, 204:33–40.
- Rao KS. (2007) Mechanisms of Disease: DNA repair defects, *Nature Clinical Practice Neurology*, 3(3):162-172.
- Robertson AB, Klunglanda A, Rognesa T, Leiros I. (2009) Base excision repair: the long and short of it, *Cell. Mol. Life Sci.*, 66:981 – 993.
- Ronen A and Glickman BW. (2001) Human DNA Repair Genes, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 37:241-283.
- Saadat M, Pakyari N, Farrashbandi H. (2008) Genetic polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 and susceptibility to schizophrenia, *Psychiatry Research*, 157:241–245.
- Saadat M. (2012) Genetic polymorphisms (at codons 194 and 399) in the DNA repair gene XRCC1 and susceptibility to bipolar disorder- letter, *Psychiatry Research*: 198:171.
- Salah GB, Fendri-Kriaa N, Kamoun H, Kallabi F, Mkaouer-Rebai E, Fourati A. (2012) An interethnic variability and a functional prediction of DNA repair gene polymorphisms: the example of XRCC3 (p.Thr241>Met) and XPD (p.Lys751>Gln) in a healthy Tunisian population, *Mol Biol Rep*, 39:9639–9647.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Kacmaz KU, Linn S. (2004) Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and The DNA Damage Checkpoints, *Annu. Rev. Biochem.*, 73:39–85.
- Schärer OD. (2008) XPG: its products and biological roles, *Adv Exp Med Biol*. 637: 83–92.
- Shugart YY, Samuels J, Willour VL, Grados MA, Greenberg BD, Knowles JA et al. (2006) Genomewide linkage scan for obsessive-compulsive disorder: evidence

- for susceptibility loci on chromosomes 3q, 7p, 1q, 15q, and 6q, *Molecular Psychiatry*, 11, 763–770.
- Stein DJ. (2002) Obsessive-compulsive disorder, *Lancet*, 360: 397–405.
- Sykora P, Wilson III DM, and Bohr WA. (2013) Base excision repair in the mammalian brain: Implication for age related neurodegeneration. *Mech. Ageing Dev.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2013.04.005>
- Şengül C ve Herken H. (2012) Obsesif Kompulsif Bozukluk Genetiği, *Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*, 5(3):38-42.
- Thacker J, and Zdzienicka MZ. (2003) The mammalian XRCC genes: their roles in DNA repair and genetic stability, *DNA Repair*, 2:655–672.
- Thompson LH, Schild D. (2002) Recombinational DNA repair and human disease, *Mutation Research*, 509: 49-78.
- Topçuoğlu V, Aksoy A, Cömert B. (2003) Obsesif Kompulsif Bozuklukta Beyin Görüntüleme Çalışmaları, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 13:151-160.
- Topçuoğlu V. (2003) Obsesif Kompulsif Bozuklukta Psikanalitik Görüşler, *Klinik Psikiyatri*, 6:46-50.
- Ulay HT. (2010) Çocuk ve Ergenlerde Obsesif Kompulsif Bozuklukta Aripiprazol Kullanımı: Olgu Örnekleri, *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi*, 17 (2): 91-96.
- Walitza S, Jens R, Wendland JR, Gruenblatt E, Warnke A. (2010) Genetics of early-onset obsessive-compulsive disorder, *Eur Child Adolesc Psychiatry* 19, 19:227–235.
- Walitza S, Scherag A, Renner TJ, Hinney A, Remschmidt H, Herpertz-Dahlmann B et al. (2008) Transmission disequilibrium studies in early onset of obsessive-compulsive disorder for polymorphisms in genes of the dopaminergic system, *J Neural Transm*: 115:1071–1078.
- Wang J, Zhao Y, Jiang J, Gajalakshmi V, Kuriki K, Nakamura S et al. (2010) Polymorphisms in DNA repair genes XRCC1, XRCC3 and XPD, and colorectal cancer risk: a case-control study in an Indian population, *J Cancer Res Clin Oncol*, 136:1517–1525.

- Wood RD, Mitchell M, and Lindahl T. (2005) Human DNA repair genes, *Mutation Research*, 577:275–283.
- Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T. (2001) Human DNA Repair Genes, *Science*, 291:1284-1289.
- Woods CG. (1998) DNA repair disorders, *Arch Dis Child*, 78:178–184.
- Xue H, Lu Y, Lin B, Chen J, Tang F, Huang G. (2012) The Effect of XPD/ERCC2 Polymorphisms on Gastric Cancer Risk among Different Ethnicities: A Systematic Review and Meta-Analysis, *PLoS ONE*, 7(9):e43431 doi:10.1371/journal.pone.0043431.
- Yoon AJ, Kuo WH, Lin CW, Yang SF. (2011) Role of ERCC5 polymorphism in risk of hepatocellular carcinoma, *Oncology Letters*, 2:911-914.
- Yorulmaz O. (2012) Obsesif Kompulsif Bozukluk: Klinik Görünüm, *Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics*, 5(3):1-5.
- Zhu ML, Wang M, Cao ZG, He J, Shi TY, Xia KQ et al. (2012) Association between the ERCC5 Asp1104His Polymorphism and Cancer Risk: A Meta-Analysis, *PLoS ONE*, 7(7): e36293. doi:10.1371/journal.pone.0036293

## FORMLAR

### OLGU RAPOR FORMU (ORF)

**Hastanın Adı ve Soyadı:**

**Doğum Yeri, Yılı ve Ay:**

**Eğitim Düzeyi (Yıl):** O İlk okul    O Orta okul    O Lise    O Üniversite    O Lisans üstü

**Cinsiyet:**                      O Kadın                      O Erkek

**El Dominansı:**            O Sağ                      O Sol                      O Her İki El

**Medeni Durum:**            O Evli                      O Bekar                      O Dul

**Meslek:**                      O Halen Çalışıyor (.....)  
                                          O Halen Çalışmıyor (.....)  
                                          O Hiç Çalışmamış (.....)  
                                          O Diğer (emekli, öğrenci) (.....)

**Akraba Evliliği**            O Var                                              O Yok

**Var ise**                            O 1.Derece    O 2. Derece    O 3. Derece

**Hastanın Suicide Girişimi**                      O Var                      O Yok

**Var ise;**                      Tarih ve şekli, varsa Presipite edici faktörler  
                                          (.....)

**Hastanın Dahili ve Cerrahi Özgeçmişi:**

**Soygeçmişinde Psikiyatrik Hastalıklar:**

**Soy geçmişinde Hastalık (Ailede ölüm nedenleri, organik beyin sendromu):**

**Hastanın Boy ve Kilosu:**

**Hasta Sigara içiyor mu:**

**O Evet**

**O Hayır**

**İçiyorsa günde kaç paket ve kaç yıldır içiyor?**

**Bırakmış ise kaç yıldır bırakmış ve kaç yıl ne kadar sigara içmiş?**

**Hasta alkol içiyor mu:**

**O Evet**

**O Hayır**

**içiyorsa kaç yıldır ve ne miktarda içiyor?**

**Bırakmış ise ne kadar süredir içmiyor:**

**Hastalığa Eşlik Eden Semptomlar: O Sch  
Şizoobsesif**

**O Şizodepresyon**

**O**

**Hastalığın Başlangıç Yaşı:**

**Hastalığın Süresi:**

**Akut Dönem Semptomları:**

**O Pozitif**

**O Negatif**

**O Diğer**

**Başlangıç Dönem Semptomları:**

**O Pozitif**

**O Negatif**

**O**

**Diğer**

**Hastalığın Alt Tipi: O Paranoid sch.**

**O Desorganize sch**

**O Katatonik sch**

**O Ayırtedilmemiş sch Orezidüel tip**

**O Diğer(basit)**

**Hastalığın Seyri:**

**O Sürekli**

**O Epizodik**

**O Diğer**

**Hastaneye Yatış Sayısı:**

**En son Yatış Tarihi ve Süresi (hafta):**

**Uygulanmakta Olan Tedavi, Dozu ve Süresi:****O ilaçsız**

O atipik NL  
(.....)

O tipik NL  
(.....)

O antidepresif  
drug(.....)

O diğer (Lityum, antiepileptik, kantikolinerjik, ECT)  
(.....)

**Geçmişte Uygulanan Tedavi:****O ilaçsız**

O atipik NL  
(.....)

O tipik NL  
(.....)

O antidepresif  
drug(.....)

O diğer (Lityum, antiepileptik, kantikolinerjik, ECT)  
(.....)

**Kaç Yıldır Tedavi Görüyor:****Uygulanan ECT Seans Sayısı:****En Son Uygulanan ECT'nin Tarihi (Kaç ay önce):**

Sosyal Destek: Ovar (.....) Oyok

**Ailedeki Birey Sayısı:****Ailede Asıl Geliri Kazanan Kişinin Mesleği ve Eğitimi:****Ailenin Yıllık Geliri:****Ailenin Ekonomik Seviyesi:**

O kötü O orta Oi yi O çok iyi

Gönüllülerin 24 saat  
ulaşabilecekleri araştırmacı

**Uzm. Dr. -**  
Tel: 0 -

## ETİK KURUL KARARI



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1398

Tarih : 29.07.2011

Konu : Doç. Dr. Bediye AĞAÇHAN hk.

Sayın Doç. Dr. Bediye AĞAÇHAN  
Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü  
Öğretim Görevlisi  
İlgi : 25.05.2011 tarihli 447 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi Ramazan ÇELİK'in yürüteceği 2011/12B1-847 dosya numaralı "Obsesif Kompulsif Bozukluk Hastalarında DNA Tamir Genlerinin Araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 27.07.2011 tarihli 10 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN  
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

|                                           | Bölge Adı              |   | Açıklama                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------|------------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>DEĞERLENDİRİLEN<br/>DİĞER BELGELER</b> | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ      | X |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | SIGORTA                |   |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | HASTA KARTI/DUNLUKLERİ |   |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | ILAN                   |   |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | YILLIK BİLDİRİM        |   |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | SONUÇ RAPORU           |   |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | GÜVENLİK BEYANNAMELERİ |   |                                                                                                                                                                                                                 |
|                                           | DİĞER                  |   | Anastomoz Doku Biyopsisi/Genital Ür. Yolu ve Akutitöriz Kültür Kanalı; Litiraklı Kaynakları, İktisadiyatı Pavyonun Hüsnüleri, Tıpçı Raporu, Farklı Bazı Elemanların Medikal Değerlendirmesi (İzlenim), CNY-010. |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |              |                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------------|
| KARAR BİLGİLERİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Karar No: 92 | Tarih: 27.07.2011 |
| <p>İstanbul Tıp Fakültesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Bülke AĞAÇHAN ve Doç. Dr. Özgür ÖZMENİN Romatizma (CELİK) ile koordinatörlüğü ve yönetiminde yürütülen tıbbi bilimler ve sağlıkta hayvanlar bilimleri verileri ve hayvanlar deneyleri ve araştırmaları ile ilgili bilimsel görüşler, amaç, çıktıları ve yöntemleri bilimsel olarak inceleme, değerlendirme ve etik olarak bilimselliğine karar verilmiştir.</p> |              |                   |

|                      |                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ETİK KURUL BİLGİLERİ |                                                                                                                                                                                                       |
| ÇALIŞMA ESASI        | İstanbul Üniversitesi İktisat Bölümü İçinde Yürürlükte Bilişsel Araştırmalar ve Etik Değerlendirme Kurulu, Yürürlükte, 08 Aralık 2008 tarihinde, T.C. Sağlık Bakanlığı ile Klinik Uygulamaları Kurulu |

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI ADI SOYADI: Prof. Dr. A. Yalçın ÖRESİM

| ETİK KURUL ÜYELERİ             |                                   |                                                                    |          |      |                   |      |                    |   |                                                                                       |
|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------|----------|------|-------------------|------|--------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Unvanı ve Soyadı               | Görev ve Alanı                    | Kurumu                                                             | Cinsiyet |      | Yaşı <sup>1</sup> |      | Kadın <sup>2</sup> |   | İmza                                                                                  |
| Prof. Dr. A. Taygi ÜREŞİN      | Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji | İstanbul Tıp Fakültesi Şişli Kurul Başkanı                         | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Berra İMMANİY        | Kardiyoloji                       | İstanbul Tıp Fakültesi Şişli Kurul Başkanı Tıbbi Servisi           | E        | K.K. | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Ahmet Gök            | Neuroloji                         | İstanbul Tıp Fakültesi                                             | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Ruhiye ERER ÖMERÖĞLÜ | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları     | İstanbul Tıp Fakültesi                                             | E        | K.K. | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Oğuzhan ÇOŞAN        | Nöroloji                          | İstanbul Tıp Fakültesi                                             | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Pinar SAMP           | Onkoloji                          | İ.U. Onkoloji Enstitüsü                                            | E        | K.K. | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Uzm. Dr. Ahmet Ruza ÖRS        | Hiyokimya                         | Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hiyokimya Enstitüsü          | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Ayhan BULUT          | Halk Sağlığı                      | E                                                                  | E        | K.K. | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Doç. Dr. Tuba TÜRKEN           | İç Hastalıkları                   | Orta Anadolu Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Ümit KAZDOĞAN        | Onkoloji                          | Şişli Etfak E. ve Araştırma Hastanesi                              | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Ahmet Ö. KARAMAN     | Endokrin                          | İ.U. Endokrin Fakültesi                                            | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Av. Döküm TENGİZ ÖZTAN         | Hukuk                             | İstanbul Üniversitesi                                              | E        | K.K. | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Prof. Dr. Özgür TIRYAKI        | Hiyoloji                          | Fen Bilimleri                                                      | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |
| Dr. Ruza KARAMAN               | İBB Kurum İdari                   | Çocuk Hastalıkları                                                 | E        | K    | E                 | H.K. | E                  | K |  |

\* Suspensão de líquidos  
 — Tópica e/ou sistêmica

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                 |                          |                  |             |
|-----------------|--------------------------|------------------|-------------|
| <b>Adı</b>      | Ramazan                  | <b>Soyadı</b>    | ÇELİK       |
| <b>Doğ.Yeri</b> | Doğanhisar               | <b>Doğ.Tar.</b>  | 27.07.1978  |
| <b>Uyruğu</b>   | TC                       | <b>TC Kim No</b> | 44194597328 |
| <b>Email</b>    | celikramazan@hotmail.com | <b>Tel</b>       | 5372574090  |

### Eğitim Düzeyi

|                 | Mezun Olduğu Kurumun Adı                         | Mez. Yılı |
|-----------------|--------------------------------------------------|-----------|
| <b>Doktora</b>  | İstanbul Üniv. DATAE Moleküler Tıp ABD           | 2010-...  |
| <b>Yük.Lis.</b> | Selçuk Üniv. Sağlık Bil. Enst. Tıbbi Genetik ABD | 2008      |
| <b>Lisans</b>   | Selçuk Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl.     | 2001      |
| <b>Lise</b>     | Sarayönü Sağlık Meslek Lisesi                    | 1996      |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|    | Görevi  | Kurum                     | Süre (Yıl - Yıl) |
|----|---------|---------------------------|------------------|
| 1. | Biyolog | Burç Genetik Tanı Merkezi | 2006-2013        |
| 2. |         |                           | -                |
| 3. |         |                           | -                |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* | KPDS/ÜDS Puanı | (Diğer) Puanı |
|-----------------|-------------------|----------|--------|----------------|---------------|
| İngilizce       | İyi               | Zayıf    | Orta   | 63             |               |
|                 |                   |          |        |                |               |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

|                      | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|----------------------|---------|--------------|-------|
| <b>LES Puanı</b>     | 58      | 62           | 66    |
| <b>(Diğer) Puanı</b> |         |              |       |

### Bilgisayar Bilgisi

| Program   | Kullanma becerisi |
|-----------|-------------------|
| MS Office | İyi               |
|           |                   |
|           |                   |

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

### Özel İlgi Alanları (Hobileri):