



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFREN TANILI OLGULARDA COMT GEN EKSPRESYON
SEVİYELERİNİN REAL TIME PCR YÖNTEMİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

ŞEBNEM DEMİREL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ

MANİSA 2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFREN TANILI OLGULARDA COMT GEN EKSPRESYON
SEVİYELERİNİN REAL TIME – PCR YÖNTEMİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

ŞEBNEM DEMİREL
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ

TEZ SAVUNMA SINAVI JÜRİ ÜYELERİ

Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

Prof. Dr. Haluk AKIN

MANİSA 2019

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10284203
Yazar Adı / Soyadı	ŞEBNEM DEMİREL
T.C.Kimlik No	57196240284
Telefon	5302734589
E-Posta	sebnem_89_35@hotmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	Şizofren Tanılı Olgularda COMT Gen Ekspresyon Seviyelerinin Real Time - PCR Yöntemi ile Araştırılması
Tezin Tercümesi	Investigation of COMT Gene Expression Levels in Patients with Schizophrenia by Real Time - PCR
Konu	Tıbbi Biyoloji = Medical Biology
Üniversite	Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	83
Tez Danışmanları	DOÇ. DR. NURAY ALTINTAŞ
Dizin Terimleri	Genler-COMT=Genes-COMT ; Şizofreni-Schizophrenia ; RNA=RNA
Önerilen Dizin Terimleri	Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) = Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR) Gene Expression = Gen Ekspresyonu

20.08.2019

İmza:.....

**ŞİZOFREN TANILI OLGULARDA COMT GEN EKSPRESYON
SEVİYELERİNİN REAL TIME-PCR YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

Öğrenci: Şebnem DEMİREL

Danışman: Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

İkinci Tez Danışmanı: -

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

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

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

Üye : Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

(Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Prof. Dr. Haluk AKIN

(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı)

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

09.08.2019

Prof. Dr. Bilal-i Habes GÜMÜŞ
Enstitü Müdürü V.

I.BEYAN

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


Şebnem DEMİREL

II. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince, bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen ve tezime proje desteği sağlayan Sayın Danışman Hocam Doç.Dr. Nuray ALTINTAŞ’a,

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

Hasta temini konusunda yardımcı olan Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri kliniğinden, Sayın Hocam Prof. Dr. Ayşen ESEN DANACI ve Dr. Cihan GÜL’e

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

Tezime proje desteği veren BAP yönetimine ve de Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetimine ve çalışanlarına,

Bu yolda beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sabır ve özverileri ile yanımda olan sevgili eşime,

Arkamda varlıklarını, güçlerini her daim hissettiğim kıymetli annem, babam ve ablama sonsuz teşekkür ederim...

Şebnem DEMİREL

III. KISALTMALAR

Bipolar Bozukluk (BP)
Catechol-O-Methyltransferase (COMT)
Copy Number Variants (CNV)
Çözünür COMT (S-COMT)
Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu (ADHD)
Dopamin Reseptörü D2 (DRD2)
Dopamin Reseptörü D3 (DRD3)
Dopamin Taşıyıcı (DAT)
Dysbindin-1 (DTNBP1)
D-amino Asit Oksidaz (DAO)
D-amino Asit Oksidaz Aktivatörü (DAOA)
Distrobreyin Bağlayıcı Protein (DTNBP1)
Deoksinükleosid trifosfat (dNTP)
Erken Başlangıçlı Şizofreni (EOS)
Eşik Döngüsü (CT)
Etilen Diamin Tetra Asetikasit (EDTA)
Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)
G- protein Sinyal 4'ün Düzenleyicisi (RGS4)
Glutamat Reseptörü Metabotropik 3 (GRM3)
Glutamat Reseptörü Metabotropik 4 (ERBB4)
Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)
Kat Değişimi Değerleri ($2^{-\Delta\Delta CT}$)
Kolinerjik Reseptör Nikotinik A7 (CHRNA7)
Kopya Sayısı Farklılıkları (CNV)
Komplementer DNA (cDNA)
Majör Depresif Bozukluk (MDD)
Majör Histocompatibility Complex (MHC)
Membrana Bağlı COMT (MB COMT)

Neuregulin-1 (NRG1)
Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB)
Otizm Spektrum Bozukluğu (ASD)
Prefrontal Korteks (PFC)
Psikiyatrik Genomik Konsorsiyumu (PGC)
Potasyum Voltaj Kapılı Kanal (KCNH2)
Real Time-PCR (RT-PCR)
Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT PCR)
Real Time- Quantitative (RT-QPCR)
Serotonin Taşıyıcı (SLC6A4)
Şizofreni (SCZ)
Şizofrenide Bozulma 1 (DISC1)
Tek-Nükleotid Polimorfizm (SNP)
The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)
Tris (2-carboxyethy) Phosphine Hydrochloride Solution (TCEP)
Velokardiyofasyal Sendrom (VKFS)
V-akt Murin Timo Viral Onkojen Homolog1 (AKT1)
5-didroksitriptamin (serotonin) Reseptörü 2A (HTR2A)

IV. İÇİNDEKİLER

I. BEYAN	
II. TEŞEKKÜR	I
III. KISALTMALAR	II
IV. İÇİNDEKİLER	VI
V. ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
VI. GRAFİKLER DİZİNİ	VIII
VII. RESİMLER DİZİNİ	IX
VIII. TABLOLAR DİZİNİ	X
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. ŞİZOFRENİNİN TANIMI	5
4.2. ŞİZOFRENİNİN TARİHÇESİ	5
4.3. ŞİZOFRENİDE BAŞLANGIÇ YAŞI VE BELİRTİLERİ	6
4.3.1. Başlangıç Yaşı	6
4.3.2. Belirtileri	7
4.3.2.1. Pozitif belirtiler	7
4.3.2.2. Negatif belirtiler	8
4.3.2.3. Diğer belirtiler	8
4.4. ŞİZOFRENİDE ETKİLİ FAKTÖRLER	9
4.5. ŞİZOFRENİNİN ALT TİPLERİ	9
4.5.1. Paranoid Tip Şizofreni	9

4.5.2. Dağınık Tip Şizofreni	10
4.5.3. Katatonik Tip Şizofreni	10
4.5.4. Farklılaşmamış Tip Şizofreni	11
4.5.5. Rezidüel Tip Şizofreni	11
4.6. EPİDEMİYOLOJİ (SIKLIK VE YAYGINLIK)	11
4.7. ETİYOLOJİ (OLUŞ NEDENLERİ)	12
4.8. ŞİZOFRENİDE DOPAMİN HİPOTEZİ	13
4.9. ŞİZOFRENİ GENETİĞİ	14
4.9.1. Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)	17
4.9.2. De Novo Mutasyonlar	18
4.9.3. Epigenetik Değişiklikler	19
4.9.4. Şizofrenide Aday Genler	19
4.10. ŞİZOFRENİDE COMT GENİNİN ÖZELLİKLERİ	22
4.11. GEN İFADESİNİN DÜZENLENMESİ (GEN EKSPRESYONU)	24
4.12. REVERS TRANSKRİPTAZ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (RT PCR)	28
4.13. REAL TIME PCR TEKNİĞİ	28
4.14. REAL TIME PCR'DA RELATİF GEN EKSPRESYON VERİLERİNİN ANALİZİNDE KULLANILAN $2^{-\Delta\Delta CT}$ METODU	29
5. GEREÇ ve YÖNTEM	30
5.1. MATERYAL	30
5.2. KİMYASALLAR VE KİTLER	30
5.3. PLASTİK MALZEMELER	31
5.4. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER	31
5.5. METOD	32
5.5.1. Total RNA İzolasyonu	32
5.5.1.1. QIAamp RNA blood mini kit içeriği	33
5.5.1.2. QIAcube cihazı ile QIAamp RNA blood mini kit protokolü	33
5.5.2. cDNA Sentezi	34
5.5.2.1. RT ² HT First Strand Kit içeriği	35
5.5.2.2. RT ² HT First Strand Kit protokolü	35
5.5.3. Real Time PCR Analizi	36

5.5.3.1. Real Time PCR primerleri	36
5.5.3.2. Real Time PCR protokolü	38
5.5.3.3. Real Time PCR verilerinin analizi	39
6.BULGULAR	40
6.1. REAL TIME PCR'DA GÖZLENEN COMT AMPLİFİKASYON EĞRİLERİ	40
6.2. $2^{-\Delta\Delta CT}$ METODU KULLANILARAK RELATİF GEN EKSPRESYON VERİLERİNİN ANALİZİ	41
7.TARTIŞMA	43
8.KAYNAKLAR	45
9.EKLER	52
EK 1: Enstitü Yönetim Kurulu Kararı	52
EK 2: Etik Kurul İzin Belgesi	53
EK 3: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	54
EK 4: Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu	59
10.ÖZGEÇMİŞ	60

V. ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 22. Kromozom üzerinde COMT Gen Lokalizasyonu

Şekil 2. COMT Gen Bölgesi

Şekil 3. Ökaryotik hücrede gen yapısı

Şekil 4. Gen ekspresyonu

Şekil 5. Hücre içinde Gen ekspresyonu şeması

Şekil 6. COMT geni oligonükleotid primeri

Şekil 7. GAPDH geni oligonükleotid primeri

Şekil 8. RT-PCR’da gözlenen COMT geni amplifikasyon eğrileri

Şekil 9. RT-PCR’da gözlenen GAPDH geni amplifikasyon eğrileri

VI. GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Hasta bireylerde COMT geni ekspresyon seviyeleri



VII.RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. RNA izolasyonu işlemi

Resim 2. cDNA elde etme işlemi

Resim 3. Real Time PCR işlemi

Resim 4. Gen Ekspresyonu verileri analizi işlemi



VIII.TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Şizofrenide hastalık öncesi belirtiler

Tablo 2. Şizofreninin klinik belirtilerinde pozitif belirtiler

Tablo 3. Şizofreninin pozitif, negatif ve dağınık belirtileri

Tablo 4. Şizofrenide etkili genler

Tablo 5. Şizofreni araştırmalarında tarihsel öneme sahip aday genler

Tablo 6. RT² HT First Strand Kit Uygulamasında Kullanılan Bileşenler

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

Tablo 8. Real Time PCR bileşenlerinin hazırlanması

Tablo 9. Real Time PCR Programı

Tezin Başlığı: Şizofren Tanılı Olgularda COMT Gen Ekspresyon Seviyelerinin Real Time – PCR Yöntemi ile Araştırılması

Öğrencinin Adı: Şebnem CİDDİ (DEMİREL)

Danışman: Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyoloji

1.ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı şizofren bireylerin kan materyallerinden, COMT geni ekspresyon seviyelerinin Real Time-PCR tekniği ile araştırılması ve ilgili genin transkripsiyonel düzeydeki ifadelerinin incelenmesi ile verilerin elde edilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Kliniği'nde tedavi gören ve kronik şizofren tanısı konmuş 8 birey hasta grubunu oluşturmuştur. Ailesinde kronik şizofreni öyküsü bulunmayan, sağlıklı gönüllü 8 birey kontrol grubunu oluşturmuştur. Örneklem grubundaki her birey için RNA izolasyonundan sonra, COMT genindeki ekspresyon seviyeleri Real Time-PCR tekniği kullanılarak belirlenmiştir. $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak, relatif gen ekspresyon analizi yapılmıştır.

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

Sonuçlar: Çalışmamızda şizofren tanılı olgularda COMT geni ekspresyon seviyelerini belirlemek için Real Time-PCR yöntemi kullanılmış ve COMT geni ekspresyon seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, şizofrenide COMT gen ekspresyonundaki aşağı regülasyonda önemli bir rol oynayabileceğini gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: Şizofreni, COMT, RNA, Gen Ekspresyonu, Real Time-PCR

Thesis Title: Investigation of COMT Gene Expression Levels in Patients with Schizophrenia by Real Time – PCR

Student's Name: Şebnem CİDDİ (DEMİREL)

Advisor: Assoc. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Department: Medical Biology

2. ABSTRACT

Aim: The aim of this study to investigate the expression levels of COMT gene from blood materials of schizophrenic individuals by Real Time-PCR technique and to obtain data by examining the transcriptional expression of the gene.

Material and Methods: In our study, 8 patients who were diagnosed as chronic schizophrenia and treated at the Psychiatry Clinic of Hafsa Sultan Hospital, Manisa Celal Bayar University, consisted the patient group. 8 healthy volunteers who didn't have a family history of chronic schizophrenia consisted the control group. After RNA isolation for each individual in the sample group, expression levels in the COMT gene were determined using Real Time-PCR technique. Relative gene expression analysis was performed using $2^{-\Delta\Delta CT}$ method.

Results: According to the results of our study, it was determined that the expression levels of COMT gene in our 4, 6 and 8 patients had significant down regulation.

Conclusions: In our study, Real Time-PCR method was used to determine COMT gene expression levels in schizophrenic patients and it was found that COMT gene expression level decreased. These results may indicate that it may play an important role in down-regulation of COMT gene expression in schizophrenia.

Keywords: Schizophrenia, COMT, RNA, Gene Expression, Real Time-PCR

3. GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık %1' ini etkileyen şizofreninin, sistemli psikiyatrik bozukluklardan biri olduğu belirtilmektedir. Birçok davranış ve düşünce bozukluğuna neden olmaktadır (Yenilmez ve ark. 2017). Patolojisine rağmen, bu hastalık henüz tam olarak anlaşılamamıştır; ancak çevresel ve genetik faktörlerin şizofreni gelişiminde önemli etkileri olduğu belirtilmektedir (Ertan 2008; Lajin ve Alachkar 2011; Altinyazar ve ark 2015). Şizofreninin son yıllarda tek tip hastalık olmadığının ortaya çıktığı bildirilmektedir. Bu düşünceyle birlikte şizofreni etiolojisinde birden çok faktörün rol alabileceği düşünülmektedir (Acar ve Kartalcı 2014).

Genetik epidemiyoloji 1970' li yıllarda medikal genetik, popülasyon genetiği ile epidemiyoloji metodlarından faydalananarak meydana çıktığı belirtilmektedir. Genetik ve çevresel bileşenlerin farklı miktarlarda rol oynadığı düşünülmektedir. Böylece değişik şizofreni alt grupları ortaya çıkmaktadır. Şizofreninin alt tipleri olarak; Paranoid Tip Şizofreni, Dezorganize Tip Şizofreni, Katatonik Tip Şizofreni, Farklılaşmamış Tip Şizofreni, Rezidüel Tip Şizofreni sayılmaktadır (Andreasen 1997; Ceylan 2005; Lajin ve Alachkar 2011; Yenilmez ve ark. 2017).

Şizofreni hastalarının genel popülasyona oranla %20 daha kısa bir ömüre sahip oldukları bilinmekte ve kişiler arası ilişkiler, evlilik, iş, eğitim, kişisel bakım ve diğer pek çok konuda zorlandıkları ve topluma uyum sağlayamadıkları tespit edildiği belirtilmektedir (Yenilmez ve ark. 2017).

Ayrıntılı araştırma sonuçlarında; şizofreni etiolojisinde genetik kalıtım oranının yaklaşık %81, çevre etkisinin ise yaklaşık %11 olduğu belirtilmektedir. Şizofreninin genetik olarak tek bir kromozomdaki yer değişikliğinden mi, penetransı eksik olan tek bir genden mi veya değişik genlerdeki bozukluklardan mı kaynaklandığı konusunun net olmadığı bildirilmektedir (Acar ve Kartalcı 2014). Meta-analitik araştırmalar sonucunda 6p, 10p, 15q, 18q ve 22q kromozomları üzerinde şizofreniye yatkınlık genlerinin olabileceği belirtilmektedir. Catechol-O-Methyltransferase (COMT), Dysbindin-1 (DTNBP1) ve Neuregulin-1 (NRG1) gibi genler şizofreni hastalığına yatkınlıkta aday olarak gösterilmektedir (Acar ve Kartalcı 2014).

COMT geni şizofreni için güçlü bir pozisyonel ve fonksiyonel aday genidir. COMT geni; fonksiyonel polimorfizm, nörotransmitterlerle ilgili hastalıkların tanı ve tedavisinde kılavuz olarak önem taşımaktadır. COMT gen polimorfizminin şizofreni, bipolar duygulanım bozukluğu, Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB), migren gibi hastalıkların; agresif ve antisosyal davranışların patogeneğinde etkili olduğu ve irksal farklılıklar gösterdiği bilinmektedir (Varma ve ark.2011; Lajin ve Alackhar 2011). Astım, Parkinson hastalığı gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılan katekol içeren ilaçların metabolizmasında da rol aldığı da bilinmektedir (Acar ve Kartalcı 2014).

COMT enziminin Prefrontal Korteksteki (PFC) aktivitesi, şizofreni hastalarında ve sağlıklı bireylerde dopaminin aracılık ettiği bilişsel fonksiyonu etkilemektedir (Altinyazar ve ark. 2015; Lajin ve Alackhar 2011; Şagud ve ark. 2010). COMT, insan beyninin prefrontal korteksindeki dopaminin ortadan kaldırılmasında anahtar bir enzimdir (Chen ve ark.2004). COMT' un prefrontal dopamin düzeylerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. COMT geninin yaygın Val¹⁵⁸Met polimorfizmi, bu enzimin aktivitesini öngörmektedir (Wishart ve ark. 2011).

Şizofreni gelişiminde COMT Val/Met polimorfizminde rol alarak prefrontal korteks ve hipokampal işlevleri etkilemektedir. Enzim aktivitesi düşük Met allel bulunduran bireylerin bilişsel performanslarının daha iyi olduğu bildirilmektedir. Met allel taşıyıcılarında antipsikotiklerin bilişsel iyileşmede önemli olduğu belirtilmektedir. Şengöz S.' in yaptığı çalışmada 100 hasta ve 100 kontrol grubu kullanılmış olup hasta grubunda Val alleli (yüksek aktiviteli) frekansı %33, Met alleli (düşük aktiviteli) frekansı %67; kontrol grubu Val alleli frekansı %67, Met alleli frekansı %33 olarak saptandığı belirtilmektedir (Varma ve ark. 2011; Lajin ve ark. 2011; Şengöz 2017).

COMT enzimi, dopamin metabolik yolundaki ana bileşen olup, katekolamin transmitterlerinin ana yıkım yolağının harekete geçmesini sağlamaktadır. COMT, nörotransmitterlerin parçalandığı postsinaptik nöronlarda yer almaktadır (Acar ve Kartalcı 2014).

4.GENEL BİLGİLER

4.1. ŞİZOFRENİNİN TANIMI

Şizofreni, duygu, düşünce ve davranışlarda temel bozukluklarla ortaya çıkan bir grup psikotik bozukluktur. Bozuk düşüncede fikirler mantıksal olarak birbiriyle bağlantılı değildir, algı ve dikkat bozuk olmaktadır. Motor faaliyetlerde tuhaf bozukluklar vardır, uygun olmayan ya da donuk duygulanım görülmektedir. Hastanın diğer insanlardan ve gerçeklerden sıklıkla varsanı (halüsinasyon) ve sanrılara (hezeyan) kaçmasına neden olduğu belirtilmektedir (Davison ve ark 2008; Li ve ark 2018).

Şizofreni; kişiliği, düşünceyi, algıyı, duyguyu, hareketi ve davranışı etkileyen değişken fakat oldukça yıkıcı psikopatolojiyi içeren klinik bir sendrom olarak bildirilmektedir. Semptomların görünümü kişiden kişiye ve zaman içerisinde değişiklik göstermekle birlikte hastalığın etkisi her zaman ağır ve kalıcıdır. Psikiyatristlerin ve sağlık hizmeti verenler için oldukça uğraştırıcı ve zordur. Bireyler hayatlarının en işlevsel döneminde bu hastalığa yakalanmakta ve pek çok vakada tekrarlayıcı, kronik bir seyir izleyerek onları üretimden uzaklaştırmakta, çevresiyle önemli uyumsuzluk ve çatışmalar yaşamasına neden olmaktadır (Sadock 2000; Lieberman 2006; Köroğlu ve Güleç 2007). Şizofrenide gözlenen kişilik düzensizliği; kültürel, psikolojik ve biyolojik değişkenlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkabilmekte olup bunlar arasında genetik faktörlerin olduğu belirtilmektedir (Cardoso ve Silva 2018).

4.2. ŞİZOFRENİNİN TARİHÇESİ

Klinik bir sendrom olan şizofreni; biyolojik, psikolojik ve sosyal etkeni içermektedir. Şizofreni hastalarının aile bireylerinin de büyük bir risk taşıdığı belirtilmektedir. Şizofreniyi tanımlama ve tedavi amaçlı patojenik etkileri içeren, molekülerden psikososyal düzeye kadar olan tüm etkenlerin bir arada bulunduğu geniş bir tıbbi modele ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir (Yavuz 2008).

4.3. ŞİZOFRENİDE BAŞLANGIÇ YAŞI VE BELİRTİLERİ

4.3.1. Başlangıç Yaşı :

Şizofreninin en sık görülen yaş aralığı 15-40 yaşları arasında olup, genellikle genç yaşlarda başladığı belirtilmektedir. Hastalığın farklı başlangıç biçimleri bulunmaktadır. Hastalığın ilk evreleri bireylerin yakınları tarafından anlaşılamadığı için zamanla hastalık yerleşmektedir. Hastalık 18 yaşından önce tezahür ederse erken başlangıçlı şizofren (EOS) olarak adlandırılır, bu daha çok ailevi güvenlik açığı ve zayıf sonuçlarla ilişkilidir. Genellikle geç ergenlikte ortaya çıkan dil, düşünce, algı, duygusal etki ve benlik duygusu dahil olmak üzere insan biliş ve kişiliğinin birkaç temel özelliğini derinlemesine bozmaktadır. Tipik olarak, psikoz erken yetişkinlik döneminde başlayıp eğitim, istihdam ve sosyal işleyişe müdahale etmektedir. Hastalık sinsi ve yavaş başladığı gibi, akut olarak da başlayabilmektedir. Şizofreni başlangıcının farklılığından dolayı tanı için belli bir süreye ihtiyaç vardır (Mimmack ve ark 2002; Yavuz 2008; Xu ve ark 2016).

Şizofreni hastalığı tespitin, ayırt edici özellikteki belirti ve bulgular dikkate alınarak bir aylık zamanda yapılması düşünülmekte, ancak bazı belirti ve bulguların ise en az altı ay süreyle devam etmesi gerektiği bildirilmektedir (Tablo1) (Yavuz 2008).

Tablo 1. Şizofrenide hastalık öncesi belirtiler (Yavuz 2008).

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

Şizofrenideki klinik belirtiler; gerçeği değerlendirmedeki bozukluk ile ifade edilen pozitif belirtiler ve normal işlevlerde azalma ile ifade edilen negatif belirtiler olmak üzere 2 alt başlıkta incelenmekte olduğu bildirilmektedir (Kocal ve ark 2017).

4.3.2. Belirtileri

4.3.2.1. Pozitif belirtiler

Pozitif belirtiler, normal davranışlardaki aşırılık veya anormalliklerden oluşmaktadır. Şizofrenide en sık görülen, kötülük görme sanrılarıdır. Alınganlık sanrıları, kıskançlık, somatik, erotomanik, düşünce okunması-çalınması-yayınlanması, kontrol edilme sanrıları biçiminde sanrılar da bulunmaktadır. Şizofrenide daha az olarak görülen pozitif belirtiler ise halüsinasyonlardır. Hastalık sürecinde genel olarak akut ve alevlenme dönemlerinde görülen aşırı hareketli tavırlar, taşkınlık, yüz bölgesinde ve özellikle ağız bölgesinde belirgin tike benzeyen tuhaf hareketler pozitif psikotik belirtiler arasında yer almaktadır (Tablo 2, Tablo 3) (Kocal ve ark. 2017).

Tablo 2. Şizofreninin klinik belirtilerinde pozitif belirtiler (Yavuz 2008).

Görünüş ve davranış	Dağınık, düşünceli, çekingen, inaktif, huzursuz, gürültülü, kararsız
Mood (Duygu durumu)	Değişik duygu durumu, duygularda körleşme, duyarsızlık, uygunsuzluk
Düşünce bozukluğu	Belirsizlik, Formal düşünce bozukluğu, Düşünce akışında bozukluk
Hallüsinasyonlar	İşitme, Görme, Dokunma, Koku, Tat
Hezeyanlar	Primer
Orientasyon, Hafıza	Normal
Dikkat	Bozuk

4.3.2.2. Negatif belirtiler

Negatif belirtiler normalde var olan davranışların eksikliğini ya da olmamasını ifade etmektedir. Günlük yaşamsal işlevlerin azalması veya ortadan kalkması olarak tanımlanmaktadır. Küntlük(hiçbir duyguya karşı tepkinin olmaması), aloji (düşünce

ve konuşma fakirliği), avolasyon(istek ve enerji azalması), toplumsal uzaklaşma, kendisini başkalarından soyutlama, cinsel ilgi ve etkinlik azalması, enerji ve isteğin azalması olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir. Hasta boşluğa bakarak uzun süreler boyunca oturup dışarıdaki herhangi bir çalışma ya da toplumsal etkinliğe çok az ilgi gösterebilir (Tablo 3) (Davison 2008; Butcher ve ark. 2013; Kocal ve ark 2017).

4.3.2.3. Diğer belirtiler

Şizofreninin diğer bazı belirtileri sunmuş olunan pozitif- negatif şemasına uymamaktadır. Bunlardan bir tanesi şizofrenlerin garip yüz ifadeleri takındıkları katatonidir. Karmaşık parmak, el ve kol hareketleri ie bir biri arkasından anlamsız hareketler yapabilirler. Diğer görülen bir durum ise katatonik hareketsizliktir (donakalım). Katatonik hastalar mum esnekliği denen durumu gösterebilirler bir başkası hastanın kolunu garip bir duruma getirdiği zaman hasta o duruşu sürdürür (Tablo 3) (Davison 2008).

Tablo 3. Şizofreninin Pozitif, Negatif ve Dağınık Belirtileri (Butcher ve ark. 2013).

Pozitif Belirtiler	Negatif Belirtiler	Dağınık Belirtiler
Halüsinasyonlar	Duyguların tekdüzeleşmesi	Tuhaf davranışlar
Sanrılar	Konuşmada darlık	Dağınık konuşma
	Asosyalite	
	Apati (Çevre ile anormal derecede ilgisizlik, duygusuzluk, kayıtsızlık)	
	Anhedoni (zevk alınan durumlardan zevk alamama, yaşam zevkini kaybetme)	

4.4. ŞİZOFRENİDE ETKİLİ FAKTÖRLER

Başlangıç yaşı; Şizofreni, genellikle gençlik döneminde, 20li yaşların ortalarında görüldüğü belirtilmektedir. Hastalık, yavaş yavaş ya da aniden gelişen bir ya da birkaç psikotik olayla başlayabilmekte, gidişatı ise bireyler arasında farklılık göstermektedir.

Şizofreni hastalığının kesin nedeni, hala büyük ölçüde tespit edilemediği, ancak kalıtsal olduğu ya da şizofreniye beyindeki kimyasal bir dengesizliğin yol açtığı bildirilmektedir (Tracey ve Bauke 2000). Ergenlik dönemi ve genç bireylerde, düşünce ve davranış bozuklukları şeklinde görülmektedir. İleri yaşlarda paranoid belirtilerin arttığı, davranış bozukluklarının azaldığı belirtilmektedir (Yavuz R. 2008).

Cinsiyet; Erkek bireylerde hastalık seyrinin daha ağır ve ciddi olduğu belirtilmektedir (Yavuz R. 2008).

Sosyal çevre; Delüzyonlar ve halüsinasyonların ortaya çıkmasında, hastalık öncesi bulunduğu ortamın etkisinin önemli olduğu belirtilmektedir (Yavuz R. 2008).

Sosyal uyarı; Uyarının azlığı “negatif semptom” ları arttırmakta, aşırı uyarımlar “pozitif semptom”ları ortaya çıkarmaktadır (Yavuz R. 2008).

Yüksek duygu ifade durumu; Hastanın hayatında çevre tarafından duygu durumundaki ifade biçiminin, semptomları arttıran sosyal uyarı faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Yavuz R. 2008).

4.5. ŞİZOFRENİNİN ALT TİPLERİ

DSM-IV (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- IV)’ te çeşitli şizofreni alt tipleri bulunmaktadır. DSM-IV te klinik özellikler, tedavi yanıtı ve seyir esas alınarak şizofreni 5 alt tipe ayrılmaktadır. Bunlar; Paranoid tip, Dağınık tip, Katatonik tip, Farklılaşmamış tip ve Rezidüel tip olarak belirtilmektedir (Yavuz 2008; Butcher ve ark 2013).

4.5.1. Paranoid Tip Şizofreni

Ağırlıklı olarak düşünce içeriğindeki bozulma, kötülük görme ve büyüklük sanrılarının varlığı ile karakterize olduğu belirtilmektedir. Hasta gergin, savunucu, kuşkucu, saldırgan ve düşmanca tavırlar gösterebilmektedir. Hastalıklarını kabul etmemektedirler. Semptomlarını saklayıp sansasyonel ve trajik adli suçlar işleyebilmektedirler (Yavuz 2008; Butcher ve ark 2013).

4.5.2. Dağınık Tip Şizofreni

Diğer şizofreni tiplerine göre daha erken bir yaşta ortaya çıkmakta ve başlangıçta kademeli, sinsi bir gelişim izlemektedir. Karakteristik özellikleri dağınık konuşma, dağınık davranış ve uygunsuz duygulanım olduğu belirtilmektedir. Bozukluk ilerledikçe klinik tabloya duygusal kayıtsızlık ve çocuksu davranışlar egemen olmaktadır. Ahmakça bir gülümseme kışkırtma söz konusu olmadan atılan uygunsuz kahkahaların yaygın semptomlar arasında olduğu belirtilmektedir. Konuşmayı anlamak güçleşmekte ve önemli oranda bebek konuşması, çocukça kıkırdamalar ve benzer sesli sözcüklerin tekrarlanması söz konusu olabilmektedir. Dağınık şizofreni hastalarının kendilerine bakma yetenekleri zayıflamış olup rutin görevleri gerçekleştirmekte zorlanabilmektedirler. Tuhaf bir şekilde yüzünü buruşturma, kendi kendine konuşma ve el kol hareketleri yapma ya da ani, anlamsız kahkaha ve ağlama bu davranışlar arasında sayılabilmektedir. Dağınık şizofreni hastalarında prognoz genellikle kötü olduğu bildirilmektedir (Butcher ve ark. 2013).

4.5.3. Katatonik Tip Şizofreni

Bu tipteki hastaların heyecanlı veya uyuşuk hareketler sergiledikleri belirtilmektedir. Bu hastalardan bazıları etkiye son derece açık olup komutları otomatik olarak yerine getirmekte ya da başkalarının hareketlerini ve ya ifadelerini taklit etmektedirler. Hastanın kolu tuhaf ve rahatsız bir durumda bırakılsa bile onu bu konumda dakikalarca hatta saatlerce tutabilmektedir. Heyecanla ve anlaşılabilir bir şekilde konuşup bağırabilmekte, hızla ileri geri volta atabilmekte, herkesin ortasında cinsel etkinliklere dalabilmekte, kendilerini yaralamaya hatta öldürmeye kalkışabilmekte ya da başkalarına saldırıp öldürme girişiminde bulunabilmektedirler (Butcher ve ark. 2013).

4.5.4. Farklılaşmamış Tip Şizofreni

Bir farklılaşmamış şizofreni hastası şizofreninin genel ölçütlerine (yani, sanrılar, halüsinasyonlar, dağınık düşünceler ve tuhaf davranışlar) uyar, ancak karmaşık bir belirti tablosu sunduğu için diğer alt tiplerden birine sokulamamaktadır (Butcher ve ark. 2013).

4.5.5. Rezidüel Tip Şizofreni

Rezidüel şizofreni en azından bir şizofreni epizodu yaşamış, ancak halüsinasyon, sanrı, dağınık konuşma ya da davranış gibi başlıca pozitif belirtileri sergilemeyen bireyler için kullanılan bir kategori olarak belirtilmektedir. Buna karşılık, klinik tabloya çoğunlukla negatif belirtiler (tekdüze duygulanım) egemen olmaktadır. Bazı pozitif belirtiler (örneğin, tuhaf inançlar, eksantrik davranışlar) hafif bir biçimde görülebilmektedir (Butcher ve ark. 2013).

4.6. EPİDEMİYOLOJİ (SIKLIK VE YAYGINLIK)

Şizofreni en sık görülen ruhsal bozukluklardan olmasına rağmen gerçek epidemiyolojisi üzerindeki veriler değişkenlik gösterdiği belirtilmektedir. Amerika’da yapılan geniş alan araştırmalarında şizofreni bozukluğunun bir yıllık yaygınlığı %1 ve yaşam boyu yaygınlığı ise %1,5 olarak belirtilmektedir. Dünyada her yıl yaklaşık olarak 2 milyon yeni vaka ortaya çıktığı bildirilmektedir. Dünya sağlık örgütü verilerine göre şizofreni sıklığı Avrupa ve Asya’da %0,85’ tir. Türkiye’de şizofreninin yaşam boyu yaygınlığı 1000 kişide 8,9 olarak bildirilmektedir. İngiltere’de yaşayan Afrika-Karayıplı kökenlilerde şizofreni hastalığı ile beklenenin üzerinde karşılaştığı belirtilmektedir. Şizofreni oranları Batı İrlanda ve Hırvatistan’da beklenmedik oranda yüksek ve Papua Yeni Gine’de özellikle düşük olduğu bildirilmektedir (Butcher ve ark. 2013; Kocal ve ark 2017).

Yaşam boyu prevalans oranlarının beklenenden düşük olup bunun nedenlerinin; şizofrenik bozuklukların kronik olması, değişken başlangıç yaşının düzeltilmemesi, şizofreniklerin ölüm oranının toplumdan yaklaşık iki kat yüksek olduğu belirtilmektedir. Şizofreni görülme yaygınlığı kadın ve erkek bireylerde eşit olup erkek bireylerde başlangıç yaşı kadın bireylere kıyasla daha genç yaşlarda olmaktadır. Sık olarak hastalığın ortaya çıkma yaşı erkekler bireylerde 15-25, kadın bireylerde 25-35 yaş aralığında olduğu bildirilmektedir. Kadın hastalarda 55-64 yaş aralığında ikinci bir başlama sıklığı görülebilmektedir. 10 yaşından önce (erken başlangıçlı) 45 yaşından sonra (geç başlangıçlı) şizofreni başlangıcı nadir olarak ortaya çıkmaktadır (Butcher ve ark. 2013; Kocal ve ark 2017).

Şizofreni hastalığına yakalanma olasılığının sosyoekonomi seviyesi düşük olan kişilerde daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Evlilerde şizofreniye yatkınlık bekar ve ayrılmış olanlardan daha düşük olduğu ve evliliğin hastalığa karşı koruyucu bir etken olduğu düşünülmektedir. Göç, doğum mevsimi, viral enfeksiyonlar, stresli yaşam ortamı da risk nedenleri olarak belirtilmektedir (Öztürk 1997; Ceylan 2001; Kaplan ve Sadock 2005).

Aile içi taramalarda anne ve babası sağlıklı olan bireylerde yaşam süresince şizofreniye yakalanma riski %1 olup, ebeveynlerinin her ikisinde de şizofreni olan bireylerde bu oranın %35-40' larda olduğu belirtilmektedir. Ebeveynlerinden birinde şizofreni hastası olan bireylerde oranın %13 olduğu bildirilmektedir. Şizofreni tanısı konmuş bireyin birinci derece yakınlarında şizofreni hastalığının saptanma oranı, toplumun hastalığa yakalanma oranına göre 10 kat arttığı belirtilmektedir. Gebelikte 3-6. aylar arasında viral enfeksiyona maruz kalma durumunda şizofreni geliştirme riskini arttırdığı belirtilmektedir (Ebert ve ark 2003; Işık 2006; Köroğlu 2007; Kocal ve ark. 2017). Türkiye' de şizofreni epidemiyolojisi hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır. Sivas ilinde yapılan bir araştırmada hayat boyu yaygınlığının %0,5 olduğu ve şizofreni insidansının ülkemiz dışındaki veriler ile uyum içinde olduğu belirtilmektedir (Çevik 2013).

4.7. ETİYOLOJİ (OLUŞ NEDENLERİ)

Şizofreni (SCZ), etiyojisi tam olarak bilinmeyen psikiyatrik bir hastalıktır. Şizofreni birden fazla etkenin bir araya gelmesi ile oluşan bir hastalık olarak belirtilmektedir. Bu etkenler; yaşam stresörleri, genetik yatkınlık, stresle başa çıkma becerileri, bireyin kişiliği, birey ve genomu üzerine etkili virüs toksin ve çeşitli hastalıklar gibi çevresel etkiler olarak belirtilmektedir. Şizofren, kalıtım derecesi yüksek bir psikiyatrik hastalıktır. Nörogelişimdeki anormalliklerin şizofreni patogenezinin ve ilerlemesinde önemli bir yer aldığını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Şizofreni kalıtımının bir çok gene bağlı, çok etmenli bir geçişin söz konusu olduğu düşünülmektedir (poligenik-multifaktöriyel). Bu yöndeki çalışmalar aile, evlat edinme, ikiz ve moleküler genetik araştırmalar alanlarında toplanmaktadır. İkiz ve aile temelli çalışmalardan elde edilen tahminler, SCZ'nin kalıtım derecesinin %81 oranında yüksek olabileceğini göstermektedir. Araştırmalar sonucunda, yek yumurta ikizlerinin çift yumurta ikizlerine oranla yüksek risk taşıdıkları, ebeveyni

şizofreni hastası olan ve başka bir aile tarafından yetiştirilmiş bireylerde şizofreni riskinin ebeveyni şizofrenik olmayanlara göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Şizofreni hastalığının belirtileri hastadan hastaya farklılıklar gösterdiği için sendrom gibi değerlendirilmesine yol açmaktadır. Genetik, beyin görüntüleme, nörokimya, nöropatoloji çalışmalarından elde edilen veriler şizofreninin etyolojisine ilişkin önemli bilgiler elde edilmesini sağlamaktadır (Özpoyraz ve Taman 1998; Kocal ve ark. 2017; Çevik 2013; Igoalkina ve ark. 2018).

Enfeksiyon, immün aktivite bozukluğu, enflamasyon ve otoimmün hastalıklar gibi etkenlerin şizofreni için risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Risk faktörleri arasında oksidatif stres hastalık patogenezi içerisinde de araştırmalarda yer almaktadır (Kılıç ve ark 2015).

Şizofreninin nöro-gelişimsel hipotezi, hastalığın erişkin beyinde anormalliklere yol açan ve beyin gelişimini etkileyen prenatal ve perinatal erken dönem beyin hasarları sonucu geliştiğini ileri sürmektedir (Çevik 2013).

4.8. ŞİZOFRENİDE DOPAMİN HİPOTEZİ

Dopamin hipotezi şizofreni etiyolojisinde kritik bir rol oynamaktadır. Yüksek dereceli bilişsel işlevler, motor kontrolü ile birlikte dopaminerjik işlevler ve beyin ön lobunda işlev görürler. Dopaminerjik sistem ve prefrontal korteks (PFC) ve striatum gibi alanlara yansımaları, sinaptik plastisite, beceri edinme ve biliş için anahtardır. COMT enzimi insan beyinde yaygın olarak eksprese edilir ve PFC'deki dopamin (DA) konsantrasyonunda özellikle önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Chen ve diğerleri, 2004). COMT' un, DA' nın metabolik bozulmasında %60' tan fazla sorumlu olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle, bu enzim, özellikle PFC içerisinde aktif olan dopaminerjik sistemle ilgili bilişsel işlevlerde rol oynamaktadır (Bertolino ve ark 2006; Wang ve ark 2018; Nogueira ve ark 2019).

Dopaminerjik sistemde, özellikle dopamin D2 reseptörleri üzerinden yürütülen nörokimyasal aşırım ve ilişkili postsinaptik sinyal transdüksiyon değişiklikleri gerek şizofreni oluşumu gerekse hastalığın antipsikotik ilaçlarla güncel tedavisi bakımından oldukça önemli olarak görülmektedir (Uzbay 2009). Çoğu antipsikotik, dopamin reseptörleri üzerinde psikotik semptomları iyileştirebilen dopamin reseptörleri üzerinde antagonistik bir etki göstermektedir (Liu ve ark. 2019).

Bu hipoteze göre; şizofrenide beyindeki subkortikal dopamin yolları aşırı aktiftir. Bu aktivite yüksekliği dopaminin yüksek oranda salınımı sonucu dopamin reseptörlerinin çok fazla uyarımı, dopamin reseptörlerinin aşırı duyarlılığı ya da reseptör sinyal yolundaki reseptör sonrası sistemlerle bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Asıl bozukluğun prefrontal kortekste (PFC) dopamin azalması olduğu subkortikal dopaminin PFC dopamin kontrolünün ortadan kalkması ile arttığı düşünülmektedir (Acar ve Kartalcı,2014).

Bazı araştırmalar, COMT hiperaktivitesinden kaynaklanan artan dopamin bozulmalarının dikkat dağınıklığı, zeka ve çalışma hafızası performansını etkilediğini göstermektedir (Abdolmaleky ve ark. 2006; Yavich ve ark. 2017).

4.9. ŞİZOFRENİ GENETİĞİ

İnsan genom projesinin getirdiği kapsamlı sonuçlar tüm genetik çalışmalarda gerçek bir devrim niteliğindedir. Bu proje tamamlanmadan önceki veriler çoğunlukla aile, ikiz ve evlat edinme çalışmalarına dayanmaktadır. Bu süreçte psikiyatrik bozuklukların genetiği ile yapılan çalışmalar; genetik bileşenin olup olmadığını, var ise kalıtım kalıbının belirlenmesini hedefleyenler ve nedensel ilişkisi olabilecek genlerin belirlenmeye çalışılması ve bu genlere ait polimorfizm çalışmaları olmak üzere iki başlık altında toplanmaktadır (Hodgkinson ve ark. 2001; Soygür ve ark. 2007; Rees ve ark. 2015).

Aile ve ikiz çalışmaları şizofreni “ana gen” etkisinde olduğu iddiasına yol açarken, gözlemler sonucu kolay iletimin olması poligenik kalıtım modellerinin değerlendirilmesine yol açmıştır. Aile çalışmaları, şizofreni hastalarının birinci ve ikinci derece akrabalarının genel popülasyondaki bireylerden daha yüksek şizofreni gelişme riskleri olduğunu göstermektedir (Kotlar ve ark. 2015). Şizofreni hastalarının akrabalarında şizofreni riski daha yüksek olup aile üyelerinin şizofreni geliştirme riski hastayla olan biyolojik ilişkilene derecesi ile artış gösterir: daha yüksek risk, daha çok genin paylaşılmasıyla bağlantılı olarak değerlendirilmektedir (Ulaş ve ark. 2008). Üçüncü derece akrabalar (örneğin kuzenler) genlerinin %12,5’ ini paylaşırlar ve şizofreni için %2’ lik risk taşıdıkları belirtilmektedir. İkinci derece akrabalar (örneğin üvey kardeşler) genlerinin %25’ ini paylaşırlar ve %6’ lık bir risk göstermektedirler. Birçok birinci derece akrabalar (örneğin kardeşler, çift yumurta ikizleri) genlerinin %50’ sini paylaşırlar ve %9’ luk bir risk göstermektedirler. Tek yumurta ikizlerinde

ise genetik yapı %100 aynıdır ve %48' lik bir risk göstermektedirler (Hodgkinson ve ark. 2001; Norton ve ark. 2006).

Şizofreni hastalarının çocuklarının evlatlık verildiği ve verilmediği durumların karşılaştırıldığı evlat edinme çalışmalarında ise çocuğun şizofreni riskinin gerçek anne ve babasına yakın olduğu görülmektedir. İkiz araştırmaları ve evlat edinme araştırmaları, şizofreni etiyolojisinde genetik nedenlerin çevresel nedenlerden daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır (Hodgkinson ve ark. 2001; Kotlar ve ark. 2015).

Şizofreninin heterojen genetik etiyolojisinin ortaya çıkarılmasını kolaylaştırmak için ara endofenotipler önerilmektedir. Şizofreni hastalarında ve akrabalarında daha sık görülen, ama hastalığa özgül olmayan klinik ve fizyolojik özellikler şizofreni endofenotipleri olarak kabul edilmektedir. Bir endofenotipin temel nitelikleri; kalıtımsallık, durum bağımsızlığı ve hastanın etkilenmemiş akrabalarında ortaya çıkabilmesidir. Bu bahsedilen özelliklerin, ailevi kompleks özelliklerin biyolojik etiyolojisi çalışmasında endofenotipleri ideal alternatif önlemler haline getirdiği ifade edilmektedir. Bilişsel yetenek, endofenotipin bu özelliklerini yerine getirmekte, kalıtsal olup hastanın etkilenmeyen aile üyeleri hafif bozukluklar gösterebilmektedir. Sözel öğrenme, çalışma hafızası ve dikkat gibi birçok bilişsel değişkenlerin şizofreni ile ilgili endofenotipler olarak işlev gördüğü ileri sürülmektedir (Ukkola-Vuoti ve ark. 2019).

Şizofreni ile ilgili yapılan ilk genetik çalışmalarda genetik belirteç kullanılarak hastalığa yatkınlık oluşturduğu düşünülen gen ile belirtecin yakınlığı değerlendirildiği belirtilmektedir. Bu araştırmalar “bağlantı (linkage) analiz çalışmaları” olarak adlandırılmaktadır. İlk bağlantı analizlerinde ABO, Rh antijenleri, insan lökosit antijenleri kullanılırken; “Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmleri” ve “Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)” gibi moleküler genetikteki gelişmelerin ardından DNA belirteçleri kullanılmaya başlanmıştır (Clayton ve McKeigue 2001; Kokurcan 2014).

“Aday Gen İlişkilendirme” çalışmaları, bir gösterge bölgesinde bir alelin sıklığının hasta ve sağlıklı kontrol grubunda incelenerek sonuçların istatistiksel yöntemlerle karşılaştırılmasına dayanmaktadır. Hasta grubuyla kontrol grubu karşılaştırılarak aday genin hasta grubundaki sıklığı değerlendirilmektedir. Bu tip araştırmalarda hasta ve kontrol grubunun etnik köken, yaş ve cinsiyet açısından uygun şekilde eşleştirilmesi gerekmektedir. Aksi takdirde yanlış sonuçlar doğurabilmektedir (Soygür ve ark. 2007). Bazı çalışmalarda çalışılan tüm hasta numunelerinde veya kontrollerde COMT mRNA ifadesinde erkek-dişi farkları bulunamadığı

belirlenmektedir (Tunbridge ve ark 2004). Genlerin minimum etkilerinin bile araştırılabilmesi potansiyeline sahip güçlü bir yöntem olması önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bağlantı analizlerinden farklı olarak hastaların yakınlarına ulaşma mecburiyeti olmaması aday gen çalışmalarını kolay yapılabilir bir yöntem haline getirmektedir. (Soygür ve ark. 2007; Rees ve ark. 2015). Aday Gen İlişkilendirme çalışmalarında; 5HT2A reseptörünü kodlayan 5HT2A geninin 102.nükleotitinde ve dopamin reseptörlerini kodlayan DRD2, DRD3 genlerinde polimorfizmler saptandığı belirtilmektedir. Bu gen bölgelerinin bulunması, 22q11 delesyonu ile şizofreni arasında kuvvetli ilişkinin belirlenmesi şizofreninin genetik çalışmaları için umut veren gelişmeler olduğu belirtilmektedir (Kokurcan 2014).

Epigenetik nedenler de hastalığın oluşumuna katkı sağlamaktadır. Çalışmalarda belli kromozom bölgeleri üzerinde orta düzeyde etkisi olan genlerin varlığına ilişkin bulguların elde edildiği belirtilmektedir. Geniş örneklemelerin kullanıldığı bağlantı analizi haritalama çalışmaları şizofreni ile Disbindin, Nöroregülin-1, Prolin dehidrogenaz ve Katekol-O-Metiltransferaz gen bölgeleri arasında ilişki saptandığı belirtilmektedir. 1q, 2q, 5q, 6p, 8p, 10p, 13q, 15q, 18q, 22q kromozomlarında şizofreni aday bölgeleri olduğu bildirilmektedir (Kocal ve ark. 2017).

Bağlantı analizleri sonucunda birden fazla kromozomda şizofreni ile ilişkilendirilen gen bölgeleri belirtilmektedir. Bunlardan en önemlileri 22q11-12, 8p22-21, 6p24-22 olarak belirtilmektedir. 22q11-12'nin şizofreni ile ilişkili bulunması, bu kromozom anomalisinin yol açtığı sendrom olan Velokardiyofasyal Sendrom (VKFS) ile şizofreni ilişkisinin yeniden ele alınmasını sağlamaktadır. VCFS, 22q11 kromozomunun küçük interstisyel delesyonları ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. VCFS fenotipi değişkendir, ancak dismorfoloji ve doğuştan kalp hastalığının karakteristik özelliklerine ek olarak, VCFS' li bireylerin psikoz riski, özellikle şizofreni konusunda büyük ölçüde arttığına dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. 22q11 delesyonu erişkin şizofreni hastalarında %2, erken başlangıçlı şizofreni hastalarında %6 sıklığında görülmekte; VKFS'de şizofreni prevalansı ise %6-30 arasında değişmektedir (Owen ve O'Donovan 2008 ; Kokurcan 2014).

4.9.1. Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)

21. yüzyılda insan genetiğinde önemli bir gelişme olarak görülen GWAS, 1000 ve üzeri şizofreni hastasının kontrol grubuyla karşılaştırma yapılarak sonuç elde edilen

bir teknik olduğu belirtilmektedir. Genom çapı ilişkilendirme çalışmalarındaki amaç, genel popülasyondan daha fazla (veya daha az) yaygın olan alellerin tespitidir. Çoğu durumda, ilişkilendirme çalışması, küçük etkiye sahip genleri belirlemede bağlantı (linkaj) dan ziyade daha güçlü belirleyici olduğu belirtilmektedir. Bu teknikte tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphism, SNP) ve kopya sayısı farklılıkları (copy number variants, CNV) ile şizofreni ilişkisi araştırılmaktadır. Genom dizisindeki tek nükleotid değişimleri SNP olarak isimlendirilirken delesyon ve duplikasyonlar sonucu DNA' nın bazı bölgelerinde görülen nükleotid değişimleri CNV olarak isimlendirilmektedir. Bir milyon civarında SNP ve CNV' nin tespit edilebildiği bu yöntemin multigen kalıtıma sahip hastalıkların genetik araştırmalarında önemli bir yere sahip olduğu bildirilmektedir. SNP' lerin bireylerin hastalığa yatkınlığını tespit etmede, tedaviye yanıtındaki farklılıklar ile hastalıkların klinik seyirlerini açıklamada önemli yararları olduğu belirtilmektedir. İnsanın DNA'sında bulunan %0,1' lik fark büyük oranda SNP'lerden kaynaklanmakta olup, bu farklılıklardan ufak bir bölümünün multigen hastalıklara yatkınlık oluşturduğu kabul edilmektedir. Büyük oranda gen kodlamayan bölgelerde bulunan SNP'lerin insan genomunda 15-30 milyon arasında olduğu varsayılmaktadır (Owen ve O'Donovan 2008; Kokurcan 2014).

GWAS verilerindeki son başarılar, büyük ölçüde birden fazla uluslararası araştırma grubundan birleştirerek örnek boyutunu maksimize etmek amacıyla oluşturulan Psikiyatrik Genomik Konsorsiyumu Schizophrenia Çalışma Grubuna (PGC) bağlanabilmektedir (Rees ve ark. 2015). PGC' nin GWAS aracılığıyla çok sayıda şizofreni ile ilişkili risk bölgesi tanımladığını belirtmektedir (Han ve ark. 2018). Şizofreni, ortak risk allellerini, bipolar bozukluk (BP), majör depresif bozukluk (MDD), otizm spektrum bozukluğu (ASD) ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (ADHD) gibi diğer psikiyatrik bozukluklarla paylaştığı gösterilmektedir. Bunun en güçlü örneği, şizofreni ve BP arasında yüksek bir genetik örtüşme, şizofreni ve MDD arasında orta düzeyde bir örtüşme ve şizofreni ile ASD arasında küçük fakat önemli bir örtüşme olduğunu ortaya koyan SNP'lerin etkisinden gelmektedir (Rees ve ark 2015). Daha fazla risk lokusu tanımlandığı için, patojenik mekanizmaların daha iyi anlaşılması, gelişmiş sınıflandırma ve yeni müdahalelerin geliştirilmesi yoluyla genetik bulguların klinik için yararlı olacağı belirtilmektedir (Owen ve O'Donovan 2008).

GWAS çalışmalarında, immün sistem genlerinin de şizofreniyle ilişkili olduğu düşünülerek araştırıldığı bildirilmektedir. Bu genlerden en fazla araştırılan genin Kromozom 6 üzerinde bulunan Major Histocompatibility Complex (MHC) genleri olduğu belirtilmektedir (Steiner ve ark. 2014; Rees 2015). GWAS, MHC lokusunun şizofreni duyarlılığının en önemli belirleyicilerinden biri olduğunu göstermektedir. MHC, adaptif bağışıklık sistemini düzenleyen bir yüzey protein ailesi içermektedir. Bu bölgenin yüksek derecede poligenik ve polimorfik olduğu belirtilmektedir (Mokhtari ve Lachman 2017).

4.9.2. De Novo Mutasyonlar

şizofrenide yüksek kalıtım riski, yapılan birçok çalışmada belirtmektedir. Bununla birlikte, kalıtımsal olmayan allellerin yani yeni ortaya çıkan (De Novo) mutasyonların riske katkıda bulundukları belirtilmektedir. Ek olarak, bir bireyde gözlenen de novo mutasyonların sayısı ile ilişkili olan gebe kalma durumundaki artmış baba yaşı, şizofreni riskinde artış ile ilişkilendirilmektedir. Aile geçişli olmayarak da de novo mutasyonların şizofreni görülme riskini artırdığı gözlenmektedir. De novo mutasyonun şizofreni ile ilişkili olduğunu gösteren ilk moleküler kanıt, CNV çalışmalarından gelmektedir. CNV bir genin kopya sayısının bireyler arasındaki farklılığını tanımlayan bir çeşit genetik varyasyon olarak belirtilmektedir. Değişen uzunluklarda (120 kb ila 9 Mb) şizofren riski taşıyan en az 15 ayrı genomik bölge bulunmaktadır. Bu aynı CNV' lerin birçoğu, psikiyatrik bozukluklar ile ilişkili otizm riski taşımaktadır. İnsan genomundaki 120 olası tekrarlayan CNV' nin testleri sonucunda 10 CNV' nin şizofreni ile ilişkili olduğu tespit edilmektedir. şizofreni ile ilişkili lokuslardaki de novo CNV' ler beş nesilden daha az bir sürede popülasyondan temizlenmektedir (Malaspina 2001; Kotlar ve ark 2015; Rees ve ark 2015).

4.9.3. Epigenetik Değişiklikler

Epigenetik değişiklikler, şizofreni genetiğinde önemli diğer bir konuyu oluşturmaktadır. Nükleotid sıralamasında değişiklik olmadan DNA ve kromatinde geriye dönebilen değişikliklere epigenetik değişiklik adı verilmektedir. Epigenetik değişiklikler genlerin promotor bölgelerinde farklılığa neden olarak ilgili genin

transkripsiyonunu değiştirmektedir. Bu değişiklik ile gen transkripsiyonu baskılanmakta veya hızlanmaktadır. Epigenetik değişiklikler, mutasyonlardan farklı olarak kalıcı değişiklikler olmayıp transkripsiyonu değiştiren dinamik değişikliklerdir. Kalıcı olmamalarına rağmen epigenetik düzenlemelerin bir sonraki nesle transfer edilebildiği kabul edilmektedir. Epigenetik değişikliklerin şizofreni etiyolojisinde yer aldığını savunan araştırmacılara göre, gen-çevre etkileşimi epigenetik değişiklikler tarafından düzenlenmekte ve çevrenin etkisini kontrol etmeye yönelik değişiklikler olmaktadır. Şizofreni belirtilerinin epigenetik değişiklikler nedeniyle çevrenin hastalığı tetikleyici etkisini düzenleyemediği durumda ortaya çıktığı kabul edilmektedir (Roth ve ark 2009; Cariaga-Martinez ve Alelú-Paz 2018).

4.9.4. Şizofrenide Aday Genler

Şizofrenide yapılan gen araştırmaları sonucu öne çıkan genlere “aday genler” denmektedir. Yapılan çalışmalarda şizofreni ve birçok genetik risk faktörü arasında bağlantı bulunduğuna yönelik yayın yapılmış olmasına rağmen bu genetik faktörlerden çok azı yatkınlık geni olarak düşünülebilmektedir. Aday gen yaklaşımı 800’ den fazla gen için uygulandığı bildirilmektedir. Bununla birlikte aday genler için uygulanan testlerin birçoğu farklı popülasyonlarda farklı şekilde sonuçlandığı belirtilmektedir. Meta-analitik çalışmalar şizofreniye yatkınlık genlerinin 6p, 10p, 15q, 18q ve 22q üzerinde olabileceğini ileri sürmektedir. Aday genler arasında Dysbindin-1 (**DTNBP1**), Neuregulin-1 (**NRG1**), Catechol-O-Methyltransferase (**COMT**), **RGS4** (G-Protein Sinyal 4’ün Düzenleyicisi), **KCNH2** (Potasyum Voltaj Kapılı Kanal), **G72** ve **G30** (13.kromozomda q22-34 bölgesi), **AKT1** (v-akt Murin Timo Viral Onkojen Homolog 1), **DRD2** (Dopamin Reseptörü D2), **HTR2A** (5-Didroksitriptamin (serotonin) Reseptörü 2A), **DISC1**, **Dopamin D3 Reseptör Geni** ve **SLC6A4** gibi genler sayılabilmektedir (Tablo 4, Tablo 5) (O’Donovan ve Owen 1999; Vereczkei ve Mirnics 2011; Craddock 2005; Collins ve ark 2012; Acar ve Kartalcı 2014; Gao ve ark 2017).

Greenwood ve arkadaşları aday gen çalışması için 94 gende 1.536 SNP içeren özel bir SNP dizisi oluşturmuştur. Bu özel SNP dizisinde, AKT1, CHRNA7, COMT, DAO, DAOA, DISC1, DTNBP1, ERBB4, GRM3, GSK3B, NOS1AP, NRG1, PAFAH1B1, PPH3B, PROP3CC ve RGS4 dahil olmak üzere, şizofreni için daha önce önerilen ve işlevsel olarak önemli aday genleri tespit ettiklerini bildirmektedirler (Greenwood ve

ark 2012). Şizofreni ve antipsikotik yanıt için dopaminerjik ve serotoninerjik genlerin aday genetik birlikteliği çalışmaları geniş çapta yürütülmüş olup dopaminerjik ve serotoninerjik yollardan dört aday gen (DRD2, COMT, 5-HTR2A ve SLC6A4) literatürde en fazla dikkat çeken genler olup şizofrenide tedavi süreci için umut verici aday genler olarak kabul edilmektedir (Tablo 4, Tablo 5) (Li ve ark 2018).

GWAS araştırmalarında nörogelişimde etkili olan genler ANK3, NRG1, TCF4 ve NRG1' dir. Bu genlerden ANK3 geni birçok bilişsel işlevde görev almakta ve bu gen mutasyonu olan şizofreni hastaları yürütücü bellek işlevlerini değerlendiren testlerden düşük puanlar almaktadır. NRG1 geni nöronlarda postsinaptik kalmodulin-Ca dengesinin düzenlenmesinde görevli proteinlerin sentezlenmesinden sorumlu olup, şizofreninin hem nörogelişimsel hem de nöroendokrin teorisinde araştırılan bir gen olduğu bilinmektedir (Craddock 2005; Kokurcan 2014).

Tablo 4. Şizofrenide etkili genler (Kokurcan 2014).

Nörogelişim/Nöroplastisite üzerine etkili genler	İmmün sistem üzerinden etkili genler	Nöroendokrin sistem üzerinden etkili genler	Diğer
NK3	TLR-4	NRG1	AGLB1
DOCK4	HLA-DRB1	PAM	DBC1
LNK2	PTGS2		NOTCH4
NRG1	IL3RA		UGT1
TCF4	CSF2RA		PTBP2
RELN	SPA17		
AMBRA1			
NRG1			
PRODH			

Tablo 5. Şizofreni araştırmalarında tarihsel öneme sahip aday genler (Farrel ve ark 2015).

Gen	Ürün	Gerekçe
AKT1	v-akt murin timoma viral onkojen homologu 1	Duygu bozukluğu farmakolojisi
APOE	Apolipoprotein E	Alzheimer hastalığına neden olur.

BDNF	Beyinden türetilen nörotrofik faktör	Nörogelişim hipotezi
CHRNA7	Kolinerjik reseptör, nikotinik, $\alpha 7$	Bağlantı analizi
COMT	Catekol-O-metiltransferaz	22q11 CNV
DAO	D-amino asit oksidaz	Bağlantı analizi, glutamat hipotezi
DAOA	D-amino asit oksidaz aktivatörü	Bağlantı analizi, glutamat hipotezi
DISC1	Şizofrenide bozulma 1	Bir soyağacında yer değiştirme
DRD2	Dopamin reseptörü D2	Antipsikotik farmakoloji
DRD3	Dopamin reseptörü D3	Dopamin hipotezi
DRD4	Dopamin reseptörü D4	Antipsikotik farmakoloji
DTNBP1	Distrobrevein bağlayıcı protein 1	Bağlantı analizi
GRM3	Glutamat reseptörü, metabotropik 3	Glutamat hipotezi
HTR2A	Serotonin reseptörü 2A	Antipsikotik farmakoloji
KCNN3	Potasyum orta / küçük iletkenlik kalsiyumla aktifleştirilmiş kanal	Bir CAG tekrarının keşfi
MTHFR	Metilenetetrahidrofolat redüktaz	MTHFR disfonksiyonu ile psikiyatrik semptomlar
NOTCH4	Notch 4	Bağlantı analizi
NRG1	Neuregulin 1	Bağlantı analizi
PPP3CC	Protein fosfataz 3, katalitik alt birim, γ izozim	Bağlantı analizi / fare fenotipi
PRODH	Prolin dehidrojenaz (oksidaz) 1	22q11 CNV (hatalı 'PRODH2' olarak adlandırıldı)
RGS4	G-protein sinyalizasyon regülatörü 4	Durumlarda diferansiyel ifade
SLC6A3	Dopamin taşıyıcı	Dopamin hipotezi
SLC6A4	Serotonin taşıyıcı	Duygudurum bozuklukları
TNF	Tümör nekroz faktörü	İmmün hipotez

4.10. ŞİZOFRENİDE COMT GENİNİN ÖZELLİKLERİ

COMT enzimi insanda 22q11.2' de yerleşmiş olan bir gen tarafından kodlanmaktadır (Şekil 1). Bu bölge ve şizofreni arasında bir bağlantı olduğuna dair bir kanıt sunmaktadır. Konum ve işlev bakımından şizofrenide COMT' a göre daha önceliğe sahip daha iyi bir gen bulunmamaktadır (Mück-Şeler ve ark. 2010; Lajin ve Alackhar 2011; Şagud, Arslan ve ark. 2011; Altinyazar ve ark. 2015). COMT geni allellerin kodominant olduğu görülmektedir (Tsuchimine ve ark. 2013). COMT' un bilinen iki izoformu bulunmaktadır: Membrana bağlı COMT (MB-COMT) ve her biri kendi promotörüne sahip olan Çözünür COMT (S-COMT) olarak isimlendirilmektedir. MB-COMT' un insan beynindeki sinaptik dopaminin bozulmasında rol oynayan baskın bir form olduğu belirtilmektedir. S-COMT (MB-COMT' den daha kısa olan 50 amino asit), çoğu dokuda baskın olup MB-COMT, toplam COMT aktivitesinin %5' inden daha azını temsil etmektedir. S-COMT ve MB-COMT izoformları, alternatif promoterler kullanılarak tek bir gen tarafından kodlanmaktadır. COMT geninin ekspresyonu, iki mRNA türü üreten iki ayrı promoter tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 2) (Abdolmaleky ve ark 2006; Ruiz-Sanz ve ark. 2007).



Şekil 1. 22.Kromozom Üzerinde COMT Geni Lokalizasyonu

(<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl.gene=COMT&keywords=comt> Erişim tarihi: 12.04.2019)

COMT catechol-O-methyltransferase [*Homo sapiens* (human)]

Gene ID: 1312, updated on 9-Jul-2019

Summary

Official Symbol COMT provided by [HGNC](#)

Official Full Name catechol-O-methyltransferase provided by [HGNC](#)

Primary source [HGNC:HGNC:2228](#)

See related [Ensembl:ENSG00000093010](#) [MIM:116790](#)

Gene type protein coding

RefSeq status REVIEWED

Organism [Homo sapiens](#)

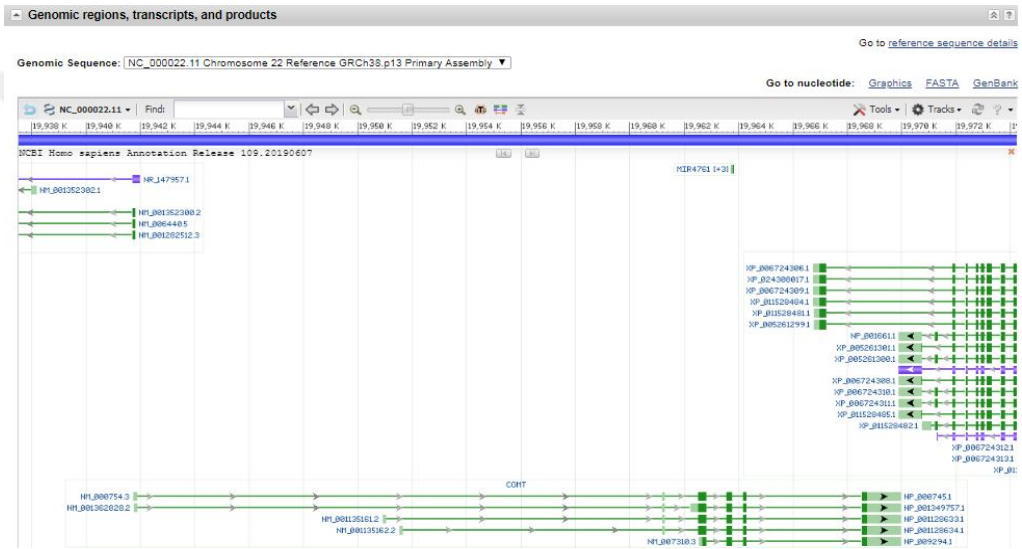
Lineage Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorhini; Catarrhini; Hominidae; Homo

Also known as HEL-S-98n

Summary Catechol-O-methyltransferase catalyzes the transfer of a methyl group from S-adenosylmethionine to catecholamines, including the neurotransmitters dopamine, epinephrine, and norepinephrine. This O-methylation results in one of the major degradative pathways of the catecholamine transmitters. In addition to its role in the metabolism of endogenous substances, COMT is important in the metabolism of catechol drugs used in the treatment of hypertension, asthma, and Parkinson disease. COMT is found in two forms in tissues, a soluble form (S-COMT) and a membrane-bound form (MB-COMT). The differences between S-COMT and MB-COMT reside within the N-termini. Several transcript variants are formed through the use of alternative translation initiation sites and promoters. [provided by RefSeq, Sep 2008]

Expression Ubiquitous expression in placenta (RPKM 32.2), adrenal (RPKM 24.9) and 25 other tissues [See more](#)

Orthologs [mouse](#) [all](#)



Şekil 2. COMT Gen Bölgesi (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1312> Erişim tarihi: 26.07.2019).

COMT genindeki fonksiyonel polimorfizm COMT enzim aktivitesinin değişimine neden olmaktadır. COMT geninin; 108/158. kodonunda guanin→adenin (G→A) değişimi, valin→ metionin değişimine bağlı olarak belirlenen H (High, yüksek aktiviteli) ve L (Low, düşük aktiviteli) alellerin oluşturduğu üç farklı genotip (HH, HL, LL) tanımlanmaktadır. COMT geni içinde en çok yaygın olarak incelenen polimorfizm G→A polimorfizmidir. Bu polimorfizm, genellikle Val^{108/158}Met olarak anılmaktadır. Bu heterozigot genotip (Val¹⁵⁸Met), COMT aktivitesinin orta seviyesiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir. COMT Val^{108/158}Met polimorfizmindeki değişikliklerin beyindeki hücre dışı dopamin düzeylerini etkilemesi beklenmektedir (Şagud ve ark. 2010; Lajin ve Alackhar 2011; Tsuchimine ve ark. 2013; Altınyazar ve ark. 2015). COMT substratları, norepinefrin, epinefrin ve dopamin, katekol

östrojenleri ve katekol ilaçları gibi nörotransmitterleri içermektedir (Ruiz-Sanz ve ark. 2007).

Val¹⁵⁸Met polimorfizminin Val kodlayan alleli, yaklaşık üç kat daha yüksek fizyolojik aktiviteye sahip bir enzimi kodlamaktadır. Buna karşılık, genin hipoaktif aleli olan Met, reaksiyon süresinde daha az değişkenlik göstermektedir. Bazı araştırmalar, COMT hiperaktivitesinden kaynaklanan artan dopamin bozulmalarının dikkat, rahatsızlık, yönetici biliş ve çalışma hafızası performansı ile ilgili olduğunu göstermektedir. COMT Val¹⁵⁸Met polimorfizmi ve majör psikiyatrik bozukluklar arasındaki genetik ilişkilerde oluşan değişkenlik, COMT aktivitesi için genetik bir temele ek olarak, çevresel faktörlerin de risk alelinin etkilerinin modüle edilmesinde rol oynayabileceğini göstermektedir (Abdolmaleky ve ark 2006).

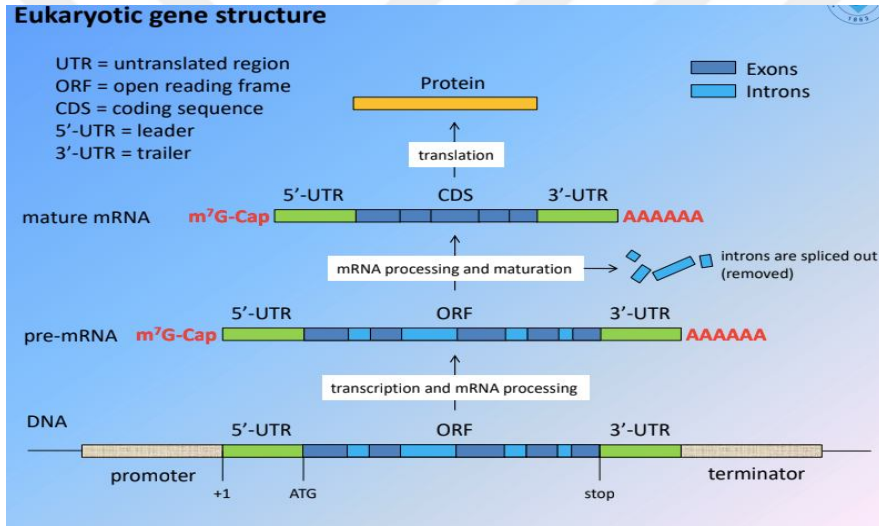
Gen ekspresyon analizi uygulaması, şizofreni gibi karmaşık klinik hastalıkların patogenezerini araştırmak için bir fırsat sağlamaktadır. Daha önce yapılan birçok ekspresyon araştırması, beyindeki dopaminerjik ve serotoninerjik genlerin düzensiz ifadesinin şizofreni patogenezinde rol oynayabileceğini bildirmektedir. Ayrıca, deneysel kanıtlar antipsikotik tedavinin dopaminerjik ve serotoninerjik gen ifadelerini düzenleyebildiğini desteklemektedir. Bu genlerin antipsikotik tedaviye göre semptom gelişiminde rol oynayabileceğini belirtmektedir (Li ve ark. 2018).

4.11. GEN İFADESİNİN DÜZENLENMESİ (GEN EKSPRESYONU)

Gen; bir polipeptid ya da RNA çeşidi sentezinden sorumlu bölge olarak tanımlanmaktadır. Gen kalıttan sorumlu olup yavru bireylere aktarılan biyolojik birimdir. Her gen kromozom haritası üzerinde belirli bir pozisyona (lokus) sahiptir. İlgili DNA bölgesi “transkripsiyon” ile RNA sentezlemekte ve bu RNA molekülünden de ribozomların görev aldığı “translasyon” işlemi ile gerekli proteinler sentezlenmektedir. Her bir proteini kodlayan nükleotit bölgesi “gen” olarak ifade edilmektedir.

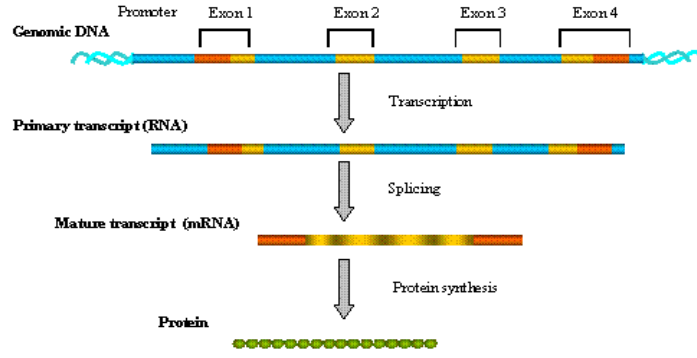
Gen yapısını oluşturan birimleri sıralanacak olursa; **Promotor Bölge**, DNA üzerinden RNA’nın sentezlenmesinden görevli olan RNA polimeraz enziminin bağlandığı ve transkripsiyonun başlatıldığı bölgedir. Yapısal genlerin hemen önünde bulunmaktadır. **Kodlayıcı bölge**, RNA’ya ilgili kod şifresini veren esas bölgedir. Kodlamadan sorumlu olan “ekzon” bölgeleri ve ekzonların arasında da kodlamadan sorumlu olmayan “intron” bölgeleri bulunmaktadır. RNA polimeraz tarafından

intronlar atlanır ve RNA sentezinde herhangi bir aksaklık olmaksızın ekzonlar okunmaktadır. Bu şekilde “splicing” adı verilen bir mekanizma ile ekzonlar RNA’ların yapısından çıkarılmış olmaktadırlar. **Sonlanma Bölgesi (Dur Kodonu)**, Yan yana üç nükleotit bir kodonu meydana getirmektedir. DNA ve RNA üzerinde kodlanmış olarak bulunan her bilgi, bu şekilde üçlü birimler halinde bulunmaktadır. RNA sentezinin biteceği yerde deşifre işlemine dur emri verilmesi gerektiğini belirten kodonlar (UAA, UAG, UGA) bulunmaktadır. **CAP bağlanma bölgeleri**, 5’ ucunda yer almaktadır ve mRNA’yı hidrolitik enzimlerin etkisinden korumaktadır. **Poli A bölgesi**, (Son kısımda) 3’ ucunda yer almaktadır. **TATA Kutusu**, RNA polimerazın promotor bölgeye bağlanmasını kolaylaştırıcı baz dizisidir. **Operatör Bölgeleri**, Promotor bölgeden hemen sonra gelen bölgedir. Gen koordine edilmektedir. RNA polimerazın genlere girişini kontrol etmektedir (Şekil 3) (Klug ve ark 2018).



Şekil 3. Ökaryotik Hücrede Gen Yapısı (<http://aboutmolecularbiology.blogspot.com> erişim tarihi: 2019).

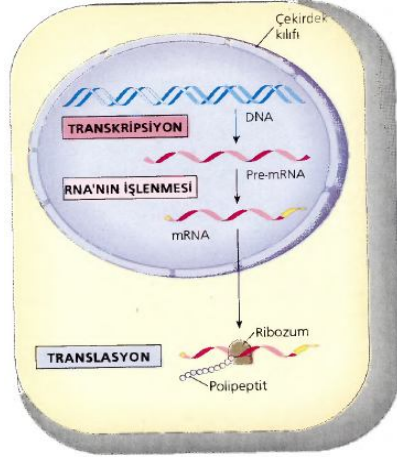
Gen ekspresyonu; Genetik transkripsiyon ve genetik translasyon işlemleriyle bir genin veya genlerin fenotipik ifadesidir. Genler (DNA) ve bunların ürünleri (proteinler) bir organizmanın kalıtsal geçmişini belgelemektedir. DNA moleküllerindeki nükleotidlerin doğrusal dizisi ebeveynlerden yavrulara geçmekte ve bu DNA dizileri proteinlerin amino asit dizilerini belirlemektedir (Şekil 4) (Reece ve ark 2013).



Şekil 4. Gen ekspresyonu

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/applexpression/> Erişim tarihi: 12 Nisan 2019).

Genler eksprese edildiğinde, DNA üzerindeki genetik bilgi (baz dizisi) ilk önce mRNA molekülüne kopyalanmaktadır (transkripsiyon). mRNA molekülleri daha sonra hücre çekirdeğini terk edip bireysel proteinleri oluşturan özel amino asitleri belirleyerek protein sentezine katıldığı sitoplazmaya girmektedir. Bir organizmanın genetik yapısını DNA da bulunan deoksिनुकлеосид trifosfat (dNTP) dizileri belirlemekte ve bu bilginin ifade edilmesi ise (protein sentezi) RNA'lar ile sağlanmaktadır (Şekil 5) (Darnell ve ark 1990).



Şekil 5. Hücre içinde Gen ekspresyonu şeması (Reece ve ark 2013).

İnsan vücudundaki hücrelerin hepsi aynı genetik materyali içermesine rağmen her hücrede aynı genlerin etkin olmadığı belirtilmektedir. Hangi genin aktif olup hangisinin olmadığı bilgisi bize, normalde bu hücrelerin nasıl işlediği ve bazı genlerin

doğru çalışmadığı zaman hücrenin bundan nasıl etkileneceği bilgisini vermektedir. Bu aktiflik bilgisine hücrenin gen ifadesi denilmektedir (Özcan 2013).

Hatalı bir gen, ya yanlış bir protein üretir ya da az veya çok sayıda protein üretmektedir. Psikiyatrik hastalıkların fenotipik özelliklerini anlayabilmek için gen ekspresyonu ve beyindeki protein sentezi üzerinde durmak gerekmektedir. Bunun için moleküler teknikler kullanılabilir (Arısoy 2004).

Moleküler profillemeye tekniklerinin mevcudiyeti şimdi gen ekspresyonundaki anormallikleri taramaya global bir yaklaşım sağlamaktadır. Bu tür yaklaşımlar, patolojinin öncelikle genetik ve/veya çevresel faktörlerden kaynaklanıp kaynaklanmadığına dair herhangi bir varsayımın yapılmaması avantajına sahip olup, herhangi bir nedensel etki kaçınılmaz olarak gen ekspresyonunda değişikliklere yol açabilmektedir (Mimmack ve ark. 2002).

Günümüzde gen ekspresyonu profillerinin incelenmesi, şizofreninin moleküler etiyolojisini anlamayı kolaylaştırmaktadır. Şizofreniden etkilenen yolların ve moleküler ağların araştırılmasını sağlamaktadır. Nörolojik hastalığı olan insanlarda gen ekspresyonunun çalışılmasındaki zorluklar, hücre fenotiplerinin anlaşılmasını kolaylaştırmak için ilgili hücre modellerinin benimsenmesine neden olmaktadır. Hastalıklarda gen ekspresyonu üzerine yapılan çalışmaların çoğu, hastalık grubuyla hastalık dışı gruplar arasındaki ortalama ekspresyondaki farklılıklara odaklanmaktadır. Hem genetik olarak aynı hücre veya organizma popülasyonları içinde hem de genetik olarak farklı popülasyonlarda gen ekspresyonunun varyansının analizi, ortaya çıkan bir tartışma konusu olmaktadır. Biyolojik varyansın fenotiplerin belirlenmesinde önemli bir rol oynadığını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Bu tür değişkenlik, özellikle gen ekspresyonu bağlamında, verilen bir gen veya proteinin fonksiyonu üzerindeki genomik veya epigenomik etkilerin göstergesi olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, periferik kan mononükleer hücrelerinde mRNA ekspresyonundaki varyansın, şizofreni başlangıcındaki hastaların kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu bulunup bu varyansın, oral antipsikotiklerle 12 haftalık bir tedaviden sonra azaldığı görülmektedir (Igolkina ve ark 2018).

4.12. REVERS TRANSKRİPTAZ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (RT PCR)

Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT PCR); hücrelerden izole edilen RNA moleküllerinin retrovirüslerden izole edilen Revers transkriptaz enzimi aracılığıyla komplementer DNA (cDNA) sentezini gerçekleştirmesi sonucu, gen ekspresyonu analizlerinin yapılabildiği hızlı ve hassas bir yöntem olarak belirtilmektedir. Bu yöntem yoluyla çok az miktardaki RNA ile oluşan mesajlar saptanabilir, ekspresyon miktarı da tespit edilebilmektedir (Okutucu ve Pehlivan 2003).

4.13. REAL TIME PCR TEKNİĞİ

Günümüzde nükleik asitlerin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan bir metottur. Gerçek zamanlı yani Real Time-PCR (RT-PCR)' da oluşan ürün miktarı reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı olarak artan floresan boya ve problemlerin verdiği sinyalin izlenmesiyle anlaşılır ve amplifikasyonun devir sayısı belirli miktardaki DNA moleküllerinin elde edilmesi açısından da gerekmektedir. Çift zincirli DNA'ya bağlanan "SYBR-Green I" floresan boya en basit metot olarak belirtilmektedir. "SYBR-Green I" boya ile belirleme çok iyi işleyen bir metottur. Ancak reaksiyon ortamında herhangi bir çift zincirli DNA bulunduğunda floresan ışıma yapabilmektedir. Bu primer-dimer oluşumu da olabilmektedir. Bunda başka güvenilir bir şekilde kullanılan üç adet floresan ışıma yapabilen işaretli prob bulunmaktadır. Bunların "TaqMan® probe" veya hidroliz prob, moleküler boncuk yöntemi ve hibridizasyon problemlerini içeren problemler olduğu bilinmektedir (Günel 2007).

Real-time PCR' ın kullanımında birçok avantajlar vardır. Real-Time PCR' ın tipik kullanım alanları patojen saptanması, gen anlatımının analizi, kromozomlardaki sayısal-yapısal bozuklukların analizi ve "Real Time" immüno PCR ile protein belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır. Gen ekspresyonunun, daha verimli, hassas, hızlı ve daha üretken olması tercih edilmesinin sebepleri arasında bulunmaktadır (Günel 2007).

Real Time- Quantitative PCR (RT-QPCR)' ın sonuçları relatif ve standart-eğri kantitasyonu olarak adlandırılan iki analitik yöntem ile analiz edilmektedir. Önemli avantajları olan bu yöntem; hassas (<5 kopya) olup, geniş bir dinamik aralığın üzerinde (7-8 log 10) kantitasyonu sağlayıp, yüksek doğruluğa (<%2 standart sapma) sahiptir. Ayrıca, miktarı az olan total RNA' dan iyi sonuçlar alınabilmekte ve PCR sonrası ek işlemlere ihtiyaç duyulmamaktadır (Kömürcü ve Erginel 2011).

4.14. REAL TIME PCR'DA RELATİF GEN EKSPRESYON VERİLERİNİN ANALİZİNDE KULLANILAN $2^{-\Delta\Delta CT}$ METODU

Real-Time PCR' da belirli bir eşik seviyesine göre ölçüm yapılmaktadır. Eşik döngüsü (CT), floresanın eşiği aştığı döngü sayısı olarak ifade edilmekte olup, ürünlerdeki ilk anlamlı artış bu noktada meydana gelmektedir (Bustin ve ark 2009). RNA miktarı ve kalitesinde meydana gelebilecek değişiklikleri normalize etmek için referans bir gen kullanılarak ilgilenilen genin farklı örnekleri arasında gen ifadesi ölçülmektedir. ΔCT metodu olarak adlandırılan bu normalizasyon işlemi, farklı örnekler arasında ilgilenilen genin ifadesinin karşılaştırılması sağlanmaktadır (Schefe ve ark 2006). $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi, gen ekspresyonundaki nispi değişiklikleri Real Time PCR tekniği ile analiz etmede uygun bir yöntem olup relatif kantifikasyonda en yaygın kullanılan yöntem olarak bildirilmektedir. Bu yöntem iki varsayıma dayanmaktadır. Bunlardan ilki reaksiyonun %100 verimlilikle çalışması olup ikincisi örnekler arasında ifadesi sabit olan bir genin bulunması olarak belirtilmektedir (Livak ve Schmittgen, 2001).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. MATERYAL

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi kronik şizofren tanısı konmuş bireylerde '**Şizofren Tanılı Olgularda COMT Gen Ekspresyon Seviyelerinin Real Time – PCR Yöntemi ile Araştırılması**' na yönelik tez proje çalışmasının Sağlık Bilimleri Etik Kurul Onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi' nden alındı. Etik Kurul kararı gereğince hasta (ve/veya vasilerine) ve gönüllü bireylerin kanları alınmadan önce çalışmanın "Bilgilendirilmiş Onam Formu"

okutularak onayları alındı. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri kliniğinde tedavi gören ve kronik şizofren tanısı konmuş “8” birey ile hasta çalışma grubu oluşturuldu. Ailesinde kronik şizofren tanısı almamış “8” birey ile kontrol çalışma grubu oluşturuldu. Kanlar bireylerden steril şartlarda vakumlu 5 cc’ lik Etilen Diamin Tetra Asetikasit (EDTA)’ lı kan alma tüplerine alındı. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Proje Komisyonu tarafından desteklenen çalışmamızın tüm moleküler çalışmaları, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı’ nda gerçekleştirildi.

5.2. KİMYASALLAR VE KİTLER

- QIAamp RNA Blood Mini Kit (50), (Qiagen, 52304)
- RT² HT First Strand Kit (96) (Qiagen, 330411)
- RT² SYBR Green qPCRMastermiks (2) (Qiagen, 330500)
- TCEP: Tris (2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride solution) (Sigma, 646547)
- RT² qPCR primer assay Human COMT (200) (Qiagen, 330001)
- RT² qPCR primer assay Human GAPDH (200) (Qiagen, 330001)
- %96lık Ethanol (Merck, 100986)
- Nükleaz içermeyen su (Qiagen, 129115)
- Distile su

5.3. PLASTİK MALZEMELER

- Vakumlu EDTA’ lı kan tüpü 2-3 ml (Greiner)
- 0,1-10µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 1-200 µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 100-1000 µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 1000 µl’ lik disposable filtreli pipet uçları (QIAcube Cihazı İçin) (Qiagen)
- 200 µl’ lik disposable filtreli pipet uçları (QIAcube Cihazı İçin)
- 2 ml Ependorf tüpleri (Qiagen)
- QIAamp Spin kolonları (şeffaf) (Qiagen)
- QIAshredder Spin kolonları (lila) (Qiagen)
- 1.5 ml Toplama tüpleri (Qiagen)
- 2 ml Toplama tüpleri (Qiagen)

- 15 ml Falkon tüpleri (Axygen)
- 0,2 ml PCR tüpleri (Qiagen)
- 0,1 ml Strip tüpleri ve kapakları (Qiagen)

5.4. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER



- A. – 20 °C Derin Dondurucu
 B. Buzdolabı
 C. Fully Autoclavable Pipettes, with adjustable volume
 D. Dry Block Thermostat TDB-100
 E. Vortex mixer V1 plus

- F. Laminar Flow Kabin
- G. Rotor-Gene Q (Corbett Rotor-Gene 6000) Real-Time PCR Cihazı
- H. Soğutmalı santrifüj
- İ. QIAcube Otomatik DNA İzolasyon Cihazı

5.5. METOD

Kandan RNA izolasyonunun ilk 10 (on) basamağı, taze tam kan alındıktan sonra ilk 3 (üç) saat içerisinde yapıp, oluşan lizatlar çalışmaya kadar -20 °C’ de saklandı.

5.5.1. Total RNA İzolasyonu

Şizofren tanısı almış hasta ve kontrol bireylerden alınan periferik kan hücrelerinden Total RNA izolasyonu “QIAcube Tam Otomatik İzolasyon Cihazı” ile QIAamp RNA Blood Mini Kit kullanılarak gerçekleştirildi.

5.5.1.1. QIAamp RNA Blood mini kit içeriği

Sağlanan malzeme	Miktarı
QIAamp Spin Kolonları (şeffaf)	50 adet
QIAshredder Spin Kolonları (lila)	50 adet
Toplama Tüpleri (1.5 ml)	50 adet
Toplama Tüpleri (2 ml)	200 adet
Buffer EL	5 x 120 ml
Buffer RLT	45 ml
Buffer RW1	45 ml
Buffer RPE	11 ml
RNase içermeyen su	10 ml

5.5.1.2. QIAcube cihazı ile QIAamp RNA Blood mini kit protokolü

1. Kan örnekleri vorteks ile iyice karıştırılarak homojen hale getirildi.
2. 15 ml falkon tüpe 2 ml' lik kan örneği ve üzerine 8 ml EL Buffer eklendi.
3. Elde alt-üst edilerek karıştırılıp 15 dk +4 °C' de inkübe edildi. Süre sonuna kadar 5 dk da bir alt üst edilerek elde karıştırıldı.
4. 4000 g' de 10 dk, + 4 °C' de santrifüj edildi, süpernatant tamamen atıldı.
5. Üzerine 4 ml kadar Buffer EL eklendi. Vortekslenerek hücrelerin çözülmesi sağlandı.
6. 4000 g' de 10 dk, + 4 °C' de santrifüj edildi, süpernatant tamamen atıldı.
7. Kalan eritrosit artıkları RNA' nın kolona bağlanmasını etkileyeceğinden, çökelen beyaz kürelerin üzerinde kalan pembemsi sıvı hafifçe Buffer EL ile yıkanarak tamamen uzaklaşması sağlandı.
8. Çökelen beyaz kürelerin üzerine 600 µl Buffer RLT ve 6µl TCEP eklendi.
9. Oluşan lizatın tamamen homojen olması gerektiğinden, beyaz küreler parçalanıp lizat sıvılaşınca kadar pipetle karıştırıldı.
10. Lizatlar çalışma yapılmaya kadar, 2 ml' lik ependorf tüplerde -20 °C' de stoklandı.
11. Cihaz START tuşuna basılarak açıldıktan sonra, ana ekrandan RNA ve kullanılan kit menüsünden QIAamp RNA Blood Mini Kit seçildi.
12. QIAcube cihazına uygun 1000 µl' lik disposable filtreli pipet uçları cihaza yerleştirildi.
13. Rotor adaptörüne, QIAamp Spin Kolonları (şeffaf), QIAshredder Spin Kolonları (lila) (kapakları kesilerek) ve toplama tüpleri (1,5 ml) uygun şekilde yerleştirildi.
14. Rotor adaptörleri cihazın santrifüj bölmesine uygun pozisyonda yerleştirildi.
15. %70 Ethanol, Buffer RW1, Buffer RPE (44 ml %70 Ethanol ilave edilerek hazırlandı), ve RNase içermeyen su QIAcube cihazına özgü şişelere boşaltıldıktan sonra, cihazın Reagent Bottle Rack kısmına yerleştirildi.
16. -20 °C' de saklanan lizatlar çalışmaya başlamadan önce oda sıcaklığına çıkarıldı.
17. 600 µl lizat 2 ml' lik ependorf tüplere konarak cihazın shaker kısmına kapağı açık şekilde uygun pozisyonda yerleştirildi.
18. Bu işlemlerden sonra, QIAcube cihazındaki pipet uçları, santrifüj rotor adaptörü, reagent bottle rack ve shaker kısımlarının yerleşimi kontrol edildikten sonra cihaza START verildi.
19. Çalışma sonlandığında, santrifüj bölmesindeki rotor adaptörler cihazdan çıkarıldı.
20. Rotor adaptörlerden, üzerlerinde hasta numaraları yazan 1,5 ml' lik toplama tüpleri çıkarıldı. İzole edilen RNA' lar bu tüplerde toplandı.



Resim 1. RNA izolasyonu işlemi

5.5.2. cDNA Sentezi

İzole edilen RNA örneklerini Real Time PCR tabanlı gen ekspresyon değişimi analizlerinde kullanılabilir hale getirmek için her bir RNA örneğinin komplementer DNA' sı RT² HT First Strand Kit kullanılarak sentezlendi.

5.5.2.1. RT² HT First Strand kit içeriği

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

5.5.2.2. RT² HT First Strand kit protokolü

1. Buffer GE2 ve BC4 Reverse Transcriptase Mix saklandığı - 20 °C' den çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Sonrasında her ikisi de vortekslenerek, 3 sn spin santrifüj yapıldı.
2. Tablo 6' daki bileşenlerden Buffer GE2 (gDNA elimination buffer) ve izole edilen RNA' lar 0,2 ml' lik PCR tüplerine alındı.
3. Tüpler kısa vortekslemenin ardından 10 dk oda ısısında inkübe edildi.
4. İnkübasyondan sonra tüplere Tablo 6' daki bileşenlerden BC4 Reverse Transcriptase Mix ilave edilip vortekslemenin ardından yaklaşık 30 sn spin santrifüj yapıldı.

5. 0,2 ml' lik PCR tüpleri Tablo 7' deki program Thermal Cycler' da uygulanarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.
6. Thermal Cycler' dan çıkan 0,2 ml' lik tüpteki herbir örneğin üzerine 91µl nükleaz içermeyen su eklenerek pipetlendi ve dilue template elde edildi.

Tablo 6. RT² HT First Strand Kit Uygulamasında Kullanılan Bileşenler

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

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

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



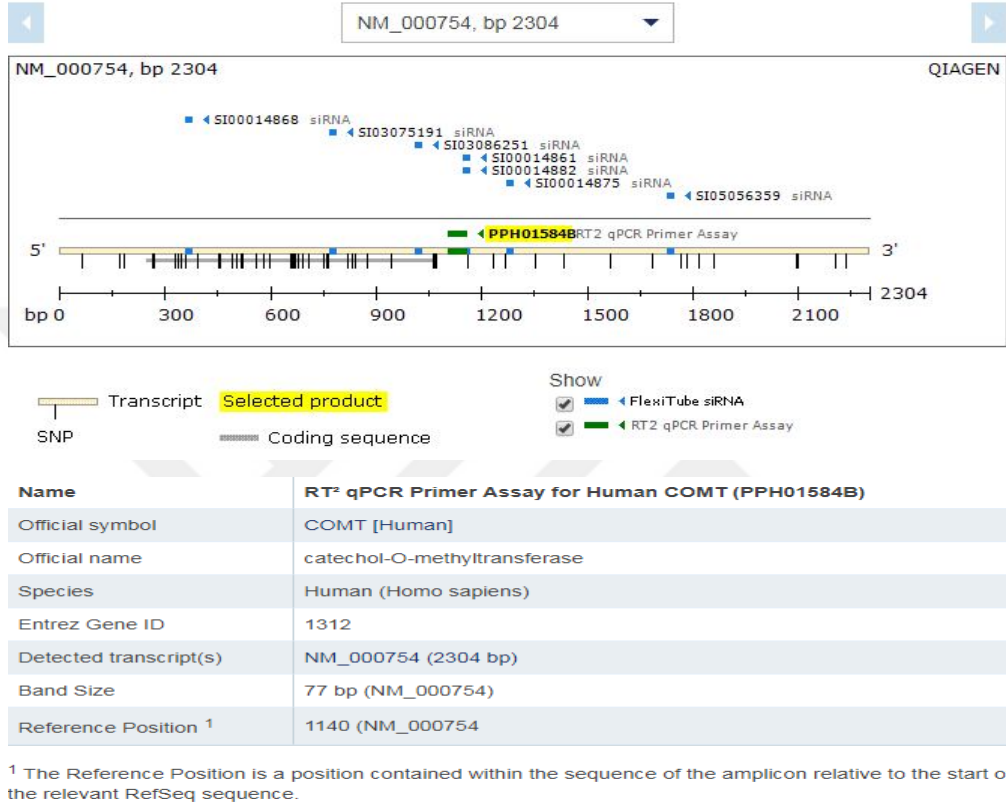
Resim 2. cDNA elde etme işlemi

5.5.3. Real Time PCR Analizi

COMT gen ekspresyonları belirlenmesi için Real Time PCR cihazında SYBR Green metodu uygulandı. Elde edilen hasta ve kontrol birey komplementer DNA' ları COMT geni primeri ile işleme alındı. Verilerin normalizasyonunu sağlamak için internal kontrol olarak her analizde GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) gen bölgesi primeri kullanıldı. Her örnek ve ölçüm için üç tekrarlı çalışıldı.

5.5.3.1. Real Time PCR primerleri

Çalışmamızda kullanılan COMT geni primer setleri ticari kit halinde alındı (Şekil 6).

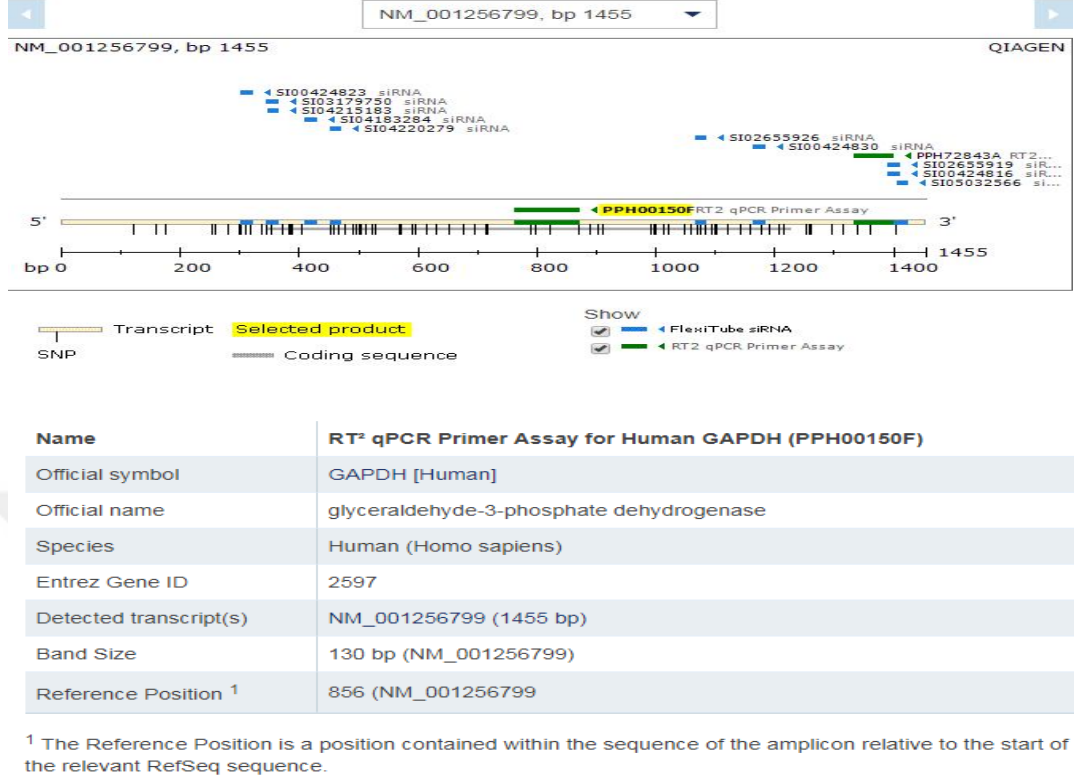


Şekil 6. COMT geni oligonükleotid primeri

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

GAPDH, geni psikiyatri hastalığından alınan kan doku örneğinde RT-PCR çalışmaları için uygun referans bir gen olup (Abasolo ve ark 2011), kontrol geninin amacı ters transkripsiyon reaksiyonlarına eklenen RNA miktarı için PCR'leri normalleştirmektir. Gen ekspresyonunun deneysel hatalardan etkilenmediğini tespit etmek amacıyla her kontrol için GAPDH kontrol geninin uygun şekilde doğrulanması önerilmektedir (Livak ve Schmittgen 2001).

Çalışmamızda kullanılan GAPDH geni primer setleri ticari kit halinde alındı (Şekil 7).



Şekil 7. GAPDH geni oligonükleotid primeri

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

5.5.3.2. Real Time PCR protokolü

1. RT² SYBR Green mastermiks, hasta ve kontrol bireyler için kullanılan RT² qPCR primer assay Human COMT, kontrol gen bölgesi olarak kullanılan RT² qPCR primer assay Human GAPDH - 20 °C' den çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Sonrasında vorteksenerek, yaklaşık 3 sn spin santrifüj yapıldı.
2. Real Time PCR bileşenleri 0.2 ml' lik tüpler içinde hasta ve kontrol grubu için ayrı ayrı Tablo 8' de gösterilen miktarlarda hazırlandı.
3. Hazırlanan miksler 0,1 ml' lik strip tüplere aktarıldı, strip tüp kapakları kapatıldı ve Real Time PCR cihazında Tablo 9' daki program uygulandı.

Tablo 8. Real Time PCR bileşenlerinin hazırlanması

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

Tablo 9. Real Time PCR Programı

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

5.5.3.3. Real Time PCR Verilerinin Analizi

Rotor-Gene Q series software 2.3.1 programı kullanılarak kantitasyon analizi yapıldı. Threshold değeri belirlenerek, amplifikasyon eğrileri görüntülendi. Relatif gen ekspresyon verilerinin analizi $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak yapıldı.

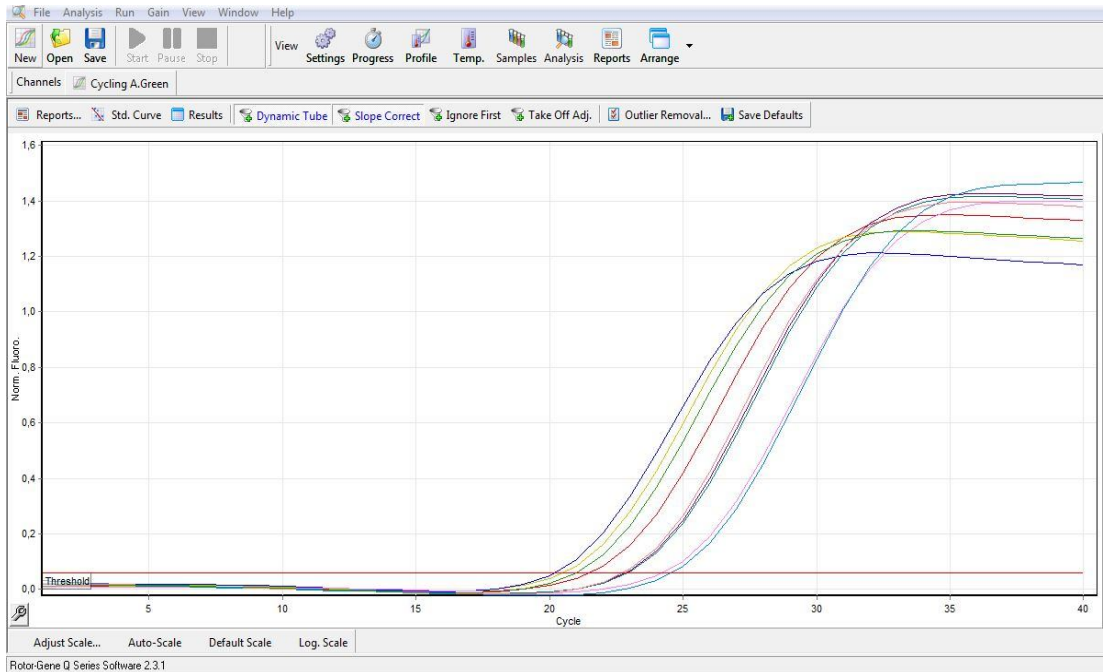


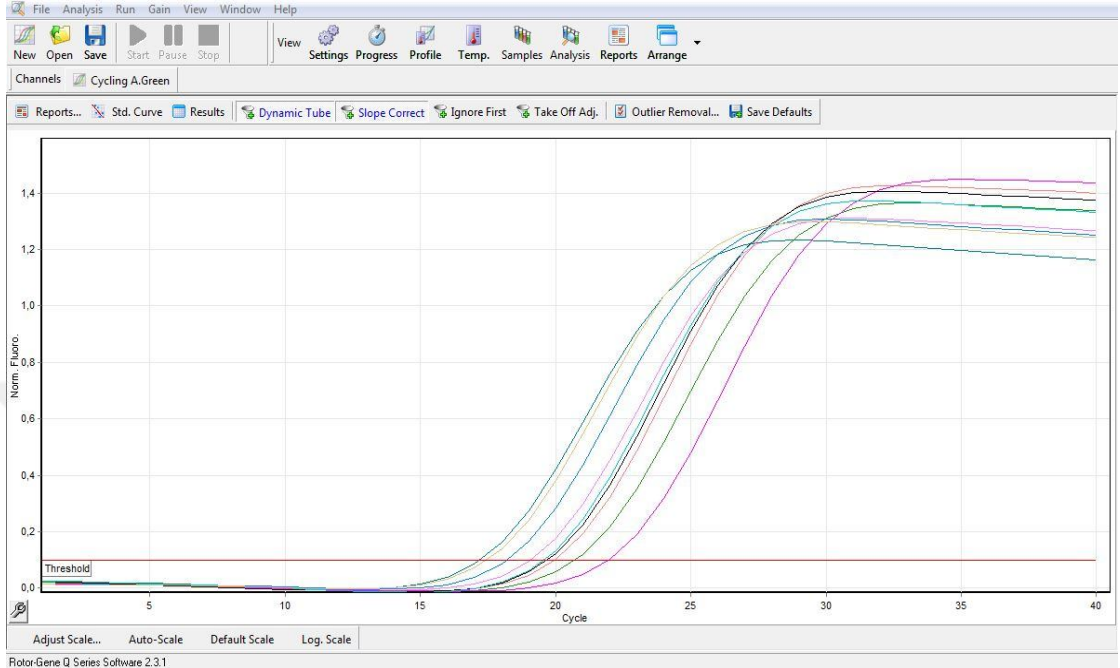
Resim 3. Real Time PCR işlemi

6.BULGULAR

6.1. REAL TIME PCR'DA GÖZLENEN COMT AMPLİFİKASYON EĞRİLERİ

Çalışmamızda Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Kliniği' nde kronik şizofreni tanısı almış bireylerden ve kontrol örneklerinden izole edilen total RNA' lardan gen ifade seviyelerinin belirlenmesi için Real Time PCR çalışması yapıldı. Çalışma sonucunda COMT geni ve GAPDH geni amplifikasyon eğrileri Real Time PCR' da gözlemlendi (Şekil 8, Şekil 9).





Şekil 8. Real Time PCR’ da gözlenen COMT geni amplifikasyon eğrileri.

Şekil 9. Real Time PCR’da gözlenen GAPDH geni amplifikasyon eğrileri.

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

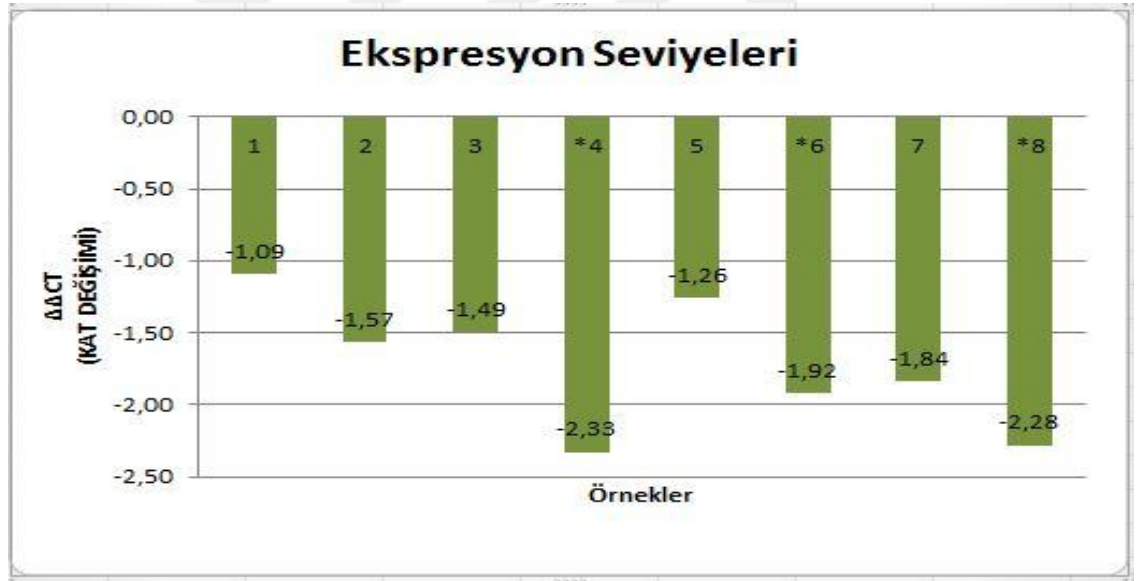
COMT geni farklı örnekleri arasında RNA miktarı ve kalitesinde meydana gelebilecek değişiklikleri normalize etmek için referans gen olarak GAPDH kullanıldı. Böylece farklı örnekler arasında COMT genin ifadesinin karşılaştırılmasını sağlandı. Gen ifadesini ölçmek için normalize CT değeri (ΔCT değeri) hesaplandı. Hasta örnekleri CT değerlerinden referans gen CT değerleri çıkarılarak, hasta örneklerinin ΔCT değerleri hesaplandı. Kontrol örneklerinin CT değerlerinden referans gen CT değerleri çıkarılarak, kontrol örneklerinin ΔCT değerleri hesaplandı.

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

hesaplandı. Bu değerler $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülünde yerine konularak gen ifadesi analizleri yapıldı.

$2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri hesaplamaları sonucunda çıkan 2 ve/veya üzeri değer anlamlı up regülasyonu, 1 ve 2 arası değer anlamsız up regülasyonu, 0 ve 1 arası değer down regülasyonu ifade ettiği bilinmektedir. Down regülasyonun anlamlı veya anlamsız olduğunu belirlemek amacıyla $-1/2^{-\Delta\Delta CT}$ yapılır. Çıkan sonuca göre anlamlı veya anlamsız down regülasyon tanımlanabilir. -1 ile -2 arası anlamsız down regülasyonu ifade ederken, -2 ve /veya -2' den küçük değerler anlamlı down regülasyonu ifade ettiği bilinmektedir (Livak ve Schmittgen 2001).

Hasta örneklerinin Real-Time PCR uygulamasında elde edilen amplifikasyon eğrilerinin CT değerlerinden, $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplandı. Sonuçlarımızın tamamı 0 ve 1 arası değerler olduğundan down regülasyonu ifade ettiği belirlendi. Gen ekspresyonu down regülasyonun anlamlı veya anlamsız olduğunu belirlemek amacıyla $-1/2^{-\Delta\Delta CT}$ hesaplanarak grafik elde edildi (Grafik 1).



*Anlamlı down regülasyonu ifade eden örnekler

Grafik 1. Hasta bireylerde COMT geni ekspresyon seviyeleri.

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



Resim 4. Gen Ekspresyonu verileri analizi işlemi.

7.TARTIŞMA

Şizofrenide çok faktörlü bir hastalık olduğu düşünüldüğünde, hem genetik değişkenler hem de çevresel faktörler etiyolojisi için önemli olarak görülmektedir. Şizofrenide kalıtım derecesi çok yüksek olmasına rağmen (~%80), genetik klinik pratiğinde hala önemli bir etkiye sahip olmadığına değinilmektedir (Ota ve ark 2019).

COMT genindeki tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olan rs4680 (G> A) , protein pozisyonu 158'de (Val¹⁵⁸Met) valin (val) yerine metiyonin (Met) sentezlenmesi ile sonuçlanmakta ve COMT ifadesini değiştirmektedir (Chang ve ark 2019). Matsumoto ve arkadaşları yaptığı çalışmada bu COMT ifadesindeki değişikliğin insanlarda dopamine bağlı prefrontal kortikal fonksiyonu etkilediğini göstermektedir (Matsumoto ve ark 2003). Val^{108 / 158}Met yer değiştiğinin COMT enziminin termostabilitesini düşürdüğü ve yapısal özelliklerini etkilemeden aktivitesini azalttığı belirtilmektedir (Moskovitz ve ark 2015).

Bireylerde yaşın, COMT Val¹⁵⁸Met polimorfizminin nöral fonksiyon ve ilgili davranış fenotipleri üzerindeki etkisinin düzenlenmesinde rol oynayabildiği belirtilmektedir. Tunbridge ve arkadaşlarının yaptığı araştırmalarda COMT enzim aktivitesinin ve protein ekspresyonunun insan ömrü boyunca yaşla birlikte arttığı bildirilmektedir. Buna karşın Rowe ve arkadaşları, COMT Val / Val genotipini taşıyan sağlıklı bireylerin erken yetişkinlikte daha yüksek gri madde yoğunluğuna sahip olduğunu ancak bu farkın yaş arttıkça kaybolduğunu belirtmektedir (Chang ve ark 2019).

Gen ekspresyonu bir genin DNA bilgisinin bir RNA kopyasına transkripsiyonu olup varyasyona katkıda bulunan, genomik lokus olan ekspresyon lokusları çevresel ve genetik faktörlerin bir kombinasyonundan da etkilenebilmektedir (Ota ve ark 2019).

rs4680, COMT protein ekspresyonu ve enzim aktivitesi izoformu üzerindeki etkisi ile karakterize bir polimorfizm olarak kabul edilmektedir (Chao ve ark 2019). Yapılan araştırmalar, bu Val¹⁵⁸Met yer değiştirme durumunun, protein ekspresyonunu etkilediği ancak bu polimorfizmin protein içinde translasyon sonrası değişikliklere yol açabileceğini belirten mRNA ekspresyon seviyelerini etkilemediği belirtilmektedir (Moskovitz ve ark 2015).

İnsan beyni dokusunda rs4680 (Val^{108/158}Met) allellerinin ekspresyonunu diferansiyel olarak etkilediği bulunmuştur ve büyük bir Ashkenazi Yahudi örneğinde şizofreni ile yüksek oranda ilişkili olduğu belirtilmektedir (Altinyazar ve ark 2015).

Protein bütünlüğündeki farklılıklar, rs4680'in alelleri arasındaki enzim aktivitesindeki farklılığı açıklayabilmektedir. Ailesel çalışmalarda, yüksek COMT aktivitesi alleli (Val) tercihli olarak ebeveynlerden etkilenen yavrulara aktarıldığı belirtilmektedir (Chao ve ark 2019).

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

Bizim çalışmamızda şizofreni tanısı almış hasta bireylerde ve sağlıklı kontrollerde GAPDH ile normalize edilmiş COMT gen ekspresyon düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre, 3 hasta anlamlı down regülasyon gösterirken 5 hasta ise anlamsız down regülasyon göstermiştir. Sonuç olarak; COMT geni ekspresyon seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, şizofrenide COMT gen ekspresyon aşağı regülasyonunun önemli bir rol oynayabileceğini gösterebilir.

2017-218 no' lu '**Şizofren Tanılı Olgularda COMT Gen Ekspresyon Seviyelerinin Real Time-PCR Yöntemi ile Araştırılması**' konulu BAP projemiz devam etmektedir. Hasta sayısı, projede hedeflenen sayıya (50 hasta) ulaştığında araştırma sonucu istatistiksel olarak tam bir sonuç ile ifade edilebilecektir. Bu sayede anlamlı olan tez ön çalışma sonuçlarımızın daha da anlam kazanacağını

düşünmekteyiz. Şizofren hastalarında COMT Geninin Real Time – PCR Yöntemi ile ifadesi üniversitemizde elde edilen ilk sonuçlar olma özelliğini taşımaktadır.

8.KAYNAKLAR

Abdolmaleky HM, Cheng K, Faraone SV, Wilcox M, Glatt SJ, Gao F, Smith CL, Shafa R, Aeali B, Carnevale J, Pan H, Papageorgis P, Ponte JF, Sivaraman V, Tsuang MT, Thiagalingam S. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. Human Molecular Genetics, 2006; 15;21, 3132–3145

Abasolo N, Torrell H, Roig B, Moyano S, Vilella E, Martorell L. RT-qPCR study on post-mortem brain samples from patients with major psychiatric disorders: Reference genes and specimen characteristics. Journal of Psychiatric Research 2011;45 1411e1418

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

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

Andreasen N. The evolving concept of schizophrenia: From Kraepelin to the present and future. Schizophrenia Research,1997;28:105-109

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

Bertolino A, Blasi G, Latorre V, Rubino V, Rampino A, Sinibaldi L, Caforio G, Petruzzella V, Pizzuti A, Scarabino T, Nardini M, Weinberger DR, Dallapiccola B. Additive Effects of Genetic Variation in Dopamine Regulating Genes on Working Memory Cortical Activity in Human Brain. *The Journal of Neuroscience*, April 12, 2006; 26(15):3918–3922

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

Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan T, Pfaffl MW, Shipley GL, Vandesompele J ve Wittwer CT. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry*, 2009;55(4): 611–22.

Cariaga-Martinez A, Alelú-Paz R. Epigenetic and Schizophrenia. *Licensee InTech*. Chapter 8. (2018):147-159

Cardoso IL ve Silva J. Genetic and Environmental Factors Involved in Schizophrenia Development. *EC Neurology* 2018;10.5: 399-411.

Ceylan ME. *Araştırma ve Klinik Uygulamada Biyolojik Psikiyatri*. 1. Cilt, 2. Baskı 2001

Clayton D ve McKeigue PM. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *The Lancet* 2001;358

Chao JK, Yang MC, Chen CS, Wang IC, Kao WT, Shi MD. A gender-specific COMT haplotype contributes to risk modulation rather than disease severity of major depressive disorder in a Chinese population. *Journal of Affective Disorders* 2019; 246: 376–386,

Cıccarelli SK, White JN. İçinde: Şahin DN. *Psychology*. 3. Basım, Nobel yayınları. 2016

Changa H, Fangb W, Wana F, Tzenga N, Liua Y, Shyua J, Huanga S, Changa T, Chang C. Age-specific associations among functional COMT Val158Met polymorphism, resting parasympathetic nervous control and generalized anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2019;106; 57–64

Chen J, Lipska BK, Halim N, Ma QD, Matsumoto M, Melhem S, Kolachana BS, Hyde TM, Herman MM, Apud J, Egan MF, Kleinman JE, and Weinberger DR. Functional Analysis of Genetic Variation in Catechol-O-Methyltransferase (COMT): Effects on mRNA, Protein, and Enzyme Activity in Postmortem Human Brain. *Am. J. Hum. Genet.* 2004;75:807–821

Collins AL, Kim Y, Sklar P, International Schizophrenia Consortium, O'Donovan MC, Sullivan PF. Hypothesis-driven candidate genes for schizophrenia compared to genome-wide association results. *Psychological Medicine* 2012; 42, 607–616.

Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ. The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. *J Med Genet* 2005;42:193–204. doi: 10.1136/jmg.2005.030718

Çevik Y. Ego Fonksiyonları Değerlendirme Ölçeği'nin Türkiye Koşullarına Uygun Geçerlik, Güvenirlik Çalışması. 2013

Darnell J, Lodis H, Baltimore D. *Molecular Cell Biology*. Scientific American books. 2. Baskı Amerika 1990, 227-488.

Ebert MH, Loosen PT, Nurcombe B. *Current Psikiyatri Tanı ve Tedavi*, Güneş kitabevi, Ankara 2003.

Ertan T. Psikiyatrik Bozuklukların Epidemiyolojisi. Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar. *Sempozyum Dizisi* 2008;62:25-30

Farrell MS, Werge T, Sklar P, Owen MJ, Ophoff RA, O'Donovan MC, Corvin A, Cichon S, Sullivan PF. Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 2015; 20: 555–562

Gao S, Cheng J, Li G, Sun T, Xu Y, Wang Y, Du X, Xu G, Duan S. Catechol-O-methyltransferase gene promoter methylation as a peripheral biomarker in male schizophrenia. *European Psychiatry* 2017;44: 39–46

Greenwood TA, Light GA, Swerdlow NR, Radant AD, Braff DL. Association Analysis of 94 Candidate Genes and Schizophrenia-Related Endophenotypes. *Plos one*. 2012; 7:1

Günel T. Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007;27

Han J, Li Y, Wang X. Potential link between genetic polymorphisms of catechol-O-methyltransferase and dopamine receptors and treatment efficacy of risperidone on schizophrenia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2017;13:2935–2943

Hodgkinson KA, Murphy J, O'Neill S, Brzustowicz L, Bassett AS. Genetic Counselling for Schizophrenia in the Era of Molecular Genetics. *Can J Psychiatry*, 2001;46

Igolkina AA, Armoskus C, Newman JRB, Evgrafov OV, McIntyre LM, Nuzhdin SV, Samsonova MG. Analysis of Gene Expression Variance in Schizophrenia Using Structural Equation Modeling. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018;11:192

Isık E. (2006) Güncel Şizofreni, Format Matbaacılık, Ankara.

Kaplan & Sadock. Klinik Psikiyatri El Kitabı 2. baskı; Güneş kitabevi, İstanbul 2005.

Kılıç E, Erek Toprak A, Kesgin Ayhan S, Baş A, Duruyen S. Şizofrenik Hastaların Atak ve Remisyon Dönemlerinde Oksidatif Stress. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2015;7(4):286-298

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

Kotlar AV, Mercer KB, Zwick ME, Mulle JG. New discoveries in schizophrenia genetics reveal neurobiological pathways: A review of recent findings. *European Journal of Medical Genetics* 2015:58.

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

Kömürcü – Bayrak E. ve Erginel – Ünaltuna N. Gen Anlatımı Analiz Yöntemlerine Genel Bakış. 2011;1-2:28-35

Köroğlu E, Güleç C. Psikiyatri Temel Kitabı. 2. Basım. Ankara: Hekimler Yayın Birliği 2007:184-205

Lajin B, Alachkar A. Detection of *catechol-O-methyltransferase (COMT)* Val158Met Polymorphism by a New Optimized PCR-RFLP Method. *American Journal of Biomedical Sciences*.2011

Li Z, He Y, Han H, Zhou Y, Ma X, Wang D, Zhou J, Ren H, Yuan L, Tang J, Zong X, Hu M, Chen X. COMT, 5-HTR2A, and SLC6A4 mRNA Expressions in First-Episode Antipsychotic-Naïve Schizophrenia and Association With Treatment Outcomes. *Frontiers in Psychiatry*. 2018; 9:577.

Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO. Textbook of Schizophrenia. 1st ed. Washington: American Psychiatric 2006

Liu Y, Fu X, Tang Z, Li C, Xu Y, Zhang F, Zhou D and Zhu C. Altered expression of the CSMD1 gene in the peripheral blood of schizophrenia patients. *BMC Psychiatry* 2019;19:113

Livak KJ ve Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. Elsevier Science. 2001; **25**: 402–408

Malaspina D. Paternal Factors and Schizophrenia Risk: De Novo Mutations and Imprinting. Schizophrenia Bulletin. 2001;27(3):379-393

Mimmack ML, Ryan M, Baba H, Navarro-Ruiz J, Iritani S, Faull RLM, McKenna PJ, Jones PB, Arai H, Starkey M, Emson PC, Bahn S. Gene expression analysis in schizophrenia: Reproducible up-regulation of several members of the apolipoprotein L family located in a high-susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 22. PNAS. 2002;99 (7): 4680–4685.

Mokhtari R ve Lachman HM. The Major Histocompatibility Complex (MHC) in Schizophrenia: A Review. J Clin Cell Immunol. 2017; 7(6)

Moskovitz J, Walss-Bass C, Cruz DA, Thompson PM, Hairston J and Bortolato M. The enzymatic activities of brain COMT and methionine sulfoxide reductase are correlated in a COMT Val/Met allele-dependent fashion. Neuropathol Appl Neurobiol 2015; 41(7): 941–951. doi:10.1111/nan.12219.

Norton N, Williams HJ, Owen MJ. An update on the genetics of schizophrenia. Current Opinion in Psychiatry 2006; 19:158–164

O'Donovan MC and Owen MJ. Candidate-Gene Association Studies of Schizophrenia. The American Society of Human Genetics. 1999; 65:587–592

Okutucu B, Pehlivan S. Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve Uygulama Alanları. Ege Üniversitesi Arşiv. 2003; 12:138

Owen MJ ve O'Donovan MC. Genetics of schizophrenia. Elsevier. 2008

Ota VK, Moretti PN, Santoro ML, Talarico F, Spindola LM, Xavier G, Carvalho CM, Marques DF, Costa GO, Pellegrino R, Jong S, Cordeiro Q, Hakonarson H, Breen G, Noto C, Bressan RA, Gadelha A, Mari J and Belanger SI. Gene expression over the course of schizophrenia: from clinical high-risk for psychosis to chronic stages. Npj Schizophrenia 2019;5:5

Öztürk O. Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, Hekimler Yayın Birliği, Ankara.1997
Özpoyraz N, Taman L. Şizofrenik Bozukluk. Galenos. 1998; 26-31

Rees E, O'Donovan MC and Owen MJ. Genetics of schizophrenia. Current Opinion in Behavioral Sciences 2015; 2:8–14

Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Robert BJ. Campbell Biyoloji. Çeviren: Gündüz E ve Türkan İ. 9. Baskı. Palme Yayıncılık. Ankara; 2013; s:306-368.

Roth TL, Lubin FD, Sodhi M, Kleinman JE. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Biochim Biophys Acta*. 2009 ;1790(9): 869–877.

Ruiz-Sanz JI, Aurrekoetxea I, Ruiz del Agua A, Ruiz-Larrea MB. Detection of catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism by a simple one-step tetra-primer amplification refractory mutation system-PCR. *Molecular and Cellular Probes* 2007; 21: 202–207

Sadock BJ, Sadock V. Kaplan ve Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins 2000:1159-1199

Šagud M, Mück-Šeler D, Mihaljević-Peleš A, Vuksan-Ćusai B, Živković M, Jakovljević M, Pivac N. Catechol-o-methyl transferase and schizophrenia. *Psychiatria Danubina*, 2010; 22:2,270–274.

Schefe, JH, Lehmann KE, Buschmann IR, Unger T, Funke-Kaiser H. Quantitative real-time RT-PCR data analysis: current concepts and the novel "gene expression's CT difference" formula. *Journal of Molecular Medicine*. 2006;84 (11): 901–10.

Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu EC , Herken H. Şizofreni ve Diğer Psikotik bozukluklar. Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları 2007; 53-65

Steiner J, Bernstein H, Schiltz K, Müller UJ, Westphal S, Drexhage HA, Bogerts B. Immune system and glucose metabolism interaction in schizophrenia: A chicken–egg dilemma. Elsevier. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 48 (2014) 287–294

Şengöz S. Manisa'da kronik şizofren tanısı konmuş bireylerde Catechol-o-Methyltransferase (COMT) val158met polimorfizminin araştırılması. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans tezi . (Danışman: DOÇ. DR. N.Altıntaş). Manisa. 2017.

Tracey D ve Bauke P. Ailenizin tıp ansiklopedisi. 2000; 643

Tsuchimine S, Yasui-Furukori N, Kaneda A, Kaneko S. Differential Effects of the Catechol-O-Methyltransferase Val158Met Genotype on the Cognitive Function of Schizophrenia Patients and Healthy Japanese Individuals. *Plos One*. 2013; 8:11

Tunbridge E, Burnet PWJ, Sodhi MS, Harrison PJ. Catechol-o-methyltransferase (COMT) and Proline Dehydrogenase (PRODH) mRNAs in the Dorsolateral Prefrontal

Cortex in Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depression. *Synapse* 2004;51:112–118

Ulaş H, Taşlıca S, Alptekin K. Şizofrenide Nörofizyolojik ve Nörokognitif Genetik Belirleyicilerin (Endofenotip) Yeri. *Klinik Psikiyatri* 2008;11:12-19

Ukkola-Vuoti L, Torniainen-Holm M, Ortega-Alonso A, Sinha V, Tuulio-Henriksson A, Paunio T, Lönnqvist J, Suvisaari J, Hennah W. Gene expression changes related to immune processes associate with cognitive endophenotypes of schizophrenia. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry* 2019;88: 159–167

Uzbay T. Şizofreni Tedavisinde Yeni Farmakolojik Yaklaşımlar. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2009; 20(2):175-182

Xu Y, Shugart YY, Wang G, Cheng Z, Jin C, Zhang K, Wang J, Yu H, Yue W, Zhang F, Zhang D. Altered expression of mRNA profiles in blood of early-onset schizophrenia. *Scientific Reports*. 2016; 6, 16767; doi: 10.1038/srep16767

Varma GS, Karadağ F, Erdal M.E, Ay Öİ, Levent N, Tekkanat Ç, Gökdoğan TE, Herken H. Katekol-O-Metiltransferaz Geni Val158Met Polimorfizminin Şizofreni Hastalarındaki Bilişsel İşlevlere Etkileri. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2011;21:24-32

Vereczkei A ve Mirnics K. Genetic predisposition to schizophrenia: what did we learn and what does the future hold? *Neuropsychopharmacologia. Hungarica* 2011;4

Wang H, Zhang B, Zeng B, Tanga Y, Zhang T, Zhao S, Li C, Wanga J, Goff DC. Association between catechol-O-methyltransferase genetic variation and functional connectivity in patients with first-episode schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2018;199:214–220

Wang Z, Xiao Z, Inslicht SS, Tong H, Jiang W. Low expression of catecholamine-O-methyl-transferase gene in obsessive-compulsive disorder. *Journal of Anxiety Disorders*. 2009;23:660–664

Wishart HA, Roth RM, Saykin AJ, Rhodes CH, Tsongalis GJ, Pattin KA, Moore JH, Mcallister TW. COMT Val158Met Genotype and Individual Differences in Executive Function in Healthy Adults. *J Int Neuropsychol Soc*. 2011;17(1): 174–180.

Yavuz R. Türkiye’de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Şizofreni. Sempozyum Dizisi 2008;62:49-58.

Yavich L, Forsberg MM, Karayiorgou M, Gogos JA, Mañnisto PT. Site-Specific Role of Catechol-O-Methyltransferase in Dopamine Overflow within Prefrontal Cortex and Dorsal Striatum. The Journal of Neuroscience, 2007;27(38):10196 –10202

9.EKLER

EK 1: Enstitü Yönetim Kurulu Kararı

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
21.06.2017	26	22

Karar 19- Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın Anabilim Dalı Kurul Kararları görüşülerek; Tezli Yüksek Lisans Programı 3113010004 numaralı öğrencisi Şebnem CİDDİ'nin **"Aritmogenik Sağ Ventriküler Kardiyomyopati (ARVD) Olgularında PKP2 Gen Mutasyonlarının Araştırılması"** olarak kabul edilmiş olan Tez Konusunun, Etik Kurul Onayı alınması kaydı ile **"Şizofren Tanılı Olgularda COMT Gen Ekspresyon Seviyelerinin Real Time – PCR Yöntemi İle Araştırılması"** olarak değiştirilmesine **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

e-imzalıdır Prof. Dr. Ayşe AKTAŞ Enstitü Müdürü	
e-imzalıdır Doç. Dr. Elgin TÜRKÖZ ULUER Müdür Yardımcısı	e-imzalıdır Prof. Dr. Necip KUTLU Üye
e-imzalıdır Prof. Dr. Sezgi ÇINAR PAKYÜZ Üye	e-imzalıdır Prof. Dr. Murat TAŞ Üye
Aynur PALAMUTÇUOĞLU Enstitü Sekreteri Raportör	

Ash Gibidir
05/08/2019

Aynur PALAMUTÇUOĞLU
Enstitü Sekreteri



EK 2: Etik Kurul İzin Belgesi

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

KARAR TARİHİ/ NO	27/ 09 /2017/ 20.478.486-		
ARAŞTIRMANIN ADI	Şizofren Tanılı Olgularda COMT Geni Ekspresyon Seviyelerinin Real Time - PCR Yöntemi ile Araştırılması		
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Doç. Dr. Muray Altıntaş		
ARAŞTIRMA EKİBİ	Şebnem Ciddi		
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ ☐	YÜKSEK LİSANS-DOKTORA TEZİ ☒	AKADEMİK AMAÇLI ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	18 / 09 /2017 / Tarih ve 40657 sayılı; araştırma dosyası.		
KARAR BİLGİLERİ	Araştırma dosyası incelenmiş, bilimsel ve etik açıdan UYGUN olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.		
Öneren/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Oye	Toplantıya Katılmayan Oye	Öneren/Adı/Soyadı
Prof. Dr. Zeki ARI Tıbbi Biyokimya AD	☒	☐	Doç. Dr. Serdar TOK Spor Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Murat DEMET Psikiyatri AD	☒	☐	Doç. Dr. Ayhan TÜREDİ YILDIRIM Çocuk Hematolojisi BD
Prof. Dr. Sezgi ÇINAR PAKYÜZ İç Hastalıkları Hemşireliği AD	☒	☐	Yrd. Doç. Dr. Selim ALTAN Tıbbi Etik AD
Doç. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT Halk Sağlığı AD	☒	☐	Mukadder YILMAZER Avukat
Doç. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU Farmakoloji AD	☒	☐	İhsan AVCI Sivil Oye
Etik Kurulumuzun kararı yukarıda belirtilmiştir. <u>Araştırmanız Her Hangi Bir Aşamada Etik Kurulumuzun "İzleme - Denetleme" Görevi Gereği Lüzumu Halinde Haberli / Habersiz Olarak Denetlenebilir.</u> Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname - Bölüm E kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim. Prof. Dr. Zeki ARI Başkan			

EK 3: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

CALIŞMANIN ADI: Şizofren Tanılı Olgularda COMT Geni Ekspresyon

Seviyelerinin Real Time - PCR Yöntemi ile Araştırılması

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

CALIŞMANIN KONUSU VE AMACI:

Çalışmanın Amacı: İlgili genin Şizofren ve sağlıklı bireylerin kan materyallerinden transkripsiyonel düzeydeki ifadelerinin incelenmesi ile COMT genini düzenleyen mekanizmaların RNA düzeyindeki ifade biçimi açıklığa kavuşturulabilecek ve Manisa’da ve Üniversitemizde ilk defa şizofrenide yeni verilerin elde edilmesi amaçlanmış olabilecektir.

Şizofreniye yakalanma riskinde genetik faktörler büyük öneme sahiptir. Genetik alanındaki ilerlemeler sayesinde son yıllarda bağlantı analizleri ile şizofrenide risk faktörü olabilecek birçok gen tanımlanmıştır. Tanımlanan aday genler üzerinde farklı populasyonlarda birçok yatkınlık çalışması yapılmıştır. Ancak çalışmalar farklı toplumlarda farklı sonuçlar vermekte ve replike sonuçlar elde edilmesinde sorunlar yaşanmaktadır. Katekol-O-Metiltransferaz (Catechol-O-Methyltransferase-COMT) enzimi, katekolamin biyokimyası ve farmakolojisinde ve son zamanlarda da katekol metabolizma varyasyonlarının genetik mekanizması ve klinik sonuçları açısından büyük öneme sahip bir enzimdir. COMT, S-adenozil-metiyoninden aldığı metil grubunu katekol çekirdeği (dopamin, norepinefrin ya da katekol östrojen gibi) üzerindeki hidroksil grubuna transfer eder. COMT genindeki genetik varyasyonlar, psikiyatrik bozukluklardan östrojen bağlantılı kanserlere kadar birçok klinik fenotip ile ilişkilendirilmiştir ve şizofreni ile bağlantısı çeşitli gruplar tarafından çalışılmıştır.

rs4680 (Val158Met) genetik varyasyonu Katekol-O-Metiltransferazı kodlayan COMT genindeki tek bir nükleotid polimorfizmidir (SNP). COMT genindeki en yaygın çalışılmış polimorfizm rs4680 polimorfizmidir ve genin ürününde 158. kodonda valin-metiyonin değişimine neden olmaktadır. Farklı popülasyonlarda bu polimorfizm üzerinde yapılan bağlantı çalışmalarında hem negatif hem de pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar yorumlanırken şizofreninin çevre ve gen etkileşimlerinin neden olduğu bir hastalık olduğu ve hastalığın temelinde birçok gen ürününün etkin olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Transkripsiyon, DNA'daki bilginin RNA'ya aktarılmasıdır. Total veya polyA RNA üzerinden "reverse transcriptase" enzimi ile cDNA sentezlenir. Gen spesifik (ekzon) primerler ile PCR yapılır. RT-PCR Özellikle eş zamanlı PCR (Real Time PCR) cihazları ile yüksek hassasiyette miktar tayini yapılabilmektedir. Genetik araştırma sonuçlarının Şizofreni klinik değerlendirmesine etkisi yönünden değerlendirecek olursak, COMT geninin ekspresyon seviyelerinin RT-PCR tekniği ile araştırılması sonucunda da şizofren ve sağlıklı bireylerin transkripsiyonel düzeydeki gen ifadelerinin incelenmesi ile bölgesel yeni veriler elde edilebileceği beklenilmektedir.

Gen ekspresyon seviyelerinin RT-PCR tekniği ile gen düzeyindeki ifadelerinin incelenmesi ile COMT geni ekspresyon seviyelerine ilişkin Manisa ve yöresindeki şizofreni hastalarına ait bölgesel veriler ilk kez elde edilebileceğinden özgün değeri yüksek bir çalışma olarak bu alanda çalışacak araştırmalara konu ile ilgili bilgi elde etme olanağı sağlanmış olabilecektir. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Psikiyatri Anabilim Dalı Polikliniği'nde tanı konulan hastalardan alınacak kan materyalinden gen ekspresyon seviyesinde gerçekleştirilecek ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Bu bölgede ilgili konu hakkında daha önce benzer bir çalışma yapılmamış olması projenin özgün değerini arttırmaktadır. Bunun yanı sıra çalışmanın Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile gerçekleştirilecek olması sonucu elde edilecek kantitatif verilerin literatüre ve klinik içeriğe bölgesel yeni veriler elde edilmesi ve katkı sağlayacak olması yönünden özgünlüğü bulunmaktadır. Şizofreni hastalarının genel popülasyona göre %20 daha kısa yaşadıkları; ayrıca kişilerarası ilişkiler, evlilik, iş, eğitim, kişisel bakım ve diğer pek çok alanda sorunlar yaşadığı göz önüne alındığında da, şizofreniye yatkınlık genlerinden en iyi aday gen olan COMT geni için genotipleme ve gen ifadelerinin bilimsel katkılarıyla, ilaç tedavilerindeki herhangi bir ilerlemenin hem sosyal hem de sosyoekonomik açıdan önemi daha da anlaşılabilecektir.

CALISMA İSLEMLERİ:

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 (1-2 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan genetik materyal olarak RNA elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

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

CALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

GÖNÜLLÜYE UYGULANACAK İSLEMLERİN OLASI ZARARLARI NELERDİR?

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin de saptanmasıdır. Bu durumlarda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır. Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de

istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz. Gönüllüye kendine ait tıbbi bilgilere ancak verilerin analizinden sonra ulaşabileceği bildirilecektir.

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :

Adı	Soyadı	Unvanı	Adresi	Telefon
Nuray	ALTINTAŞ	Doç. Dr	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	05325276553
Ayşen Esen	DANACI	Prof. Dr	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı	05322817518

Çalışmaya Katılma Onayı

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

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

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

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

<i>Arařtırmacı² Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

1: Gönüllünün bilgilendirilme işlemine başından sonuna dek tanıklık eden kişi

2:Gönüllüyü araştırma hakkında bilgilendiren kişi



EK 4: Yüksek Lisans Tez Çalışması Orjinallik Raporu

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığı'na

Tez Adı: Şizofren Tanılı Olgularda COMT Gen Ekspresyon Seviyelerinin Real Time – PCR Yöntemi İle Araştırılması

Tezime ilişkin 30/07/2019 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 26' dır.

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

Adı Soyadı : Şebnem CİDDİ DEMİREL
Öğrenci No : 3113010004
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Programı : Tıbbi Biyoloji

Tarih ve İmza

30.07.2019

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

(Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ)

Açıklamalar

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

10.ÖZGEÇMİŞ

Adı	Şebnem	Soyadı	CİDDİ (DEMİREL)
Doğum Yeri	Diyarbakır	Doğum Tarihi	28.03.1989
Uyruğu	TC	Tel	0 530 2734589
E-mail	sebnem_89_35@hotmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğum Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	2011- Devam etmekte
Lisans	Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümü	2007-2011
Lise	İzmir İnönü Lisesi	2003-2006

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre	Yer
Stajyer	İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Mikrobiyoloji ve İdrar Laboratuvarı	14.07.2008-08.08 2008	İZMİR
Stajyer	Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Stajı	17.08.2009 – 28.08.2009	İZMİR
Stajyer (Biyoloji öğretmeni)	İzmir-Bornova Özel İz Temel Lisesi	09.2015-11.2015	İZMİR

Yabancı Dil Sınav Notu								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Sayısal		Eşit Ağırlık		Sözel		
ALES Puanı		68,06		61,70		51,40		
KPSS Puanı		71,60						

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
MS Office Programları	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

EK: Diğer Bilimsel faaliyetler (yayın, kongre bildirisi)



EK: Diğer Bilimsel faaliyetler (yayın, kongre bildirisi)

POSTER

1. Altıntaş N, **Ciddi Ş**, Aksoy Ö, Bulut D, Ünver A, Altıntaş N. Manisa ilinde Kistik Ekinokokkozis'in son 5 yıldaki dağılımına ilişkin bir çalışma. 6.Ulusal Hidatidoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 12-15 Eylül 2012, Gaziantep.
2. Altıntaş N, Bulut D, Aksoy Ö, **Ciddi Ş**, Ünver A, Altıntaş N. Kistik Ekinokokkozis'in ekonomik önemine genel bir bakış. 6.Ulusal Hidatidoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 12-15 Eylül 2012, Gaziantep.
3. Altıntaş N, Aksoy Ö, Bulut D, **Ciddi Ş**, Ünver A, Altıntaş N. İzmir ilinde Kistik Ekinokokkozis'in son 5 yıldaki dağılımına ilişkin bir çalışma. 6.Ulusal Hidatidoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 12-15 Eylül 2012, Gaziantep.

ULUSAL VE ULUSLARARASI KATILIMLI KONGRE VE SEMPOZYUMLARDA ALINAN GÖREVLER

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

KONGRE-SEMPOZYUM

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

KATILIM SERTİFİKALARI

1. Ulusal Hidatidoloji Kongresi (Uluslararası) Katılımı, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji, GAZİANTEP. (12-15 Eylül 2012).
2. Optimization Techniques for Western Blot, Immunoprecipitation, and Immunohistochemistry, Kimera (27.04.2012).
3. Real-Time PCR Tabanlı Gen Ekspresyonu, Mutasyon ve Metilasyon Profilleme Semineri, QIAGEN (28.03.2012).
4. NLP (Beyin Dili Programı), Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi, MANİSA (17.11.2012).
5. İş ve İnsan İlişkileri, Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi, MANİSA (21.11.2012).
6. Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi Toplam Kalite Yönetimi, MANİSA (26.11.2012).

KURS SERTİFİKALARI

1. Laboratuvar Güvenliđi Uygulamalı Eğitim, Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakóltesi, Tıbbi Biyoloji ABD, MANİSA (16.03.2012).
2. Araştırma Planlama Ve Analiz Yöntemleri, Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakóltesi, Tıbbi Biyoloji ABD, MANİSA (07.03.2013-19.03.2013).
3. Elginkan Vakfı Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi Milli Eğitim Bakanlığı, Bilgisayar ve Ofis Programları Kullanımı Sertifikası (13.11.2012 – 18.12.2012).
4. Microsoft Office Programları, MEB Onaylı Bilgisayar İşletmenliği Sertifikası.

EĞİTİM

Pedagojik Formasyon Eğitimi (10.07.2014).