



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MAJOR DEPRESİF BOZUKLUK' TA MİKRORNA
DÜZEYLERİ

Dr. Mehmet Akif Camkurt

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Şenel Acar

MERSİN – 2014



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
RUH SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MAJOR DEPRESİF BOZUKLUK' TA MİKRORNA
DÜZEYLERİ

Dr. Mehmet Akif Camkurt

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Şenel Acar

Bu tez, BAP-TF DTB (MAC) 2013-3 TU kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir

MERSİN – 2014

TEŐEKKÜR

Gerek uzmanlık tezim gerekse de asistanlığım boyunca sürekli maddi-manevi desteğini hissettiğim başta kıymetli Hocam Prof. Dr. Şenel ACAR'a ve diğer Hocalarımız Prof. Dr. Kemal YAZICI, Prof. Dr. Aylin YAZICI ve Doç. Dr. AyŐe Devrim BAŐTERZİ' ye, proje desteğini sunan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu' na, bu sürede çalıŐmaktan keyif aldığım ve tezimde bana yardımcı olan Dr. Seda Türkili, Dr. Özge EriŐ Davul ve diğer mesai arkadaşlarıma, kan alma sürecinde desteğini ve güleryüzünü sürekli devam ettiren hemŐire Elif KARADENİZ hanıma, kanların analizlerini ve mikroRNA' ların çalıŐılmasını sağlayan biyokimya A.B.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Lülüfer TAMER, Dr. AyŐegül Görür ve diğer çalıŐanlarına, istatistiki analizlerde yardımcı olan Prof. Dr. Gülhan ÖREKİÇİ ve Dr. Didem OVLA' ya, bugünlere gelmemde büyük emeği olan Annem Güllü CAMKURT ve Babam İ. Halil CAMKURT' a, her koşulda beni destekleyen ve yanımda olan biricik EŐim Fatma Nilüfer CAMKURT' a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Akif CAMKURT

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ ve AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	9
Major Depresif Bozukluk	9
Major Depresif Bozukluk Önemi	9
Major Depresif Bozukluk Patofizyolojisi	9
Major Depresif Bozukluk ve Nöroplastisite	10
Major Depresif Bozukluk ve Prefrontal Korteks	10
Psikiyatride Biyolojik Belirteçler	10
Biyolojik Belirteç Nedir?	10
Psikiyatride Biyolojik Belirteç Çalışmaları	11
Major Depresif Bozuklukta Biyolojik Belirteçler	11
Major Depresif Bozuklukta Periferik Gen Ekspresyonu	12
Kan-Prefrontal korteks	12
MikroRNA' lar	12
MikroRNA Tanımı ve Sentezi	12
Nörogenez ve MikroRNA' lar	13
Sinaptik Plastisite ve MikroRNA' lar	13

Major Depresif Bozukluk ve MikroRNA' lar	14
MikroRNA' lar ve Glukokortikoid Reseptörleri	14
Stres Yanıtı ve MikroRNA' lar	14
Periferik Kanda MikroRNA Çalışmaları	15
Mir134	15
Mir195	15
Mir183, Let-7a, Let-7b	16
Mir15a	16
Mir103a	16
Mir16	17
Mir320a	17
Mir451	17
GEREÇ VE YÖNTEM	18
Çalışma Grubunun Seçimi	18
Ölçüm Araçları	19
Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği	19
Montgomet-Asberg Depresyon Derecelendirme Ölçeği	19
MikroRNA Analizi	20
MiRNA analizi için Plazma Eldesi	20
MikroRNA izolasyonu	21
cDNA eldesi	21

Dynamic Array 96.96' nın Hazırlanması mikroRNA analizi	21
İstatistiksel Analiz	22
BULGULAR	24
TARTIŞMA	31
SONUÇ VE ÖNERİLER	38
KAYNAKLAR	39
KISALTMALAR DİZİNİ	47
TABLolar DİZİNİ	48
EK 1 SOSYODEMOGRAFİK VERİ FORMU	49
EK 2 Hamilton Depresyon Değerlendirme Ölçeği	54
EK 3 MONTGOMERY ASBERG DEPRESYON DERECELENDİRME ÖLÇEĞİ	56

ÖZET

Çalışmamızın amacı mikroRNA' ların major depresif bozukluk için potansiyel bir belirteç olup olmadıklarını tespit etmektir.

Çalışmamıza 50 hasta ve 41 sağlıklı gönüllü alınmıştır. Gönüllülere Ham-D ve MADRAS ölçekleri uygulanmış olup Ham-D skoru 17' nin MADRAS skoru 20' nin üzerinde olan hastalar dahil edildi. Psikotik, melankolik, anksiyöz, mevsimsel ve atipik depresyon tipleri dışlandı.

Sonuç olarak hasta grubunda mir320a down-regüle ve mir451a up-regüle bulundu.

MikroRNA' lar 16-22 nükleotid uzunluğunda, genellikle mRNA' ların yıkımını sağlayan küçük, protein kodlamayan transkriptlerdir. Şu anki literature göre bu çalışma depresyonda mikroRNA' ları biyolojik belirteç olarak araştıran ilk çalışmadır.

Mir320a GRIN2A ve DISC1 gibi birçok önemli genle ilişkilidir. Önceki çalışmalarda GRIN2A' nın depresif ve suicidal hastalarda arttığı gösterilmiş olup, mir320a down-regülasyonu GRIN2A upregülasyonu ile ilişkili olabilir. Bir başka genetik bağlantı çalışması DISC1' i depresyon için bir hedef olarak göstermiştir. Önceki literatürle bulgumuz değerlendirildiğinde mir320a düzeyleri prefrontal kortekste GRIN2A ile ilişkili süreçlerin bir yordayıcısı olabilir.

Mir451a' yı ise up-regüle bulduk. Ketamine son yıllarda hızlı etkinlik sağlamasıyla öne çıkmaktadır. Ketaminin etki mekanizması düşünüldüğünde mir451a düzeyleri tedavi cevabının yordayıcısı olabilir.

Çalışmamız mikroRNA' ların depresyon için muhtemel biyolojik belirteçler olabileceğini öngörmektedir.

Anahtar kelimeler: kan, mikroRNA, major depresif bozukluk

ABSTRACT

Plasma MicroRNA Levels Between Depressed Patients and Healthy Controls

Objective of this study is to identify whether microRNAs could be potential biomarkers for major depressive disorder (MDD).

The blood samples of 50 patients and 41 healthy controls(HC) was collected from individuals who admitted to Mersin University Teaching Hospital Psychiatry Department. Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) and Montgomery Asberg Depression Rating Scale applied to the participants. Patients whose HDRS score above 17 and MADRAS score above 20 included. Subtypes like psychotic, melancholic, anxious, seasonal and atypical excluded. Mir320a was significantly down regulated and mir 451a was significantly up regulated among MDD patients. MicroRNAs are small non-coding 16-22 nucleotide long RNA transcripts and they usually point mRNA's to degrade and provide them from translation. To our current knowledge it is the first study investigating microRNAs as potential biomarkers for MDD.

We found mir320a down regulated between MDD group and HC. Mir320a is predicted to be related with lots of genes which include GRIN2A and DISC1. Previous studies showed GRIN2A was upregulated in both MDD patients and suicidal patients. Down regulation of mir320a is predicted to be related with upregulation of GRIN2A. A genetic linkage study demonstrates DISC1 as a potential target for MDD. According to our findings and previous literature plasma mir320a levels could be indicator of GRIN2A related processes in prefrontal cortex of depressed patients. We found mir451a upregulated among depressed patients. A previous study showed ketamine treatment reduces mir451a levels. In recent years ketamine is predicted to be one of the rapid acting potential antidepressant treatment. Based on acting mechanism of ketamine mir451 could be a marker for treatment response.

Our study demonstrates the possibility of microRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for depression.

Keywords: blood , major depressive disorder, microRNA

GİRİŞ VE AMAÇ

MDB, klinik görünüm açısından oldukça heterojen bir bozukluktur ve bugüne kadar yeterince nesnel bir tanısal test geliştirilememiştir. Günümüzde MDB tanısı çeşitli semptomların bir arada görülmesi ile konulmaktadır. MDB tanısını koymada en sık kullanılan tanı sistemleri ICD-10 (International Classification of Disorders 10th) ve DSM-IV(Diagnostic and statistical Manual of Mental Disorders Manual IV)'dir^{1,2}. Her iki tanı sistemi de MDB için: 1) anhedoni; daha önce keyif alınan aktivitelerden tat alamama ve 2) çökkün duygudurumu çekirdek semptom olarak kabul etmiştir. İştah düzensizliği, az veya çok uyuma, psikomotor ajitasyon veya retardasyon, yorgunluk veya enerji kaybı, odaklanamama, kognitif bozukluklar ve ölüm düşünceleri de MDB' de görülen diğer belirtilerdir.

Nöronal plastisitede bozulmanın MDB patofizyolojisinde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Nöronal plastisitenin bozulması, beyin çevresel uyaranlara karşı uygun yanıtlar geliştirmesini engelleyerek MDB gelişmesine neden olabilir³. MDB hastalarında saptanan, hipokampüste ve diğer ön beyin yapılarında volüm kaybı, sinaptik devrelerde bozulma, dorsolateral prefrontal kortikal aktivite azalması, frontal lob ile diğer beyin bölgelerindeki bağlantı bozuklukları, dendritik çıkıntılarının sayısı ve şekillerinde değişiklikler, hipokampal nöron boyunda kısalma ve apikal dendrit sayısında azalma gibi bulgular nöronal plastisitenin önemini göstermektedir^{4,5}.

MikroRNA' lar 18-24 nükleotitten oluşan yaklaşık 22 nanometre uzunluğunda protein kodlamayan RNA transkriptleridir. MikroRNA' lar etkilerini mRNA'ların 3'UTR ucuna bağlanıp translasyonlarını engelleyerek gösterirler⁶. MikroRNA' lar sinaptik plastisite, nörogenез, BDNF modülasyonu, glukokortikoid reseptörleri, strese yanıtın düzenlenmesi gibi depresyon patofizyolojisindeki bir çok mekanizma ile ilişkilidir⁷. Sıklıkla mRNA translasyonunu engellemekle birlikte mikroRNA' lar nadiren de olsa mRNA translasyonunu arttırarak da etki gösterebilirler⁸.

Geçmişte, MDB' de biyolojik belirteç tespit edilmesine dönük çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında uyku EEG' si ve deksametazon süpresyon testi gibi biyolojik belirteçler araştırılmıştır^{9,10}. Bu testlerle bazı olumlu sonuçlar alınmış olsa da gerek uygulanmalarının zor olması gerekse de maliyetli olmaları bu testlerin rutin klinik pratikte kullanımına engel teşkil etmektedir.

Oysa bu çalışmada kullanılan periferik tam kanı elde etmek nisbeten kolaydır. Öte yandan periferik kanda, prefrontal korteks ile benzer düzeyde eksprese olduğu bilinen genler mevcuttur. Daha önce yapılan çalışmalarda DISC1 (disrupted in schizophrenia 1), GRIN2A (glutamate Reseptor, İonotropic, N-methyl D-aspartate 2A), HTR2A (5-hydroxytryptamine receptor 2A), NRG1 (neuregulin 1), SLC1A2 (solute carrier family 1(glial high affinity glutamate transporter), member2), SCL6A4 (solute carrier family 6 (neurotransmitter, serotonin), member 4) gibi depresyon patofizyolojisinde rol oynayan birçok genin prefrontal korteks ve periferik kanda benzer düzeyde eksprese oldukları belirlenmiştir¹¹. Bu bağlamda bu genlerle ilişkili olabilecek bazı mikroRNA' ların periferik kanda tespit edilebilecek belirteçler olabileceğini düşünmekteyiz.

Biz bu çalışmamızda periferik kanda, MDB patofizyolojisinde önemli rol oynayan ve yukarda bahsetmiş olduğumuz gibi periferik kanda ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu bilinen genlerle alakalı, 372 adet mikroRNA' nın plazma konsantrasyonlarının MDB hastaları ve sağlıklı kişilerde farklı olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Major Depresif Bozukluk (MDB)

MDB Önemi

MDB toplumda yaklaşık %15 sıklığında görülmektedir¹². Aynı zamanda Dünya Sağlık Örgütü tarafından en fazla yeti yitimine neden olan hastalıklar arasında sayılmaktadır¹³. Bu kadar sık görülmesine rağmen hastaların çoğu yeterli dozda ve sürede tedavilere rağmen tam remisyona ulaşmamaktadır¹⁴. Yine kayda değer bir hasta popülasyonunda tedaviye direnç gelişmekte bu da yeti yitiminin artmasına neden olmaktadır¹⁵. Direnç gelişmesindeki önemli nedenlerden birisi MDB' nin yeterince tanınmaması ve buna bağlı olarak tedavi edilememesidir¹⁶.

MDB Patofizyolojisi

MDB genetik ve çevresel birçok etkenle ilişkili olarak ortaya çıkan bir bozukluktur. Bugüne kadar birçok çalışma yapılmış olsa da MDB' un patofizyolojisi net olarak anlaşılmış değildir¹⁷. MDB patofizyolojisinde beyin bölgelerinin önemini araştıran beyin görüntüleme çalışmalarında prefrontal ve singulat korteks, hipokampus, striatum, amigdala ve talamusta farklılıklar saptanmış olup bu farklılıklar^{18 19} MDB hastalarında yapılan otopsilerde de gösterilmiştir²⁰.

MDB nörobiyolojisinde bir diğer önemli unsur ise hipotalamik-pituiter-adrenal (HPA) aksıdır. Strese yanıt olarak artan kortikosteroid düzeyleri HPA aksında bozulmalara neden olmakta ve takiben hipokampal nöronlarda harabiyet ortaya çıkmaktadır. MDB hastalarının %50' sinde HPA anormallikleri bulunmakta ve bu anormallikler tedavi ile düzeltilmektedir²¹. İlk olarak nöronal gelişim sırasında büyüme ve farklılaşmadan sorumlu olduğu düşünülen nörotrofik faktörlerin şu anda yetişkin nöronlarının plastisitesi ve sağkalımında oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) gibi önemli nörotrofik faktörlerin azalmasına bağlı olarak hipokampal hipofonksiyonun geliştiği ve bu hipofonksiyonunda MDB ile sonuçlandığı

düşünülmektedir. Antidepresan tedavi ile beyindeki BDNF düzeylerinin normale dönmesi de bu hipotezi desteklemektedir²².

MDB ve Nöroplastisite

Nöroplastisite çevresel uyaranlar sonucunda beyindeki nöronların ve bu nöronların oluşturduğu sinapsların yapı ve işlevlerindeki değişime verilen isimdir. Nöroplastisite MDB gibi psikiyatrik hastalıkların ortaya çıkmasına neden olacağı gibi aynı zamanda bu hastalıkların düzelmesini de sağlayan mekanizmaları içermektedir³. Yapılan birçok çalışmada psikiyatrik hastalıklarda sinaptik plastisitenin bozulduğu ve antidepresan tedaviyi takiben bu bozulmanın geri dönebildiği gösterilmiştir^{23,4}. Akut ve tekrarlayan stress etkisiyle hipokampüste piramidal nöronlarda atrofi ve dentat girusta bulunan hücrelerin çoğalma yeteneğinin azalması söz konusudur⁵. Depresyon hastalarında yapılan görüntüleme çalışmalarında hipokampal ve subgenual prefrontal korteks volümünde azalma ve nöron ve glia sayısında düşüş bildirilmiştir^{24,25}.

MDB ve Prefrontal Korteks

Prefrontal korteks (PFK) duyuşal sistemler, limbik sistem ve subkortikal yapılardan gelen bilgileri toplayıp bütünleştirme, formüleştirme, denetleme, değişiklik yapma ve yargılama gibi işlevlere sahiptir. Dorsolateral PFK uyarana tepki olarak uygun motor etkinliğin başlamasını sağlarken orbito frontal korteks ise hareketlerin inhibisyonundan sorumludur. Orbitofrontal korteks aynı zamanda sosyal katılım davranışları, sosyal duygusal bilgileri inhibe etme ya da etkinlikte bulunma, karar vermeyi ve ödül sistemlerini düzenler²⁶. Yapılan çalışmalarda MDB' de PFK' da nöronal büyüklük ve glial hücre yoğunluğunda,²⁷ glukoz metabolizmasında²⁸, volumünde azalma olduğunu bildirmiştir.

Psikiyatride Biyolojik Belirteçler

Biyolojik Belirteç Nedir?

Biyolojik belirteç bireylerde tespit edilip ölçülebilen, hastalığın kendisini, sonuçlarını ve tedavinin etkilerini belirleme kapasitesine sahip ve sıklıkla biyolojik bir özelliği bulunan belirteçlerdir²⁹. Gen ekspresyon değişiklikleri, proteinler ve mikroRNA' lar gibi değişik biyolojik belirteç çalışmaları yapılmıştır.

Dünyada MDB' de hastalığı ve tedavi yanıtını değerlendirmeye yarayacak bir biyolojik belirteç henüz bulunmamıştır.

Psikiyatride Biyolojik Belirteç Çalışmaları

Psikiyatrik hastalıkların tanıları, sıklıkla hastaların subjektif hissedişlerine dayanmaktadır. Biyolojik belirteçler hastaların subjektif şikayetleri yerine bize daha objektif bir tanı, tedavi ve takip imkanı sunabilirler³⁰. Öte yandan biyolojik belirteç çalışmaları, psikiyatrik hastalıkların patofizyolojilerini anlama ve tedavi için yeni ilaçlar geliştirme konusunda da yön gösterebilirler. Son zamanlarda periferik kanda mRNA transkripsiyon ölçümlerini, beyindeki transkripsiyon düzeyleriyle ilişkilendiren çalışmalar ilgi uyandırmaktadır. Bu sayede periferik kan örneklerinin hastalığın tanısında ve prognoz takibinde kullanılabilmesi mümkün görünmektedir³¹.

MDB' de Biyolojik Belirteçler

MDB' de uyku EEG' si biyolojik belirteç olarak çalışılmıştır. Bu çalışmaları değerlendiren bir metaanalizde MDB tanısı olan bireylerin REM uyku yoğunluğunun arttığı ve yavaş uyku dalgasının ise kısaldığı tespit edilmiştir⁹.

Deksametazon baskılanma testi ile kortikotropin salıverici hormon testlerinin bir arada kullanımının, MDB' de biyolojik belirteç olup olmayacağına dönük çalışmalarda bu testlerin tedavi cevabını göstermede etkin oldukları gösterilmiştir¹⁰. Gerek uygulanmasının nispeten zor olması gerekse de maliyetinin yüksek olması, bu testlerin biyolojik belirteç olarak rutin kullanımında zorluklar teşkil etmektedir.

MDB' de bu güne kadar en çok çalışılmış biyolojik belirteçlerden birisi de BDNF' dir. Plazma BDNF düzeylerinin MDB hastalarında azaldığını ve antidepresan tedaviyi takiben sağlıklı kontrollerin düzeyine ulaştığını bildiren çalışmalar vardır³². Öte yandan interlökin 6, C-reaktif protein, TNF-alfa düzeylerinin depresif hastaların plazmalarında daha yüksek olduğu gösterilmiştir³³.

Ayrıca MDB' de, oksidatif stresin ve bunun antidepresan tedaviyle ilişkisinin araştıran çalışmalar yapılmış olup, oksidatif stresin tedavi yanıtının bir

prediktörü olabileceği ve tedavi etkinliğini izlemede yararlı olabileceği belirtilmiştir³⁴.

MDB’de Periferik Gen Ekspresyon Çalışmaları

MDB’ de gen ekspresyonları için çalışılacak en uygun doku örneği beyin olsa da ulaşılmasının ve çalışılmasının görece kolay olması periferik kanda yapılan çalışmaları önemli kılmaktadır³⁵. Periferik kan, içinde beyin dokusunun da bulunduğu dokuzdan fazla doku ile transkriptom düzeyinde %80 kadar benzerlik göstermektedir³⁶. Öte yandan kan ve prefrontal korteksteki birçok biyolojik sürecin birbiri ile kıyaslanabilecek ölçüde benzerliğe sahip olduğunu söylemek mümkündür¹¹. Bununla birlikte birçok sitokin reseptörünün hem SSS hem de lenfositlerde gösterilmiş olması ve MDB patofizyolojisinde önemli yer tutan glukokortikoid direncinin hem SSS hem de lenfositlerde belirlenmesi periferik dokuları incelemenek için değerli bir hale getirmiştir³⁷.

Kan-Prefrontal Korteks

79 adet insan dokusunda 33698 adet genin ekspresyon düzeylerini araştıran bir çalışmada MDB, şizofreni ve bipolar bozukluk gibi önemli psikiyatrik bozuklukların gelişiminde rol alan bazı genlerin periferik tam kan ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiştir. Bu genler arasında DISC1 (disrupted in schizophrenia 1), GRIN1 (glutamate Reseptor, İonotropic, N-methyl D-aspartate 1), HTR2A (5-hydroxytryptamine receptor 2A), NRG1 (neuregulin 1), SLC1A2 (solute carrier family 1(glial high affinity glutamate transporter), member2), SCL6A4 (solute carrier family 6 (neurotransmitter, serotonin), member 4) gibi genler mevcuttur¹¹.

MikroRNA’ lar

MikroRNA Tanımı ve Sentezi

MikroRNA’ lar protein kodlayan intron ve ekzon bölgeleri ile protein kodlamayan RNA genlerinden transkripsiyonu olan fakat protein translasyonu gerçekleşmeyen 18-24 nükleotit uzunluğunda fonksiyonel RNA ’lardır³⁸. İlk olarak 1993 yılında keşfedilmiştir³⁹. Öncelikle genomik DNA’ dan RNA polimeraz II tarafından primer mikroRNA’ ların sentezi gerçekleşir. Primer

mikroRNA 500-3000 baz uzunluğunda 3' şapka ve k' poli A kuyruğuna sahip bir yapıdadır⁴⁰. Oluşmuş olan primer mikroRNA çekirdekte bir RNAaz III çeşidi olan Drosha ve ona kofaktör olarak katılan Pasha aracılığıyla 70 nükleotid uzunluğundaki pre-mikroRNA' ya çevrilir⁴¹. Drosha ile Pasha'nın tarafından oluşturulan bu yapıya mikroşlemci denilir⁴².

Oluşan pre-miRNA çekirdekte bulunan bir taşıma reseptörü Exportin 5 ve bir protein olan RAN-GTP vasıtasıyla sitoplazmaya taşınır⁴³. Ardından pre-miRNA' lar Dicer adlı bir endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda ikili miRNA yapısına çevrilir⁴⁴. Dicer sayesinde aynı zamanda RNA' nın indüklediği susturma kompleksi (RNA induced silencing complex; RISC) de başlatılmış olur⁴⁵. Dicer' in pre-miRNA' nın sap ilmiğini kesmesini takiben ikili miRNA yapısından sadece bir tanesi RISC kompleksine dahil olur. Bu iki iplikten hangisinin dahil olacağını RISC kompleksinde bulunan bir RNAaz olan argonaute belirler. Bu iplik, kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılırken diğer iplik anti-kılavuz iplik olarak adlandırılır ve anti-kılavuz olarak adlandırılan bu iplik sindirilir. Bu şekilde miRNA' ların RISC kompleksine entegrasyonunu takiben ya mRNA' ların yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar⁴⁶.

Nörogenez ve MikroRNA' lar

Nörogenez ile öğrenmenin ilişkisini gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Subventriküler bölgedeki nörogenezin olfaktör öğrenme⁴⁷ hipokampal nörogenezin ise hafıza ve uzamsal öğrenme ile ilgili olduğu gösterilmiştir⁴⁸. Stres ve MDB' nin ise, hipokampal nörogenezi azalttıkları bilinmektedir⁴⁹. Özellikle mir-133b' nin dopaminerjik nöronların gelişimi için önemli bir role sahip olduklarının saptanması, mitoz sonrası nöronlarda Dicer ekspresyonun gösterilmiş olması ve Dicer ekspresyonu olmayan nöronların ölmesi nedeniyle mikroRNA' ların sadece nöron gelişiminde rol almadıkları aynı zamanda nöronal fenotipin sürdürümünde de önemli olduklarını anlamamızı sağlamıştır^{50 51}.

Sinaptik Plastisite ve MikroRNA' lar

Sinapslardaki protein sentezinin kontrolü, öğrenme ve dendrit morfolojisi için oldukça önemlidir⁵². MikroRNA' lar, mRNA translasyonu ve stabilitesine

etki ederek sinaptik plastisite üzerinde etkili olmaktadır⁵³. MikroRNA' ların bu işlevi ile ilgili bilgiler FMR1 proteininin dendritik uçlardaki protein sentezini düzenleyici etkisi ile olmakta ve FMR1 protein kaybı birçok davranış üzerinde, öğrenmede, dendritik uçlarda ve long term potansiyalizasyonda yetersizlikle sonuçlanacaktır⁵⁴. Mir-134' ün hipokampüsün sinaptodendritik alanında yerleşmiş olduğu ve bu etkisini lim kinaz yolağı üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Öte yandan nöronların BDNF ile karşılaşmasının mir-134 seviyesini azaltarak dendritik çıkıntılarının büyümesini sağladığı gösterilmiştir^{55,56}. Benzer şekilde mir-138'in de hipokampal dendritik çıkıntılarının büyüklüğünü kontrol ettikleri belirlenmiştir⁵⁷. Gen ekspresyonunda uzun dönem değişikliklerin oluşmasını sağlayan CREB proteini de 200' den fazla mikroRNA' nın hedefidir⁵⁸. Örnek olarak ise BDNF üzerinden etki ederek nörit büyümesi ve dendritik morfolojisi üzerinde etkili olan mir-132 gösterilebilir⁵⁹.

MDB ve MikroRNA' lar

MikroRNA' lar ve Glukokortikoid Reseptörleri

Kortikosteroidlerin MDB patofizyolojisindeki önemine daha önce değinmiştik. Bu bölümde ise mikroRNA' ların kortikosteroid reseptörleriyle olan ilişkisine değineceğiz. Uchida ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada tekrarlayan strese maruz bırakılan F344 ratlarının paraventriküler nükleuslarında glukokortikoid reseptör seviyelerinin azalmış, mir-18a seviyelerinin ise yükselmiş olduğunu bulmuşlardır ki bu da bize artmış mir-18a düzeyinin glukokortikoid reseptör düzeyindeki azalmayla ilişkili olduğunu düşündürmektedir⁶⁰. Birçok mikroRNA' nın glukokortikoid reseptör seviyeleriyle ilişkisini değerlendiren başka bir çalışmada ise mir-124a ve mir-18a glukokortikoid reseptör proteinlerinin düzeyini azaltabildikleri gösterilmiştir⁶¹. Yapılan bu çalışmaların ışığında MDB patofizyolojisinde yer tutan glukokortikoid reseptörlerinin ekspresyonu üzerinde mikroRNA' ların önemli yer tuttıkları söylenebilir.

Stres Yanıtı ve MikroRNA' lar

Tekrarlayan stres, plastisite ile ilişkili nöronal süreçleri değerlendirme ve bunların duygudurum bozukluklarındaki yerini belirleme açısından en sık

kullanılan hayvan modellerindedir. Bu modellerle yapılan bir çalışmada farelerin frontal kortekslerince akut stresi takiben belli mikroRNA' ların arttığı bulunmuştur⁶². Beynin farklı bölgelerinde yapılan stres modellerine dayalı bir çalışmanın sonuçları ise kronik stresin, akut strese göre daha fazla sayıda mikroRNA düzeyinde değişikliğe yol açtığını, aynı zamanda bazı mikroRNA düzeylerinin hem hipokampus hem de amigdalada değişiklik gösterdiği saptanırken, bazı mikroRNA düzeylerinin ise belli beyin bölgelerine spesifik olabileceği öne sürülmüştür⁶³.

Periferik Kanda MikroRNA Çalışmaları

Bugüne kadar periferik kanda mikroRNA düzeylerini araştıran az sayıda çalışma yapılmıştır. Bipolar bozukluk ve şizofrenide serum mikroRNA düzeyleri araştırılmış olmasına rağmen MDB' de henüz yapılmış bir çalışma yoktur.

Manik dönemdeki hastaların serum mir-134 düzeylerinin tedavi öncesi ve sonrasında ve sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığı bir çalışmada hastaların tedavi öncesinde sağlıklı gönüllülere göre mir-134 düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğu, 4 haftalık tedavi sonunda mir-134 düzeylerinde anlamlı yükselme sağlandığı ve tedavi sonrası elde edilen mir-134 düzeylerinin sağlıklı gönüllülerle istatistiki olarak farklı olmadığı bulunmuştur⁶⁴ 115 tane şizofreni hastasının 40 tane sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada ise miR-181b, miR-219-2-3p, miR-346, miR-195, miR-1308, miR-92a, miR-17, miR-103 ve let-7g düzeylerinin şizofrenide hastalığın durumunu gösterebileceğini ve biyolojik belirteç adayı olabileceklerini göstermiştir⁶⁵.

2.3.4.3.1. Mir 134

Mir 134, beyin spesifik bir mikroRNA olup, sinaptik gelişimde ve plastisitede önemli bir role sahiptir ve hipokampal bölgede yoğun biçimde bulunmaktadır. Mir 134, aynı zamanda Lim kinaz 1 işlevini baskılayarak etki etmektedir⁵⁶. Daha önce bipolar bozuklukta yapılmış olan bir çalışmada periferik kanda bir belirteç olabileceği belirtilmiştir⁶⁴.

Mir 195

Mir 195 MDB' de önemi sıklıkla gösterilmiş olan BDNF ile ilişkilidir. Daha önce yapılan çalışmalarda mir195' in prefrontal kortekste BDNF ekspresyonu üzerinde düzenleyici rolü olduğu gösterilmiştir. Periferik kanda yapılan bir çalışmada şizofreni hastalarında bir belirteç olabileceği belirtilmiştir⁶⁵. Mir 195 aynı zamanda periferik kanda ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş olan HTR2A, SLC6A4, GRIN1 ve SLC1A2 genleri ile ilişkilidir¹¹.

Mir 183, Let-7a, Let-7b

Mir 183, let-7a, let-7b sinaptik plastisite ve kolinerjik nörotransmisyon üzerinde etkili bulunmuştur. Bununla birlikte Akut ve kronik stres modelinin bir arada kullanıldığı bir çalışmada mir 183' ün SC35 üzerinden etkili olduğu bununla birlikte amigdalada hem akut hem de kronik stres dönemlerinde upregüle let-7a, let-7b' nin ise aynı alanlarda down regüle olduğu olduğu gösterilmiştir. Bu da bize mir 183, let-7a ve let-7b' nin stresörle tetiklenen depresyonların bir belirteci olabileceğini düşündürmektedir⁶³. Mir 183 aynı zamanda periferik kanda ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş olan NRG1 ve SLC1A2 genleriyle de ilişkilidir¹¹.

Mir15a

Mir15 ailesi ile ilgili veritabanlarında yapılan araştırmalar sonucu bu mikroRNA' nın nöronal bağlantılarda, sinaptik plastisitede ve akson ilerlemesinde önemli rollere sahip oldukları ayrıca epidermal büyüme faktörü reseptör ailesi, mitojenle aktive edilmiş protein kinaz yolağı ile ilişkili oldukları saptanmıştır⁶⁶. Mir15a aynı zamanda periferik kanda ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş olan GRIN1, HTR2A, SLC1A2 ve SLC6A4 ile ilişkilidir¹¹.

Mir103a

Daha önce bir şizofreni çalışmasında mir103 seviyeleri hasta grubu ile sağlıklı kontroller arasında farklı bulunmamış olsa da⁶⁵, bu mikroRNA DISC1, SLC6A4, SLC17A7 ve SLC1A2 gibi hem prefrontal korteks hem de periferik

kanda benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş birçok genle ilişkilidir¹¹. Bundan dolayı periferik bir belirteç olup olmadığını çalışmaya değer bulduk.

Mir16

Daha önce yapılan çalışmalarda mir16' nın, serotonin taşıyıcısını hedef aldığı gösterilmiştir⁶⁷. Serotonerjik yolda rolü ve antidepresan cevabı ile ilişkili olduğunun gösterilmiş olmasıyla birlikte mir16'nın periferik kanda ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş olan SLC6A4 ile ilişkili olması belirteç olarak araştırmamızı sağlamıştır¹¹.

Mir320a

GRIN2A geninin MDB hastaları ve suicidal hastalarda kontrol grubuna upregüle olduğu gösterilmiştir⁶⁸. Bununla birlikte DISC1 geninin şizofreni ve bipolar bozuklukta olduğu gibi MDB'de de önemli yeri olduğuna dair genetik ilişkilendirme çalışmaları yapılmıştır⁶⁹. Mir320a periferik kanda ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş olan bu iki genle ilişkilidir⁷⁰.

Mir451

O'Connor ve arkadaşları, ratlarda yaptıkları ve ketamin, fluoksetin ve elektrokonvulzif tedavinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ketamin uygulanması ile mir 451 düzeylerinde anlamlı ölçüde azalma olduğu gösterilmiş, bunun da MDB patofizyolojisini anlamada bize yol gösterebileceğini belirtmişlerdir⁷¹. Mir 451, aynı zamanda daha önce prefrontal korteks ve periferik kanda benzer düzeyde eksprese olduğu gösterilmiş olan SLC17A7 ve GRIN2A genleriyle ilişkilidir^{11,72}.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışma öncesinde Mersin Klinik Araştırmalar Etik Kurul Komitesi'nden, etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Psikiyatri Anabilim Dalı Polikliniği'ne 2013 yılında başvuran klinik görüşme ve psikometrik testlerin uygulanması neticesinde DSM-IV-TR tanı ölçütlerine göre, MDB tanısı almış kişiler ile sağlıklı bireyler alınmıştır.

MikroRNA düzeyleri yaş, cinsiyet, daha önce psikiyatrik ya da psikiyatrik olmayan ilaç kullanımı, alkol-madde kötüye kullanımı, diyet, sigara kullanımı, kullanılmakta olan ilaçlar, egzersiz sıklığı, gün içinde kanın alınma zamanı gibi birçok faktörden etkilenebilmektedir. Sözü edilen faktörleri kontrol edebilmek için akut-kronik tıbbi hastalığı olanlar, son 1 ayda herhangi bir şekilde ilaç kullanmış olanlar, hemogram, tiroid fonksiyon testleri (TFT), folik asit, B12 düzeyi normal sınırların dışında olanlar, geçmişte psikiyatrik ilaç kullanım öyküsü olanlar, psikotik, melankolik, atipik ya da mevsimsel özellikte depresyonu olanlar, MDB tanısı ile birlikte belirgin psikiyatrik komorbiditesi olanlar dahil edilmemiştir.

Çalışmaya katılan gönüllülerin tamamı biyopsikososyal bilgi alma formu, SCID-I testi, Ham-D ölçeği ve MADRAS ölçeği ile değerlendirilmiştir. SCID-I testi sonucuna göre MDB tanısı alan Ham-D ölçek skoru 17' nin üstünde olanlar ile MADRAS skoru 20' nin üstünde olan hastalar ve kontrol grubu olarak SCID-I testinde herhangi bir psikopatoloji saptanmayan Ham-D skoru 7' nin altında MADRAS skoru 6' nın altında olan sağlıklı gönüllüler çalışmaya dahil edilmiştir.

Ham-D ölçeği, depresyonun anksiyöz ve somatik semptomlarına dönük maddeler içermekte iken MADRAS ölçeği daha çok depresyonun çekirdek semptomlarına odaklanmış bir ölçektir. Hastaların depresif durumlarının her iki ölçek ile de tespit edilmiş olması hem tanısal açıdan güvenilirliği arttıracak hem de hasta grubunun fenotiplemesinde yararlı olacaktır. Ayrıca daha özgül bir fenotipleme yapabilmek için psikotik, melankolik, atipik ya da mevsimsel özellik gösteren depresyon hastaları dışlanmış olup Ham-D skoru 17' nin üstünde MADRAS skoru 20 üstünde olanlar çalışmaya dahil edilmiştir.

Ölçüm Araçları

Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği (HAM-D)

Hastada depresyonun düzeyini ve şiddet değişimini ölçer. Tedavi sırasında izlemi kolaylaştırır. Tanı koydurmaz. Klinisyen tarafından uygulanır. Depresif belirtileri olan kişilere uygulanır. 17 soru içerir. Materyal bir yanıt formuna işaretleme yapılarak toplanır. Sorular yapılandırılmıştır, ancak ek soru mümkündür. Ölçek depresyonun daha çok uyku-iştah-bedensel şikayetler gibi somatik öğelerine dönük hazırlanmıştır . Puanlama kısmı aydınlatıcıdır. 0 ile 4 arasında puanlar almak söz konusudur, en yüksek 51 puan alınır. 7 puanın altı sağlıklı olarak kabul edilirken 17 puanın üstü orta şiddette depresyon olarak değerlendirilir.

Montgomery-Asberg Depresyon Derecelendirme Ölçeği (MADRAS)

Hastada depresyonun cıekirdek belirtilerinin düzeyini ve şiddet değişimini ölçer. Ölçek görüşmeci tarafından değerlendirilir. Depresif belirtileri olan hastaların aynı zamanda bedensel hastalıklarının da olduğu koşullarda uygulanır. Tedavi çalışmalarında değişimi, Hamilton Depresyon Değerlendirme Ölçeği' ne göre daha hassas olarak ölçer. Toplam 10 maddeden oluşmaktadır. Ölçeği geliştirenler tarafından belirlenmiş şiddet basamaklarında (0-2-4-6) ya da bu basamakların arasında (1-3-5) derecelendirilme yapılır. Ölçeğin en başında, maddelerin değerlendirilmesine yönelik olarak yönerge bulunmaktadır. Görüşme sırasında, her hasta için ölçeğin üzerinde ya da sadece 1' den 10' a maddelerin sıralandığı derecelendirme basamaklarını içeren bir puanlama cetveli üzerinde işaretleme yapılabilir. Her maddeden alınan puan 0-6 arasında belirlenir. Değerlendirilen belirtinin şiddeti arttıkça, maddeden alınan puan da artar, ölçekten alınan en düşük puan 0, en yüksek puan ise 60'dır.

Ölçeğin psikiyatrist yanısıra, pratisyen hekim, psikiyatri hemşiresi ve psikologlar ile birlikte yapılan değerlendirmelerde, görüşmeciler arası güvenirliliği yüksek bulunmuş ve bu nedenle psikiyatristler tarafından olduğu gibi diğer ruh sağlığı çalışanları ve pratisyen hekimler tarafından da kullanılabilceği öne sürülmüştür.

MikroRNA Analizi

miRNA Analizi İçin Plazma Eldesi

Kan örnekleri 5 ml'lik % 7.5 EDTA lı tüplere alındı. Alındıktan sonra en az 5 kez yavaşça alt-üst edilerek karıştırıldı ve alınan kan örnekleri oda sıcaklığında yaklaşık 2 saat içinde laboratuvara ulaştırıldı ve plazmaları ayrıldı.

1. Tüpler 4000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi (santrifüj de fren seçeneği varsa kapatılmalı, santrifüj kendi kendine ve yavaş yavaş durmalıdır).
2. Santrifüj işlemi sonunda tüpler dikkatlice santrifüjden çıkartılarak sarsmadan açıldı.
3. Plazmanın en üst kısmından 200 µl lik pipetlerle 5 kez toplam 1000 µl olacak şekilde örnekle toplandı.
4. Toplanan bu örnek 13000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve plazmanın en üst kısmından 200 µl lik kısım temiz bir eppendorf tüpüne konuldu. Bu işlem, alttaki hücresel kısım etkilenmeden pipet ile (DNase, RNase Free, filtreli pipet uçları kullanılarak) yapıldı. Aynı işlem diğer bir eppendorf tüpü için yapıldı (200 µl lik 2 örnek).
5. Eppendorf tüpleri hastanın barkod etiketi ile etiketlendi.
6. Ayrılan plazma örnekleri -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

MikroRNA izolasyonu

miRNA'lar plazmadan miRNA izolasyon kiti (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) kullanılarak izole edildi. Elde edilen total RNA -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

cDNA eldesi

İzole edilen miRNA'lar Reverse Transcription kiti (Fluidigm, USA) kullanılarak cDNA'ya dönüştürüldü, sonrasında analiz gününe kadar -20°C'de saklandı.

Dynamic Array 96.96'nın Hazırlanması miRNA analizi

cDNA'lar Dynamic Arrayler üzerinde 372 miRNA için Yüksek kapasiteli Real-Time PCR sistemi (Fluidigm, Biomark, USA) ile analiz edildi.

Dynamic Array 96.96'nın Hazırlanması

Dynamic Array 96.96 paketi açıldı. Üst ve alt kısımlarında bulunan küçük hücrelere enjektörlerde yer alan Control Fluid'lar yüklendi (her hücreye 1 enjektör). Dynamic Array 96.96'yı IFC Controller'a koyuldu ve sonrasında PRIME edildi. Bu işlem 20 dakika kadar sürerken, bu sırada aşağıdaki hazırlık yapıldı.

Örnek ve PCR Karışımının Hazırlanması

1. 96 örnek için (95 cDNA örneği+1 Negatif kontrol) aşağıdaki karışım hazırlandı (aşağıdaki rakamlarda ölü hacimler hesaplanmıştır).

TaqMan Universal PCR Master Mix (No AmpErase UNG)
490.00 µl

GE Sample Loading Reagent (Fluidigm, PN 85000746)

49.00 µl

Toplam:

539.00 µl

2. 8'li strip tüp alındı (0.2 ml) her bir kuyucuğuna yukarıdaki karışımdan 65 µl pipetlendi.

3. Temiz bir 96 kuyuluk plate alınarak yukarıdaki karışımdan 3.85 µl her bir kuyucuğa pipetlendi. Daha sonra 8 kanallı pipet ile 3.15 µl dilüe preamplifiye cDNA'lar alınarak karışım üzerine pipetlendi. 5-6 kez pipet kullanıldı ve karışım ile örnekler homojen bir şekilde karıştırıldı.

4. Bütün örnekler bu şekilde pipetlenip ve karıştırıldıktan sonra Master mix+diluted PreAmplified cDNA'nın her birinden 5 µl

alınarak dikkatlice Dynamic Array 96.96 da SAMPLE şeklinde işaretli bölüme pipetlendi.

ASSAY Karışımının Hazırlanması

1. Çalışmaya başlamadan önce A ve B Assay plateleri, 30 µl DNase, RNase free su ve Assay Loading Reagent ile 1:1 tekabül edecek şekilde çözüldü.
2. Assaylerden 4.5 µl alınarak Dynamic Array 96.96 da ASSAY şeklinde işaretli bölüme pipetlendi.
3. Assay plate'i eğer aynı gün içinde kullanılacaksa +4°C de diğer durumlarda -20°C ye kaldırıldı.
4. Dynamic Array 96.96 IFC Controller'a konuldu ve sonrasında LOAD programı çalıştırıldı.

miRNA TaqMan Dynamic Array Protocol

1. Load ve Mix işlemlerinin bitimini takiben BioMark Data Collection software de Start a New Run a tıklandı. Bu arada BioMark' ta yer alan ışıkların ikisinde yeşil olmasına özen gösterildi (Lambanın açılmış ve hazır olduğunu gösterir). Dynamic Array 96.96 BioMark'a koyularak Load tuşuna tıklandı.

2. Chip Run File ekranında ise "This is a new chip run" a tıklandı. Dosyayı nereye kaydedeceğimiz ve dosyanın isminin ne olacağı seçilerek Next tuşuna tıklandı.

3. Application, Reference and Probes ekranında Application bölümünde Gene Expression u, Passive Reference bölümünde ROX a ve Assay bölümünde ise Single Probe a tıklandı ve aşağıda açılan kısımdan FAM - MGB i seçildi ve Next tuşuna tıklandı.

4. Protokol olarak GE 96.96 Standart V1 thermal protokolü seçildi ve Auto Exposure un seçili olduğundan emin olunarak Next tuşuna tıklandı.

5. Start Run tuşuna tıklayarak çalışma başlatıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda 50 hasta, 41 kontrol grubu olarak 91 katılımcının 372 adet mikroRNA sonuçları elde edildi ve elde ettiğimiz sonuçlarda yeterince eksprese olan 7 miRNA için istatistiksel analiz yapılmıştır.

İstatistiksel analizlerde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 11.5 (SPSS for Windows, Chicago, IL, USA) ve MedCalc®v11.0.1 paket programları kullanıldı. İstatistik açıdan anlamlı p değeri 0.05' in altı olarak kabul edilmiştir. Parametrelerin normal dağılıma uygunluk kontrolleri Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren gruplarda belirlenen sürekli yapıdaki değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen gruplardaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ise medyan ve yüzdelik değerleri olarak belirtilmiştir. Kategorik yapıdaki değişkenler sayı ve yüzde değerler olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler açısından gruplar arasında ortalama farklılıkların değerlendirmesinde normal dağılım gösterenlerde Student-t testi kullanılmışken, normal dağılım göstermeyenlerde Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler açısından gruplar arasındaki ilişkiler ki kare testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Örneklem grubu 51 MDB hastası ve 41 sağlıklı kontrol olmak üzere iki gruptan oluşuyordu. Çalışmaya katılan gönüllülerin yaş ortalamaları Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1: Çalışmaya katılanların yaş ortalamaları

	hasta		kontrol		
	ort	s.sapma	ort	s.sapma	p
yaş	36.94	11.18	36.20	8.54	0.725

Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımı Tablo 2' de gösterilmiştir.

Tablo 2: Çalışmaya katılanların cinsiyet dağılımları

		hasta		kontrol		
		n	%	n	%	p
Cinsiyet	Kadın	35	68.6	27	65.9	0.778
	Erkek	16	31.4	14	34.1	

Hasta ve kontrol grubunun eğitim durumları Tablo 3' te gösterilmiştir.

Tablo 3: Çalışmaya katılanların eğitim durumları

Eğitim durumu	hasta		kontrol		p
	n	%	n	%	
İlkokul	15	33.3	5	12.2	0.000
Ortaokul	8	15.7	1	2.4	
Lise	14	27.5	9	22.0	
Üniversite	12	23.5	26	63.4	

Tablo 4' te hasta ve kontrol grubunun medeni durumları belirtilmiştir.

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunun medeni durumları

Medeni hali	hasta		kontrol		p
	n	%	n	%	
Evli	29	56.9	28	68.3	0.005
Bekar	12	23.5	13	31.7	
Boşanmış	6	11.8	0	0	
Dul	4	7.8	0	0	

Tablo 5 hasta ve kontrol grubunun gelir düzeyi açısından dağılımını göstermektedir.

Tablo 5: Hasta-kontrol grubunun gelir düzeyi karşılaştırılması

Gelir düzeyi	hasta		kontrol		p
	n	%	n	%	
0-850 TL	21	41.2	6	14.6	0.001
850-2000 TL	22	43.1	14	34.1	
2000-5000 TL	6	11.8	17	41.5	
5000 TL üstü	2	3.9	4	9.8	

51 hastadan 6 tanesinin daha önceden suisid girişimi öyküsü mevcuttu. Öte yandan hasta grubunda 22 kişi ile kontrol grubundan 12 kişi olmak üzere 92 gönüllüden 34' ü (%37) sigara kullanmaktaydı. Hasta grubundan 2 kontrol grubundan 2 kişi olmak üzere toplam 4 (%4.3) kişi haftalık düzenli alkol kullanıyordu. 51 hastadan 35 kişinin daha önce geçirilmiş depresif epizodu mevcuttu.

Hasta ve kontrol grubunun HAM-D ve MADRAS skorları istatistiki olarak belirgin biçimde birbirinden farklıydı. Sonuçlar tablo 6 ve tablo 7' de gösterilmiştir.

Tablo 6 : Hasta ve kontrol grubunun HAM-D skorları karşılaştırılması

	hasta		kontrol		
	medyan	Q1-Q3	medyan	Q1-Q3	p
HAM-D	19	17-22	2	1-4	<0.001

Tablo 7 : Hasta ve kontrol grubunun MADRAS skorları karşılaştırılması

	hasta		kontrol		
	ort	s.sapma	ort	s.sapma	p
MADRAS	28	5.05	3.15	1.81	<0.001

Çalışılan 372 adet mikroRNA' dan 8 adet mikroRNA hem hasta hem de kontrol grubunda yeterli sayıda kişide ekprese olmuş ve istatistiki analizleri yapılmıştır. Yapılan istatistiki analizler sonucunda MDB tanısı alan hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda, mir320a ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış, mir451a, mir17-5p ve mir223-3p istatistiki olarak anlamlı düzeyde artmış olarak tespit edildi. Tablo 8' de detaylı bilgiye ulaşılabilir.

Tablo 8: Hasta ve kontrol grubunda mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta		kontrol		p
	medyan	Q1-Q3	medyan	Q1-Q3	
Mir320a	0.39	0.13-0.56	0.75	0.35-1.65	0.001
Mir451a	2.08	1.70-2.66	1.08	0.62-1.35	0.000
Mir17-5p	1.43	0.92-2.53	0.91	0.48-1.04	0.002
Mir223-3p	1.30	0.90-2.40	0.81	0.36-1.78	0.006
Mir25-3p	1.25	0.61-1.91	1.30	0.16-1.96	0.703
Mir126.3	1.23	0.84-1.72	1.18	0.53-1.39	0.145
Mir16-5p	1.05	0.86-1.38	0.88	0.50-1.45	0.95
Mir93-5p	1.12	0.81-1.65	0.87	0.40-1.41	0.108

Çalışmamıza katılmış olan (hasta ve kontrol grubundan) ve sigara kullanan 34 kişi ile sigara kullanmayan 58 kişinin mikroRNA düzeyleri arasında istatistiki olarak bir farklılık tespit edilemedi (Tablo 9).

Tablo 9: Sigara içenler ile içmeyenlerin mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması

	Sigara içen (n=34)		Sigara içmeyen (n=58)		p
	medyan	Q1-Q3	medyan	Q1-Q3	
Mir320a	0.50	0.30-0.90	0.46	0.12-0.84	0.664
Mir451a	1.98	1.16-2.60	1.35	0.90-2.13	0.071
Mir17-5p	1.40	0.90-2.46	1.17	0.60-1.93	0.128
Mir223-3p	0.96	0.46-1.52	1.26	0.63-2.57	0.097
Mir25-3p	1.34	0.57-2.30	1.20	0.33-1.86	0.218
Mir126.3a	1.17	0.80-1.57	1.23	0.80-1.66	0.591
Mir16-5p	1.1	0.81-1.42	1.00	0.38-1.37	0.409
Mir93-5p	1.2	0.82-1.71	0.97	0.47-1.46	0.137

51 hastadan daha önce depresif epizod geçirmiş olan 35 hasta ile kontrol grubu karşılaştırıldığında mir320a düzeyleri istatistiki olarak anlamlı düzeyde

azalmış, mir451a, mir17-5p, mir222-3p düzeyleri ise istatistiki olarak anlamlı düzeyde artmış bulundu (tablo 10).

Tablo 10: Geçirilmiş depresif epizodu olan hastalarla kontrol grubunun mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması

	Geçirilmiş epizod (n=35)		Kontrol grubu (n=41)		p
	medyan	Q1-Q3	medyan	Q1-Q3	
Mir320a	0.45	0.28- 0.58	0.75	0.34- 1.65	0.007
Mir451a	1.91	1.67- 2.36	1.08	0.63- 1.35	0.000
Mir17-5p	1.60	0.93- 2.53	0.91	0.48- 1.40	0.001
Mir223- 3p	1.33	0.81- 2.07	0.81	0.36- 1.78	0.022
Mir25-3p	1.20	0.44- 1.60	1.30	0.16- 1.96	0.827
Mir126.3p	1.23	0.84- 1.71	1.23	0.53- 1.40	0.191
Mir16-5p	1.05	0.85- 1.40	1.17	0.53- 1.40	0.155
Mir93-5p	1.12	0.54- 1.65	0.87	0.40- 1.41	0.301

TARTIŞMA

MDB, ruhsal hastalıklar içerisinde en sık görülen ve prevalansı %5-19 arasında olduğu bilinen bir hastalıktır⁷³. MDB patofizyolojisinde genetik ve çevresel olmak üzere birçok faktör rol oynamaktadır¹⁷. MDB' de hem görüntüleme çalışmalarında hem de otopsi çalışmalarında prefrontal korteks, singulat korteks, hipokampus, striatum ve amigdala gibi bölgelerde farklılıklar olduğu gösterilmiştir^{18,19}. Öte yandan MDB' de sinaptik plastisitenin bozulmasının önemli olduğu ve antidepresan tedaviyi takiben sinaptik plastisitenin düzelebildiği gösterilmiştir²³. Tekrarlayan stres etkisiyle hipokampal atrofi gelişmektedir ve yapılan görüntüleme çalışmalarında da hipokampüste ve subgenual prefrontal kortekste atrofi, nöron ve glia sayısında da düşüş bildirilmiştir^{5,24,25}.

Psikiyatride biyolojik belirteç araştırmaları oldukça ilgi çeken bir konudur. Yapılan çalışmalarda polisomnografik çalışmalar, deksametazon süpresyon testi gibi testler nispeten olumlu sonuçlar vermiş olsa da gerek uygulanmasının zahmetli olması gerekse de maliyetlerinin yüksek olması açısından uygulanabilirliği düşük yöntemlerdir^{9,10}. İnflamatuar belirteçlerle tedavi cevabını araştıran çalışmalar yapılmış fakat belirgin bir belirteç saptanamamıştır⁷⁴.

MikroRNA' lar 16-22 nükleotid uzunluğunda olup sıklıkla mRNA' ların protein translasyonunu engelleyerek etki göstermektedirler⁶. MikroRNA' lar sinaptik plastisite, nörogenez gibi nörogelişimsel süreçlerde oldukça önemli fonksiyonlara sahiptir^{47,48,52}.

Sinaptik plastisite ve nörogenez gibi önemli süreçlerde rol alan bu küçük ama işlevsel yapıların biyolojik bir belirteç olarak araştırılmasına dönük çalışmalar yeni değildir. Daha önceki çalışmalarda miyokard infarktüsü, karaciğer zedelenmesi ve kanser gibi birçok hastalıkta mikroRNA' lar biyolojik belirteç olarak araştırılmıştır⁷⁵⁻⁷⁷. Kanser ve miyokard infarktüsü gibi alanlarda birçok çalışma olmasına rağmen psikiyatride periferik kanda mikroRNA düzeylerini bir belirteç olarak araştıran çalışma sayısı, şu ana kadar bir elin parmaklarını geçmemektedir.

Rong ve arkadaşları, sinaptik plastisitede ve BDNF ile ilişkili

nörogenezde önemli role sahip olan mir134 ile yaptıkları çalışmada, bipolar manik dönemdeki hastaların kanlarını almışlar, ve bu işlemi 2 ve 4 hafta sonra tekrarlamışlardır. Kan alımı sırasında herhangi bir ilaç kullanmayan hastaların tedavi başlanmasından 4 hafta sonra alınan kanları ile manik dönemde alınan kanları karşılaştırıldığında mir134 düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığı ve bu artışın manik semptom şiddetindeki azalma ile paralel olduğu saptanmıştır⁶⁴.

Psikiyatrinin en fazla iş gücü kaybına neden olan hastalıklarından birisi olan şizofreni hastalarında ise periferik mikroRNA düzeylerini biyolojik belirteç olarak araştıran 2 adet çalışma yapılmıştır. 115 hasta ile 40 tane sağlıklı kişinin karşılaştırıldığı çalışmada mir181b, mir219-2-3p, mir195, mir1308, ve let7g' nin hastalığın durumunu gösterme konusunda önemli oldukları saptanmış ve biyolojik belirteç adayları olabilecekleri belirtilmiştir. Mir346, mir92a, mir17 ve mir103'ün ise istatistiki olarak farklı olsa da biyolojik belirteç olarak değerlendirilmesi yönünde yeterli kanıt saptanmamıştır⁶⁵. Şizofreni hastalarında elektrofizyolojik ve nörokognitif incelemeyi birlikte değerlendiren bir araştırmada ise 30 hasta ve 30 kontrol grubunun periferik mononükleer lökositlerinde 221 adet mikroRNA' nın eksprese olduğu saptanmış ve bu 221 mikroRNA' dan 7 tanesinin ekspresyon düzeyi hasta ve kontrol grubunda farklı bulunmuştur. Bu mikroRNA' lar mir34a, mir449a, mir564, mir432, mir548d, mir572 ve mir652 olarak sıralanmıştır⁷⁸. Periferik kanda yapılmış bu çalışmalarla birlikte gerek hayvan modellerinde gerekse de otopsi çalışmalarında serebral mikroRNA düzeylerinin önemli olduğuna dair birçok çalışma mevcuttur^{7,63,67,79}. Sullivan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 79 adet insan dokusunda 33698 adet genin ekspresyon düzeyi karşılaştırılmış ve bu genler içerisinde GRIN2A, DISC1 ve NRG1 ile birlikte 21 adet genin periferik kan ve prefrontal kortekste benzer düzeyde eksprese oldukları gösterilmiştir¹¹.

Biz bu çalışmamızda yukarıda belirtmiş olduğumuz literatür bilgileri ışığında, MDB' de periferik mikroRNA düzeylerinin biyolojik bir belirteç olup olamayacağını araştırmayı amaçladık. Hipotezimizi prefrontal korteks ve periferik kanda benzer düzeyde eksprese olduğu belirlenmiş olan genlerle ilişkili mikroRNA' ların bize hem prefrontal kortekste hastalık ile ilişkili süreçleri göstermede faydalı olabileceği hem de MDB' de biyolojik bir belirteç olabileceği üzerinde kurduk.

Çalışmamızda MDB tanılı hastalarda mir320a düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmış olarak tespit ettik. Veritabanlarında yaptığımız araştırmalarda ise mir320a' nın hipotezimizle uyumlu olan genlerden GRIN2A ve DISC1 ile ilişkili olduğunun öngörüldüğünü bulduk⁷⁰. Sequeira ve arkadaşları MDB atağı sırasında suisid girişimi sonucu ölen 16 kişi, psikiyatrik bir hastalığı olmayıp suisid sonucu ölen 10 kişi ve psikiyatrik açıdan normal olan 10 kişinin beyin dokularından yaptıkları diseksiyonlarda frontal korteksin bir bölümüne denk gelen brodmann 46. alanda GRIN2A' yı da içeren glutamaterjik nörotransmisyonla ilişkili genlerin up regüle olduğunu tespit etmişlerdir⁶⁸. Rustay ve arkadaşlarının farelerde yapmış olduğu bir başka çalışmada ise GRIN2A geninin "knock-out modeli"yle baskılanmasının antidepresan etkinlikle ilişkili olduğu gösterilmiştir⁸⁰. Mevcut literatür bilgileri prefrontal kortekste GRIN2A up-regülasyonunun MDB ile, "knock out modeli"nin ise antidepresan etki ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda periferik kanda down-regüle olarak saptadığımız mir320a' nın, GRIN2A' nın up regülasyonu ile ilişkili olduğunun öngörüldüğü düşünüldüğünde, bu bulgunun bize MDB hastalarının prefrontal kortekslerinde cereyan eden süreçleri periferik kan numuneleri ile anlama açısından oldukça faydalı olabileceğini ve kolaylık sağlayabileceğini söylemek mümkündür. Biz çalışmamızda her ne kadar klinik açıdan mümkün olduğunca homojen bir grup oluşturmayı amaçlamış olsak da sonraki çalışmalarda kognitif testlerle sağlanacak fenotiplenmelerin, dikkat ve konsantrasyon kaybının belirgin olduğu retarde depresyon alt tipi ile yapılacak iyi tasarlanmış çalışmaların veya prefrontal kortekse yoğunlaşan görüntüleme çalışmaları ile bu bulguların tekrarlanması MDB patofizyolojisini anlamada yeni ufuklar açabilecektir.

Çalışmamızda down regüle bulduğumuz mir320a ile ilişkili bir diğer gen ise DISC1 genidir. Millar ve arkadaşlarının İskoç bir ailede yapmış olduğu çalışmada DISC1 ve DISC2 genleri psikiyatrik hastalıklarla ilgili olabilecek iki yeni gen olarak tanımlanmıştır⁶⁹. Sawa ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada intra uterin dönemdeki farelerin bilateral ventriküllerine enjeksiyon yapılmış ve DISC1 geni geçici süre için baskılanmıştır. Farelerde erişkinlik dönemine denk gelen 56. günde ise şizofreni hayvan modellerinde önemli yer tutan prepulse inhibisyonunun gerçekleştiğini saptamışlardır. Öte yandan intra

uterin dönemde yapılan enjeksiyonlardan etkilenen hücrelerin ise özellikle prefrontal, medial ve orbitofrontal kortekse yerleşmiş olduklarını tespit etmişlerdir⁸¹. Aynı metodoloji ile yaptıkları bir başka çalışmada ise mutant DISC1 geninin kortikal gelişimde önemli olan ve lisensefali ile ilişkili bulunan NUDEL proteiniyle yetersiz etkileşime girerek nörogelişimsel sorunlara neden olabileceğini ve bunun da başta şizofreni olmak üzere psikiyatrik hastalıklarla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir⁸².

MDB' de yersiz suçluluk, pişmanlık gibi semptomlar ile değersizlik düşünceleri ve nihilistik sanrılar gibi duygudurumla uyumlu psikotik belirtilerin olduğu bilinmektedir. Yukarıda da belirttiğimiz gibi MDB bipolar bozukluk ve şizofreni gibi hastalıkların benzer genetik kökenleri olabileceği, psikiyatrik hastalığı olan bireylerin ailelerinde de psikiyatrik hastalıkların sıklığının artmış olduğu birlikte düşünüldüğünde mir320a ile DISC1 geninin hem depresyonda hem de şizofrenide birbirleri ile olan etkileşimine dönük çalışmaların yapılması faydalı olacaktır. Öte yandan mir320a' nın psikotik özellikli MDB hastalarında da çalışılması yarar sağlayacaktır.

Kromozom 8p ile kanser ve nöropsikiyatrik hastalıkların ilişkisine değinen bir gözden geçirme yazısında mir320a' nın MBD2 üzerinden DNA metilasyonunda rol aldığı belirtilmiştir⁸³. Veri tabanlarında yaptığımız araştırmada biz de mir320a' nın MBD2 geni ile ilişkili olduğunu bulduk⁸⁴. Periferik kanda DNA metilasyonunu araştıran 20 hasta 18 sağlıklı kontrolün değerlendirildiği bir çalışmada, az sayıda kişi ile yapılmış olsa da periferik kandaki BDNF ile ilişkili metilasyon düzeyinin biyolojik belirteç olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir⁸⁵. Mir320a' nın down regülasyonuna bağlı olarak MBD2 ekspresyonundaki değişikliklerin bu mekanizmadan sorumlu olduğu düşünülebilir. İlerde periferik kandaki BDNF ile ilişkili metilasyonla mir320a ilişkisini araştıran çalışmaların yapılması faydalı olabilir.

Geçtiğimiz son 15 yılda intravenöz ketamin uygulamasının hızlı antidepresan etkinliğe sahip olduğuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır⁸⁶⁻⁸⁸. Ketaminin bu hızlı etkisi hem depresyonun patofizyolojisini anlamada hem de yeni tedavi yaklaşımları geliştirme konusunda oldukça faydalı olabilir⁸⁹⁻⁹². O'Connor ve arkadaşlarının ratlarda yapmış olduğu bir çalışmada ratların bir

kısmı anneden ayrılma stresine maruz bırakılmışken diğer kısmı ise bırakılmamıştır. Daha sonra fluoksetin, ketamin ve elektrokonvülsif tedavinin hipokampal mikroRNA düzeylerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Anneden ayrılma stresinin hipokampal mir451 düzeylerinde azalmaya neden olduğu ve bunun da fluoksetin tedavisiyle giderilebildiğini göstermişlerdir. Ancak ilginç bir şekilde ketamine maruz kalan ayrılma stresine maruz kalmayan ratların mir451 düzeylerinin anlamlı ölçüde azalmış olduğunu bulmuşlardır⁹³. Ketamin tedavisinin etkisi ile birlikte düşünüldüğünde çalışmamızda MDB hastalarında mir451 düzeylerindeki artış akıllara ketaminin antidepresan etki mekanizmasında mir451' in rolü ile ilgili soru işaretlerini getirmektedir. Bununla beraber MDB' de mir451 düzeylerinde beynin değişik bölgelerinde artış olup olmadığının araştırılması gerektiğini düşündürmektedir. Anneden ayrılma stresine maruz kalan ratlarda görünen mir451 seviyelerindeki azalma hipokampal bölge ile ilişkilidir. Sonraki çalışmalarda mir451 seviyelerinin MDB hastalarının prefrontal kortekslerinde araştırılması ve bu bölgede saptanacak mir451 düzeylerindeki değişikliklerle ketamin ve diğer antidepresan tedavilerin ilişkisinin belirlenmesi MDB' nin nörobiyolojisi ve tedavisi ile ilgili olarak ilerlemeler kaydedilmesini sağlayabilir. Ketaminin beyinde mir451 düzeyinde meydana getirmiş olduğu azalma düşünüldüğünde intravenöz ketamin uygulanmasından önce ve sonrasında kan mir451 düzeylerinin araştırılması ve bunun tedavi ile ilişkisinin olup olmadığının ortaya konması mir451' i önemli bir biyolojik belirteç haline getirebilir.

Mir451 aynı zamanda diğer isimleri BNPI,VGLUT1 olan SLC17A7 geni ile de ilişkilidir. SLC17A7 özellikle beynin nörondan zengin bölgelerinde eksprese olur sinaptik veziküllerin membranlarında önemli yer tutar ve glutamat taşınmasında önemli rol oynar^{11,94}. Bu genin depresyondaki önemini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Depresyonun, ratlarda öğrenilmiş çaresizlik modeliyle yapılan bir çalışmada, umutsuz hayvanların SLC17A7 (vGLUT1) düzeylerinin diğer gruba göre anlamlı ölçüde baskılanmış olduğu tespit edilmiştir⁹⁵. Beklenmedik kronik hafif düzey stress modelinin uygulandığı bir başka hayvan çalışmasında, kortikal ve hipokampal bölgelerde SLC17A7' nin azaldığı ve bu durumda çaresizlik, anhedoni, anksiyete ve tanımda bozulma gibi klinik fenotiplerle ilişkili olduğu bulunmuştur⁹⁶. Hayvanlarda depresif

özelliklerin SLC17A7 düzeylerinde azalma ile ilgisini gösteren çalışmaların yanında fluoksetin ve desipramin gibi antidepresan ilaçların SLC17A7 düzeylerini arttırdığını gösteren çalışmalar da ilaçların etki mekanizmasında bu genin önemini ortaya koymaktadır⁹⁷. Bütün bu literatür bilgilerinin ışığında mir451' in depresyonun nörobiyolojisi ve olası yeni tedavilerin hedefi olabilecek bir mikroRNA olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde up-regüle bulduğumuz diğer mikroRNAlar ise mir17-5p ve mir223-3p idi. Beveridge ve arkadaşları, prefrontal korteks ve superior temporal girus ile ilgili yaptıkları çalışmada istatistiki olarak anlamlı olmasa da mir17-5p düzeylerini artmış olarak tespit etmişlerdir⁶⁶. Yine aynı çalışmada mir223' ün dorsolateral prefrontal kortekste kontrol grubuna göre up-regüle olduğunu bulmuşlardır. Bir başka çalışmada şizofreni hastalarının dorsolateral prefrontal kortekslerinde mir17-5p düzeyleri istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur⁹⁸. Daha önce de değindiğimiz gibi MDB, şizofreni ve bipolar bozukluğun benzer genetik kökenlerden kaynaklandığını irdeleyen genetik bağlantı çalışmaları bu bulgumuzu anlamlı kılmaktadır. MDB psikotik alt tipinde yapılacak olan ileriki çalışmalarda mir17-5p düzeylerindeki artışın gösterilmesi birbirine genetik açıdan benzeyen bu hastalıkların nörobiyolojilerini anlamamıza katkıda bulunacaktır.

Çalışmamıza başlarken ileri sürdüğümüz, prefrontal korteks ve periferik kanda benzer düzeyde eksprese olmuş olan genlerin MDB' de biyolojik belirteç olabileceği hipotezimizi doğrulamış olduk. Bu açıdan mir320a ve mir451a' nın gelecek için önem arz eden mikroRNAlar olabilecekleri sonucuna ulaştık.

Mir320a' nın prefrontal kortekste GRIN2A geni ile ilişkili süreçlerin belirleyicisi olabileceği sonucuna ulaştık.

Daha önce mir451a' nın beyindeki ekspresyon değişikliklerine değinilmiş olsa da çalışmamızda ilk defa ketamin gibi gittikçe önem kazanan antidepresan bir tedavinin etki mekanizması tersten düşünüldüğünde, plazma mi451 düzeylerinin MDB' nin periferik biyolojik bir belirteci olabileceğini belirttik.

Örneklemeimiz MDB gibi sık görülen bir hastalığa göre küçük

görülmektedir. Ancak homojen bir fenotip oluşturabilmek için oldukça sınırlayıcı dışlama ölçütleri kullanmış olmamız nedeniyle, örneklem sayımız sınırlı kaldı. Örneklem sayısının daha fazla olduğu, benzer desenli çalışmaların yapılması konuyla ilgili bilgilerimizin artmasını sağlayacaktır.

Hafif-orta şiddetli depresyonların uyum bozukluğu ve normal stres tepkisi gibi durumlarla karışma olasılığının yüksek olması nedeniyle özellikle HAM-D skoru 17 ve üstünde olan bireyleri çalışmaya dahil ettik. HAM-D ölçeği MDB' nin daha çok somatik ve uyku ile ilişkili olan belirtilerine odaklanmış olduğu için klinik fenotiplenmenin daha isabetli olması adına MADRAS ölçeğini de uygulayarak tanısal isabetliliği arttırmayı amaçladık. Öte yandan mikroRNA düzeylerinin oldukça hassas parametreler olduğu düşünüldüğünde sürekli ilaç kullanımı olan, kronik hastalığı olan, psikiyatrik ek tanısı olan, daha önce psikiyatrik tedavi almış olan ve laboratuvar testlerinde anormallik olan bireyleri dışlamış olmamız çalışmamızın diğer olumlu metodolojik özellikleri olarak göze çarpmaktadır. Sigara ve alkol kullanımının da mikroRNA düzeylerini etkilemesi olasıdır. Çalışmamızda bu grubu dışlamamış olmamız bir eksiklik olarak görülmekte olup ilerleyen zamanlarda yapılacak olacak çalışmalarda sigara ve alkol kullanan hastaların çalışma grubundan dışlanması faydalı olacaktır. MDB' nin psikotik, melankolik, atipik ve mevsimsel özellik gösteren alt tiplerini dışlamış olmamız, bir taraftan bu alt tiplerle ilişkili olabilecek farklı nörobiyolojik mekanizmalara bağlı ortaya çıkabilecek yanlış pozitif veya negatif sonuçların önüne geçmiş olsa da bu alt tiplerle mikroRNA ilişkisini irdeleme açısından eksik kalmıştır. Sonraki çalışmalarda bu alt tiplerin ayrı ayrı değerlendirildiği klinik olarak homojen olan hasta gruplarında yapılacak çalışmalar depresyon nörobiyolojisine ve tedavisine ışık tutabilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz çalışmada prefrontal korteks ve periferik kanda benzer düzeyde ekprese olduğu gösterilmiş olan genlerle ilişkili iki adet mikroRNA' nın (mir320a ve mir451a), MDB için biyolojik belirteç olabilecekleri sonucuna ulaştık.

Mir320a' nın GRIN2A ve DISC1 genlerinin prefrontal kortekste etkileri ile ilişkili olabilecek süreçlerin periferik ve önemli bir yordayıcısı olabileceğini saptadık.

Mir451a' nın ketamin etki mekanizmasıyla olan ilişkisi düşünüldüğünde MDB' nin nörobiyolojisinde ve periferik bir biyolojik belirteç olarak önemli olabileceği sonucuna ulaştık.

Mir17-5p ve mir 223-3p' nin de MDB ile ilişkili olabileceği sonucuna vardık.

Gelecekteki çalışmalarda depresyon alt tiplerinin her biri ile periferik mikroRNA ekspresyonunun araştırılmasının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Icd-10: The Icd-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders : Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines.; 1992:94-108.
2. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition: DSM-IV-TR®.; Washington DC 2005:317-392s.
3. Uzbay PT. Temel Psikofarmakoloji Şubat 2009:129-205.
4. Gould E, Tanapat P, Rydel T, Hastings N. Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):715–720.
5. McEwen BS. Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):721–731.
6. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*. 2008;9(2):102–14.
7. Serafini G, Pompili M, Innamorati M, et al. The role of microRNAs in synaptic plasticity, major affective disorders and suicidal behavior. *Neurosci Res*. 2012;73(3):179–90.
8. Place RF, Li L-C, Pookot D, Noonan EJ, Dahiya R. MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(5):1608–13.
9. Pillai V, Kalmbach DA, Ciesla JA. A meta-analysis of electroencephalographic sleep in depression: evidence for genetic biomarkers. *Biol Psychiatry*. 2011;70(10):912–9.
10. Ising M, Horstmann S, Kloiber S, et al. Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression - a potential biomarker? *Biol Psychiatry*. 2007;62(1):47–54.
11. Sullivan PF, Fan C, Perou CM. Evaluating the comparability of gene expression in blood and brain. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2006;141B(3):261–8.
12. Kessler RC, Nelson CB, McGonagle KA, Liu J, Swartz M, Blazer DG. Comorbidity of DSM-III-R major depressive disorder in the general population: results from the US National Comorbidity Survey. *Br J Psychiatry Suppl*. 1996;(30):17–30.
13. WHO | The world health report 2002 - Reducing Risks, Promoting Healthy Life.

14. Trivedi MH, Kleiber BA. Using treatment algorithms for the effective management of treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry*. 2001;62 Suppl 1:25–9.
15. Fava M, Davidson KG. Definition and epidemiology of treatment-resistant depression. *Psychiatr Clin North Am*. 1996;19(2):179–200.
16. Parker GB, Malhi GS, Crawford JG, Thase ME. Identifying “paradigm failures” contributing to treatment-resistant depression. *J Affect Disord*. 2005;87(2):185–191.
17. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of Depression. *Neuron*. 2002;34(1):13–25.
18. Liotti M, Mayberg HS. The role of functional neuroimaging in the neuropsychology of depression. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2001;23(1):121–36.
19. Drevets WC. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol*. 2001;11(2):240–249.
20. Zhu M-Y, Klimek V, Dilley GE, et al. Elevated levels of tyrosine hydroxylase in the locus coeruleus in major depression. *Biol Psychiatry*. 1999;46(9):1275–1286.
21. Holsboer F. Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: implications for therapy. *J Affect Disord*. 2001;62(1-2):77–91.
22. Nibuya M, Nestler E, Duman R. Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J Neurosci*. 1996;16(7):2365–2372.
23. Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):732–739.
24. Sheline YI. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):791–800.
25. Rajkowska G. Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):766–777.
26. Ünal S. Davranışsal Nöroanatomi, ed Koçroğlu E. Temel psikiyatri kitabı. birinci baskı Ankara.2005;6-5.
27. Cotter D. Reduced Neuronal Size and Glial Cell Density in Area 9 of the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Subjects with Major Depressive Disorder. *Cereb Cortex*. 2002;12(4):386–394.

28. Baxter LR. Reduction of Prefrontal Cortex Glucose Metabolism Common to Three Types of Depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1989;46(3):243.
29. Schmidt HD, Shelton RC, Duman RS. Functional biomarkers of depression: diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(12):2375–94.
30. Le-Niculescu H, Kurian SM, Yehyawi N, et al. Identifying blood biomarkers for mood disorders using convergent functional genomics. *Mol Psychiatry*. 2009;14(2):156–74.
31. Paez-pereda M. Biomarkers for Psychiatric Disorders. Turck C, ed. 2009:299–315.
32. Brunoni AR, Lopes M, Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(8):1169–80.
33. Levine J, Barak Y, Chengappa KN, Rapoport A, Rebey M, Barak V. Cerebrospinal cytokine levels in patients with acute depression. *Neuropsychobiology*. 1999;40(4):171–6.
34. Herken H, Gurel A, Selek S, et al. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Arch Med Res*. 2007;38(2):247–52.
35. Mehta D, Menke A, Binder EB. Gene expression studies in major depression. *Curr Psychiatry Rep*. 2010;12(2):135–44..
36. Liew C-C, Ma J, Tang H-C, Zheng R, Dempsey AA. The peripheral blood transcriptome dynamically reflects system wide biology: a potential diagnostic tool. *J Lab Clin Med*. 2006;147(3):126–32.
37. Shimojo M, Imai Y, Nakajima K, Mizushima S, Uemura A, Kohsaka S. Interleukin-2 enhances the viability of primary cultured rat neocortical neurons. *Neurosci Lett*. 1993;151(2):170–173.
38. Varol N, Konac E, Gurocak OS, Sozen S. The realm of microRNAs in cancers. *Mol Biol Rep*. 2011;38(2):1079–89.
39. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75(5):843–854.
40. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci*. 2010;101(11):2309–15.

41. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003;425(6956):415–9.
42. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(4):259–69.
43. Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004;303(5654):95–8.
44. Zhang H. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *EMBO J*. 2002;21(21):5875–5885.
45. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*. 2001;409(6818):363–6.
46. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*. 2005;123(4):631–40.
47. Alonso M, Viollet C, Gabellec M-M, Meas-Yedid V, Olivo-Marin J-C, Lledo P-M. Olfactory discrimination learning increases the survival of adult-born neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci*. 2006;26(41):10508–13.
48. Dupret D, Revest J-M, Koehl M, et al. Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. Mayeux R, ed. *PLoS One*. 2008;3(4):e1959.
49. DeCarolis NA, Eisch AJ. Hippocampal neurogenesis as a target for the treatment of mental illness: a critical evaluation. *Neuropharmacology*. 2010;58(6):884–93.
50. Barbato C, Ciotti MT, Serafino A, Calissano P, Cogoni C. Dicer expression and localization in post-mitotic neurons. *Brain Res*. 2007;1175:17–27.
51. Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, et al. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. *J Exp Med*. 2007;204(7):1553–8.
52. Vanderklish PW, Edelman GM. Differential translation and fragile X syndrome. *Genes Brain Behav*. 2005;4(6):360–84.
53. Gao F-B. Posttranscriptional control of neuronal development by microRNA networks. *Trends Neurosci*. 2008;31(1):20–6.
54. Qurashi A, Chang S, Peng J. Role of microRNA pathway in mental retardation. *ScientificWorldJournal*. 2007;7:146–54.
55. Schratt GM, Nigh EA, Chen WG, Hu L, Greenberg ME. BDNF regulates the translation of a select group of mRNAs by a mammalian target of rapamycin-

phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway during neuronal development. *J Neurosci*. 2004;24(33):7366–77.

56. Schrott GM, Tuebing F, Nigh EA, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*. 2006;439(7074):283–9.

57. Siegel G, Obernosterer G, Fiore R, et al. A functional screen implicates microRNA-138-dependent regulation of the depalmitoylation enzyme APT1 in dendritic spine morphogenesis. *Nat Cell Biol*. 2009;11(6):705–16.

58. <http://www.genecards.org>. Erişim tarihi: 13.08.2013

59. Vo N, Klein ME, Varlamova O, et al. A cAMP-response element binding protein-induced microRNA regulates neuronal morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(45):16426–31.

60. Uchida S, Nishida A, Hara K, et al. Characterization of the vulnerability to repeated stress in Fischer 344 rats: possible involvement of microRNA-mediated down-regulation of the glucocorticoid receptor. *Eur J Neurosci*. 2008;27(9):2250–61.

61. Vreugdenhil E, Verissimo CSL, Mariman R, et al. MicroRNA 18 and 124a down-regulate the glucocorticoid receptor: implications for glucocorticoid responsiveness in the brain. *Endocrinology*. 2009;150(5):2220–8.

62. Rinaldi A, Vincenti S, De Vito F, et al. Stress induces region specific alterations in microRNAs expression in mice. *Behav Brain Res*. 2010;208(1):265–9.

63. Meerson A, Cacheaux L, Goosens KA, Sapolsky RM, Soreq H, Kaufer D. Changes in brain MicroRNAs contribute to cholinergic stress reactions. *J Mol Neurosci*. 2010;40(1-2):47–55.

64. Rong H, Liu TB, Yang KJ, et al. MicroRNA-134 plasma levels before and after treatment for bipolar mania. *J Psychiatr Res*. 2011;45(1):92–5.

65. Shi W, Du J, Qi Y, et al. Aberrant expression of serum miRNAs in schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 2012;46(2):198–204.

66. Beveridge NJ, Gardiner E, Carroll AP, Tooney PA, Cairns MJ. Schizophrenia is associated with an increase in cortical microRNA biogenesis. *Mol Psychiatry*. 2010;15(12):1176–89.

67. Baudry A, Mouillet-Richard S, Schneider B, Launay J-M, Kellermann O. miR-16 targets the serotonin transporter: a new facet for adaptive responses to antidepressants. *Science*. 2010;329(5998):1537–41.

68. Sequeira A, Mamdani F, Ernst C, et al. Global brain gene expression analysis links glutamatergic and GABAergic alterations to suicide and major depression. Goldman G, ed. PLoS One. 2009;4(8):e6585.
69. Millar JK. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. Hum Mol Genet. 2000;9(9):1415–1423.
70. <http://mirdb.org/>. Erişim tarihi: 13.08.2013
71. O'Connor Richard M, Grenham Susan, Dinan Timothy G, Cryan John F. microRNAs as novel antidepressant targets: converging effects of ketamine and electroconvulsive shock therapy in the rat hippocampus. Int J Neuropsychopharmacol. 2013;1–8.
72. https://cm.jefferson.edu/rna22v1.0-homo_sapiens/InputController?identifier=hsa-miR-451. Erişim tarihi: 13.08.2013
73. Kessler RC. Lifetime and 12-Month Prevalence of DSM-III-R Psychiatric Disorders in the United States Results From the National Comorbidity Survey. Arch Gen Psychiatry. 1994;51(1):8.
74. Baştırzi AD, Yazici K, Aslan E, et al. Effects of fluoxetine and venlafaxine on serum brain derived neurotrophic factor levels in depressed patients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009;33(2):281–5.
75. D'Alessandra Y, Devanna P, Limana F, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. Eur Heart J. 2010;31(22):2765–73.
76. Wang K, Zhang S, Marzolf B, et al. Circulating microRNAs , potential biomarkers for drug-induced liver injury. 2009;106(11).
77. Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. Cell Res. 2008;18(10):997–1006.
78. Lai C-Y, Yu S-L, Hsieh MH, et al. MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. PLoS One. 2011;6(6):e21635.
79. Krichevsky a. M. A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development. Rna. 2003;9(10):1274–1281.
80. Boyce-Rustay JM, Holmes A. Genetic inactivation of the NMDA receptor NR2A subunit has anxiolytic- and antidepressant-like effects in mice. Neuropsychopharmacology. 2006;31(11):2405–14.

81. Niwa M, Kamiya A, Murai R, et al. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron*. 2010;65(4):480–9.
82. Ozeki Y, Tomoda T, Kleiderlein J, Kamiya A, Bord L, Fujii K. truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth. 2003;100(1):289–294.
83. Tabarés-Seisdedos R, Rubenstein JLR. Chromosome 8p as a potential hub for developmental neuropsychiatric disorders: implications for schizophrenia, autism and cancer. *Mol Psychiatry*. 2009;14(6):563–89.
84. <http://www.targetscan.org>. Erişim tarihi: 13.08.2013
85. Fuchikami M, Morinobu S, Segawa M, et al. DNA methylation profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potent diagnostic biomarker in major depression. *PLoS One*. 2011;6(8):e23881.
86. Carlos A. Zarate Trial AR, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. A Randomized Trial of an N-methyl-D-aspartate Antagonist in Treatment-Resistant Major Depression. 2006;63.
87. Berman RM, Cappiello A, Anand A, et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry*. 2000;47(4):351–354.
88. Garcia LSB, Comim CM, Valvassori SS, et al. Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008;32(1):140–4.
89. Salvatore G, Cornwell BR, Colon-Rosario V, et al. Increased anterior cingulate cortical activity in response to fearful faces: a neurophysiological biomarker that predicts rapid antidepressant response to ketamine. *Biol Psychiatry*. 2009;65(4):289–95.
90. Maeng S, Zarate CA, Du J, et al. Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: role of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors. *Biol Psychiatry*. 2008;63(4):349–52.
91. Maeng S, Zarate CA. The role of glutamate in mood disorders: Results from the ketamine in major depression study and the presumed cellular mechanism underlying its antidepressant effects. *Curr Psychiatry Rep*. 2007;9(6):467–474.
92. Li N, Lee B, Liu R-J, et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*. 2010;329(5994):959–64.

93. O'Connor RM, Grenham S, Dinan TG, Cryan JF. microRNAs as novel antidepressant targets: converging effects of ketamine and electroconvulsive shock therapy in the rat hippocampus. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2013;1–8.
94. <http://www.genenames.org>. Erişim tarihi: 13.08.2013
95. Zink M, Vollmayr B, Gebicke-Haerter PJ, Henn FA. Reduced expression of glutamate transporters vGluT1, EAAT2 and EAAT4 in learned helpless rats, an animal model of depression. *Neuropharmacology*. 2010;58(2):465–473.
96. Garcia-Garcia AL, Elizalde N, Matrov D, et al. Increased vulnerability to depressive-like behavior of mice with decreased expression of VGLUT1. *Biol Psychiatry*. 2009;66(3):275–82.
97. Moutsimilli L, Farley S, Dumas S, El Mestikawy S, Giros B, Tzavara ET. Selective cortical VGLUT1 increase as a marker for antidepressant activity. *Neuropharmacology*. 2005;49(6):890–900.
98. Santarelli DM, Beveridge NJ, Tooney PA, Cairns MJ. Upregulation of dicer and microRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex Brodmann area 46 in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2011;69(2):180–7.

KISALTMALAR DİZİNİ

BDNF:Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör

Ham-D:Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği

HPA:Hipotalamik-pituiter-adrenal aks

MADRAS:Montgomery-Asberg Depresyon Değerlendirme Ölçeği

MDB:Major Depresif Bozukluk

PFK: Prefrontal korteks

SCID:DSM IV Eksek 1 Bozuklukları İçin Yapılandırılmış Klinik Görüşme

SSS:Santral Sinir Sistemi

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1 Çalışmaya katılanların yaş ortalamaları	24
Tablo 2 Çalışmaya katılanların cinsiyet dağılımları	24
Tablo 3 Çalışmaya katılanların eğitim durumları	25
Tablo 4 Hasta ve kontrol grubunun medeni durumları	25
Tablo 5 Hasta-kontrol grubunun gelir düzeyi karşılaştırılması	26
Tablo 6 Hasta ve kontrol grubunun HAM-D skorları karşılaştırılması	27
Tablo 7 Hasta ve kontrol grubunun MADRAS skorları karşılaştırılması	27
Tablo 8 Hasta ve kontrol grubunda mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması	28
Tablo 9 Sigara içenler ile içmeyenlerin mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması	29
Tablo 10 Geçirilmiş depresif epizodu olan hastalarla kontrol grubunun mikroRNA düzeylerinin karşılaştırılması	30

EK1. SOSYODEMOGRAFI VERİ FORMU

Adı: Soyadı: Cinsiyeti:

Yaşı: Dosya no: Telefonu:

❖ Eğitim durumu

1- İLKOKUL 2-ORTAOKUL 3-LİSE 4-ÜNİVERSİTE

❖ Gelir düzeyi:

1- HİÇ-850 TL 2- 851-2000 3- 2000-5000 4- 5000 ve üstü

❖ Medeni durumu:

1- EVLİ 2-BEKAR 3- BOŞANMIŞ 4-DUL

❖ Hayatınızda hiç intihar girişiminiz oldu mu?

1- EVET 2- HAYIR

❖ Olduysa sayısı

.....

❖ Sigara kullanıyor musunuz?

1-EVET 2- HAYIR

❖ Sigara kullanıyorsanız miktarı

..... adet/gün

❖ Alkol kullanıyor musunuz?

1- EVET

2- HAYIR

❖ Alkol kullanıyorsanız miktarı

..... standart içki/hafta (1 standart içki=bir kadeh şarap, bir küçük kutu bira, bir tek rakı,cin,votkaya denk gelmektedir)

❖ Son 1 ayda herhangi bir ilaç kullanımı

1- EVET

2-HAYIR

❖ Son 6 ayda psikiyatrik ilaç kullanımı

1- EVET

2-HAYIR

❖ Sürekli kullandığı ilaç

1- EVET

2-HAYIR

❖ Bilinen tıbbi hastalık

1- EVET 2-HAYIR

❖ Bilinen psikiyatrik hastalık

1- EVET 2-HAYIR

❖ 1. derece akrabalarda ruhsal hastalık var mı?(Anne-Baba, Kardeş, Çocuk)

1- EVET 2-HAYIR

❖ Varsa

1- MDB 2- BPB 3- PSİKOTİK BOZ. 4- ANKSİYETE BOZ
5- DİĞER

❖ 2. derece akrabalarda ruhsal hastalık var mı?(Amca-Hala-Dayı-Teyze-
Dede-Nine-Torun)

1- EVET 2-HAYIR

❖ Varsa

1- MDB 2- BPB 3- PSİKOTİK BOZ. 4- ANKSİYETE BOZ
5- DİĞER

❖ Depresyon alt tipi

1- PSİKOTİK 2- MELANKOLİK 3- ATİPİK 4-MEVSİMSEL 5-
DİĞER

❖ DSM IV Pozitif semptom

- ✓ A1: Depresif duygudurum
- ✓ A2: İlgı istek kaybı
- ✓ A3: Kilo kaybı ya da alımı
- ✓ A4: Az-çok uyuma
- ✓ A5: Başkalarınca gözlenen psikomotor ajitasyon ya da retardasyon
- ✓ A6: Yorgunluk bitkinlik enerji kaybı
- ✓ A7: Değersizlik ya da suçluluk hissi
- ✓ A8: Düşüncelerini yoğunlaştırmada güçlük, kararsızlık
- ✓ A9: İntihar düşünceleri

❖ Şu anki epizod süresi (hafta)

.....

❖ Daha önce geçirdiyse epizod sayısı

.....

❖ Daha önce geçirdiyse epizod(ların ortalama) süresi (hafta)

.....

❖ Ek tanı

1- VAR

2- YOK

❖ Rutin tetkikler normal sınırlarda mı? (Hemogram, Biyokimya tetkikleri)

1- EVET

2- HAYIR

❖ HAMD TOTAL 1:

MADRAS TOTAL 1:

EK 2. HAMILTON DEPRESYON DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

Hastayı en iyi tanımlayan ifadeyi işaretleyin.	
1. DEPRESİF RUH HALİ (Keder, ümitsizlik, çaresizlik)	<input type="radio"/> Yok 1. Yalnızca soruları yanıtlarken anlaşıyor. 2. Hasta bu durumları kendiliğinden söylüyor. 3. Hastada bunların bulunduğu yüz ifadesinden, postüründen, sesinden ve ağlamasından anlaşıyor. 4. Hasta bu durumlardan birinin kendisinde bulunduğunu konuşma sırasında sözlü veya sözsüz olarak belirtiyor.
2. SUÇLULUK DUYGULARI	<input type="radio"/> Yok. 1. Hayatı yaşamaya değer bulmuyor. 2. Eski yaptıklarından veya hatalarından dolayı suçluluk hissediyor. 3. Şimdiki hastalığı bir cezalandırmadır, suçluluk sanrıları. 4. Kendisini ihbar ya da itham eden sesler işliyor ve/veya kendisini tehdit eden görsel varsanılar görüyor.
3. İNTİHAR	<input type="radio"/> Yok. 1. Hayatı yaşamaya değer bulmuyor. 2. Keşke ölmüş olsaydım diye düşünüyor veya benzer düşünceler besliyor. 3. İntiharı düşünüyor ya da bu düşüncesini belli eden jestler yapıyor. 4. İntihar girişiminde bulunmuş (Herhangi bir ciddi girişim 4 puanla değerlendirilir).
4. UYKUYA DALAMAMAK	<input type="radio"/> Bu konuda zorluk çekmiyor. 1. Bazen yattığında yarım saat kadar uyuyamadığından şikayetçi. 2. Gece boyunca gözünü bile kırpmadığından yakınıyor.
5. GECEYARISI UYANMAK	<input type="radio"/> Herhangi bir sorunu yok. 1. Gece boyunca huzursuz ve rahatsız olduğundan şikayetçi. 2. Gece yarısı uyanıyor (Herhangi bir neden olmaksızın yataktan kalkmak 2 puanla değerlendirilir).
6. SABAH ERKEN UYANMAK	<input type="radio"/> Herhangi bir sorunu yok. 1. Sabah erkenden uyanıyor ama sonra tekrar uykuya d alıyor. 2. Sabah erkenden uyanıp tekrar uyuyamıyor ve yataktan kalkıyor.
7. ÇALIŞMA VE AKTİVİTELER	<input type="radio"/> Herhangi bir sorunu yok. 1. Aktiviteleriyle, işiyle ya da boş zamanlarındaki meşguliyetleriyle ilgili olarak kendini yetersiz hissediyor. 2. Aktivitelerine, işine ya da boş zamanlarındaki meşguliyetlerine olan ilgisini kaybetmiş; bu durum ya hastanın bizzat kendisi tarafından bildiriliyor ya da başkaları onun kayıtsız, kararsız, mütereddit olduğunu belirtiyor. (İşinden ve aktivitelerinden çekilmesi gerektiğini düşünüyor). 3. Aktivitelerinde harcadığı süre veya üretim azalıyor. (Hastanede yatarken her gün en az 3 saat servisteki işlerinin dışında aktivite göstermeyenlere 3 puan verilir.) 4. Hastalığından dolayı çalışmayı tamamen bırakmış. (Yatan hastalarda servisteki işlerin dışında hiçbir aktivite göstermeyenlere ya da servisteki işini bile yarımsız yapamayanlara 4 puan verilir.)
8. RETARDASYON (Düşünce ve konuşmalarda yavaşlama, konsantrasyon yeteneğinde bozulma, motor aktivitede azalma)	<input type="radio"/> Düşünceleri ve konuşması normal. 1. Görüşme sırasında hafif retardasyon hissediliyor. 2. Görüşme sırasında açıkça retardasyon hissediliyor. 3. Görüşmeyi yapabilmek çok zor. 4. Tam stuporda.
9. AJİTASYON	<input type="radio"/> Yok. 1. Ellerini oynuyor, saçlarını çekiştiriyor. 2. Ellerini ovuşturuyor, tırnak yiyor, dudaklarını ısırıyor.
10. PSİŞİK ANKSİYETE	<input type="radio"/> Herhangi bir sorunu yok. 1. Subjektif gerilim ve iritabilite. 2. Küçük şeylere üzülüyor. 3. Yüzünden ve konuşmasından endişeli olduğu anlaşılıyor. 4. Korkularını daha sorulmadan anlatıyor.

11. SOMATİK ANKSİYETE	<p>O. Yok</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hafif 2. İlimli 3. Şiddetli 4. Çok şiddetli 	<p><u>Anksiyeteye eşlik eden şu gibi somatik sorunlar:</u> Gastrointestinal: Ağız kuruması, yellenme, sindirim bozukluğu, kramp, geğirme. Kardiyovasküler: Palpitasyon, baş ağrısı. Solunumla ilgili: Hiperventilasyon, iç çekme. Sık idrara çıkma. Terleme</p>
12. SOMATİK SEMPTOMLAR (Gastrointestinal)	<p>O. Yok</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. İştahsız ancak personelin ısrarıyla yiyor. Karnının şiş olduğunu söylüyor. 2. Personel zorlamasa yemek yemiyor. Barsakları ya da gastrointestinal semptomları için ilaç istiyor ya da ilaca ihtiyaç duyuyor. 	
13. SOMATİK SEMPTOMLAR (Genel)	<p>O. Yok</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ekstremitelerinde, sırtında ya da başında ağırlık hissi. Sirt ağrıları, baş ağrısı, kaslarda sızılama. Enerji kaybı. Kolayca yorulma. 2. Herhangi bir kesin şikayet 2 puanla değerlendirilir. 	
14. GENİTAL SEMPTOMLAR (Libido kaybı, adet bozuklukları, vb.)	<p>O. Yok</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hafif 2. Şiddetli 3. Anlaşılamadı. 	
15. HIPOKONDRIYAKLIK	<p>O. Yok</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kuruntulu 2. Aklını sağlık konularına takmış durumda. 3. Sık sık şikayet ediyor, yardım istiyor. 4. Hipokondriyaklık sanrıları. 	
16. ZAYIFLAMA (A ya da B doldurulacaktır.)	<p><u>A. Tedavi öncesinde (anamnez bulguları)</u></p> <p>O. Kilo kaybı yok.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Önceki hastalığına bağlı olası zayıflama. 2. Kesin (hastaya göre) kilo kaybı. <p><u>B. Psikiyatrist tarafından haftada bir yapılan, hastanın tartıldığı kontrollerde</u></p> <p>O. Haftada 0.5 kg'dan daha az zayıflam.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Haftada 0.5 kg'dan daha fazla zayıflama. 2. Haftada 1 kg'dan daha fazla zayıflama. 	
17. DURUMU HAKKINDA GÖRÜŞÜ	<p>O. Hasta ve depresyonda olduğunu bilincinde.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hastalığını biliyor ama bunu ifade, kötü yiyeceklerle, virüslere, istirahate ihtiyacı olmasına bağlıyor. 2. Hasta olduğunu kabul etmiyor. 	

Bütün maddelerin tamamen yanıtlanıp yanıtlanmadığını kontrol ediniz.

DÜŞÜNCELER :

EK 3. MONTGOMERY ASBERG DEPRESYON DEĞERLENDİRME ÖLÇEĞİ

MONTGOMERY VE ASBERG DEPRESYON ÖLÇEĞİ (M.Å.D.R.S.)

Değerlendirme, belirtilere ilişkin daha açık uçlu sorulardan başlayarak, ayrıntılı olanlara doğru ilerleyen şiddetin kesin bir şekilde derecelendirilmesini sağlayan soruların sorulduğu bir klinik görüşmeye dayanmalıdır. Ölçümü yapan, ölçümün tanımlanan ölçek basamaklarında mı (0-2-4-6), yoksa bu basamakların arasında mı (1-3-5) derecelendirileceğine karar vermelidir.

Ölçekteki maddelere göre derecelendirilemeyen bir depresif hastayla karşılaşmanın çok seyrek olabileceğini hatırlamak önemlidir. Hastadan kesin yanıtlar alınamıyorsa, değerlendirme alışlagelen klinik uygulamalardaki gibi, tüm ilgili ipuçları ve diğer kaynaklardan edinilen bilgiler temel alınarak yapılmalıdır. Ölçek, ölçümler arasındaki herhangi bir zaman aralığı için kullanılabilir; değerlendirme haftada bir ya da farklı süreler için yapılabilir, ancak bu süre mutlaka kaydedilmelidir.

I. GÖRÜNEN KEDER

Duruş, konuşma ve yüz ifadesine, yeis, hüznün ve ümitsizliğin yansıması (gelip geçici mutsuzluktan fazladır).

Derinliğine ve neşelenememe derecesine göre derecelendiriniz.

- 0 Kederli değil
- 1
- 2 Keyifsiz görünür, ancak zorluk çekmeden neşelenebilir.
- 3
- 4 Çoğu zaman kederli ve mutsuz görünür.
- 5
- 6 Her zaman çok mutsuz görünür. İleri derecede ümitsizdir.

II. İFADE EDİLEN KEDER

Görünüşe yansıyan veya yansımayan, ifade edilen çökkün duygudurumunu tanımlar. Bunlara neşesizlik, yeis ya da yardım edilemeyeceği ve umutsuzluk duyguları da dahildir.

Yoğunluk, süre ve duygudurumun olaylardan ne ölçüde etkilenmekte olduğuna göre değerlendirin.

- 0 Olaylarla ilgili olarak zaman zaman kederlidir.
- 1
- 2 Kederli ve keyifsizdir, ancak kolayca neşelenebilir.
- 3
- 4 Yaygın keder ve hüznün. Duygudurumu yine de dış koşullardan etkilenebilmektedir.
- 5
- 6 Sürekli ve değişmeyen keder, mutsuzluk ya da ümitsizlik.

III. İÇSEL GERGINLİK

İyi ifade edilmeyen rahatsızlık, huzursuzluk, telâştan, panik, dehşet ya da ıstırap duygularına kadar varan zihinsel gerginlik.

Yoğunluk, sıklık, süre ve yatıştırılma ihtiyacı derecesine göre değerlendirilir.

- 0 Sakindir. Yalnızca gelip geçici bir gerginlik hissi vardır.
- 1
- 2 Zaman zaman huzursuzluk ve iyi ifade edilemeyen rahatsızlık duyguları vardır.
- 3
- 4 Sürekli içsel gerginlik duyguları ya da ara ara gelen hastanın çok zorlanmadan başa çıkabildiği panik halleri mevcuttur.
- 5
- 6 Dinmeyen bir dehşet ya da ıstırap. Başa çıkılamayan bir panik hali.

IV. UYKUDA AZALMA

Bireyin iyi olduğu zamandaki normal uyku düzenine göre uyku süresinde ya da derinliğindeki azalmadır.

- 0 Her zamanki gibi uyumaktadır.
- 1
- 2 Uykuya dalmakta biraz zorlanma ya da hafifçe azalmış, yüzeysel ya da dinlendirmeyen uyku mevcuttur.
- 3
- 4 Uyku en az iki saat kısalmış ya da toplam olarak en az iki saat süre ile bölünmüştür.
- 5
- 6 İki ya da üç saatten az uyumaktır.

V. İŞTAH AZALMASI

İyi olduğu zamana göre iştah azalması.

Yemeğe karşı istek kaybı ya da yemek için kendisini zorlama ihtiyacına göre derecelendirin.

- 0 Normal ya da artmış iştah.
 - 1
 - 2 İştah biraz azalmıştır.
 - 3
 - 4 İştah yoktur. Yemekler tatsızdır.
 - 5
 - 6 Yemek yemesi için zorlanması gerekmektedir.
-
-

VI. DİKKATİNİ TOPLAMAKTA GÜÇLÜK

Kişinin düşüncelerini toplamasındaki güçlüklerden, iş gücü görebilmesine engel olan tam bir dikkat kaybına kadar değişir. Şiddet, sıklık ve ortaya çıkan yetersizlik derecesine göre değerlendirin.

- 0 Dikkat toplama güçlüğü yoktur.
- 1
- 2 Kişi düşüncelerini toplamakta zaman zaman güçlük çeker.
- 3
- 4 Okumayı ya da bir konuşmayı sürdürmekte bozulmaya yol açan, dikkatini toplama ve düşüncenin sürdürülmesinde güçlük.
- 5
- 6 Büyük güçlükle okuyabilir ya da konuşmasını sürdürebilir.

VII. BİTKİNLİK/YORGUNLUK

İşlere başlamada ya da sürdürmede görülen güçlük ya da yavaşlık.

- 0 Başlama güçlüğü hemen hemen hiç yoktur. Hareketlerde ağırlık bulunmamaktadır.
- 1
- 2 Faaliyetlere başlamakta güçlük.
- 3
- 4 Basit gündelik işlere zor başlanır ve bu işler gayret sarfederek yürütülür.
- 5
- 6 Tam bir yorgunluk/bitkinlik. Hiçbir şeyi yardımsız yapamaz.

VIII. HİSSEDEMEME

Çevreye karşı veya normalde haz veren şeylere karşı ilginin azalması. Olaylara ya da kişilere yeterli duygusal tepki verme yeteneği azalmıştır.

- 0 Çevreye ve diğer kişilere karşı normal ilgi.
 - 1
 - 2 Her zamanki ilgilerden hoşlanma yeteneğinde azalma.
 - 3
 - 4 Çevreye karşı ilgi kaybı. Arkadaşlara ve tanıdıklara karşı duygu kaybı.
 - 5
 - 6 Duygusal olarak felç olma hissi, öfke, elem ya da haz hissedememe ve yakın akraba ve arkadaşlara karşı tam ve hatta acı veren duygu kaybı.
-

IX. KÖTÜMSER DÜŞÜNCELER

Suçluluk, aşağılık duyguları, kendini kınama, hor görme, günahkârlık, pişmanlık ve yıkılmışlık duyguları

- 0 Kötümser düşünceler yoktur.
- 1
- 2 Başarısızlık, kendini kınama ya da kendini aşağılama ile ilgili gelip giden düşünceler.
- 3
- 4 Devamlı kendini suçlama ya da kesin olarak varolan ancak gerçeğe uygun suçluluk ya da günahkârlık düşünceleri. Gelecek hakkında kötümserliği gittikçe artar.
- 5
- 6 Yıkılmışlık, pişmanlık ya da affedilmez günahkârlık hezeyanları. Sarsılmaz ve anlaşılmaz bir şekilde kendini suçlama.

X. İNTİHAR DÜŞÜNCELERİ

Hayatın yaşanmaya değer olmadığına ilişkin duygular, kendiliğinden ölmeyi arzulamak, intihar düşünceleri ve intihara hazırlanma.

İntihar girişimleri tek başına derecelendirmeyi etkilememelidir.

- 0 Yaşamdan zevk alır ve olduğu gibi kabul eder.
- 1
- 2 Yaşamaktan yorulma. Gelip geçici intihar düşünceleri.
- 3
- 4 Ölse daha iyi olacağını düşünme. İntihar düşünceleri sıkır ve intiharın olası bir çözüm olduğunu düşünür, ancak özel bir plan ya da niyeti yoktur.
- 5
- 6 Fırsat bulduğunda intihar için açık plânlı. İntihar hazırlığı içindedir.

Toplam puan: _____
