

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman: Prof. Dr. Müjgan Cengiz

**MAJÖR DEPRESYONDA HİPOKRETİN RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Moleküler Biyolog

VİLSON KARAJ

İSTANBUL-2016

Istanbul, 10 Ekim 2016

İ.Ü.ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 36.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın yüksek lisans öğrencisi Vilson KARAJ' in

"Major Depresyonda Hipokretin Resöptör Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması"

Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.

Yukarıda adı geçen tezin ve tez savunmasının kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.

Prof. Dr. Müjgan CENGİZ
Jüri Başkanı
Danışman



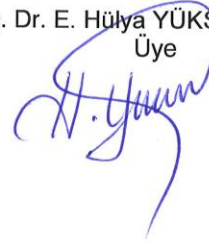
Prof. Dr. Neşe KOCABAŞOĞLU
Üye



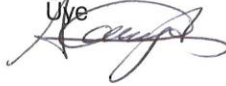
Prof. Dr. Salih CENGİZ
Üye



Doç. Dr. E. Hülya YÜKSELOĞLU
Üye



Doç. Dr. Ahmet ÖZAYDIN
Üye



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman: Prof. Dr. Müjgan Cengiz

**MAJÖR DEPRESYONDA HİPOKRETİN RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Moleküler Biyolog

VİLSON KARAJ

İSTANBUL-2016



Bu tez projesi İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: 28355) desteklenmiş ve Klinik Araştırmalar Etik Değerlendirme Kurulunca onaylanmıştır.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimin gerçekleşmesinde katkıda bulunan İ.Ü Adli TIP Enstitüsü Müdürü Prof.Dr. Faruk AŞICIOĞLU ve Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof Dr. Münevver AÇIKKOL'a,

Tezimin gerçekleşmesinde çok büyük katkıda bulunan, bugünlere gelmemi sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Salih CENGİZ'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Kapısına her tıkladığımda hiç geri çevirmedi ve hep güler yüzüyle karşıladı.

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, anlayışını ve hoşgörüsünü esirgemeyen, bilim yolunda ilerlememi sağlayan sevgili danışmanım Prof. Dr.MüjganCENGİZ'e,

Hastaları bulmamda yardımını esirgemeyen ve onları rekor bir zamanda toplamamı sağlayan Prof. Dr. Neşe KOCABAŞOĞLU'na ve Dr. Gökçen ÇELİK'e,

Her zaman bana yardımcı olan, tavsiyelerde bulunan, deneyleri beraber gerçekleştirdiğim ve güler yüzünü hiç esirgemeyen Ar. Gör Dr. Burcu BAYOĞLU'na,

Yardımsaver ve güler yüzlü Doç. Dr. Hüseyin ÇAKAN hocama verdiği desteklerinden dolayı çok teşekkür ediyorum.

Bütün bu zaman boyunca bana verdikleri moral ve destekleri için değerli arkadaşlarım Murat ÖGDÜR, İlksen TAVACI ve Dr. Ramazan ÇELİK'e

Aileme ve sonsuz sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim Vilma KARAJ ve kızıma Aisha KARAJ en içten sevgilerimle teşekkür ediyorum.

Ayrıca, kendimi vatanımdaymışım gibi hissettiren bütün İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü hocalarıma ve personelini en içten sevgilerimle teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	VI
1. Özet.....	1
2. Summary.....	2
3. Giriş ve Amaç.....	3
4. Genel Bilgiler	5
4.1 Majör Depresyon.....	5
4.1.1 Anlamı ve tarihçesi.....	5
4.1.2 Çeşitleri.....	6
4.2 Hipokretin ve Reseptörü.....	10
4.3 İntihar ve Major Depresyonla İlişkisi.....	15
4.4 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu	16
4.5 Polimorfizm.....	18
5. Materyal ve Metot	20
5.1 Çalışma Grupları	20
5.1.1 Hasta grubu.....	20
5.1.2 Kontrol grubu	20
5.2 Kullanılan Ölçekler	20
5.2.1 Beck depresyon ölçeği.....	20
5.2.2 Hamilton depresyon ölçeği.....	21
5.3 Deneyde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler	22
5.4 DNA İzolasyonu.....	23
5.5 İzole Edilen DNA Miktarının Ölçümü ve Saflık Tayini	24
5.6 Gerçek Zamanlı PZR Reaksiyonu	24
6. Bulgular	28

7. Tartışma.....	35
8. Sonuç.....	39
9. Kaynaklar	40
10. Ekler	49
11. Özgeçmiş	50



KISALTMALAR

MDB- Majör Depresyon Bozukluğu

HCRT1- hipokretin (oreksin) reseptör 1

HCRT2-hipokretin (oreksin) reseptör 2

DNA- deoksiribonükleik asit

PZR- Polimeraz Zincir Reaksiyonu

OxR1-oreksin reseptörü 1

OxR2-oreksin reseptörü 2

SNP- tek nükleotid polimorfizmi

GABA- γ -Aminobutirik asit

SERT- serotonin transporter

MAOA-Monoamine oksidaz A

CSF- Beyin omurilik sıvısı

VTA- ventral tegmental alan

L-DOPA- dopamine

NAC-nükleus akkumbens

mPFC- orta prefrontal korteks

REM- Hızlı göz hareketi

EEG- Elektro Ensefalo Grafi

GPCR- G proteini-eşleşmeli reseptör

mRNA- Mesajcı Ribonükleik Asit

LH- lateral hipotalamus

FOS- FBJ kemirgen osteosarkoma viral onkogen homologu (proto onkogen)

DMH- dorsomediyal hipotalamus

PFA- perifomikal alan

MAD- majör duygu-durum bozukluğu olan hastalar

HAM-D- Hamilton Depresyon Ölçeği

EDTA- Etilendiamintetraasetik asit

SYBR- Synergy Brands (DNA ya bağlanan floresan ışımaya yapan boya)

SPSS- Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi

1. Özet

Hipokretinler (Oreksinler) hipotalamus nöronlarında sentezlenen endojen nöropeptidlerdir. Bu nöropeptidler ve reseptörleri, beslenme sisteminde, sıvı alımında, enerji homeostazında, endokrin sistemde ve Majör Depresyonda bozuk olan uyuma/uyanıklık dengesinin düzenlenmesinde çok büyük bir rol oynarlar. Son yapılan çalışmalarda oreksinlerin Majör Depresyon Bozukluğunun (MDB) nöro-biyolojisinde büyük rolü olduğunu savunulmaktadır. Çalışmamızın amacı, toplumun önemli bir kesimini etkileyen majör depresyon hastalığına yatkınlık sebebi olabilecek, HCRTR1 ve HCRTR2 genlerindeki üç tane tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) sıklıklarını ve hastalıkla ilişkilerini belirlemek.

Çalışmamız, HCRTR1 geni rs10914456/ rs2271933 ve HCRTR2 geni rs2653349 polimorfizmleri için MD tanısı konmuş 75 hasta ve 87 sağlıklı kontrol grubu ile yapıldı. Polimorfizimler 'Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu' yöntemi ile saptandı. MD şiddetini belirlemek için Hamilton ve Beck Depresyon ölçeklerinden yararlandı.

HCRTR1-rs10914456 genotip frekansları MDB hastalarında CC%33.3, CT %42.7 TT %24, kontrol grubunda ise CC %56.3 CT %32.2 TT %11.5 ve anlamlı olduğu bulundu ($p=0.009$). rs2271933 genotip frekansları MDB hastalarında CC %33.3, CT %40, TT %26.7, kontrol grubunda ise CC %56.3, CT %32.2, TT %11.5 ve anlamlı olduğu bulundu ($p=0,006$). Hamilton skoru cinsiyet açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Beck skoru cinsiyet açısından karşılaştırıldığında, kadınlarda sınırdan anlamlı olarak yüksek bulundu($p=0.059$).

Sonuç olarak bu çalışma Türk toplumunda MDB hastalarında HCRTR1 rs10914456, rs2271933 ve HCRTR2 rs2653349 gen polimorfizmlerinin çalışıldığı ilk araştırmadır. Bu çalışmada MDB hastalarında HCRTR1 rs10914456, rs2271933 polimorfizmleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunduğundan bu polimorfizmler Türk popülasyonunda depresyon hastalarında marker olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Majör depresyon, oreksin, hipokretin, polimorfizm, HCRTR1-2,

2. Summary

Hypocretins (Orexins) and their receptors are neuropeptides which are synthesized in hypothalamic neurons. They play important role in feeding, in energy homeostasis and in endocrinal system. Recent studies suggest that hypocretins plays role in improving the balance of disturbed sleep, that is commonly seen during the major depression disorder (MDD) neurobiology and disease. Aim of this study is to investigate the role of hypocretin receptor genes in patients with MDD, evaluating HCRTR1 and HCRTR2 gene variants to determine the relationship between the occurrence of the disease and clinical development.

In our study were used 75 patients diagnosed with MDD and 87 healthy controls. rs10914456, rs2271933, and rs2653349 polymorphisms of HCRTR1 and HCRTR2 gene respectively were determined with method of Real-time PCR. Hamilton and Beck depression scales were used to determine the severity of MDD.

The patient and control groups were compared in terms of HCRTR1 rs10914456 genotype as; in patients, CC%33.3, CT %42.7 TT %24 , in control group, CC %56.3 CT %32.2 TT %11.5 and allele frequencies did differ significantly ($p=0.009$). rs2271933 genotype frequencies in patients with MDD were determined as CC 33.3%, CT 40%, and TT 26.7%; and in control group CC %56.3, CT %32.2, TT %11.5 and allele frequencies did differ significantly ($p=0.006$). Beck scores encounters in terms of gender, in women's were significantly higher in borderline ($p = 0.059$).

As a conclusion, HCRTR1 rs10914456, rs2271933 and HCRTR2 rs2653349 polymorphisms are studied for the first time in patients with MDD in Turkish population. According to our findings, HCRTR1 rs10914456, rs2271933 polymorphisms are found to be significant in patients with MDD. So these polymorphisms can be used as markers in depressed patients in Turkish population.

Keywords: Major Depression, orexin, hypocretin, polymorphism, HCRTR1-2

3. Giriş ve Amaç

Depresyon psikiyatrik bir bozukluktur. İnsanın ruh halinin değişmesi, neşenin kaybolması ve karamsar düşüncelerinin belirmesiyle karakterize bir ruh hastalığıdır. Depresyona yol açan çeşitli faktörler vardır. Bunlar, yaşama şartları, stres, dış faktörler, genetik faktörlerdir.

Uyku düzeninin bozulması Majör Depresyonunun en önemli belirtilerindendir. Yaşam ve duygu durum için önemli olan uyku düzenini kontrol eden mekanizmalar arasında Hipokretinler ve reseptörleri vardır. Hipokretinler hipotalamus nöronlarında sentezlenen endojen nöropeptidlerdir. Bu nöropeptidler, beslenme sisteminde, enerji homeostazında, endokrin sistemde ve majör depresyonda bozuk olan uyku dengesinin düzenlenmesinde çok büyük bir rol oynarlar. Hipokretin (Hypocretin)-1 ve -2 (ayrıca oreksin-A ve -B olarak da bilinir), preprohipokretin ortak öncülünden işlenen iki nöropeptiddir. Bu nöropeptidlerin bağlandığı iki G-protein-eşli reseptör tipi, HCRTR1 ve HCRTR2 olarak tanımlanmıştır. Hipokretin reseptörlerinin Majör Depresyon Bozukluğunun (MDB) nöro-biyolojisinde büyük rolü olduğu savunulmaktadır. Bu reseptörleri sentezleyen genlerde bazı polimorfik nükleotid değişimleri vardır. Bu değişimlerin depresyonda etkisinin olabileceği bildirilmiştir.

Çalışmamızda toplumun önemli bir kesimini etkileyen majör depresyon hastalığına yatkınlık sebebi olabilecek, HCRTR1 ve HCRTR2 genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) sıklıklarını belirlemeyi planladık. Bu araştırma sonucunda elde edilecek veriler majör depresyon hastalığının çok fazla bilinmeyen genetik kökenine dair ipuçları verebileceği gibi majör depresyona yatkınlıkla ilişkili olarak Türk toplumuna özgü tek nükleotid polimorfizmlerinin de belirlenmesini sağlayacaktır. Bu araştırmanın amacı, hipokretinin MDB ile ilişkisini anlamak, belirli HCRTR1 ve HCRTR2 hipokretin yolundaki genlerin alellerini değerlendirerek hastalığın oluşumu ve klinik özellikleriyle ilişkileri olup olmadığını incelemektir. Bunun için majör depresyonlu 75 hasta ve 87 sağlıklı kontrolden

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Psikiyatri Bölümünden kan alınmıştır. Araştırma sonucunda hipokretin yolu genlerinin hastalıkla ilişkisi gösterilecek ve aynı zamanda Türkiye’de bu genin polimorfizminin sıklığı belirlenecektir.



4. Genel Bilgiler

4.1 Majör Depresyon

4.1.1 Anlamı ve tarihçesi

Depresyon sözcük olarak ‘çökme, alçalma’ demektir. Burada, insanın biyo-psiko-sosyal bütünlüğü içindeki yaşamını en etkin biçimde yönlendiren ruhsal aygıtın işleyişinde bir bozulma ve buna bağlı olarak da bireyin biyo-psiko-sosyal sisteminin gerek kendi içindeki, gerekse dış dünya ile arasındaki işlevsel dengede bir bozulma söz konusudur (1). Tarihsel belgeler depresyonun her zaman insanlığın büyük bir sağlık problemi olduğunu, insanın bu hastalıkla baş edebilmek için etkili bir yöntem bulabilmek için devamlı çaba sarf ettiğini göstermektedir.

Depresyon ilk başta ‘Melankoli’ olarak isimlendirmiştir. Melankoli ile ilgili ilk yazılara İ.Ö. 2. bin yılında Mezopotamya’nın eski metinlerinde rastlanmaktadır. O zamanlarda ruhsal hastalıklar insan ruhunun bir şeytan tarafından kontrol altına alınmasıyla ilişkilendiriliyordu ve rahipler tarafından tedavi edilmekteydi. Diğer fiziksel hastalıklar ise doktorlar tarafından tedavi edilirdi. Depresyon üzerindeki ilk anlayış da onun fiziksel bir hastalıktan çok ruhsal bir hastalık olduğudur(2).

Romalılar ve Yunanlar melankoliye neden olan sebepler hakkında iki farklı görüşe sahiptiler. O zamanın yazılarında ruhsal hastalıklara neden olarak ‘Ruhlar’ ve ‘Şeytanlar’ olduğu yazılmaktadır. İ.Ö. 5. yüzyılda yunan tarihçisi Herodot bir yazısında kötü ruhlar tarafından delirmiş olan bir kral hakkında söz etmiştir. İlk olarak Babil’iler, Çinliler ve Mısırlılar ruhsal hastalıkları bir ‘Şeytan zaptı’ olarak görmüşlerdir ve bu şeytanları insan vücudundan çıkarmak için dövme, hapis ve açlık gibi değişik şeytan çıkarma yöntemleri kullanmışlardır. Buna karşın Romalılar ve Yunanlılar depresyonun psikolojik bir hastalık

olduğu kadar da biyolojik bir hastalık olduğunu düşünüyörlardı (3). O dönemde depresyonun semptomlarını hafifletmek için jimnastik, masaj, özel diyetler, müziği, banyo yapmak ve değişik ekstreler kullanılmaktaydı.

Orta çağda, din inançları, özellikle Hıristiyanlık, zihinsel hastalıkları açıklamada egemen oldular. İnsanların çoğu, ruhsal olarak hasta olan kişilerin şeytanlar ve cadılar tarafından kontrol edildiğini ve deliliklerini diğer insanlara bulaştırabileceğini düşünürlerdi. Doktorların bazıları ruhsal hasatlıkların vücut sıvılarının (body humours) dengesizliği, fakir diyetler ve kederden kaynaklandığına inanmaya devam ediyordu. Depresyonlu insanlar çok uzaklardaki tımarhanelerde atılır ve kilitlenirlerdi.

20. yüzyılda teknolojinin ilerlemesi ve genetik hakkındaki bilginin artmasıyla artık depresyonun kalıtsal olabileceği düşüncesi hakim olmaya başladı (4, 5). Bu yüzyılda depresyon hakkındaki düşünceler ve tedavisi için kullanılan yöntemler dramatik bir şekilde değiştirdi (6). Artık çok ağır olmayan hastalar evlerinde çeşitli ilaçlar verilerek tedavi edilmeye başlandı. Toplum daha fazla bilinçlendi ve hastalara olan destek giderek artmaya başladı.

4.1.2 Çeşitleri

Duygu durum bozukluğu; kişinin düşünce, duygu ve davranışlarının neredeyse tamamını etkileyen, uzun süreli ve bozuk bir duygusal durumdur. Bir sendrom olarak depresyonda, değersizlik ve suçluluk duyguları, ümitsizlik, çaresizlik, ilgisizlik, isteksizlik, intihar düşünceleri anksiyete gibi belirtilerin yanı sıra iştahsızlık, kilo değişiklikleri, kabızlık, psikomotor retardasyon ya da ajitasyon, baş ağrısı ve diğer bedensel belirtilerle giden bir tablo ortaya çıkmaktadır (1).

Depresyonun birkaç çeşidi vardır. Çevre koşullarından, yaşam olaylarından etkilenmeyen ya da az etkilenen depresyon endojen (içsel) depresyon denir. Bazen sıkıcı, üzücü yaşam olayları, olumsuz çevre koşulları kişiyi depresyona iter; buna reaktif (tepkisel) depresyon denir(7). Burada beyindeki biyokimyasal değişiklikler yaşanan olaylara sonuç olarak gelişir, ancak kişinin depresyona yatkın olup olmadığına göre depresyona girip girmeme olasılığı değişir.

Bazı depresyonlar mevsimseldir, her yıl ya da birkaç yılda bir aşağı yukarı aynı zamanlarda tekrarlar. Bunlar döngüsel depresyonlardır. Depresyonun ağır şekline “Majör Depresyon” denir. Majör depresyonda kişinin yaşam enerjisi iyice azalmıştır, hasta bulunduğu yerden çıkmaz, kimseyle görüşmez, ağır suçluluk duyguları ve sıklıkla güçlü intihar fikirleri vardır. Tehlikeli bir durumdur; intiharla ölüm olgularının bir bölümü majör depresyon sonucudur (8).

Majör depresif bozukluk; en az iki hafta boyunca devam eden kötü duygu halinde olma, hiçbir şeyle ilgilenmeme ve yaptıklarından hiçbir keyif almama durumunu tanımlar. Buna ek olarak kişide aşağıdaki semptomların en az dördü olmalı: Yemek yemek, uyumak, düşünmek, konsantre olmak ve karar vermekle ilgili problemler; enerji eksikliği, intihar düşünceleri ve kendini değersiz veya suçlu hissetme.

Duygu durum bozukluklarının nedenleri biyolojik ve psikolojik olmak üzere iki ana başlıkta inceleyebiliriz. Bu etkenlerin birbirini etkilemesi duygu durum bozukluğuna neden olduğu düşünülmektedir.

Biyolojik nedenler

- 1- *Genetik*: Yapılan aile çalışmaları, özellikle bipolar bozukluk olmak üzere duygu durum bozukluklarında genetik geçişin oldukça önemli olduğunu düşündürmektedir.

Yapılan aile çalışmalarında depresif bozukluğu olanların birinci derecede yakınlarında depresyon riski normal kontrollere göre 2-3 kat fazla bulunmuştur (57).

- 2- *Uyku bozuklukları:* Majör Depresyonda özellikle uyku elektroensefalografisinde (EEG) bazı değişikliklere rastlanmaktadır. REM evresinde (hızlı göz hareketleri evresi) kısalma, uyku başlangıcında REM yoğunluğunda artış, ilk REM periyodunun uzaması, uyku başlangıcının gecikmesi ve delta uykusunun azalması gibi değişiklikler görülür (58).
- 3- *Biyolojik aminler:* Depresyonda etkili olduğu düşünülen nörotransmitterler vardır. Bunlar, serotonin, nöradrenalin, dopamin ve öreksindir. Depresyon bu aminlerin dengesinin bozulmasıyla ortaya çıkar. Genellikle miktarları azaldığında ortaya depresyon çıkmaktadır.
- 4- *Nöroendokrin sistemler:* Depresyonda özellikle hipotalamus-hipofiz-adrenal, tiroid gibi akslarda sorun olduğu gösterilmiştir (9, 10, 11).

Psikolojik nedenler

- 1- *Yaşam olayları:* Çevresel stres ve yaşam olayları duygu durum bozukluklarında etkili oldukları düşünülmektedir. Bunu sonucu nörotransmitter düzeylerinde azalma veya artma gibi değişiklikler meydana gelmektedir. Mesela yalnız yaşayan kişilerde depresyon olma sıklığı daha yüksek olmaktadır (1).
- 2- *Hastalık öncesi kişilik:* Hastalık öncesi kesin bir kişilik tipi belirlemesi yapılmamakla beraber hangi kişilik yapısında olursa olsun tüm insanlar uygun şartla altında depresyona girebilirler. Ancak belli başlı özellikleri taşıyan bireyler depresyona daha yatkın hale gelirler. Genel olarak takıntılı, bağımlı, titiz, genellikle kimseyi incitmemeye eğilimli, sorumluluk duygusu güçlü, mükemmeli arayan, onurlarına düşkün, öfke durumlarını dışarı vuramayan, öz-saygılı ve öz-güvenleri için çevreden

desteklere ihtiyaç duyan kişiler ve bu açıdan yeterli destek alamadıkları zaman depresyona yatkın hale gelirler (2)

- 3- *Benlik (ego) psikolojisi*: Bu kurama göre benliğin değerli ve sevilen biri olmak, güçlü ve üstün olmak, iyi ve seven olmak gibi üç alanda özsever amaçları vardır. Eğer ki yaşamda bu istekler engellenir ve gerçekleştirilemezse benlik kaygı ve çatışmaya girer. Özsaygının düşmesini sağlayan özseverin engellenmesi sonucunda depresyon gelişir.
- 4- *Psikoanalitik kuram*: Psikoanalitik kurama göre depresyonda bir sevgi nesnesi kaybından bahsedilmektedir. Çocukluk dönemlerinde anne-çocuk ilişkisini bozuk olması nedeniyle sevgi nesnesine karşı ikili duygular gelişmiştir. Bu sevgi nesnesi özsever desteklerin sağlandığı bir nesnedir. Aynı zamanda bu kişiler cezalandırıcı üstbenlikleri (süperego) ve katı-acımasız olan kişilerdir. Bu nesneye karşı bir kayıp duygusu yaşandığında (bilinçdışı veya gerçek), kayıptan doğan gerginliği azaltmak için sevgi nesnesi içe atılmaya başlar. Sevgi nesnesine karşı olan ikili duygular kişinin kendisine yönelerek özsaygısı azalır, kendini değersiz ve suçlu görmeye başlar ve bunun sonucunda depresyon gelişir.
- 5- *Bilişsel (kognitif) kuram*: Bilişsel psikoloji bilgileri nasıl işlediğimiz, depoladığımız, geri çağırdığımızla ve bilişsel süreçlerin davranışlarımızı ne şekilde etkilediğiyle ilgilenmektedir. Bilişsel gelişme biyolojik olgunlaşmadan kaynaklanan zihinsel süreçlerin ve çevresel deneyimin ilerleyen yeniden yapılanmadır. Hayatımızın erken döneminde yaşanan bütün deneyimler sonucunda bazı temel düşünce ve inanç sistemleri oluşmaktadır. Bunlar kişinin erişkin yaşamında davranışlarını, kendine ve dünyaya bakışını biçimlendirmektedir. Bazı katı düşünce ve inançlar değişime karşı dirençli ve aşırılık özelliklerini taşımaktadırlar. Bu katı düşünce ve inançlar bilişsel

hatalar sonucunda dünyaya, kendine ve geleceğe karşı olumsuz düşünceleri ortaya çıkarır ve sonuç olarak depresyon gelişimine neden olur.

- 6- *Davranışçı kuram*: Depresyonun bir öğrenilmiş çaresizlik durumu olması yaşamımızın erken dönemindeki kişilerin çeşitli davranış biçimlerini öğrenmesi ve yaşamlarında uygulamalarıdır (3).

4.2 Hipokretin ve Reseptörü

1998'lerin başında birbirinden bağımsız iki araştırma grubu dorsal ve lateral hipotalamusun nöronsal perikaryasında bulunan iki hipotalamik nöropeptit tanımlamışlardır (12, 13). 1998'lerin sonuna doğru oreksin A ve oreksin B olarak tanımlanan bu iki nöropeptitin önceden bilinen orphan G proteini-eşleşmeli reseptör (GPCRs) için endojen ligand olarak tanımlandığı ve oreksinlerin dışında preprooreksin ile OX1R ve OX2R olduğu saptanmıştır (14). Oreksinler orphan G proteini-eşleşmeli reseptörleriyle yakın ilişkili olan OX1R ve OX2R'yi aktive ederler. OX1R memelilerde ratlara göre % 94, OX2R ise % 95 homologdur (15).

Oreksinlerin ratlarda yiyecek alımını uyardığı, oreksin mRNA'nın açlıkla düzenlendiği ve aç bırakılan hayvanlarda preprooreksin mRNA düzeyinin yükselmesiyle orantılı olarak yiyecek tüketiminin arttığı gözlenmiştir. Tüm bunlar çerçevesinde bu peptitlere Yunanca'da iştah anlamına gelen "orexis" kelimesinden dolayı oreksin ismi verilmiştir. Terminolojide, sekretinle hipotalamik yerleşiminin benzer olduğu düşünüldüğü için hipokretin (hypocretin) olarak da kullanılabilir (9, 13).

Yapısal olarak 'secretin' hormonuna yakın oldukları için ve görünüşe göre hipotalamusta bol miktarda üretildikleri için DeLecea ve arkadaşları peptidi 'hypocretin' diye adlandırmıştır (9). Bilim çevreleri hangi ismi kullanacağı konusunda henüz bir ortak karara

varmamıştır. Zaman içinde peptidlerin beslenmedeki rollerinin çok küçük olduğu ancak uyku üzerindeki etkilerinin ise daha önemli olduğu anlaşılmıştır(16).

Oreksinler hipotalamik nöronlarında sentezlenen endojen nöropeptitlerdir. Beslemede, endokrin fonksiyonlarda ve 'majör depresyonda' çok görülen uyuma/uyanıklık düzenlenmesinde büyük bir rol oynarlar (17).

Oreksin A 33 amino-asit içerir. N-terminal ucunda piroglutamil radikalini ve iki tane zincirler arası di-sülfit bağı içerir. Oreksin B ise lineer olup 28 amino-asit içerir. Bu iki peptidin ikisi de oreksin-1 (OxR1) ve oreksin-2 (OxR2) reseptörlerinin güçlü antagonistleridir. Oreksin A her iki oreksin reseptörüne de (OxR1 ve OxR2) bağlanabilir. Oreksinlerin ve reseptörlerinin yapısı memelilerde son derece korunmuştur. Oreksin A dizisi birçok memelide benzerlik gösterir (insan, fare, sıçan, inek ve domuz). İntra-serebro-ventriküler oreksin-A besin alımını ve enerji tüketimini artırır. Oreksinler aynı zamanda narkolepsinin patolojisinde önemli rol oynarlar (18).

Son çalışmalar oreksin sisteminin uyuma/uyanıklık, beslenme davranışlarında ve içsel süreçlerde kritik bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır (19). Oreksin yetersizliği sonucu insanlarda, köpeklerde ve kemirgenlerde narkolepsinin ortaya çıkması, oreksin sisteminin uyanıklığın sürdürülmesinde ayrı bir önemi olduğunu göstermektedir. Ayrıca, oreksin eksikliği enerji homeostazında ve nöral sistemlerde bozukluklara da yol açmaktadır (20). Oreksin, uzun ve sağlam bir uyanık dönemi sürdürebilmek için, hipotalamus ve beyin sapı bölgelerinde uyanmayı aktif kılan monoaminerjik ve kolinerjik nöronlarını aktive eder. Oreksin nöronları limbik sistemden bolca sinyal alırlar. Oreksin nöronları aynı zamanda beslenmeyi düzenleyen hipotalamik yaysı çekirdeğiyle de karşılıklı bağları vardır (11, 21). Ayrıca oreksin nöronlarının leptin ve glikoz gibi çevresel metabolik işaretleyicilerine karşı cevap verebilmesi, enerji homeostazı ve uyanıklık konumu arasındaki bağlantıyı sağlamada

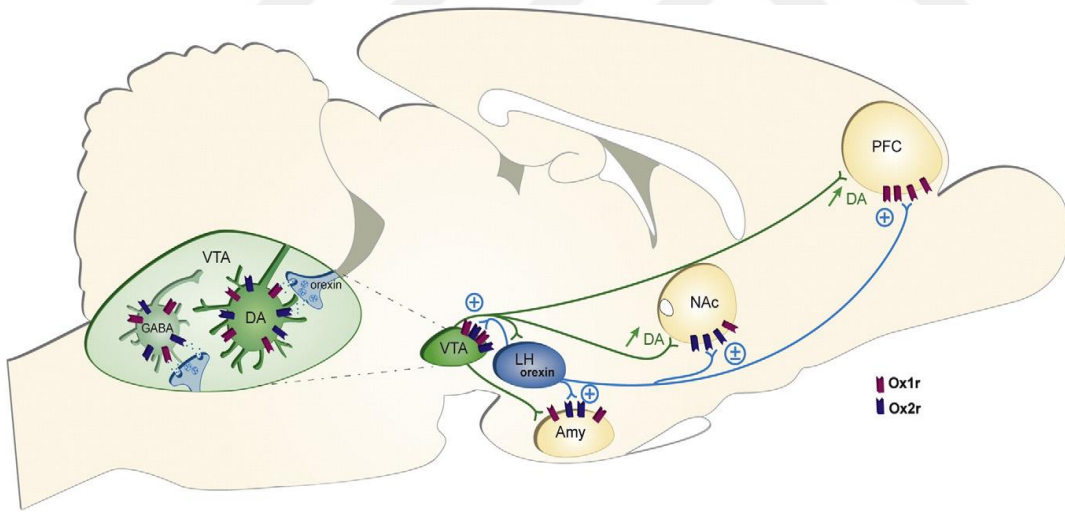
bu nöronların önemli bir rol oynadıklarını düşündürmektedir (22). Oreksin nöronları ventral tegmental nükleonundaki dopaminerjik uyarma sistemiyle de bir bağlantısı vardır. Bu bulgular oreksin sisteminin uygun uyanıklık durumunu sürdürmek için duygu, uyarma ve enerji homeostazını düzenleyen sistemlerle etkileşime girdiğini düşündürmektedir(23, 24). Bu nedenle, bu sistem, uyku bozukluğu, obezite, duygusal stres ve bağımlılık tedavisi için potansiyel olarak önemli bir terapötik hedef olmaktadır(25).

Hipokretinler çeşitli fonksiyonlarda iş görürler; bunlar beslenme, sıvı alımı, uyku uyanıklık devresi, kardiyovasküler fonksiyonlar, hormon salgılanması, ağrı iletimi ve otonom fonksiyonlardır(18, 19, 26,). Ayrıca hipokretinlerin uyuşturucu bağımlılığında da önemli rol oynadıkları belirtilmiştir (23, 24). Yukarıda belirtilen fonksiyonlar depresyonlu hastalarda önemli derecede bozulmuştur. İnsanlarda yapılan bazı araştırmalar hipokretinin depresyondaki ilişkisine yoğunlaşmıştır. 24 saatlik serebrospinal sıvıda (CSF) eksojenik kaynaklı hipokretin-1 konsantrasyonu, depresyonlu hastalarda sağlıklı olanlara göre anlamlı olarak artış gösterdiği gözlenmiştir(27). Farklı teşhisi olan ve intihar etmeyi denemiş hastalarda spesifik psikiyatrik belirtiler ile CSF-hipokretin A konsantrasyonu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur(28, 29). Hastalarda artmış halsizlik ve hareketlerde yavaşlama ve azalma düşük oreksin seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu gibi semptomlar özellikle depresif bozukluğu olan psikiyatrik hastalarda ortaktır. Aynı makalede oreksin nörotransmisyonunun gelecekte psikiyatrik semptomların tedavisi için potansiyel bir tedavi edici hedef olacağı belirtilmektedir(28).

Oreksin ile ilgili ilk çalışmalar oreksin nöronlarının ventral tegmental alanının (VTA) nöronlarındaki dopamini (DA) etkilediği göstermiştir(30). Oreksinlerin, Medialprefrontal korteksin (Mpf) yanı sıra Nucleus accumbens (NAc) ve amigdala gibi VTA ve mezokortikolimbik hedef bölgelerine etkili ilaç geliştirme çalışmaları yapılmıştır (31).Kosten ve arkadaşlarının (32) çalışmalarında, mikrodializ araştırmaları ilaç suistimalinin hücre dışı

NAC'ın DA düzeyini arttırdığını (33) ve bu sistemdeki nöroadaptasyonlar ile bağımlılığını etkilediği düşünülmektedir (32). Hipotalamik oreksin sistemi, mezokortikolimbik yolağı ile etkileşime girmek için beynin birçok bölgelerine konumlanmıştır, ancak çalışmaların çoğu VTA ya odaklanmıştır (Şekil-1).

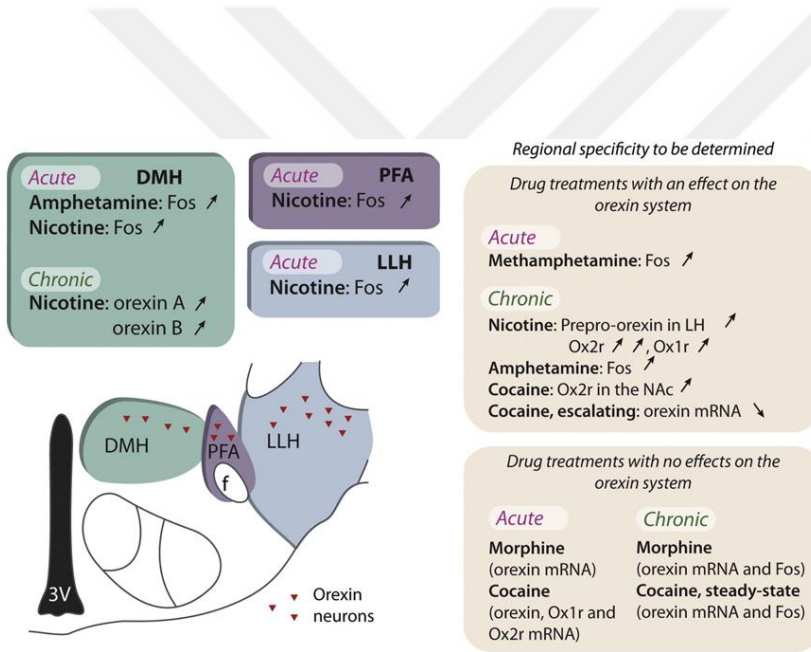
Uyuşturucuların oreksin sistemi üzerinde doğrudan etkileri vardır ve bunlar uyuşturucuya özgüdür. Bundan başka, bazı maddelere cevap olarak LH içinde bölgesel farklılıklar olduğu bildirilmiştir. Örneğin metamfetamin, amfetamin ve nikotinin akut yolla uygulanması sonucu oreksin nöronlarının FOS gen ifadesi artmıştır. Nikotin gibi bazı uyuşturuculara cevap olarak LH'nin lateral ve medial kısımlarındaki oreksin nöronlarındaki FOS gen ifadesi artmaktadır (34).



Şekil-1: Oreksin sisteminin ve mezokortikolimbik uyarma yollarıyla etkileşiminin şematik gösterimi (31). Oreksin şemaları (mavi oklar) ventral tegment alanını (VTA), amygdalayı (Amy) ve prefrontal kompleksi (PFC) aktive eder. Çelişkili veriler oreksinin NAC'ın hem aktivasyonunu hem de inhibisyonunu kontrol ettiğini belirtmektedir.

VTA da, oreksin hem dopamin hem de GABA nöronlarını aktive eder. Oreksinin VTA'yı aktifleştirmesi sonucu NAc ve PFC çıkıntıları vasıtasıyla dopaminin (DA) artması gerçekleştirilir. Oreksinin PFC üzerindeki etkisi OxR1 in uyarılması sonucu olur. Oreksinin NAc ve amygdala üzerindeki etkisi ise OxR2 nin uyarılması sonucu olur.

Ancak, amfetamin özellikle DMH ta nöronların Fos ifadesini arttırır, ancak PFA ve LLH'ta arttırmamaktadır. Aksine, kokainin akut uygulaması oreksin reseptörlerinin ve peptidlerinin seviyelerini etkilememektedir (31). Aynı zamanda, morfinin akut uygulaması da oreksinin mRNA seviyelerini etkilememektedir (Şekil-2).



Şekil-2: LH ta oreksin hücrelerinin üzerinde akut veya kronik madde uygulanmasının etkileri.

DMH- dorsal orta hipotalamus; PFA- perifornical alan; 3V-ventrikül, LLH- lateral hipotalamusun yan kısmı; f-fornix (31).

4.3 İntihar ve Majör Depresyonla İlişkisi

İntihar son zamanlarda dünyada sıkça görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur (35). Her yıl yaklaşık olarak bir milyon insan intihar sonucu ölmektedir, bu her 40 saniyede bir ölüm demektir. İntihar sorunu Çin'de çok yaygındır, dünya çapındaki intiharların %30 u Çin'de gerçekleşmektedir (36). Majör Depresyon Bozukluk (MDB), Bipolar Bozukluk (BB) gibi majör duygu-durum bozukluğu olan hastalar (MAD) intihar davranışına daha yatkındırlar (37, 38). Bunların arasında MDB'li olanlar daha büyük risk taşımaktadır(39). Ancak, BB'li ve MDB'li hastaların yarısından fazlası intihar davranışında bulunmamaktadır (40, 41). Bu nedenle, popülasyonlarda artmış intihar riskinde MAD dışındaki faktörlerin intiharda büyük bir rol oynadığı düşünülmektedir. Örneğin; saldırgan/ dürtüsel kişilik özellikleri, siklotimik huy, erken yaşta yaşanan olumsuz olaylar, duygu-durum bozukluğu ailesel hikâyesi, ağır major depresif dönem öncesinde mevcut intihar girişimi/ düşüncesi, psikotik özellikler, atipik özellikler, Eksen I ve Eksen II bozukluğu ve ümitsizlik (41). MAD hastaları da bu risk faktörlerinin çoğunu taşımaktadır.

MDB insanların işteki performansın düşmesinde, ilişkilerdeki ve sosyal aktivitelerde katılımı iyice düşüren bir hastalıktır. Ayrıca, majör depresyon intihar düşüncesi, intihar teşebbüsünü ve tamamlanan intihar ölümü riskini artırır. Kronik stresin majör depresyonunu tetikleyebileceğini gösteren kanıtlar vardır (42).

Şu anki intihar risk faktörleri ile ilgili araştırmalar çoğunlukla intihar etmekten ziyade intihar girişiminde bulunan hastalarla ilgilidir (40). Ancak, intihar eden hastaların yaklaşık yarısının önceden hiçbir intihar davranışı göstermediği bildirilmiştir. Böylece, intiharı ilgilendiren önemli öngörü bilgileri henüz tanımlanamamıştır. İntihar teşebbüsünün risk faktörleri intihar edenlerde farklılık göstermektedir. İntihar risk düzeyi intihar

araştırmalarında hassas bir göstergedir. İntihar risk düzeyi intiharın tamamlanması ile ilişkilidir (39).

4.4 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real time PCR) sistemi bir PZR reaksiyonu oluşurken monitörden izlenilmesidir. Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu teknolojisi son zamanlarda çok sayıda cihaz seçeneği ve floresan prob sistemi ile gelişmiştir (43).

Gerçek zamanlı PZR teknolojisinin sahip olduğu teknik özellikler geniş bir uygulama alanında kullanım imkânı sağlamıştır. Kapalı bir tüpte gerçekleşen polimeraz zincir reaksiyonu için floresan yöntemlerinin geliştirilmesi nükleik asit miktarını belirleme sürecini çok büyük ölçüde basitleştirmiştir (44).

Biyolojik örneklerden elde edilen DNA'nın kopya sayısını sayısal değerlere dönüştürme ve mRNA'nın düzeyini sayısal olarak belirleyebilme en çok kullanılan alanlarını oluşturmaktadır. Bu amaçlarla kullanımının yanı sıra tek nokta mutasyonlarını belirleme, patojen belirleme, ilaç tedavisinde etkinliği, DNA hasarı belirleme, metilasyon tespiti, genomik veya viral DNA'ların DNA kopya sayısı ölçümlerini, SNP genotiplemesi, kromozom bozukluklarının tespiti gibi çalışmalarda da kullanım alanları mevcuttur (45).

“Gerçek Zamanlı PZR” teknolojisi DNA'nın ya da mRNA örneklerinin çoğaltımını ve ürünlerinin miktarını tek bir tüpte tespit edebilen son yıllarda popüler olmuş bir yöntemdir. Floresan ışımaya tekniklerinin moleküler genetik yöntemlerde kullanıma girmesi ile birlikte bilinen “PZR” geliştirilerek oluşturulan teknik gen anlatım çalışmalarına ivme kazandırmıştır. “PZR” çoğaltımını görünür hale getiren ve monitörize edebilen floresan işaretli prob ve

boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı bir çoğaltma yöntemi olması dolayısıyla “Sayımsal Gerçek Zamanlı –Polimer Zincir Reaksiyonu (RT-PZR)”, “İzlenebilir Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PZT)”, “Floresan Sayımsal RT-PZR” gibi farklı adlarla da isimlendirilmektedir (46).

Özgül Olmayan Belirleme Sistemi SYBR Green I

Spesifik olmayan çift zincirli DNA'nın çoğaltımında “SYBR Green I” yöntemi kullanılır. Bu yöntemde kullanılan floresan boya sadece çift zincirli DNA'ya bağlandığından çoğalan DNA miktarındaki artışa paralel olarak “Real-time” PZR cihazında okunan floresanın miktarı da eş zamanlı olarak artar. “SYBRGreen I” en fazla kullanılan boya çeşididir ve 497 nm dalga boyunda yükseltgenir ve 520 nm dalga boyunda indirgenir. Çift sarmal DNA'nın küçük oluşuna bağlanan boya 30 amplifikasyon döngüsü sonrası yalnızca aktivitesinin % 6'sını kaybeder. Çoğaltımın başında reaksiyon karışımında çift zincirli DNA molekülü, primerler ve “SYBR Green I” boyası bulunmaktadır. Bağlı olmayan serbest DNA molekülü çok az bir floresan ışımaya yapar. Primerler bağlanıp uzama başladığında boya molekülü çift zincirli DNA'nın arasına girer ve floresan yayılımı başlar. Başlangıçtaki döngü boyunca sinyal zayıftır; ürün miktarı arttıkça floresan miktarı hızla artar ve bu artış “Real-time” cihazının monitöründen izlenebilir.

Özgül Belirleme Sistemi

DNA parçasının çoğaltılmak istenilen bölgesi özel bir bölge ise bu bölgenin saptanmasında floresan işaretli problar kullanılır. Bu tekniklerin başında “TaqMan” prob, “Molecularbeacon”, “Light-up” prob, hibridizasyonprob ve “Scorpion” primer gibi floresan işaretli problar kullanılarak yapılanlardır.

Hibridizasyon Prob Yöntemi

Bu yöntem Roche tarafından "LightCycler®" PZR cihazında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. İki farklı prob tasarlanmıştır. 3' ucunda floresan işaretli boya (donor), 5' ucunda alıcı boya (acceptor) bulunmaktadır. PZR reaksiyonu sırasında bu iki prob hedef nükleik asit dizisine bağlanıp birbirine yaklaştığında bir enerji yayılımı olur (FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer). Enerji "donor" boyadan "acceptor" boyaya transfer olur. Bu enerji transferi sonucunda oluşan floresan miktarı PZR süresince oluşan ürün miktarı ile doğru olarak artar (47).

4.5 Polimorfizm

Polimorfizm biyolojide, iki veya daha fazla farklı fenotipin aynı tür popülasyonunda bulunmasıdır. Terim kökeni bakımından Yunanca "çok" (πολύ-poli) ve "biçim" (μορφή-morpho) kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşmuştur. Başka bir deyişle, birden fazla biçimin bulunması olarak da tanımlanabilir. Bu şekilde sınıflandırılabilme için, biçimlerin aynı zaman diliminde aynı türde bulunmaları gerekir(48).

Doğada sıkça rastlanan polimorfizm; biyoçeşitlilik, genetik varyasyon ve adaptasyon ile ilişkilidir.

Evrimsel süreçte tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerdeki genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotid düzeyinde olmak

üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotid tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır(49). Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucu genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır. İnsan genom projesi çalışmalarıyla tüm genomdaki genlerin ve nükleotid dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki farklılıklarını belirleme çalışmaları hız kazanmıştır.

Genetik varyasyon, genetikte popülasyon içinde ya da popülasyonlar arasında ortaya çıkabilen, tür içerisinde veya gen alellerinde gözlemlenen farklılıklardır. Genetik varyasyon, doğal seçilim için "hammadde" sağladığından önem taşır. Genetik varyasyon, bir genin dizisinde meydana gelen değişimler olan mutasyon sebebiyle meydana gelirler(50). Poliploidi veya poliploidik kromozomlarda oluşan mutasyona bir örnek olarak verilebilir. Poliploidi, çok kromozomlu bir biçimde organizmaların genetik varyasyonlarında kromozom çiftleri yerine üç veya daha fazla kromozom set dizilerinin oluşabilmesi durumudur.

Popülasyon içindeki bireyler arasında var olan bir genetik varyasyon çeşitli düzeylerde kendini gösterebilir(51). Hem fenotipik varyasyon hem de nicel (kantitatif) özellikler (çoklu genler tarafından kodlanan ve sürekli değişken olabilen özellikler, örneğin köpeklerde bacak uzunluğu) ile ayrık özellikler (farklı kategorilere giren ve bir veya iki gen tarafından şifrelenen özellikler, örneğin bazı bitkilerde beyaz, pembe veya kırmızı renkli taç yaprak oluşumu) gözlemlenerek genetik varyasyonları tespit etmek mümkündür.

Çalışmamızda Majör Depresyon teşhisi konmuş 75 hasta ve 87 kontrolde HCRTR1 ve HCRTR2 genlerindeki rs10914456, rs2271933 ve rs2653349 polimorfizmler ile hastalık arasındaki ilişki gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu metodu ile araştırılmıştır

5- Materyal ve Metot

5.1 Çalışma Grupları

5.1.1 Hasta grubu

Çalışma grubumuzu Aralık 2012-Şubat 2013 ayları arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Psikiyatri Polikliniği'ne başvuran yaşları 18-73 arasında değişen toplam 75 majör depresyonlu hasta oluşturmaktadır. Hastalara Hamilton ve Beck Depresyon Ölçekleri uygulanmıştır. Bu çalışmada bizim için önemli ölçüt bu hastaların hayatında en az bir defa majör depresyon geçirmiş olmasıdır. Hastaların büyük çoğunluğu ilaç kullanmakta olduğundan depresyon belirtileri azalmıştır. Bundan dolayı psikiyatriye ilk başvurduklarındaki Hamilton ve Beck depresyon skorları esas alınmıştır. Depresyon hastalarının 58'i kadın 17'si erkektir.

5.1.2 Kontrol Grubu

Kontrol grubumuzu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Merkez Acil Fikret Biyal laboratuvarına başvuran sağlıklı yaşları 15-65 arasında değişen 87 kişi oluşturmaktadır. Enfeksiyon hastalığı, kronik hastalık, metabolik hastalık veya depresyon ilaç kullanımı öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Kontrol grubunun 65'i kadın 22'ü erkek 'ten oluşmaktadır. Kontrol ve hasta grubu yaş, cinsiyet ve depresyon ölçekleri skorları tablosu, Tablo I'de gösterilmiştir.

5.2 Kullanılan Ölçekler

5.2.1 Beck depresyon ölçeği

Ölçeğin özgün formunu Beck ve arkadaşları tarafından hazırlanmıştır. Beck Depresyon Envanteri'nin 1961 ve 1978 tarihlerine ait iki versiyonu vardır (52).Her iki

versyon da Türkçeye çevrilmiş ve geçerlik güvenilirlik çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmada Hisli (1988) tarafından uyarlanan 1998 versiyonu kullanılmıştır (53). Beck Depresyon Envanteri formunda 21 belirti kategorisinin her biri için dört seçenek vardır. Hastadan uygulama günü de dâhil son bir hafta içinde kişinin kendini nasıl hissettiğini en iyi ifade eden cümleyi seçerek işaretlemesi istenir. Her madde 0 ile 3 arasında puan alır. Alınabilecek en yüksek puan 63'tür. Toplam puanın yüksek oluşu depresyon düzeyinin ya da şiddetinin yüksek oluşunu gösterir. On beş üzerindeki kişilere uygulanabilir. BDE'nin Türkçe versiyonu geliştirilirken kesme noktaları incelenmiş; <10 puan alanların depresyonu olmadığı ya da hafif depresyonu olduğu, 10-18 puan alanların hafif-orta düzeyde depresyona sahip oldukları, 18-29 puan alanların orta-ağır düzey depresyon, 30-63 puan alanların ise ağır depresyona sahip oldukları belirtilmiştir.

5.2.2 Hamilton depresyon ölçeği

Hamilton Depresyon Ölçeği (HAM-D), hekimlerin hastalardaki depresyonun şiddetini ölçmek için kullanabildikleri 17 soruluk bir testtir. Max Hamilton tarafından yayımlanmıştır (54) ve halen depresyonun derecesini ölçmek için en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Son bir hafta içerisinde yaşanan depresyon belirtilerini sorgulayan 17 maddeden oluşmaktadır. HAM-D ilk kez hastanede yatan hastalar için geliştirilmiş olduğu için daha çok depresyonun melankolik ve fiziksel belirtileri üzerinde durur. Ölçeğin uykuya dalma güçlüğü, gece yarısı uyanma, sabah erken uyanma, somatik belirtiler, zayıflama ve iç görü ile ilgili 0-2, diğer maddeleri 0-4 arasında derecelendirilmiştir. En yüksek 53 puan alınır. 0-7 puan depresyon olmadığını, 8-15 puan arası hafif derecede depresyonu, 16-28 arası orta derecede depresyonu, 29 ve üzeri ağır derecede depresyonu göstermektedir. Ölçeğin geçerlilik ve güvenilirliği Akdemir ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (55).

5.3 Deneyde Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

Real Time LightCycler cihazı: RocheLightCycler1.5

Santrifüj cihazı; Universal 30F Hettich

Su Banyosu: Kotterman

Vortex: Velp

Buzdolabı: BOSCH

Derin dondurucu: BOSCH

Etüv: Memmert

Eppendorf tüpleri: ısıya dayanıklı malzemeden yapılmış, 0.2, 0.5 ml, ve 1.5 ml hacim kapasiteli.

Pipet ucu: 10 µL, 100 µL, 200 µL, 1000 µL DNA, RNA free, steril filtreli pipet uçları

Mikro pipet: Costar, Pipetman

Distile su cihazı (Millipore)

Etüv (Memmert)

DNA izolasyonkiti(roche)

LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe, 96rxn (roche)

İso Propanol(merck)

5.4 DNA İzolasyonu

Tüm hasta ve kontrol grubundan EDTA'lı tüplere alınan 5 ml periferik kandan DNA izole edilmiştir. Genomik DNA izolasyonu ticari DNA izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır.

İzlenen izolasyon aşamaları aşağıdaki gibidir:

- 1- 300 µl kan 1.5 ml ependorf tüplere mikro pipetle aktarılır.
- 2- 200 µl %1'lik bağlama tamponu eklenir.
- 3- +4⁰C de saklanan proteinaz K eklenir.
- 4- 20 sn karıştırılır.
- 5- 10 dak 70⁰C inkübasyon.
- 6- 100 µl izopropanol eklenir, karıştırılır.
- 7- Filtreli tüplere aktarılır.
- 8- 9000 rpm de 1 dakika santrifüj edilir, protein kısımları ayrılır. Toplama tüpleri atılır.
- 9- 500 µl inhibitör uzaklaştırma tamponu eklenir.
- 10- 9000 rpm de 1 dakika santrifüj edilir. Toplama tüpleri atılır.
- 11- Elüsyon tampon 70⁰C de ısıtılır.
- 12- 500 µl yıkama tamponu ile yıkama yapılır. 9000 rpm de 1 dakika santrifüj edilir.
Toplama tüpleri atılır.
- 13- 500 µl yıkama tamponu ile tekrar yıkama yapılır. 9000 rpm de 1 dakika santrifüj edilir.
- 14- Alt tüpler değiştirilmeden tekrar 11000 rpm de 30 saniye santrifüj edilir.
- 15- Filtreli tüpler 1.5 ml lik ependorf tüplere yerleştirilir.
- 16- 200 µl elüsyon tamponu konulur.
- 17- 9000 rpm de 1 dakika santrifüj edilir, filtreler atılır.
- 18- DNA lar -20⁰C de saklanır.

5.5 İzole Edilen DNA Miktarının Ölçümü ve Saflık Tayini

İzole edilen DNA'nın miktarı ve saflığı Nanodrop marka ND 1000 model spektrofotometre ile optik dansite değeri ölçülerek hesaplandı. Nükleik asitlerin konsantrasyonu genellikle bir köre (boş örnek) karşı 260 nm'de A ölçülerek belirlenir. Kontaminasyonların var olup olmadığı ise oran hesaplaması ile ayırt edilebilir. Proteinler 280 nm'de absorbladığı için A_{260}/A_{280} oranı nükleik asidin saflığını hesaplamak için kullanılır. Saf DNA yaklaşık 1.8, saf RNA ise yaklaşık 2.0 değerini vermelidir. 230 nm'de görülen absorpsiyon, örneğin karbonhidratlar, peptitler, fenoller veya aromatik bileşenler gibi maddelerle kontaminasyonu gösterir. Saf örneklerde A_{260}/A_{230} oranı yaklaşık 2.2 olmalıdır.

5.6 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

DNA izolasyonu takiben Gerçek Zamanlı (real-time) PZR ile rs10914456, rs2271933 ve rs2653349 polimorfizmlerine ait genotipler belirlendi. Gerçek Zamanlı PZR de hibridizasyon problemleri kullanılarak HCRT1 geninin rs10914456 ve rs2271933 ve HCRT2 geninin rs2653349 genotipleri tayin edilmiştir(56).

Metot aşağıdaki gibidir:

LightSNiP Rs2271933 HCRTR1 için:

Bir reaktif şişesi 96 LightCycler reaksiyonu yürütmek için gerekli bütün primer ve problemleri içerir. Kullanmadan önce kısa bir karıştırma yapılır. 100 µl PZR özel distile su eklenir, vorteksle karıştırılır.

20 µl PZR reaksiyonu için 1 µl Reagent mix kullanılır.

- a. H₂O 10.4 µl
- b. Reagent mix (PrimerProb karışımı) 1.0 µl
- c. Master mix Fast Start 2.0 µl
- d. MgCl 1.6 µl

DNA 1-5 µl (≈ 50 ng)

RocheLightCycler1.5 cihazı programı:

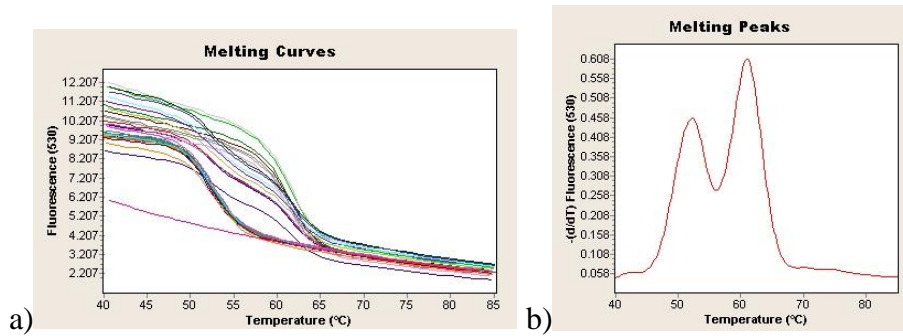
Denatürasyon: 95°C

Kantifikasyon: 95°C: 10sn / 60°C: 10sn / 72°C: 15sn

Toplam 45 siklus

Erime: 95°C: 30sn / 40°C: 2 dak / 75°C

Soğuma: 40°C: 30sn



Şekil 3. rs2271933 erime eğrisi (a) ve erime pikleri (b).

LightSNiP rs10914456 HCRTR1 için:

Bir reaktif şişesi 96 LightCycler reaksiyonu yürütmek için gerekli bütün primer ve probları içerir. Kullanmadan önce kısa bir karıştırma yapılmalıdır. 100 µl PZR özel distile su eklenir, karıştırılır.

20 µl PZR reaksiyonu için 1 µl Reagent mix kullanılır.

- H₂O 10.4 µl
 - Reagent mix (Primer Prob karışımı) 1.0µl
 - Master mix Fast Start 2.0µl
 - MgCl 1.6µl
- DNA 1-5 µl (≈ 50 ng)

RocheLightCycler1.5cihazıprogramı:

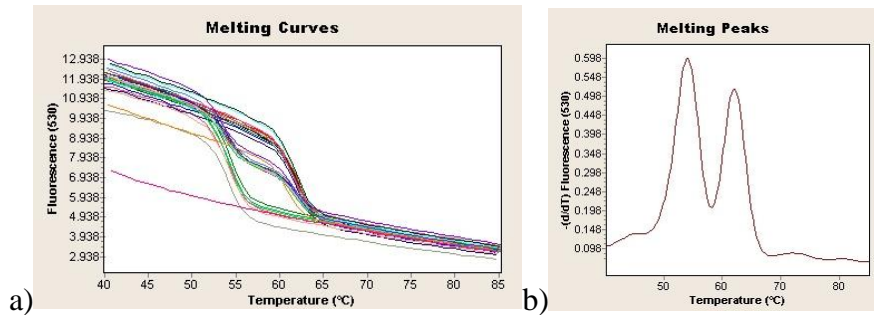
Denatürasyon: 95⁰C

Kantifikasyon: 95⁰C: 10sn / 60⁰C: 10sn / 72⁰C: 15sn

Toplam 45 siklus

Erime: 95⁰C: 30sn / 40⁰C: 2 dak / 75⁰C

Soğuma: 40⁰C: 30sn



Şekil 4. rs10914456 erime eğrisi (a) ve erime pikleri (b).

Bu tez çalışmasının biyoistatistiksel çözümlemesinde SPSS 2.1.0 program kullanıldı. Sayısal değerler ortalama, standart sapma, frekans ve yüzde değerleri ile tanımlanmıştır. Hastalar ve kontroller arasındaki alel frekansları ve genotip yüzdelerin karşılaştırılmasında Ki-kare ve Fisher kesin olasılık testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubu yaş ve cinsiyet kıyaslamasında t testi kullanılmıştır.



6- Bulgular

Çalışma grubumuzu İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Psikiyatri Polikliniği'ne başvuran yaşları 18-73 arasında değişen toplam 75 majör depresyonlu hasta oluşturmaktadır. Hastalara Hamilton ve Beck Depresyon Ölçekleri uygulanmıştır. Depresyon hastalarının 58'i kadın 17'si erkektir. Kontrol grubumuzu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Merkez Acil Fikret Biyal laboratuvarına başvuran sağlıklı yaşları 17-65 arasında değişen 87 kişi oluşturmaktadır. Enfeksiyon hastalığı, kronik hastalık, metabolik hastalık veya depresyon ilaç kullanımı öyküsü olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Kontrol grubunun 65'i kadın 22'ü erkek' ten oluşmaktadır. Kontrol ve hasta grubu yaş, cinsiyet ve depresyon ölçekleri skorları tablosu, Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Çalışma gruplarına ait demografik veriler.

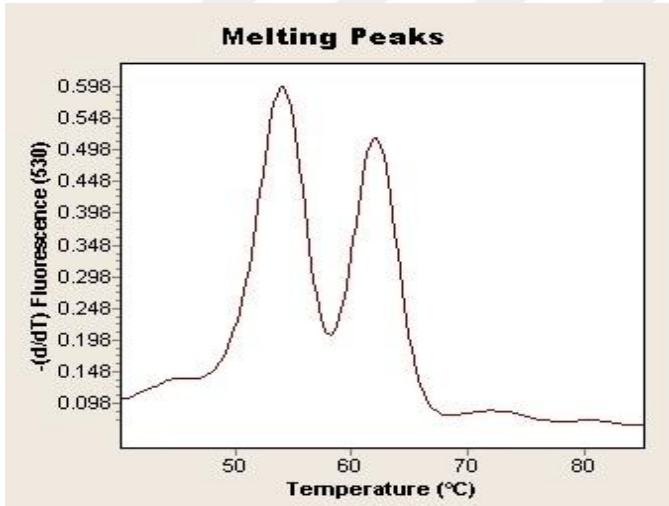
	Hastalar	Kontroller	p
Yaş	41.32+/-13.378	38.28+/-10.939	0.119
Cinsiyet(kadın/erkek)	58/17	65/22	0.717
Sigara (içen/içmeyen)	46/29		
Alkol (içen/içmeyen)	6/69		
Madde (içen/içmeyen)	3/72		
Ek psikiyatrik hastalık (olan/olmayan)	11/64		
İlaç durumu (içen/içmeyen)	67/8		

Hasta ve Kontrol gruplarına ait demografik özellikler değerlendirildiğinde yaş ve cinsiyet açısından fark olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$) (Tablo 1).

Tablo 2. Hastalarda ve kontrollerde rs10914456 alel ve genotip dağılımı.

rs10914456	CC	CT	TT	p	C alel frekansı	T alel frekansı	p
Hastalar (%)	25(33.3%)	32 (42.7%)	18 (24.0%)	0.009	0.55	0.45	
Kontroller (%)	49(56.3%)	28 (32.2%)	10 (11.5%)		0.72	0.28	<0.001

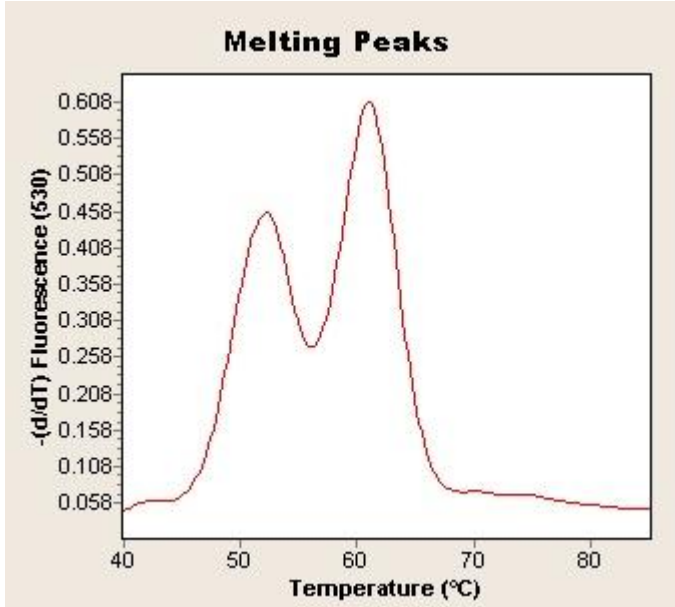
Hasta ve kontrol grupları, HCRTR1 rs10914456 genotip ve alel frekansları açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0.009$, $p<0.001$) (Tablo 2).

**Şekil 6.**rs10914456 CT genotipinin Tm derecesi şematik gösterimi.

Tablo 3.Hastalarda ve kontrollerde HCRTR1 rs2271933 alel ve genotip dağılımı.

rs2271933	CC	CT	TT	p	C alel frekansı	T alel frekansı	p
Hastalar (%)	25(33.3%)	30(40.0%)	20(26.7%)	0.006	0.53	0.47	
Kontroller (%)	49(56.3%)	28(32.2%)	10(11.5%)		0.72	0.28	<0.001

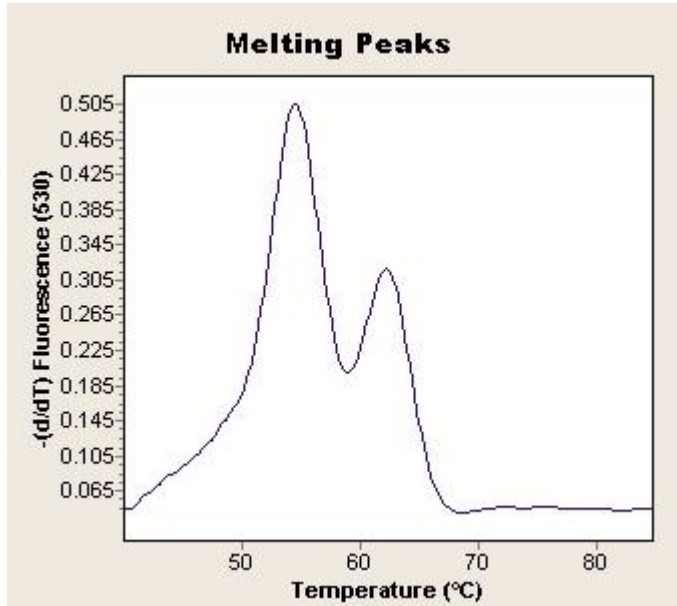
HCRTR1 geni rs2271933 genotip frekansları, MDB hastalarında %33.3 CC, %40 CT, %26.7 TT; kontrol grubunda %56.3 CC, %32.2 CT, %11.5 TT olarak belirlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.006$). Alel frekansları karşılaştırıldığında C ve T aleli arasında anlamlı bir fark bulundu($p<0.001$) (Tablo 3).

**Şekil 7.**HCRTR1 rs2271933 CT genotipinin Tm derecesi şematik gösterimi.

Tablo 4. Hastalarda ve kontrollerde rs2653349 alel ve genotip dağılımı.

rs2653349	GG	AG	AA	p	G alel frekansı	A alel frekansı	p
Hastalar (%)	59 (78.7%)	15 (20.0%)	1 (1.3%)	0.494	0.89	0.11	0.414
Kontroller (%)	72 (82.8%)	15 (17.2%)	0 (0%)		0.91	0.09	

Hasta ve kontrol grupları, HCRTR2 rs2653349 genotip ve alel frekansları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4).

**Şekil 8.**rs2653349 AG genotipinin Tm derecesi şematik gösterimi.

Tablo 5. Beck ve Hamilton skoru ile cinsiyet karşılaştırılması.

	Kadın	Erkek	p
Beck Skoru	27.53+/-12.420	21.00+/-12.010	0.059
Hamilton Skoru	27.69+/-9.701	22.88+/-8.108	0.067

Beck skoru cinsiyet açısından karşılaştırıldığında, kadınlarda sınırda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.059$). Hamilton skoru cinsiyet açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 5).

Tablo 6. rs10914456 ile Hamilton ve Beck skoru karşılaştırılması.

rs10914456	CC	CT	TT	p
Hamilton skoru	23.04+/-9.66	28.66+/-9.24	27.89+/-8.92	0.838
Beck Skoru	24.12+/-13.72	27.78+/-11.70	25.67+/-12.62	0.485

rs10914456 polimorfizmi ile Hamilton skoru karşılaştırıldığında, Hamilton skoru CC genotipine sahip hastalarda 23.04 ± 9.65 , CT genotipinde 28.66 ± 9.23 , TT genotipinde ise 27.89 ± 8.92 olarak belirlendi ($p=0,838$) (Tablo 6).

rs10914456 polimorfizmi ile Beck skoru karşılaştırıldığında, Beck skoru CC genotipine sahip hastalarda 24.12 ± 13.72 , CT genotipinde 27.78 ± 11.70 , TT genotipinde ise 25.67 ± 12.62 olarak belirlendi ($p=0.485$) (Tablo 6).

Tablo7.Hasta grubunda Sigara içen ve içmeyenlerde rs10914456 genotip dağılımı.

rs10914456	CC	CT	TT	p
Sigara içmeyen	19 (41.3%)	18 (39.1%)	9 (19.6%)	0.074
Sigara içen	6 (20.7%)	14 (48.3%)	9 (31.0%)	

Sigara içen ve içmeyenlerde, HCRTR1rs10914456 genotip ve alel frekansları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 7).

Tablo 8.Hasta grubunda Cinsiyet ile sigara kullanımının karşılaştırılması.

	Kadın	Erkek	p
Sigara içmeyen	40 (69.0%)	6 (35.3%)	0.012
Sigara içen	18 (31.0%)	11 (64.7%)	

Sigara durumu ile cinsiyet karşılaştığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p= 0.012$) (Tablo 8).

Tablo 9.Hasta grubunda Cinsiyet ile alkol kullanımının karşılaştırılması.

	Kadın	Erkek	p
Alkol içmeyen	57 (98.3%)	12 (70.6%)	0.002
Alkol içen	1 (1.7%)	5 (29.4%)	

Alkol kullanımı ile cinsiyet karşılaştığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p= 0.002$) (Tablo 9).

Tablo 10. Cinsiyet ile Hamilton ve Beck skoru karşılaştırması.

	Kadın	Erkek	p
Hamilton skoru	27.69+/-9.71	22.88+/-8,11	0.067
Beck Skoru	27.53+/-12.42	21.00+/-12,01	0.059

Cinsiyet ile Hamilton ve Beck skorlarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 10).

7- Tartışma

Depresyon psikiyatrik bir bozukluktur. Depresyon her zaman insanlığın büyük bir sağlık problemi olmuştur, tarihsel belgeler bunu kanıtlamaktadır, aynı zamanda insanın bu hastalıkla baş edebilmek için etkili bir yöntem bulma çabaları devam etmektedir (1). Normal bir duygu (mood), bir belirti ve sendrom grubu olarak ele alınabilecek olan depresyon, psikolojide bilişsel, algısal ve/veya motor performansta azalmayı anlatmak için kullanılır. Klinik psikiyatride ise normal duygu oynamalarından melankoliye (psikotik) kadar uzanan geniş bir yelpazede görülen değişiklikleri içerir.

Depresyonu tetikleyen çeşitli nedenler vardır. Bunlardan çevresel faktörler, kronik stres ve genetik faktörlerin MDB'ye neden olabileceği bildirilmektedir (57). Depresyonda iştah kaybı ve uyku düzeninin bozulması gibi semptomlar gözlenmektedir. Bu iki sistemi düzenleyen genetik mekanizmaların içinde OX1-2 ve peptidlerinin önemli rolleri vardır. Bu peptidler reseptörler yardımıyla hücre içine girerler. Bazı araştırmalar oreksin sisteminin uyuma/uyanıklık, beslenme davranışlarında önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır (15, 19, 58). Hipokretin yetersizliği bulunan insanlarda, köpeklerde ve kemirgenlerde narkolepsi ortaya çıkar, bu sonuçlar oreksin sisteminin uyanıklığın sürdürülmesinde rolü olduğunu göstermektedir(59). Yetersiz hipokretin düzeyleri enerji homeostazında ve nöronal sistemlerde bozukluklara da yol açmaktadır (20). HCRTR1ve HCRTR2reseptörlerini ve nöropeptidleri sentezleyen genlerdeki çeşitli polimorfizmlerin depresyonla ilişkisini araştıran çalışmalar vardır(60).

Çalışmamızda Türk popülasyonunda major depresyon bozukluğu bulunan hastalarda ve kontrollerde HCRTR1 genindeki rs10914456 ve rs2271933 ileHCRTR2 rs2653349 polimorfizmlerini karşılaştırdık.HCRTR1 genindeki rs10914456 ve rs2271933

polimorfizmleri hasta ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur.HCRTR2 geni rs2653349 polimorfizmi ise hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı olarak bulunamamıştır. Rainero ve arkadaşlarının İtalyan popülasyonunda yaptıkları araştırmalarında, rs2271933 polimorfizmini hasta grubu ve kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuşlardır (56). Bizim çalışmamızda da bu polimorfizmde MDB hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Rainero ve arkadaşlarının bulguları bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir. HCRTR1geni rs2271933polimorfizmi migren hastalığında çalışılmış ve bu hastalıkta da polimorfizm hastalarda kontrolle göre anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur (60). Japonya’da yapılan bir araştırmada HCRTR1 geni rs2271933 polimorfizminin şizofrenide görülen polidipsi ve hiponatremi ile ilişkili olduğu bulunmuştur(61).

Yapılan bir çalışmada bipolar bozukluğu olan depresyonlu hastalarda aşırı uyku ile HCRTR2 gen polimorfizmi arasında anlamlı bir fark olduğu bildirilmiştir (62). Yapılan diğer bir çalışmada majör depresyonlu hastalar ile kontrollerde HCRTR1 gen ekspresyonu ve gen metilasyonu araştırılmış ve gen ekspresyonunun arttığı, ayrıca stresin artmasıyla metilasyonunun da arttığı gösterilmiştir (17).

İtalyan popülasyonunda yapılan bir araştırmada HCRTR1 rs10914456 polimorfizmi ile majör depresyon bozukluğu arasında bir ilişki bulamamışlar (56). Bizim araştırmamızda, bu polimorfizmde hasta ve kontrol arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Türk popülasyonunda yaptığımızbu araştırmada hasta grubunda CCgenotipi %33.3, CT genotipi %42.7, TTgenotipi %24; kontrol grubu CC genotipi %56.3, CT genotipi %32.2 ve TT genotipi % 11.5 olarak tespit edilmiştir.

HCRTR1 geni rs2271933 genotip frekansları, MDB hastalarında %33.3 CC, %40 CT, %26.7 TT; kontrol grubunda %56.3 CC, %32.2 CT, %11.5 TT olarak belirlendi ve anlamlı bulundu. Bu gen için alel frekansları karşılaştırıldığında C ve T aleli arasında anlamlı bir fark bulunmuştur.

Araştırmamızda MDB da HCRTR2 geni rs2653349 polimorfizmi incelenmiş hasta ve kontrol grubu arasında bu polimorfizm ve alel frekansları açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Aynı polimorfizm migren ve küme baş ağrısı hastalıklarında farklı popülasyonlarda araştırılmış ancak hastalık ile polimorfizm arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (63,64, 65, 66). Ancak, İtalya’da yapılan bir çalışmada küme baş ağrısı hastalığı ile HCRTR2 geni rs2653349 polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur (67). Ayrıca İsveç popülasyonunda yapılan bir araştırmada panik bozukluğu olan hastalarda HCRTR1 geni ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunamamış ancak HCRTR2 geni ile panik bozukluk arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (68). İsveç popülasyonunda yapılan araştırma bizim bulgularımızı desteklememektedir. Bunun nedeni toplumlar arasındaki genetik farklılık ve hasta sayısındaki değişiklik olabilir.

Majör depresyon bozukluğuna ve buna bağlı olarak intihar girişimine neden olan farklı genlerdeki polimorfizmler de araştırılmıştır. Tiroid hormon reseptörü geni üzerinde bulunan HOPA (Tiroid reseptör koaktivatörü) polimorfizminin MDB ile ilişkili olduğu bulunmuştur (69). Bu genin polimorfizminin şişmanlığa ve MDB eğilimini arttırdığı tespit edilmiştir. HOPA geninin hipokretin gibi iştahın, duygu durumunun ve psikiyatrik davranışların düzenlenmesinde benzer bir rolü olduğu tespit edilmiştir. TNF-alpha -308G>A polimorfizminin majör depresyon bozukluğu olan kişilerdeki intihar girişimini arttırdığı saptanmıştır (51, 70). Gu L.ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serotonin reseptör HTR2A polimorfizminin şizofreni hastalarında kontrollere göre farklılık olduğu, bipolar bozukluk ve

MDB hasta ve kontrollerde önemli bir değişiklik göstermediği bulunmuştur (71). Görüldüğü gibi depresyon oluşumunda çok çeşitli genler rol oynamaktadır. Hastalık multi faktöriyel kalıtım göstermektedir.

Çalışmamızda rs10914456 polimorfizmi için Hamilton skoru karşılaştırıldığında, Hamilton skoru CC genotipine sahip hastalarda 23.04 ± 9.65 , CT genotipinde 28.66 ± 9.23 , TT genotipinde ise 27.89 ± 8.92 olarak belirlenmiştir ve genotipler arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Cinsiyet açısından Beck ve Hamilton skoru karşılaştırılması yapıldığında Beck skorunda kadınlarda sınırdan bir anlamlılık görülürken Hamilton skorunda herhangi bir fark görülmemiştir.

Çalışmamızda Türk toplumunda MDB hastalarında HCRTR1 geni rs10914456, rs2271933 ve HCRTR2 geni rs2653349 polimorfizmleri araştırılmış, HCRTR1 rs10914456, rs2271933 polimorfizmleri MDB hastalarında kontrollere göre istatistiksel anlamlı olarak farklı bulunmuştur. HCRTR2 geni rs2653349 gen polimorfizmlerinde ise hasta kontrol arasında bir fark bulunmamıştır. Adli bilimler açısından bu polimorfizmler araştırılıp suçta ve intihara eğilimi olanların depresyona yatkın olup olmadığı belirlenebilir.

8- Sonuç

Sonuç olarak bu alışma Türk toplumunda MDB hastalarında HCRTR1 rs10914456, rs2271933 ve HCRTR2 rs2653349 gen polimorfizmlerinin çalışıldığı ilk araştırmadır. Bulgularımıza göre, MDB hastalarında HCRTR1 rs10914456,rs2271933 polimorfizmleri anlamlı olarak bulunduğundan bu polimorfizmler Türk popülasyonunda depresyon hastalarında marker olarak kullanılabilir. Bu konuda daha fazla hastayı içeren geniş kapsamlı araştırmaların yapılması gerekmektedir.



9- Kaynaklar

1. Engin E. Depresyon Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller. *İ.Ü.C.T.F sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu*. Yayın no:17, 1999
2. <http://www.gulfbend.org/>(31.08.2016)
3. <http://www.dualdiagnosis.org/mental-health-and-addiction/history/>(31.08.2016)
4. Fava M., Kendler K.S. Major depressive disorder. *Neuron*. 2000 Nov;28(2):335-41.
5. Northoff G. Gene, brains, and environment-genetic neuroimaging of depression. *Curr Opin Neurobiol*. 2013 Feb;23(1):133-42. doi: 10.1016/j.conb.2012.08.004. Epub 2012 Sep 17.
6. Cohen-Woods S., Craig I.W., McGuffin P. The current state of play on the molecular genetics of depression. *Psychol Med*. 2013 Apr;43(4):673-87. doi: 10.1017/S0033291712001286. Epub 2012 Jun 12.
7. Alastair V. ve Willis K. S. The orexin/hypocretin system: a critical regulator of neuroendocrine and autonomic function, *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2003; 24: 141-150
8. KaanArslanoğlu: Psikiyatri el kitabı. *Adam Yayınları*. 2002
9. De Lecea L., Kilduff T.S., Peyron C., Gao X., Foye P.E., Danielson P.E. ve ark. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1998;95(1): 322–327.
10. George W. Orexins: A newly discovered family of hypothalamic regulators of food intake. *Nutrition Reviews*. 1998; Vol.56 No.6
11. Harris G.C., Wimmer M., Aston-Jones G.. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature*. 2005 Sep 22;437(7058):556-9. Epub 2005 Aug 14.

12. Gautvik K.M., de Lecea L., Gautvik V.T., Danielson P.E., Tranque P., Dopazo A., Bloom F.E., Sutcliffe J.G. Overview of the most prevalent hypothalamus-specific mRNAs as identified by directional tag PCR subtraction. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1996; 93: 8733-8738
13. Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R.M., Tanaka H. ve ark. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 1998 Mar 6;92(5):1 page following 696.
14. Wise A., Jupe S.C., Rees S. The identification of ligands at orphan G-protein coupled receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:43-66.
15. De Lecea L. and Ramon H. Hypocretin (orexin) regulation of sleep-to-wake transitions. *Frontiers in Pharmacology.* 2014; Review Article.
16. Thompson M.D., Comings D.E., Abu-Ghazalah R., Jereseh Y., Lin L., Wade J. ve ark. Variants of the orexin2/hcrt2 receptor gene identified in patients with excessive daytime sleepiness and patients with Tourette's syndrome comorbidity. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004 Aug 15;129B(1):69-75.
17. Rotter A., Asemann R., Decker A., Kornhuber J., Biermann T. Orexin expression and promoter-methylation in peripheral blood of patients suffering from major depressive disorder. *J Affect Disord.* 2011 Jun;131(1-3):186-92. doi: 10.1016/j.jad.2010.12.004. Epub 2011 Jan 5.
18. Martynska L., Wolinska-Witort E., Chmielowska M., Bik W., Baranowska B. The physiological role of orexins. *Neuro Endocrinol Lett.* 2005 Aug;26(4):289-92.
19. Siegel J.M. Hypocretin (orexin): role in normal behavior and neuropathology. *Annu Rev Psychol.* 2004;55:125-48.

20. Reynolds SL., Haley W.E., Kozlenko N. The impact of depressive symptoms and chronic diseases on active life expectancy in older Americans. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2008 May;16(5):425-32. doi: 10.1097/JGP.0b013e31816ff32e.
21. Harris G.C., Aston-Jones G. Arousal and reward: a dichotomy in orexin function. *Trends Neurosci*. 2006 Oct;29(10):571-7. Epub 2006 Aug 14.
22. Leininger G.M., Opland D.M., Jo Y.H., Faouzi M., Christensen L., Cappellucci L.A. ve ark. Leptin action via neurotensin neurons controls orexin, the mesolimbic dopamine system and energy balance. *Cell Metab*. 2011; 14(3): 313–323.
23. Baumann C.R., Bassetti CL.. Hypocretins (orexins): clinical impact of the discovery of a neurotransmitter. *Sleep Medicine*. 2005;9:253-268
24. Baumann C.R., Bassetti CL.Hypocretins (orexins) and sleep-wake disorders. *Lancet Neurol*. 2005; 4: 673-82
25. Winrow C.J., Tanis K.Q., Reiss D.R., Rigby A.M., Uslaner J.M., Uebele V.N., ve ark. Orexin receptor antagonism prevents transcriptional and behavioral plasticity resulting from stimulant exposure, *Neuropharmacology*. 2010; 58: 185–194.
26. Shirasaka T., Nakazato M., Matsukura S., Takasaki M., Kannan H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am J Physiol*. 1999 Dec;277(6 Pt 2):R1780-5.
27. Salomon R.M., Ripley B., Kennedy J.S., Johnson B., Schmidt D., Zeitzer J.M., Nishino S, Mignot E. Diurnal variation of cerebrospinal fluid hypocretin-1 (Orexin-A) levels in control and depressed subjects. *Biol Psychiatry*. 2003 Jul 15;54(2):96-104.
28. Brundin L., Petersén A., Björkqvist M., Träskman-Bendz L. Orexin and psychiatric symptoms in suicide attempters. *J Affect Disord*. 2007 Jun;100(1-3):259-63. Epub 2006 Dec 4.

29. Brundin L., Björkqvist M., Petersén A., Träskman-Bendz L. Reduced orexin levels in the cerebrospinal fluid of suicidal patients with major depressive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2007 Sep;17(9):573-9. Epub 2007 Mar 7.
30. Baldo, B.A., Daniel, R.A., Berridge, C.W., Kelley, A.E.. Overlapping distributions of orexin/hypocretin- and dopamine-beta-hydroxylase immunoreactive fibers in rat brain regions mediating arousal, motivation, and stress. *J. Comp. Neurol.* 2003; 464, 220–237.
31. Sharf R., Sarhan M., Dileone R.J. Role of orexin/hypocretin in dependence and addiction. *Brain Res.* 2010 Feb 16;1314:130-8. doi: 10.1016/j.brainres.2009.08.028. Epub 2009 Aug 20.
32. Kosten T.R., Markou A., Koob G.F. Depression and stimulant dependence: neurobiology and pharmacotherapy. *J Nerv Ment Dis.* 1998 Dec;186(12):737-45.
33. Carboni E., Imperato A., Perezzi L., Di Chiara G. Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats, *Neuroscience.* 1989; 28(3):653-61.
34. Pasumarthi, R., Reznikov, L.R., Fadel, J. Activation of orexin neurons by acute nicotine. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 535, 172–176
35. Hawton K. ve van Heeringen K. Suicide. *Lancet.* 2009 Apr 18;373(9672):1372-81. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60372-X
36. Phillips M.R., Li X., Zhang Y. Suicide rates in China, 1995-99. *Lancet.* 2002 Mar 9;359(9309):835-40.
37. Pompili M., Ruberto A., Girardi P., Tatarelli R. Suicidality in DSM IV cluster B personality disorders. An overview. *Ann Ist Super Sanita.* 2004;40(4):475-83.

38. Pompili M., Innamorati M., Raja M., Falcone I., Ducci G., Angeletti G. ve ark. Suicide risk in depression and bipolar disorder: Do impulsiveness-aggressiveness and pharmacotherapy predict suicidal intent? *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2008 Feb;4(1):247-55.
39. Rihmer Z., Kiss K. Bipolar disorders and suicidal behaviour. *Bipolar Disord.* 2002;4 Suppl 1:21-5.
40. Rihmer Z. Suicide risk in mood disorders. *Curr Opin Psychiatry.* 2007 Jan;20(1):17-22.
41. Rihmer Z., Gonda X. Prevention of depression-related suicides in primary care. *Psychiatr Hung.* 2012; 27(2):72-81.
42. Chikako K. and Kouichi Y. Molecular epidemiology of major depressive disorder, Springer. 2009; 14:71–87.
43. Tuba G. GenAnlatımınınKantitatifAnalizi “Real-Time PCR”. *TurkiyeKlinikleri J Med Sci.* 2007;27:763-767
44. Kubista M. Emerging real-time PCR applications. *Drug Discovery Word summer.* 2008; 57-66.
45. Tuba G. ve Kılıç A. “Real-Time PCR” veUygulama Alanları. *TürkBilimselDerlemelerDergisi.* 2009; 2(2): 43-45
46. Bustin S.A., Mueller R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and potential use in clinical diagnosis. *Clin. Science.* 2005; 109: 365-379.
47. Klein D. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations. *Trends Mol Med.* 2002 Jun;8(6):257-60.
48. Schork N.J., Fallin D., Lanchbury J.S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet.* 2000 Oct; 58(4):250-64.


49. Huang S.Y., Lin M.T., Lin W.W., Huang C.C., Shy M.J., Lu R.B. Association of monoamine oxidase A (MAOA) polymorphisms and clinical subgroups of major depressive disorders in the Han Chinese population. *World J Biol Psychiatry*. 2009;10(4 Pt 2):544-51. doi: 10.1080/15622970701816506.
50. Ekmekçi A., Konaç E., İlke Önen H. Gene polymorphism and genetic susceptibility to cancer, *Marmara Medical Journal*. 2008; 21(3): 282-295
51. Kim Y.K., Hwang J.A., Lee H.J., Yoon H.K., Ko Y.H., Lee B.H. ve ark. Association between norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphisms and suicide in patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*. 2014 Apr;158:127-32. doi: 10.1016/j.jad.2014.01.018. Epub 2014 Feb 11.
52. Beck A.T., Brown G., Steer R.A., Eidelson J., Riskind J.H. Differentiating anxiety and depression: A test of the cognitive content-specificity hypothesis. *Journal of Abnormal Psychology*, Vol 96(3), Aug 1987, 179-183.
53. Durak A. ve Palabıyıkoglu R. Beck umutsuzluk ölçeği geçerlilik çalışması. *Kriz Dergisi* 2(2): 311-319
54. Max Hamilton. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1960; 23, 56.
55. Akdemir A, Örsel S.D., Dağ I. ve ark. Hamilton depresyon derecelendirme ölçeği (HDDÖ)' nin geçerliliği-güvenirliliği ve klinikte kullanımı. *3P DERĐİSİ*. 1996; 4 (4)
56. Rainero I., Ostacoli L., Rubino E., Gallone S., Picci L.R., Fenoglio P.ve ark. Association between major mood disorders and the hypocretin receptor 1 gene. *J Affect Disord*. 2011 May;130(3):487-91. doi: 10.1016/j.jad.2010.10.033. Epub 2010 Nov 10.

57. Levinson D.F. The genetics of depression: a review. *Biol Psychiatry*. 2006 Jul 15;60(2):84-92. Epub 2005 Nov 21.
58. Dugovic C., Shelton J.E., Yun S., Bonaventure P., Shireman B.T., Lovenberg T.W. Orexin-1 receptor blockade dysregulates REM sleep in the presence of orexin-2 receptor antagonism. *Frontiers in Neuroscience*.2014; Vol:8 Art:28.
59. Sakurai T. Orexin deficiency and narcolepsy. *Curr Opin Neurobiol*. 2013 Oct;23(5):760-6. doi: 10.1016/j.conb.2013.04.007. Epub 2013 May 7.
60. Rainero I., Rubino E., Gallone S., Fenoglio P., Picci L.R., Giobbe L., Ostacoli L., Pinessi L. Evidence for an association between migraine and the hypocretin receptor 1 gene. *J Headache Pain*. 2011 Apr;12(2):193-9. doi: 10.1007/s10194-011-0314-8. Epub 2011 Feb 23.
61. Fukunaka Y., Shinkai T., Hwang R., Hori H., Utsunomiya K., Sakata S. et al. The orexin 1 receptor (HCRTR1) gene as a susceptibility gene contributing to polydipsia-hyponatremia in schizophrenia. *Neuromolecular Med*. 2007;9(4):292-7. Epub 2007 Aug 1.
62. Cho C.H., Lee H.J., Woo H.G., Choi J.H., Greenwood T.A., Kelsoe J.R. CDH13 and HCRTR2 May Be Associated with Hypersomnia Symptom of Bipolar Depression: A Genome-Wide Functional Enrichment Pathway Analysis *Psychiatry Investig*.2015; Jul;12(3):402-7. doi: 10.4306/pi.2015.12.3.402. Epub 2015 Jul 6.
63. Rainero I., Rubino E., Valfrè W., Gallone S., De Martino P., Zampella E., Pinessi L. Association between the G1246A polymorphism of the hypocretin receptor 2 gene and cluster headache: a meta-analysis. *J Headache Pain*. 2007 Jun;8(3):152-6. Epub 2007 Jun 11.


64. Schürks M., Kurth T., Geissler I., Tessmann G., Diener H.C., Roskopf D. The G1246A polymorphism in the hypocretin receptor 2 gene is not associated with treatment response in cluster headache. *Cephalalgia*. 2007 Apr;27(4):363-7.
65. Schürks M., Limmroth V., Geissler I., Tessmann G., Savidou I., Engelbergs J. ve ark. Association between migraine and the G1246A polymorphism in the hypocretin receptor 2 gene. *Headache*. 2007 Sep;47(8):1195-9.
66. Pinessi L., Binello E., De Martino P., Gallone S., Gentile S., Rainero I. ve ark. The 1246G-->A polymorphism of the HCRTR2 gene is not associated with migraine. *Cephalalgia*. 2007 Aug;27(8):945-9. Epub 2007 Jul 23.
67. Rainero I., Gallone S., Rubino E., Ponzo P., Valfre W., Binello E. ve ark. Haplotype analysis confirms the association between the HCRTR2 gene and cluster headache. *Headache*. 2008 Jul;48(7):1108-14. doi: 10.1111/j.1526-4610.2008.01080.x. Epub 2008 Apr 8.
68. Annerbrink K., Westberg L., Olsson M., Andersch S., Sjödin I., Holm G., Allgulander C., Eriksson E. Panic disorder is associated with the Val308Iso polymorphism in the hypocretin receptor gene. *Psychiatr Genet*. 2011 Apr;21(2):85-9. doi: 10.1097/YPG.0b013e328341a3db.
69. Philibert R., Caspers K., Langbehn D., Troughton E.P., Yucuis R., Sandhu H.K., Cadoret R.J. The association of a HOPA polymorphism with major depression and phobia. *Compr Psychiatry*. 2002 Sep-Oct;43(5):404-10.
70. Omrani M.D., Bushehri B., Bagheri M., Salari-Lak S., Alipour A., Anoshae M.R., Massomi R. Role of IL-10 -1082, IFN-gamma +874, and TNF-alpha -308 genes polymorphisms in suicidal behavior. *Arch Suicide Res*. 2009;13(4):330-9. doi: 10.1080/13811110903266418.

71. Gu L., Long J., Yan Y., Chen Q., Pan R., Xie X., ve ark. HTR2A-1438A/G polymorphism influences the risk of schizophrenia but not bipolar disorder or major depressive disorder: a meta-analysis. *J Neurosci Res.* 2013 May;91(5):623-33. doi: 10.1002/jnr.23180. Epub 2013 Feb 13.

10- Ekler



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



İstanbul/...../.....
14 Ocak 2013

Sayı : 83045809/278
Konu: Adli Tıp Enstitüsü Müdürlüğüne

İLGİ: 13.12.2012 tarihli,2009 sayılı yazınıza;

Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalının Yüksek Lisans öğrencisi Vilson KARAJ'ın yürütücülüğünde, İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Müjgan CENGİZ'in danışmanlığında Prof.Dr.Neşe KOCABAŞOĞLU, Uzm. Öğr.Dr. Gökçen ÇELİK GÖZÜBATIK Araş.Gör.MSc.Burcu BAYOĞLU'nun yardımcı araştırmacı olarak görev aldıkları "Majör Depresyonda Hipokretin Reseptör Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" konulu Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazımız ve ekleri 08 Ocak 2013 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup;Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Desteği alınması koşuluyla,etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir. Bilgilerinizi durumun Adli Tıp Enstitüsü Anabilim Dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.

Eki:
1 dosya

Öğrenci İstanbul
...../...../.....

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
Adli Tıp Enstitüsü

GELEN EVRAKL

Sayı : 203/192

Tarih : 29/1-2013

Not: Yanıtlarımızda yazımızın özetini belirtilmiş/rica olunur.
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/İSTANBUL
Telefon 0 (212) 414 32 52 Dkhan: 22700 Faks: 0 (212) 652 00 40 e-posta:ctfetik@istanbul.edu.tr.

11-ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	VİLSON	Soyadı	KARAJ
Doğ.Yeri	ELBASAN	Doğ.Tar.	14.10.1987
Uyruğu	ARNAVUTLUK	TC Kim No	
Email	vilsonkaraj@gmail.com	Tel	05415302922

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü	2016
Lisans	İ.Ü. Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2011
Lise		

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çokiyi	Çokiyi	Çokiyi		
Türkçe	Çokiyi	Çokiyi	Çokiyi		
İtalyanca	Çokiyi	İyi	İyi		
Arapça	Çokiyi	Çokiyi	Çokiyi		

*Çokiyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çokiyi