

**Şizofreni Hastalarında Tedaviye Direncin Mekanizmasıyla
İlişkili mikroRNA'ların Saptanması**

Program Kodu: 1002

Proje No: 114S158

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Hasan HERKEN

Danışman:

Prof. Dr. Hakan AKÇA

Araştırmacı:

Şakir AKGÜN

ARALIK 2015

DENİZLİ

ÖNSÖZ

Bu proje kapsamında, şizofreni tedavisinde karşılaşılan en büyük problemlerden olan direnç gelişiminde rol alabilecek olan aday mikroRNA'ların belirlenmesi amaçlanarak bu mikroRNAların moleküler belirteç olarak kullanılabilme ihtimalleri anlık gösterimli (real-time) PCR ile yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, tek maddi desteği bize sunan TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
1.GİRİŞ	1
2.LİTERATÜR ÖZETİ	4
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	8
3.1 Olguların Seçimi	8
3.2 Örneklerin Toplanması ve Plazmadan miRNA İzolasyonu	8
3.3 miRNA cDNA sentezi.....	8
3.4 Real-Time PCR (qRT-PCR).....	9
3.5 miRNA hedeflerinin belirlenmesi	9
3.6 İstatistiksel Analiz	9
4.BULGULAR.....	10
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	14
KAYNAKLAR.....	17
EKLER	20

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Çalışma grubunun sosyodemografik ve klinik özellikleri.....	11
Tablo 2. Tedaviye yanıt veren ve tedaviye direnç gösteren hastalardaki kopya sayıları belirlenen miRNAların sağlıklı gruba oranlandıklarındaki kat olarak artış ve azalışlarının gösterilmesi. (Kırmızı: ekspresyon artışı, Yeşil: ekspresyon azalışı, Sarı: tedaviye direnç gösterenlerde artarken, yanıt verenlerde azalanları göstermektedir. * P < 0,05).....	12
Tablo 3. Tedaviye yanıt veren ve direnç gösteren hastaların sağlıklı gruba oranlandıklarında tedaviye direnç gösteren grup ortalamasında ekspresyon düzeyi arta, tedaviye yanıt verenlerin grup ortalamalarındaki ekspresyon düzeyi azalan miRNAlar ve şizofreni ile alakalı olan tahmini hedef genleri (Kırmızı yazılanlar literatürde de aynı miRNA'nın hedefinde gösterilenler, P<0,05).	13

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan miR-181b-3p ve miR-301a-3p'nin tedaviye yanıt veren, sağlıklı ve tedaviye direnç gösteren hasta gruplarının karşılaştırılması. Gruplar arasındaki miRNA ekspresyon düzeyleri *C.elegans* miR-39'a göre normalize edilmiştir.*
P<0,05.....13

ÖZET

Şizofrenide tedaviye direnç en önemli zorluklardan biridir. Şizofreni hastalarında başarılı bir tedavi stratejisi geliştirmek için antipsikotik ilaç tedavisine olan yanıtın önceden belirlenebilmesi oldukça önemlidir. Tedaviye direnç mekanizmalarında görev aldığı tespit edilen çeşitli genler (5-HTT, DRD1, DISC1 vb.) ile yapılan genetik çalışmalar daha ziyade polimorfizm çalışmaları şeklindedir. Gen ekspresyonunun kontrolünde önemli bir paya sahip olan mikroRNAlar, bu tür sınırlayıcı genetik çalışma alanına sahip hastalıklar için ideal bir moleküler teşhis elementi olmaktadır. Hem periferal dokularda hem de serumda stabil kalabilmeleri, genetik çalışmalar için mikroRNAları etkili bir hedef haline getirmektedir. Kanser ve birçok hastalığın moleküler teşhisinde yeni bir alan açmaktadırlar. Bu çalışmada amaç, şizofreni tedavisine direnç gösteren ve iyi yanıt veren hastalar arasındaki mikroRNA ilişkisini incelemek ve tedaviye direncin tespit edilebilmesi için aday mikroRNAları tanımlamaktır. Çalışma için; sağlıklı, tedaviye iyi yanıt veren ve tedaviye direnç gösteren hasta gruplarının plazmaları kullanıldı. Çalışma için şizofreni ile ilişkili 29 mikroRNA seçildi ve ekspresyon düzeyleri qRT-PCR ile tespit edildi. Analizler sonucunda, tedaviye dirençli şizofreni grupta, tedaviye iyi yanıt veren grup ile karşılaştırıldığında miR-181b-5p, miR-195-5p ve miR-301a-3p ekspresyonlarının anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($P < 0,05$). Bu mikroRNAlar, şizofrenide tedaviye dirençte potansiyel teşhis aracı olabilir. Bunların doğruluğu için ileri ve geniş ölçekte çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Şizofreni, mikroRNA, tedaviye direnç, tedaviye yanıt, qRT-PCR.

ABSTRACT

Treatment resistant is one of the most challenge in schizophrenia. To be able to predict of responses to antipsychotic therapy will be essential for a successful therapy strategies in schizopherina patients. Genetic studies that generated on various genes which determined acting on treatment-resistant (5-HTT, DRD1, DISC1 etc) are limited the level of polymorphisms. MicroRNAs which have a especial value on regulation of gene expression are an ideal molecular diagnostic element for the disorders that have a limited work area. MicroRNAs stay stable in peripheral tissues and serum. Therefore, microRNAs are to be an efficient target for genetic studies and open up a new area on molecular diagnosis for cancer and other disease. The aim of this study investigated relationship with microRNA between treatment-responsive schizophrenia patients and treatment-resistant schizophrenia patients and determined candidate microRNAs for treatment-resistant diagnosis. Plasmas of control, treatment-responsive and treatment-resistant groups are used in this study. Schizophrenia-associated 29 microRNA picked up and are measured using qRT-PCR the expression levels among the selected groups. In results, expression level of miR-181b-5p, miR-195-5p and miR-301a-3p were determined to significantly upregulate in treatment-resistant group compared to treatment-responsive ($P < 0,05$). These microRNAs are potential indicators for treatment-resistant schizophrenia patients. To confirm these results, the further investigations are needed.

Keywords: Schizophrenia, microRNA, treatment-resistant, treatment-response, qRT-PCR,

1.GİRİŞ

Şizofreni, insanın gerçek dünyadan uzaklaşarak kendine özgü bir dünya oluşturduğu; duygu, düşünce ve davranışlarda önemli değişikliklerin görüldüğü ağır bir ruhsal bozukluktur (Ozturk 1990). Organik ve psikososyal kökenli bir beyin hastalığı olduğu düşünülen şizofreni hastalığının toplumda görülme sıklığı %0,5-1'dir (Tandon, Keshavan et al. 2008). Ülkemizde 700.000 şizofreni hastası olduğu öngörülmektedir (1999). Sıklıkla genç yaşta başlar. 40'lı yaşlardan sonra da ortaya çıkabilmektedir. Hasta yavaş yavaş içine kapanıp kendine özgü bir dünyanın içine girer. Bazı hastalarda başlangıcı sinsi ve yavaş bir ilerleyiş gösterir (Goldner, Hsu et al. 2002). %1-1.5 olan şizofreninin yaşam boyu yaygınlığı toplumdan topluma farklılık göstermektedir. Sıklığı ise DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) verilerine göre binde 0.85' tir (Tandon, Keshavan et al. 2008). Şizofreni için risk faktörleri arasında;

1. Hamilelik ve doğum
2. Cinsiyet ve yaş
3. Enfeksiyon ve bağışıklık sistemi
4. Otoimmün hastalıklar
5. Etnik köken
6. Uyarıcı madde kullanımı
7. Genetik faktörler önemli bir yer tutmaktadır.

Şizofreni hastalarının %10-20' sinde tamamen düzelme meydana gelirken, %30 hastada kısmi düzelme meydana gelmektedir. Hastaların en az yarısında da semptomlar düzelmekte ve tedaviye direnç oluşarak uygulanan tedaviye yanıt vermemekle birlikte hastalık daha da ilerleyebilmektedir. Bunun sonucunda çoğu hasta ve yakını ömür boyu bu hastalıkla mücadele etmek zorunda kalmaktadır. Ayrıca, hastalığın sosyal ve ekonomik etkisi de çok büyüktür (Lieberman and Murray 2012). Tedaviye direncin moleküler mekanizması, tedavide kullanılan ilaçların hedeflerindeki reseptör ya da sinyal iletim moleküllerinde meydana gelen mutasyonlar veya polimorfizmler sonucunda ve/veya ilacın hücre içerisinden dışarı atılmasında görevli olan ABC transporter proteinlerinin ekspresyon seviyesinin artırılması ile gerçekleştiği bilinen mekanizmalar arasındadır (Longley and Johnston 2005). Bu

reseptör ya da sinyal iletim moleküllerinin ekspresyon düzeyleri tedaviye yanıtla doğrudan ilişkilidir. Dolayısıyla ekspresyonlarının düzenlenmesinde rol alan elemanların da doğrudan dirençle alakalı olduğunu söyleyebiliriz. Şizofreni gibi nöropsikotik hastalıklardan farklı olarak kanser gibi hastalıklarda kemotöropotik ajanlara karşı direncin gelişmesinde genlerin ifadelerinin düzenlenmesinde görev alan mikroRNAların rolü birçok çalışmada gösterilmiştir (Zhang, Duan et al. 2015). Şizofrenide de mikroRNAların tedaviye dirençte rol alabilecekleri düşünülmektedir.

MikroRNA'lar (miRNA), 20-25 nükleotid uzunluğunda, iç kaynaklı küçük RNA moleküllerinin geniş bir sınıfını oluştururlar. Tüm öncül miRNAlar yüksek minimal katlanma serbest enerjisiyle (MFEI) ikincil saç tokası yapısında bulunur (Kim 2005). Hayvanların ve bitkilerin bazı türleri arasında miRNAlar oldukça korunmuştur. Yapılan araştırmalarda kodlanmayan küçük RNA moleküllerinin bazı genler üzerinde baskılayıcı etkileri gösterilmiştir. 1993 yılında, Lee ve arkadaşları tarafından keşfedilen küçük bir RNA molekülünün, lineage-deficient-4 (lin-4), gen sekansına neredeyse mükemmel bir benzerlik gösterdiği bulunmuştur. *C. elegans* üzerinde yapılan bu çalışmada iç kaynaklı (endojenik) küçük bir RNA parçasının (lin-4); post-embriyonik gelişme için gerekli bir proteini kodlayan lin-14' genin translasyonunu genin 3' bölgesinde bulunan ve translasyona uğramayan bölgesiyle (3'-UTR) RNA-RNA etkileşimine girerek translasyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Lee, Feinbaum et al. 1993). O zamanlarda bu çalışma bilim adamlarının fazla ilgisini çekmemiş, çoğu araştırmacı bu bulguların solucan genetiğindeki bir gariplik olarak değerlendirmiştir. Daha sonra bu çalışmayı destekler nitelikte olan ve yine *C. elegans* üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise let-7 genini baskılayan küçük kodlanmayan RNA parçalarının varlığı gösterilmiştir. Endojen küçük RNA'ların, haberci RNA'ların (mRNA) translasyonunu baskıladığı hipotezi yapılan araştırmalarla desteklenmiş ve "miRNA" terimi Science dergisinde yayınlanan bir dizi makalede önerilmiş ve kabul görmüştür (Lagos-Quintana, Rauhut et al. 2001, Lee and Ambros 2001). Bu nedenlerden dolayı miRNAlar diğer genler gibi DNA üzerinden transkribe edilir ve proteine dönüştürülmeden küçük RNA molekülleri halinde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alır. miRNA genleri Y kromozomu hariç bütün kromozomlarda dağılmıştır (Kozomara and Griffiths-Jones 2011). Kanser ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi pek çok hastalıkta miRNA ekspresyonundaki değişimler önemli rol oynamaktadır (Calin and Croce 2006, Cowland, Hother et al. 2007, Georges, Coppieters et al. 2007).

Bu çalışmada, toplumsal ve maddi anlamda büyük kayıplarının yaşandığı tedaviye yanıt vermeyen şizofreni hastalarında ortaya çıkan direncin moleküler mekanizmasını miRNA temelinde araştırmayı amaçladık. Bu çalışma ile şizofreni ile alakalı olduğu literatürde gösterilmiş olan bazı miRNAların şizofreni tedavisine direnç gösteren hastalar ile tedaviye iyi

yanıt veren hastalardaki ekspresyon seviyelerindeki farklılıkların belirlenmesi ile bu miRNAların şizofreni hastalarında tedaviye direnç ile ilişkilerinin araştırılması hedeflendi. Ayrıca bu miRNAların tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde bir belirteç olma potansiyellerinin belirlenmesi amaçlandı.

2.LİTERATÜR ÖZETİ

Şizofreni tedavisine karşı ortaya çıkan dirençte miRNAların rolünden önce, tedaviye karşı gerçekleşen dirençte genetik faktörlerin rolünden bahsetmek gerekir. Bu bağlamda şizofreni genetiğinin hastalığa yakalanmada önemli bir risk faktörü olduğu ve multifaktöryel bir geçiş gösterdiği düşüncesi ağırlık kazandıktan sonra ayrışma (segregasyon), bağlantı (linkaj) ve ilişkilendirme (association) çalışmalarıyla moleküler genetik alanında yeni bulgular elde edilmiş, birçok kromozom bölgesi ve aday genler ortaya konmuştur (Bertram 2008, Tandon, Keshavan et al. 2008). Ayrıca, bugüne kadar yapılan birçok araştırma sayesinde şizofreni hastalarında tedaviye yanıt açısından da genetik faktörlerin, tedavinin seyrinde önemli rol oynadıkları belirtilmiştir (Lang, Puls et al. 2007, Carter 2009). Bu genetik faktörler arasında özellikle serotonin reseptörleri, sitokrom ailesi üyeleri ve dopamin reseptörleri önemli yer tutmaktadır (Hotta, Ohnuma et al. 2011). Şizofreni vakalarındaki dopamin ve serotonin düzeyinin dengesizliğinden dolayı, tedavi stratejileri genellikle bu yollar üzerine geliştirilmiştir. Örneğin; geliştirilen bu anti-psikotik ilaçlardan clozapine, dopamin reseptörlerini bloke ederek anormal yüksek dopaminergic aktiviteyi azaltarak etki etmektedir. Clozapine, dopamin reseptörlerinden DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 ve DRD5 reseptörlerine afinite göstermektedir. Clozapine, şizofrenide ortaya çıkan aşırı dopamin reseptör aktivasyonuna ilaveten 5-HT2, 5-HT3, 5-HT6 and 5-HT7 gibi aşırı aktivasyon gösteren serotonin reseptörlerine de afinite göstermektedir (Kohlrusch, Salatino-Oliveira et al. 2010). Bu bakımdan bu yolda rol alan genler ve bu genleri regüle edebilecek miRNAlar, tedaviye karşı oluşacak dirençte katkı sağlaması sürpriz değildir. Literatür incelendiğinde şizofreni tedavisine karşı oluşan dirençte rol alan genlerin araştırıldığı neredeyse tüm çalışmaların, bu genlerdeki polimorfizmlere bağlı olarak artan veya azalan aktivasyonlarının dirençle ilişkisi üzerine gerçekleştiği görülmüştür. Kondo ve arkadaşları; Dopamin D2 reseptörünün (DRD2) Taq1 A1 polimorfizmine sahip olan hastalarda, bu alleli taşımayan hastalara nazaran azalan bir dopaminergic aktivasyon görüldüğünü ve bu nedenle bu polimorfizmi taşıyan hastaların tedaviye daha iyi yanıt verdiklerini belirtmişlerdir (Kondo, Mihara et al. 2003). Başka bir çalışmada ise Ota ve arkadaşları dopamin reseptörü DRD1 rs4532 polimorfizminin tedaviye direnç için farmakogenetik bir risk faktörü olduğunu ifade etmişlerdir (Ota, Spindola et al. 2012). Souza ve arkadaşları serotonin reseptörü HTR3A rs1062613 ve rs2276302 polimorfizmlerinin şizofreni tedavisine verilen yanıtta etkili olabileceğini belirtmiştir (Souza, de Luca et al. 2010). Bir başka çalışma grubunun HTR3A rs1062613 polimorfizmin direnç üzerine olan etki mekanizmasını, rs1062613 polimorfizm HTR3A'nın promotor bölgesinde bulunduğunu ve bu genin ekspresyonunu etkileyerek yaptığını belirtmişlerdir. Buna göre bu polimorfizm sonucu anormal dopamin konsantrasyonu artışı akabinde bu polimorfizmi taşıyan

hastalarda kullanılan dopamin antagonistlerinin günlük nöroleptik dozlarında artışa sebep olabileceği belirtilmiştir (Souza, de Luca et al. 2010). Bu bulguyu destekler biçimde, HTR3A rs1062613 polimorfizminin direnç üzerine etkilerini araştıran başka bir çalışma grubu tarafından, bu polimorfizmi taşıyan hastalarda tedavi için kullanılacak olan günlük nöroleptik dozunun bu alleli taşımayan hastalara nazaran daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Rajkumar, Poonkuzhali et al. 2012). Ancak HTR3A rs2276302 polimorfizminin direnç üzerindeki etki mekanizmasına dair bir bilgi paylaşılmamıştır. Bununla birlikte, bir genin ekspresyonunu sadece polimorfizmler değiştirmemektedir. miRNAların genlerin post-transkripsiyonel aktivasyonlarını kontrol etmede kilit öneme sahip olması tedaviye dirençte aktivasyonları azalarak veya artarak rol alan genleri doğrudan düzenleyebilecekleri literatürde mevcuttur. Fakat bu kapsamdaki literatür incelemelerinde serotonin ve dopamin reseptörlerini düzenleyen miRNAların şizofreni tedavisinde dirençteki rollerini gösteren önemli bir çalışma bulunmamaktadır.

Şizofreni tedavisine karşı oluşan dirençte rol alan gen araştırmaları sadece serotonin ve dopamin reseptörleri üzerine değildir. Kohlrausch ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, clozapine tedavisine yanıt veren ve vermeyen hastalarda serotonin transporter geni HTTLPR'nin polimorfizminde önemli bir farklılık saptamamışlardır (Kohlrausch, Salatino-Oliveira et al. 2010). 5-HTT geninin HTTLPR (5-HTT gene-linked polymorphic region), ilgili genin transkripsiyon başlama noktasının up-stream'de lokalize olmuş bir bölgedir ve bu bölgenin S'/S' veya S'/L' allelleri bu genin bazal düzeyde eksprese olmasına neden olmaktadır. Serotonin transporter proteinin düşük ekspresyonu sonucu sinaptik boşluktaki serotonin hücre içine tekrar alınmasında yeterli olmamaktadır. Bu da serotonin ile yarışmalı bir antagonizm gösteren clozapine gibi ilaçların etkinlikleri serotoninin sinaptik boşluktaki yüksek seviyesinden dolayı azalabilmektedir (Kohlrausch, Salatino-Oliveira et al. 2010). Serotonin ve dopamin yollarında görev alan genlerin dışında, dirençte rol alabilecek genler dikkate alındığında; Zhang ve arkadaşları ise, birçok nörotransmitter ile ilişki içinde ve şizofreni için bir faktörü olan BDNF genindeki Val66Met polimorfizmi bu proteininin öncüsü olan proBDNF'nin hücre içi trafiğini olumsuz etkilemek suretiyle, şizofreni tedavisine dirençle sonuçlanabileceğini ifade etmektedirler (Zhang, Lencz et al. 2013). Ancak bu genin de aktivasyonlarını kontrol edebilecek miRNAların üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Furukori ve arkadaşları ise, kanser hücrelerinde kemoterapik ilaçlara karşı dirençle ilişkili MDR1 (multi-drug resistance) geninin şizofreni tedavisine karşı gelişen dirençte de rol alabileceği üzerine durmuşlardır (Yasui-Furukori, Saito et al. 2006). Bu genin ürünü olan P-glikoproteini ilacın bağırsaklardan, kan beyin bariyerinden ve karaciğer, böbrek gibi birçok dokuda emilimini kontrol etmektedir (Thiebaut, Tsuruo et al. 1987, Yasui-Furukori, Saito et al. 2006). P-glikoproteini kan beyin

bariyerinde lipofilik ilaçların beyin dokusuna ulaşmasını engellemektedir (Löscher and Potschka 2005). Epilepsi ve şizofreni gibi beyin hastalıklarında ilaca karşı direncin oluşmasında MDR1 geni gibi ilacın atımında görevli genlerin rolü oldukça büyüktür (Loscher and Potschka 2005). Şizofreni tedavisi için kullanılan ilaçların gerek bağırsaklardan emiliminin azalmasıyla, gerekse kan beyin bariyerini geçememeleri sonucunda tedaviye direnç oluşmaktadır (Yasui-Furukori, Saito et al. 2006). miRNAların hedeflerinde olan ve ilaç atımında görevli MDR genlerinin ekspresyonlarının azalması ile şizofreni benzeri hastalıklarda tedaviye yanıt ile ilişkili bulunmuştur.

Bir diğer araştırmada Teo ve arkadaşları şizofrenide rol alan ionotropic kainate glutamatergic receptor GluR5 proteinini kodlayan GRIK1 geninin, şizofreni tedavisine karşı gelişen dirençte de rol alabilecek aday genler arasında değerlendirmişlerdir (Teo, Zai et al. 2012). Son olarak güncel araştırmalar sonucunda nöral gelişim için önemli bir protein olan ve şizofreni için genetik bir risk faktörü olarak değerlendirilen DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia-1) gen polimorfizmlerinin, şizofreni tedavisine karşı gelişen dirençte de önemli bir role sahip olduğu ortaya konmuştur. Bu ilişkinin, DISC1 geninin promotor bölgesindeki rs3738401 polimorfiziminden dolayı ekspresyonun düşmesine bağlı olduğu belirtilmiştir (Hotta, Ohnuma et al. 2011).

Günümüzde literatürde yapılan pek çok çalışma nöropsikiyatrik hastalıklarda da miRNAların önemli bir rol oynayabileceklerini göstermektedir (Wang, Rajeev et al. 2008, Nunez-Iglesias, Liu et al. 2010). Şizofreni gelişiminde temel olarak rol oynayan pek çok genin ekspresyonunu kontrol eden miRNAların da şizofreni hastalığında önemli bir rol oynadıkları belirtilmektedir (Beveridge and Cairns 2012, Gardiner, Beveridge et al. 2012). Postmortem gri madde miRNA ekspresyon profil çalışmaları sonucunda çok sayıda şizofreni ile ilişkili miRNA tanımlanmıştır. Prefrontal korteks, parietal korteks ve temporal korteks üzerinde yapılan mikroarray ve qRT-PCR çalışmaları pek çok miRNA tanımlanması ile sonuçlanmıştır. Beveridge ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada şizofreni hastalarında miR-7 ve miR-181b ekspresyonunun kontrol vakalarına oranla önemli derecede arttığı saptanmıştır (Beveridge, Tooney et al. 2008). Mellios ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışmada BDNF protein, nöropeptid Y, somatostatin ve parvalbumin mRNA'ları ile ilişkili olan miR-30a ve miR-195'in frontal cortex örneklerinde ekspresyonlarında artış olduğu saptanmıştır (Mellios, Huang et al. 2009). Glutamat reseptör iyonotropik delta bir (GRID1) geni şizofrenide önceden yapılan çalışmalarla tanımlanmış önemli bir genidir. Şizofreni hastalarında GRID1 geni ve mir-346 ekspresyonlarının önemli derecede korele olduğu gösterilmiştir. Şizofreni hasta örneklerinde qRT-PCR ile yapılan çalışmalar sonucunda miR-7, miR-34a, miR-132, miR-154, miR-212 ve miR-544'nin artmış ekspresyonu tanımlanmıştır (Fallin, Lasseter et al. 2005, Guo,

Huang et al. 2007). Bununla birlikte; literatür taramalarında, bazen şizofreni ile yanlış teşhis edilebilen bir hastalık olan bipolar ruhsal hastalığında kullanılan nöroleptik ilaçların miRNA ekspresyonu üzerine etkisi olabileceği öngören çalışmalar bulunmaktadır. Zhou ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışma sonucunda lityum ve sodyum valproat uygulanmasının ardından rat hipokampuslarında let-7 ailesi miRNAların, miR-128a, miR-24a, miR-30c, miR-34a ve miR-211 in ekspresyonlarının arttığını saptamışlardır (Zhou, Yuan et al. 2009). Bu çalışmaların ışığında ilaç tedavisi ve miRNA ekspresyonları arasında doğrudan bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu çalışmalar, antipsikotik ilaçların miRNAlar üzerinde etkili olduğu ve dolayısıyla miRNAların hedef genlerinin düzenlenmesindeki etkileriyle ilaçların etkilerini inhibe edici veya arttırıcı yönde etki edebilme kapasitelerini ortaya koymaktadır. miRNA aracılığıyla genlerin kontrolü ve tedaviye olan direnç veya yanıtın kullanılan ilacın etkisiyle mi yoksa hastanın sahip olduğu epigenetik mekanizmalar aracılığıyla mı gerçekleştiği bilinmemektedir. Ancak bir çalışmada tedavi uygulanan şizofreni hastalarında miR-132, miR-181b, miR-30e ve miR-432'nin ekspresyonunun azaldığını gösterilmiştir (Sun, Zhang et al. 2015). Fakat şizofrenide tedaviye yanıt ile ilişkili olan bu miRNAların tedaviye direnç ile ilişkisini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Tüm bu bilgiler ışığı altında literatürde şizofreni tedavisinde karşılaşılan dirence neden olan birçok aday gen bulunmaktadır. Daha önce de ifade ettiğimiz üzere, bu genler üzerine yapılan araştırmalar, bu genlerin polimorfizmlerine bağlı olarak değişen ekspresyonları üzerine odaklanmıştır. Ancak genlerin ekspresyonu sadece bu genlerin polimorfizmleri ile ilişkili değildir. Güncel araştırmalara göre genlerin transkripsiyon sonrası regülasyonlarında miRNAların rolleri gün geçtikçe daha da önem kazanmaktadır. Literatür taramalarımızda yukarıda örneğini verdiğimiz genlerin direnç oluşumu süreçlerinde şizofreni hastalarında tedaviye direnç ile ilişkili miRNAların tespit edildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile literatürdeki bu boşluğun doldurulacağını düşünmekteyiz.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların Seçimi

Çalışmada kullanılan olgular Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Psikiyatri Anabilim Dalı'nda şizofreni tanısı almış olgulardır. Hastaların tanıları DSM-IV(1994) tanı kriterlerine göre iki ayrı klinisyen tarafından konmuştur (38). Merkezimizde yatarak veya ayaktan tedavi gören ve medikal kayıtları bulunan 20 tedaviye dirençli hasta, 20 tedaviye yanıt veren hasta ve kontrol grubu olarak 10 sağlıklı hasta seçilmiştir. Hastalara ayrıntılı sosyodemografik form, kısa psikiyatrik değerlendirme ölçeği (39) ve pozitif ve negatif belirti değerlendirme ölçeği doldurulmuştur (40). Hastaların aldığı ilaçlar, hastalık süresi, klinik alt-tipi medikal hastalığının bulunup bulunmaması, ilaç yan etkileri ayrıntılı şekilde kaydedilmiştir. Tedaviye direnç kriteri olarak Kane' nin kriterleri esas alınmıştır (41).

3.2 Örneklerin Toplanması ve Plazmadan miRNA İzolasyonu

Hastalardan elde edilen periferik kan örnekleri Qiagen miRNeasy Serum/Plasma Kit'inde (Kat. No: 217184) belirtildiği gibi EDTA'lı tüpe alındı ve 1 saat içerisinde miRNA izolasyonu gerçekleştirildi. Plazma miRNA izolasyonu için alınan kan örneği +4°C 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası plazma steril ependorfa alınarak +4°C 16.000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatant'tan 150 µL plazma örneği üzerine QIAzol Lysis Reagent eklenerek 15 saniye vorteks yapıldı. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Serum ve plazma miRNA çalışmaları için dış normalizatör olarak kullanılacak olan Qiagen miRNeasy Serum/Plasma Spike-In Control'den (Kat. No: 219610) 3,5 µL eklendi. 150 µL kloroform eklendi ve şiddetli şekilde 15 saniye vorteksledi. 2-3 dakika oda sıcaklığında bekletildi. +4°C 12.000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi. Sulu olan üst faz steril bir tüpe aktarılarak 1,5 katı %100 etanol ile karıştırılarak 700 µL'si RNeasy MinElute kolono aktarıldı. Oda sıcaklığında 8.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi. Kalan örnekte aynı şekilde kolondan geçirildi. 700 µL RWT kolona eklenerek 8.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi. 500 µL RPE kolona eklenerek 8.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi. 500 µL %80 etanol eklenerek 8.000 x g'de 2 dakika santrifüj edildi. Kolon steril bir ependorf tüpe alınarak kolona 20 µL Rnase-free su eklenerek oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.

3.3 miRNA cDNA sentezi

cDNA sentezi abm miRNA cDNA Synthesis with Poly(A) Polymerase Tailing kiti (Kat. No: 903) ile gerçekleştirildi. Deney bu kitin protokolüne uygun olarak yapıldı. Elde edilen toplam miRNA'dan yaklaşık 75 ng alındı. 2 µL 5X Poly(A) Polimeraz Reaksiyon Tamponu, 1,5 µL ATP, 1 µL MnCl₂, 0,5 µL Poly(A) Polimeraz eklenerek, RNase-free su ile 10 µL'ye

tamamlandı. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Bir süre buzda bekletildikten sonra 2 µL miRNA Oligo (dT) adaptör eklendi ve 5 dakika 65°C'de inkübe edildi. Kısaca buzda bekletildi. Üzerine 1 µL dNTP, 4 µL 5X RT Tamponu, 1 µL EasyScript RTase ve 2 µL RNase-free su eklenerek sırayla 42°C'de 15 dakika ve 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.

3.4 Real-Time PCR (qRT-PCR)

miRNAların ekspresyon seviyeleri Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science, Avustralya) cihazı kullanılarak tespit edildi. miRNA primerlerinin tamamı abm'den (Kanada) temin edildi. qRT-PCR, EvaGreen miRNA qPCR MasterMix (abm, Kanada) kullanılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon koşulları; 1 µL cDNA, 10 µL EvaGreen miRNA Mastermix, 0,7 µL Forward primer, 0,7 µL Reverse Primer, 7,6 dH₂O şeklinde gerçekleştirildi. PCR şartları; 95°C'de 10 dakika 1 döngü, [95°C'de 10 saniye / 63°C'de 15 saniye / 72°C'de 5 saniye] 40 döngü, en son 55°C-90°C arası 0,1°C hassasiyette melting curve analizi yapıldı. Normalizasyon için, RNA izolasyonu sırasında dışarıdan dahil edilen *C.elegance* miRNA-39'a uygun primerler kullanıldı. Real-Time PCR analizleri standart eğri ile kopya sayıları hesaplanarak gerçekleştirildi.

3.5 miRNA hedeflerinin belirlenmesi

miRNAların tedaviye dirençte rol oynayabilecek hedef genlerini tahmin etmek için miRanda, DIANA-microT ve PicTar database leri kullanıldı. Bu databaselerde yüksek skora sahip ve şizofreni ile alakalı olabilecek olan tahmini hedef genleri seçildi. Bu seçilenler arasında iki veya üç databasede de benzer olan genler belirtildi.

3.6 İstatistiksel Analiz

Hasta grupları arasındaki karşılaştırma 'Paired-Samples T-Test ile gerçekleştirildi. Test SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, IL) Windows versiyonun kullanılarak gerçekleştirildi.

4.BULGULAR

Çalışma grubumuz, analizleri eksiksiz olarak tamamlayan, 18 tedaviye dirençli şizofreni hastası, 19 tedaviye iyi yanıt veren şizofreni hastası ve 10 tane sağlıklı kontrol grubundan oluşmaktadır. Çalışma grubu ile ilgili sosyodemografik veriler ve klinik özellikler Tablo 1’de özetlenmiştir. Yaptığımız qRT-PCR analizleri sonucunda, literatürde şizofreni ile ilişkisi bulunan 29 miRNA içerisinden 10 tanesinin sağlıklı hastalara oranla tedaviye dirençli olan grupta, tedaviye yanıt veren gruba oranla daha yüksek derece de eksprese edildiği gösterilmiştir (Tablo 2).

Dirençli grupta ekspresyonu artarken tedaviye yanıt veren grupta ekspresyonları azalan (sağlıklı bireylere oranlandığında) miRNAlar şunlardır; miR-7-5p, miR-27a-3p, miR-128-3p, miR-141-3p, miR-181b-5p, miR-195-5p, miR-218-5p, miR-301a-3p, miR-337-5p, miR-544a. Bunların içerisinde miR-7-5p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 2,43 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,31 kat azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 2). miR-27a-3p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 2,6 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,51 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-128-3p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 44,3 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,6 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-141-3p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 1,66 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,68 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-181b-5p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 2,98 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,32 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-195-5p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 11,33 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 6 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-218-5p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 1,35 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 2,11 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-301a-3p ekspresyonu tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 1,11 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 3,99 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-337-5p tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 1,43 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,26 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). miR-544a tedaviye dirençli grupta sağlıklı bireylere oranla 2,36 kat artarken, tedaviye yanıt veren grupta 1,12 kat azaldığı saptanmıştır (Tablo 2). Yanlızca tedaviye dirençli grupta, tedaviye yanıt veren gruptakilerine göre yüksek ekspresyon seviyesi gösteren bu 10 miRNAdan sadece miR-181b-5p, miR-195-5p ve miR301a-3p’nin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 1).

Tedaviye yanıt veren grupta sağlıklılara oranla artarken tedaviye direnç gösteren grupta azalan 2 miRNA tespit edildi. miR-10a-5p tedaviye iyi yanıt veren grupta sağlıklılara oranla 1,72 kat artarken, tedaviye direnç gösteren grupta 2,83 kat azaldığı saptanmıştır. miR-27b-3p tedaviye iyi yanıt veren grupta sağlıklılara oranla 1,58 kat artarken, tedaviye direnç gösteren grupta 1,09

kat azaldığı saptanmıştır. Fakat bu iki miRNA'nın ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

miRNAların hedef genleri miRanda, DIANA-microT ve PicTar database'leri kullanılarak bulunan sonuçlarda yüksek skora sahip şizofreni gibi nöral hastalıklarda tedaviye cevapta rol oynayabilecek olan tahmini hedef genler ve bu genlerden iki veya üç database de bulunan ortak olanları seçilmiştir. Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışma grubunun sosdemografik ve klinik özellikleri.

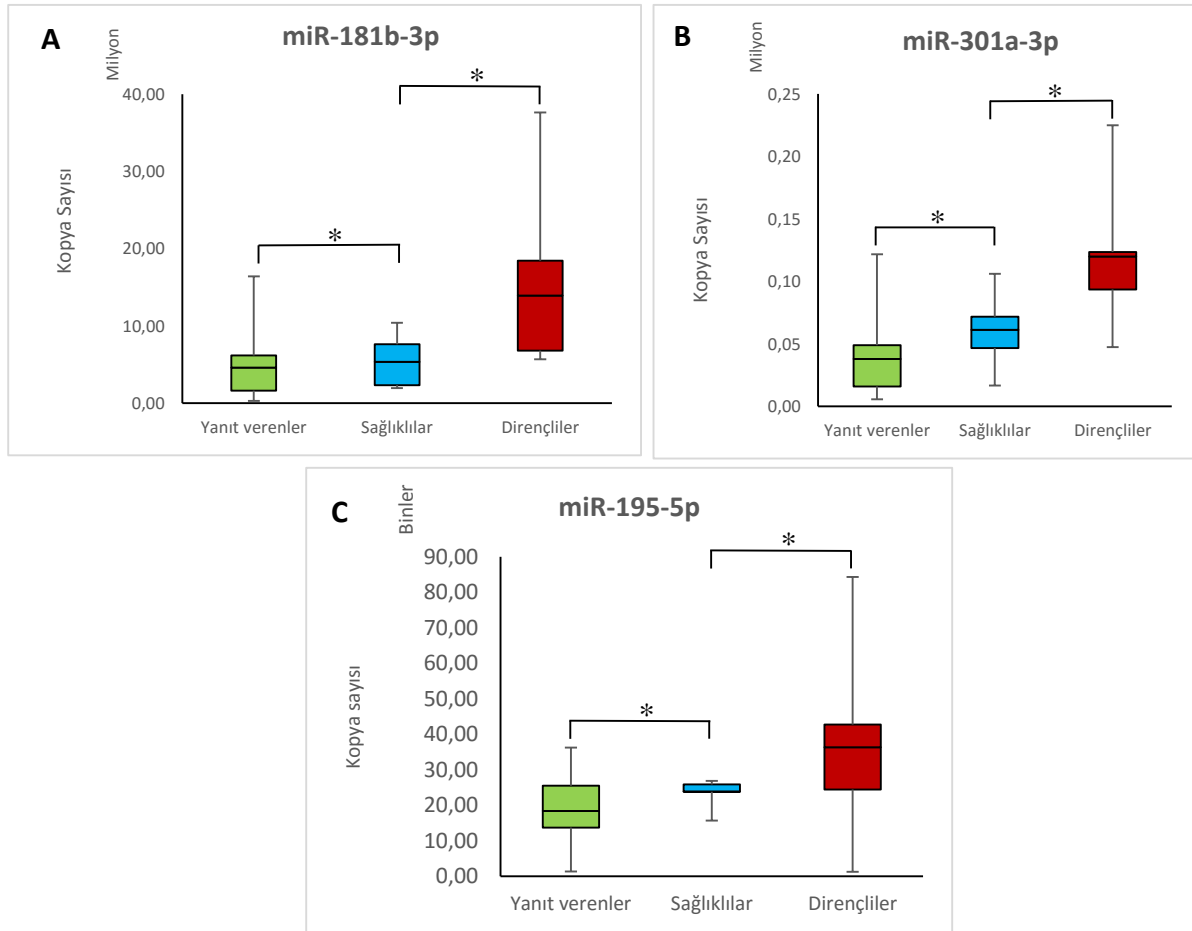
	Kontrol	Tedaviye iyi yanıt veren şizofreni	Tedaviye dirençli şizofreni	P value
Sayı	10	19	18	-
Yaş, ortalama \pm SD(y)	31.50 \pm 7.98	39.05 \pm 12.14	41.61 \pm 9.63	0.57
Kadın: Erkek	4:6	6:13	4:14	0.6
Başlangıç yaşı	-	31.68 \pm 11.40	20.55 \pm 4.87	0.001
Hastalık süresi	-	7.26 \pm 8.19	21.11 \pm 7.47	<0.001
Atak sayısı	-	3 \pm 2.64	11.5 \pm 7.01	<0.001
Hastaneye yatış sayısı	-	1.26 \pm 1.28	6 \pm 4.78	<0.001

Tablo 2. Tedaviye yanıt veren ve tedaviye direnç gösteren hastalardaki kopya sayıları belirlenen miRNAların sağlıklı gruba oranlandıklarındaki kat olarak artış ve azalışlarının gösterilmesi. (Kırmızı: ekspresyon artışı, Yeşil: ekspresyon azalışı, Sarı: tedaviye direnç gösterenlerde artarken, yanıt verenlerde azalanları göstermektedir. * $P < 0,05$).

miRNA ID	miRNA	Tedaviye yanıt veren grup / sağlıklı grup	Tedaviye dirençli grup / sağlıklı grup
MIMAT0000252	miR-7-5p	1,31	2,43
MIMAT0000253	miR-10a-5p	1,72	2,83
MIMAT0000254	miR-10b-5p	1,55	1,62
MIMAT0000077	miR-22-3p	1,01	3,15
MIMAT0000084	miR-27a-3p	1,51	2,60
MIMAT0000419	miR-27b-3p	1,58	1,09
MIMAT0000086	miR-29a-3p	5,42	9,38
MIMAT0000100	miR-29b-3p	1,42	1,05
MIMAT0000681	miR-29c-3p	1,61	1,24
MIMAT0000420	miR-30b-5p	1,53	3,09
MIMAT0000089	miR-31-5p	2,22	3,27
MIMAT0000255	miR-34a-5p	1,36	2,70
MIMAT0000424	miR-128-3p	1,60	44,30
MIMAT0000426	miR-132-3p	1,16	1,82
MIMAT0000430	miR-138-5p	4,78	1,44
MIMAT0000432	miR-141-3p	1,68	1,66
MIMAT0000257	miR-181b-5p*	1,32	2,98
MIMAT0000458	miR-190a-5p	1,38	2,65
MIMAT0000461	miR-195-5p*	6,04	11,33
MIMAT0000682	miR-200a-3p	2,30	1,18
MIMAT0000264	miR-203a-3p	4,22	1,14
MIMAT0000275	miR-218-5p	2,11	1,35
MIMAT0000280	miR-223-3p	1,52	1,06
MIMAT0000688	miR-301a-3p*	3,99	1,11
MIMAT0004695	miR-337-5p	1,26	1,43
MIMAT0000773	miR-346	1,00	1,33
MIMAT0002171	miR-410-3p	1,69	1,59
MIMAT0002875	miR-504-5p	1,11	2,50
MIMAT0003164	miR-544a	1,12	2,36

Tablo 3. Tedaviye yanıt veren ve direnç gösteren hastaların sağlıklı gruba oranlandıklarında tedaviye direnç gösteren grup ortalamasında ekspresyon düzeyi arta, tedaviye yanıt verenlerin grup ortalamalarındaki ekspresyon düzeyi azalan miRNA'lar ve şizofreni ile alakalı olan tahmini hedef genleri (Kırmızı yazılanlar literatürde de aynı miRNA'nın hedefinde gösterilenler, $P<0,05$).

miR-27a-3p	GRIK3, HTT, DISC1
miR-29b-3p	SLC16A14, GRIP1, DRD1, HTT
miR-128-3p	DRD2, HTT, DISC1, GRIK3, GRIA3, GRIA4, GRIN3A, GRIN2A
miR-141-3p	HTR2A, HTR2C, GRIA2, GERIN2D, GRIN3A,
miR-181b-5p*	GRIA2, VSNL1
miR-190a-5p	
miR-195-5p*	HTR2A, DRD1, GRIA3, BDNF
miR-218-5p	GRIP1
miR-301a-3p*	GRID2
miR-337-5p	HTR2A
miR-544a	GRIK3, HTR7, HTR3D, ABC



Şekil 1. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan miR-181b-3p ve miR-301a-3p'nin tedaviye yanıt veren, sağlıklı ve tedaviye direnç gösteren hasta gruplarının karşılaştırılması. Gruplar arasındaki miRNA ekspresyon düzeyleri *C.elegans* miR-39'a göre normalize edilmiştir. * $P<0,05$.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürde şizofreni ile alakası bulunan yaklaşık 29 miRNA'nın, şizofreni hastalarında tedaviye dirençteki rollerini ve belirteç (biomarker) olabilecek potansiyel miRNA adayını seçmek için gerçekleştirilen projede, yaklaşık 10 miRNA'nın tedaviye direnç gösteren hastalarda, tedaviye yanıt veren hastalara göre ekspresyon düzeylerinde artış gözlemlendi (Tablo 2). Bu miRNAlar arasında sadece miR-181b-5p, miR-195-5p ve miR-301a-3p'nin tedaviye dirençli ve yanıt veren gruptakilerdeki farklı ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (Şekil 1). miR-301a-3p'nin ekspresyon seviyesi tedaviye direnç gösteren hastalarda sağlıklı bireylere oranla yaklaşık 2 artarken, tedaviye yanıt veren hastalarda sağlıklı bireylere oranla 2 kat azaldığı tespit edildi (Şekil 1B). miR-301a-3p'nin tedaviye dirençli hasta gruplarında anlamlı derecede fazla eksprese edilmesi tedaviye dirençle ilişkisi olduğunu düşündürmektedir. Bulunan bu sonucun benzerini Wang ve arkadaşları epilepsi hastalarında tedaviye direnç gösteren ve tedaviye yanıt veren hasta grupları arasında yapmış oldukları serum miRNA ekspresyon çalışmalarında göstermişlerdir (Wang, Tan et al. 2015). Elde ettikleri verilerde miR-301a-3p'nin ekspresyon seviyesinin tedaviye direnç gösteren hastalarda kontrol grubuna oranla anlamlı derecede arttığını, tedaviye yanıt veren hastalarda ise kontrol grubuna oranla azaldığını göstermişler ve miR-301a-3p'nin epilepsi hastalarında tedaviye dirençte belirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (Wang, Tan et al. 2015). miR-301a-3p'nin hedeflediği gen ve hücrel cevabı pankreas kanseri üzerine yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada miR-301a-3p pankreas kanserini SMAD4 genini hedefleyerek indüklediği belirtilmiştir (Xia, Zhang et al. 2015). Başka bir çalışma da miR-301a-3p'nin AMPK α 1 genini hedefleyerek osteosarkoma'da kemoterapotik bir ajan olan doksorubisine karşı dirençte rol aldığını göstermişlerdir (Zhang, Duan et al. 2015). Çoğu kanser ve nöral hastalıkta ekspresyon artışı tespit edilen miR-301a-3p'nin, epilepsi tedavisine ve kanser tedavisine direncin gelişmesinde etkili olduğunun tespit edilmesi, bu miRNA'nın şizofrenide de tedaviye dirençte rol alabileceğini düşündürmektedir. Hem miRNAların birden fazla hedefinin olması hem de doku ve hücre spesifik eksprese edilebilmeleri, miR-301a-3p'nin şizofrenide hangi geni veya genleri hedef alarak direncin gelişmesine katkıda bulunduğunu tespit edebilmek için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

miR-181b-5p'nin tedaviye direnç veren gruptakilerin sağlıklı gruplara oranla yaklaşık 2,5 kat artarken, tedaviye yanıt verenlerde neredeyse sağlıklı gruptakilere oranla 1,16 kat azalması (Şekil 1A) miR-181b-5p'nin tedaviye direnç gösteren hastalarda belirleyici bir marker olabileceğini düşündürmektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada şizofreni hastalarında kontrol grubuna oranla yüksek seviyede eksprese olan miR-181b'nin şizofreni tanısı için potansiyel olarak invaziv olmayan bir belirteç olabileceği sonucuna varmışlar (Sun, Zhang et

al. 2015). Yine aynı çalışmada tedaviye öncesi ve sonrası olarak ayırdıkları grupta tedavi devam ettikçe miR-181b'nin ekspresyon seviyesinin azaldığını tespit etmişler ve sonucunda miR-181b'nin şizofreni tedavisine yanıtta potansiyel bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (Sun, Zhang et al. 2015). Elde ettikleri sonuçlarda miR-181b'nin, tedavi süresince azalması, sonuçlarımızdaki tedaviye iyi yanıt veren grupta sağlıklılara oranla daha az ekspresyon seviyesi göstermesi ile örtüşmektedir (Şekil 1A). Bunun yanında, tedaviye direnç gösteren olarak belirlediğimiz grupta sağlıklılara oranla yüksek ekspresyon seviyesi göstermesi miR-181b'nin tedaviye dirençle ilişkisi olduğu ihtimalini güçlendirmektedir. Beveridge ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada miR-181b'nin şizofreni hastalarında sağlıklı gruba göre yüksek seviyede eksprese olduğunu göstermişler (Beveridge, Tooney et al. 2008). Yine aynı çalışmada, mikroarray analizlerinin sonucunda şizofreni hastalarında kalsiyum sensör geni visinin-like 1 (VSNL1) ve iyonotropik AMPA glutamat reseptör altünitesi (GRIA2) genlerinin ekspresyon seviyelerinin azaldığını tespit etmişler ve bu azalmanın, miR-181b'nin doğrudan bu genleri hedef alarak susturduğunu yapmış oldukları *in vitro* hücre kültürü modeliyle göstermişlerdir (Beveridge, Tooney et al. 2008). GRIA2 hızlı bir nörotransmisyon uyarılımlarında görev alan başlıca iyonotropik glutamat reseptör altünitelerinden biridir. Şizofreni ile ilişkili olan bu genin şizofrenide belirteç olabileceği gösterildiği polimorfizm çalışmaları mevcuttur (Gareeva and Khusnutdinova 2014). Fakat bu genin şizofreni tedavisindeki rolü araştırılmamıştır. Elde ettiğimiz bulgularda miR-181b'nin tedaviye direnç gösteren hastalarda yüksek ekspresyonu nörotransmisyon olarak görev yapan GRIA2'yi susturarak şizofrenide tedaviye direnç gelişimine sebep olabileceğini düşündürmektedir.

qRT-PCR sonuçlarında elde ettiğimiz anlamlı olan miRNAlardan miR-195-5p'nin tedaviye direnç gösteren hastalarda 11,3 kat artarken, tedaviye yanıt veren hastalarda yaklaşık 6 kat gibi bir azalış göstermiştir (Şekil 1C). Literatür incelendiğinde, miR-195-5p'nin otizmlili hastalarda kontrol grubuna göre upregüle olduğu gösterilmiştir (Mundalil Vasu, Anitha et al. 2014). Şizofreni hastalarında da yapılan çalışmalarda miR-195-5p'nin upregüle olduğu gösterilmiştir (Beveridge, Gardiner et al. 2010). Şizofreni hastalarında tedaviye dirençte herhangi bir rolü olduğuna dair çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız biyoformatik analizlerinde miR-195-5p'nin ilaca dirençte rolü olabilecek hedef genler Tablo 3'de gösterilmiştir. Mellios ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarda biyoformatik olarak tespit ettiğimiz beyin türevi nörotrofik faktör (BDNF) geninin şizofreni için aday gen olduğunu öne sürmüşlerdir (Mellios, Huang et al. 2009). Beveridge ve arkadaşları, BDNF'nin miR-195-5p ile düzenlenmesi sonucunda BDNF ekspresyonunu azalttığı için BDNF'nin ilişkili olduğu GABAergic mRNA'larının ekspresyon düzeylerini etkileyerek şizofrenide prefrontal kusura neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. (Beveridge, Gardiner et al. 2010). Yine biyoformatik olarak gösterdiğimiz hedef genlerin miR-195-5p ile susturulması ile bu genlerdeki azalmanın

şizofreni tedavisinde ilacın etki göstermesinde aracılık eden mekanizmaları etkileyerek şizofrenide tedaviye kötü yanıtla ilişkili olabileceği düşünölmektedir.

şizofreni tedavisinde kullanılan ilaçların hedef reseptör genlerinin ekspresyonlarını etkileyerek reseptörlerin miRNAlar aracılığıyla susturulması ile ilaçların hastalara etki etmesini engelleyerek tedaviye direnç göstermesine sebep olduğu düşünölmektedir. Yapılan bu çalışmada miR-181b-5p, miR-195-5p ve miR-301a-3p'nin literatürde yapılan çalışmalara paralel olarak şizofreni tedavisine dirençte aday belirteç olabileceği ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Bunların dirençteki rollerinin tam olarak araştırılması ve belirteç olarak kesinleştirilmesi için daha büyük ölçekte çalışmalara ve ileri deneylere ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- " Istanbul Sizofreni Dostları Derneği. GENCLIKTE SIZOFRENI EL KITABI." Retrieved 30 Aralık 2012, from <http://www.ruki.org/schizophel.htm>.
- Bertram, L. 2008. "Genetic Research in Schizophrenia: New Tools and Future Perspectives." *Schizophrenia Bulletin*, 34(5): 806-812.
- Beveridge, N. J. and M. J. Cairns 2012. "MicroRNA dysregulation in schizophrenia." *Neurobiol Dis*, 46.
- Beveridge, N. J., E. Gardiner, A. P. Carroll, P. A. Tooney and M. J. Cairns 2010. "Schizophrenia is associated with an increase in cortical microRNA biogenesis." *Mol Psychiatry*, 15.
- Beveridge, N. J., P. A. Tooney, A. P. Carroll, E. Gardiner, N. Bowden, R. J. Scott, N. Tran, I. Dedova and M. J. Cairns 2008. "Dysregulation of miRNA 181b in the temporal cortex in schizophrenia." *Human Molecular Genetics*, 17(8): 1156-1168.
- Calin, G. A. and C. M. Croce 2006. "MicroRNA signatures in human cancers." *Nat Rev Cancer*, 6(11): 857-866.
- Carter, C. J. 2009. "Schizophrenia susceptibility genes directly implicated in the life cycles of pathogens: cytomegalovirus, influenza, herpes simplex, rubella, and *Toxoplasma gondii*." *Schizophr Bull*, 35(6): 1163-1182.
- Cowland, J. B., C. Hother and K. Gronbaek 2007. "MicroRNAs and cancer." *Apmis*, 115(10): 1090-1106.
- Fallin, M. D., V. K. Lasseter, D. Avramopoulos, K. K. Nicodemus, P. S. Wolyniec, J. A. McGrath, G. Steel, G. Nestadt, K. Y. Liang, R. L. Haganir, D. Valle and A. E. Pulver 2005. "Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios." *Am J Hum Genet*, 77(6): 918-936.
- Gardiner, E., N. J. Beveridge, J. Q. Wu, V. Carr, R. J. Scott, P. A. Tooney and M. J. Cairns 2012. "Imprinted DLK1-DIO3 region of 14q32 defines a schizophrenia-associated miRNA signature in peripheral blood mononuclear cells." *Mol Psychiatry*, 17(8): 827-840.
- Gareeva, A. E. and E. K. Khusnutdinova 2014. "[Glutamate receptors genes polymorphism and the risk of paranoid schizophrenia in Russians and tatars from the Republic of Bashkortostan]." *Mol Biol (Mosk)*, 48(5): 771-781.
- Georges, M., W. Coppieters and C. Charlier 2007. "Polymorphic miRNA-mediated gene regulation: contribution to phenotypic variation and disease." *Current opinion in genetics & development*, 17(3): 166-176.
- Goldner, E. M., L. Hsu, P. Waraich and J. M. Somers 2002. "Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: a systematic review of the literature." *Can J Psychiatry*, 47(9): 833-843.
- Guo, S. Z., K. Huang, Y. Y. Shi, W. Tang, J. Zhou, G. Y. Feng, S. M. Zhu, H. J. Liu, Y. Chen, X. D. Sun and L. He 2007. "A case-control association study between the GRID1 gene and schizophrenia in the Chinese Northern Han population." *Schizophr Res*, 93(1-3): 385-390.
- Hotta, Y., T. Ohnuma, R. Hanzawa, N. Shibata, H. Maeshima, H. Baba, T. Hatano, Y. Takebayashi, M. Kitazawa, M. Higa, T. Suzuki and H. Arai 2011. "Association study between Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1) and Japanese patients with treatment-resistant schizophrenia (TRS)." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 35(2): 636-639.
- Kim, V. N. 2005. "MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing." *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6(5): 376-385.
- Kohlrusch, F. B., A. Salatino-Oliveira, C. S. Gama, M. I. Lobato, P. Belmonte-de-Abreu and M. H. Hutz 2010. "Influence of serotonin transporter gene polymorphisms on clozapine response in Brazilian schizophrenics." *J Psychiatr Res*, 44(16): 1158-1162.
- Kondo, T., K. Mihara, A. Suzuki, N. Yasui-Furukori and S. Kaneko 2003. "Combination of dopamine D2 receptor gene polymorphisms as a possible predictor of treatment-resistance to

dopamine antagonists in schizophrenic patients." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27(6): 921-926.

Kozomara, A. and S. Griffiths-Jones 2011. "miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data." *Nucleic Acids Res*, 39(Database issue): D152-157.

Lagos-Quintana, M., R. Rauhut, W. Lendeckel and T. Tuschl 2001. "Identification of novel genes coding for small expressed RNAs." *Science*, 294(5543): 853-858.

Lang, U. E., I. Puls, D. J. Muller, N. Strutz-Seebohm and J. Gallinat 2007. "Molecular mechanisms of schizophrenia." *Cell Physiol Biochem*, 20(6): 687-702.

Lee, R. C. and V. Ambros 2001. "An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*." *Science*, 294(5543): 862-864.

Lee, R. C., R. L. Feinbaum and V. Ambros 1993. "The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*." *Cell*, 75(5): 843-854.

Lieberman, J. A. and R. M. Murray 2012. *Comprehensive Care of Schizophrenia: A Textbook of Clinical Management*, OUP USA.

Longley, D. B. and P. G. Johnston 2005. "Molecular mechanisms of drug resistance." *J Pathol*, 205(2): 275-292.

Loscher, W. and H. Potschka 2005. "Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters." *Nat Rev Neurosci*, 6(8): 591-602.

Löscher, W. and H. Potschka 2005. "Blood-Brain Barrier Active Efflux Transporters: ATP-Binding Cassette Gene Family." *NeuroRx*, 2(1): 86-98.

Mellios, N., H. S. Huang, S. P. Baker, M. Galdzicka, E. Ginns and S. Akbarian 2009. "Molecular determinants of dysregulated GABAergic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia." *Biol Psychiatry*, 65(12): 1006-1014.

Mundalil Vasu, M., A. Anitha, I. Thanseem, K. Suzuki, K. Yamada, T. Takahashi, T. Wakuda, K. Iwata, M. Tsujii, T. Sugiyama and N. Mori 2014. "Serum microRNA profiles in children with autism." *Molecular Autism*, 5(1): 1-9.

Nunez-Iglesias, J., C. C. Liu, T. E. Morgan, C. E. Finch and X. J. Zhou 2010. "Joint genome-wide profiling of miRNA and mRNA expression in Alzheimer's disease cortex reveals altered miRNA regulation." *PLoS One*, 5(2): e8898.

Ota, V. K., L. N. Spindola, A. Gadelha, A. F. dos Santos Filho, M. L. Santoro, D. M. Christofolini, F. T. Bellucco, A. K. Ribeiro-dos-Santos, S. Santos, J. Mari Jde, M. I. Melaragno, R. A. Bressan, A. Smith Mde and S. I. Belangero 2012. "DRD1 rs4532 polymorphism: a potential pharmacogenomic marker for treatment response to antipsychotic drugs." *Schizophr Res*, 142(1-3): 206-208.

Ozturk, O. 1990. *Ruh Sağlığı ve Bozuklukları*. İstanbul, Evrim Basım-Yayımlar-Dağıtım.

Rajkumar, A. P., B. Poonkuzhali, A. Kuruvilla, A. Srivastava, M. Jacob and K. S. Jacob 2012. "Outcome definitions and clinical predictors influence pharmacogenetic associations between HTR3A gene polymorphisms and response to clozapine in patients with schizophrenia." *Psychopharmacology (Berl)*, 224(3): 441-449.

Souza, R. P., V. de Luca, H. Y. Meltzer, J. A. Lieberman and J. L. Kennedy 2010. "Influence of serotonin 3A and 3B receptor genes on clozapine treatment response in schizophrenia." *Pharmacogenet Genomics*, 20(4): 274-276.

Sun, X.-y., J. Zhang, W. Niu, W. Guo, H.-t. Song, H.-y. Li, H.-m. Fan, L. Zhao, A.-f. Zhong, Y.-h. Dai, Z.-m. Guo, L.-y. Zhang, J. Lu and Q.-l. Zhang 2015. "A preliminary analysis of microRNA as potential clinical biomarker for schizophrenia." *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 168(3): 170-178.

Tandon, R., M. S. Keshavan and H. A. Nasrallah 2008. "Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology." *Schizophr Res*, 102(1-3): 1-18.

Teo, C., C. Zai, C. Borlido, C. Tomasetti, J. Strauss, T. Shinkai, B. Le Foll, A. Wong, J. L. Kennedy and V. De Luca 2012. "Analysis of treatment-resistant schizophrenia and 384 markers from candidate genes." *Pharmacogenet Genomics*, 22(11): 807-811.

Thiebaut, F., T. Tsuruo, H. Hamada, M. M. Gottesman, I. Pastan and M. C. Willingham 1987. "Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues." *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(21): 7735-7738.

Wang, J., L. Tan, L. Tan, Y. Tian, J. Ma, C.-C. Tan, H.-F. Wang, Y. Liu, M.-S. Tan, T. Jiang and J.-T. Yu 2015. "Circulating microRNAs are promising novel biomarkers for drug-resistant epilepsy." *Scientific Reports*, 5: 10201.

Wang, W. X., B. W. Rajeev, A. J. Stromberg, N. Ren, G. Tang, Q. Huang, I. Rigoutsos and P. T. Nelson 2008. "The expression of microRNA miR-107 decreases early in Alzheimer's disease and may accelerate disease progression through regulation of beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1." *J Neurosci*, 28(5): 1213-1223.

Xia, X., K. Zhang, G. Cen, T. Jiang, J. Cao, K. Huang, C. Huang, Q. Zhao and Z. Qiu 2015. "MicroRNA-301a-3p promotes pancreatic cancer progression via negative regulation of SMAD4." *Oncotarget*, 6(25): 21046-21063.

Yasui-Furukori, N., M. Saito, T. Nakagami, A. Kaneda, T. Tateishi and S. Kaneko 2006. "Association between multidrug resistance 1 (MDR1) gene polymorphisms and therapeutic response to bromperidol in schizophrenic patients: a preliminary study." *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30(2): 286-291.

Zhang, J. P., T. Lencz, S. Geisler, P. DeRosse, E. J. Bromet and A. K. Malhotra 2013. "Genetic variation in BDNF is associated with antipsychotic treatment resistance in patients with schizophrenia." *Schizophr Res*, 146(1-3): 285-288.

Zhang, Y., G. Duan and S. Feng 2015. "MicroRNA-301a modulates doxorubicin resistance in osteosarcoma cells by targeting AMP-activated protein kinase alpha 1." *Biochem Biophys Res Commun*, 459(3): 367-373.

Zhou, R., P. Yuan, Y. Wang, J. G. Hunsberger, A. Elkahlon, Y. Wei, P. Damschroder-Williams, J. Du, G. Chen and H. K. Manji 2009. "Evidence for selective microRNAs and their effectors as common long-term targets for the actions of mood stabilizers." *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, 34(6): 1395-1405.

EKLER

Tablo Ek 1. qRT-PCR sonuçlarından elde edilen ortalama Cq değerleri. (Y: Tedaviye yanıt veren hastalar). Cq değerleri 36 üzerinde olanlar ile reaksiyondaki bazı örneklerin tekrar edecek bütçemiz yeterli olmadığından tekrarlarında tutarsızlık olan örnekler çıkarıldı.

	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15	Y16	Y17	Y18	Y19
miR-7-5p	21,4	22,8				24,4	22,2	23,5	21,4	24,0	21,9		21,5	20,0	21,6	24,2	20,4	22,5	24,6
miR-10a-5p	26,5		27,7	26,1	23,5	28,0	26,3	28,1		28,0	26,5	27,6	26,5		25,2	29,4		26,1	29,4
miR-10b-5p	19,4	20,3	21,9	19,9	19,1	22,0	19,7	20,6	20,6	21,7	20,1	20,9	20,5	20,6	21,3	22,5	21,4	22,1	20,4
miR-22-3p	26,1	25,1	27,3	23,1	21,8		26,1	26,4	22,9	24,4	24,9	25,6	23,9	24,1	26,0	27,9	25,6	23,7	25,5
miR-27a-3p	18,9	20,6	21,7		18,9	21,3		20,2	21,1	20,5	19,8	20,8	19,2	19,2		21,1			21,5
miR-27b-3p	20,8	21,6	20,4	15,3		22,0		22,0		20,4	19,7	22,5	19,8	18,7	16,0			18,6	17,4
miR-29a-3p	22,4	24,6	24,1	23,6	23,1	25,6	23,4	23,5	24,0	23,8	22,9	24,5	23,6	23,3	24,2	24,4	24,2	24,3	24,0
miR-29b-3p	21,1			21,4	19,5	21,1	22,2	22,8		21,4	21,8	23,3	20,7			23,6		21,9	19,5
miR-29c-3p	19,4	20,4	20,5	18,7	16,5	21,2	18,5	18,9	18,3	21,0	18,5	19,9	18,7	17,7	19,0	21,7	15,5	17,9	19,6
miR-30b-5p	24,6	26,5	25,2	24,5	24,3	27,5	24,7	27,6	25,7	25,9	24,6	27,4	24,4	24,4	25,1	28,4	26,0	27,2	26,0
miR-31-5p	24,2	24,7	25,5	24,4	23,1	25,5	25,0	24,7	25,0	25,7	24,1	26,0	24,3	23,5	24,3	26,3	25,1	24,8	25,5
miR-34a-5p	25,4	26,3	26,1	25,6	24,5	28,0	23,2	26,9	24,5	27,3	25,3	27,7	26,6	25,7	25,7	27,7	26,5	26,1	28,5
miR-128-3p	23,2	24,4	21,2	23,2	23,3	26,2	24,2	24,5	24,6		23,0	26,5	24,4	24,2	25,0	27,8	25,2	26,3	
miR-132-3p	19,1	20,4	21,4	20,5	20,0	22,1	20,0	20,8	20,7	20,4	19,8	20,9	20,5	19,6	20,7	21,6	21,0	20,9	21,7
miR-138-5p	20,5	21,9	22,7	21,7	21,1	23,1	21,4	21,3	20,8	22,2	20,6	22,2	20,9	19,9	20,2	23,0	20,6	21,6	21,8
miR-141-3p	16,6	18,2	19,0	18,5	16,7	19,3	17,5	18,2	17,9	17,7	17,0	21,7	17,6	16,8	18,3	18,4	17,5	19,4	19,2
miR-181b-5p	17,5	18,0	17,8	16,4	16,8	19,1	17,0	16,9	17,0	19,3	16,8			15,7	16,6	19,6	16,5	16,5	17,4
miR-190a-5p				27,6	29,8		29,4		28,9		31,8	31,2				26,9	28,2	29,5	28,5
miR-195-5p	23,0	25,5	26,2	24,6	23,9	26,8	24,0	24,4	24,0	24,8	23,9	24,1	23,8	23,4	26,2	25,4	23,0	24,8	25,0
miR-200a-3p	22,3	22,6	21,0	22,2	21,6	23,1	22,0	23,0	22,4	22,5		24,0	22,4	22,0	23,0	23,8	22,1	23,0	21,4
miR-203a-3p	20,4	22,8	22,0	20,9	19,0	21,7	19,9	20,5	20,4	21,1	19,1	21,6	19,5	18,2	19,8	22,0	19,2	19,4	21,1
miR-218-5p	19,0	20,2	18,1	18,2	18,9	22,2	19,0	18,7	19,6	19,6	18,3	18,6	18,8	18,4	18,7	19,4	18,8	18,8	19,2
miR-223-3p	18,0	20,0	20,5	18,3	18,8	20,7	17,5	19,2	17,7	19,8	18,1	19,2	18,9	18,2	20,3	20,5	19,4	19,1	19,4
miR-301a-3p	21,0	23,2	23,2	21,3	21,3	23,4	21,7	21,4	21,5	22,3	22,3	22,1	21,4	20,5	21,6	23,2	21,6	21,5	22,7
miR-337-5p	26,5	28,1				28,4	27,1	27,1	27,2	27,0	25,7		28,7	26,7	28,0	28,3	28,7	28,5	29,3
miR-346	22,5		20,9					22,1	23,9	23,5	22,8	24,6	24,2	22,8	24,7	25,7	24,4	25,4	26,3
miR-410-3p	12,3	17,2	18,5	18,0	14,6	17,0	15,5	13,8	15,0	12,1	12,1	13,8	15,7	13,1	17,4	13,2	16,6	16,9	15,8
miR-504-5p	27,7	29,7	30,5	29,3	27,4	29,5	28,8	28,3	29,2	29,3		31,4	30,5	28,6	30,5	28,3	30,4	30,6	33,1
miR-544a			27,1			27,8				29,0		28,0	25,9	24,4	26,6	28,2	26,2	27,1	28,6
cel39	22,3	23,0	22,5	23,1	22,5	22,3	22,4	24,5	23,8	22,9	22,7	25,0	22,9	23,3	23,2	27,9	30,5	29,9	29,6

Tablo Ek 2. qRT-PCR sonuçlarından elde edilen ortalama Cq değerleri. (S: Sağlıklı hastalar). Cq değerleri 36 üzerinde olanlar ile reaksiyondaki bazı örneklerin tekrar edecek bütçemiz yeterli olmadığından tekrarlarında tutarsızlık olan örnekler çıkarıldı.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
miR-7-5p		22,1				21,6	21,5	23,4		21,5
miR-10a-5p				27,9		27,1	27,6	28,8	26,8	
miR-10b-5p	19,8	22,7	20,7	21,4	21,2	21,9	21,8	23,5		19,8
miR-22-3p	23,1	25,6		26,6	24,5	23,7	24,1	28,0	25,0	26,0
miR-27a-3p	19,3	18,5	20,2	20,1			19,7	21,7	20,1	19,5
miR-27b-3p		17,7	22,0	21,3	18,2					19,5
miR-29a-3p	23,6	24,0	24,4	24,4	21,9	23,0	23,8	25,4		23,7
miR-29b-3p					19,8		21,9			21,1
miR-29c-3p	18,3	16,8	19,5	19,9		19,8	20,3	18,3	18,7	
miR-30b-5p		25,5	26,0	26,5	25,0	25,7	26,0	27,7	25,4	25,4
miR-31-5p	23,8	24,6	24,9	25,0	24,6	24,1	24,8	25,6	24,5	
miR-34a-5p	24,7	25,8	27,3	26,7	26,5	26,2		28,6	26,2	26,0
miR-128-3p	24,3	24,9		25,3	21,1	22,3		27,1	24,4	24,5
miR-132-3p	19,7	20,7	21,1	20,6	21,0	20,0	20,5	22,5	21,2	20,3
miR-138-5p	20,7	17,5	21,6	21,2	20,8	21,1	22,1	23,2	20,2	21,7
miR-141-3p	15,3	20,3	18,2	18,3	18,2	17,6	17,6	19,7	18,6	17,5
miR-181b-5p		16,5	17,0	17,8	16,3	16,0	17,7	17,5	16,4	16,3
miR-190a-5p		26,7		30,5					29,4	25,3
miR-195-5p	24,0	23,6	23,8	24,7	23,9	23,3	24,2	25,1	23,3	
miR-200a-3p	19,9	21,7	22,9	22,6	23,4	22,3	23,2	23,3		22,6
miR-203a-3p	16,5	18,3	20,7	20,5	18,7	20,1	21,2	21,1	18,4	20,3
miR-218-5p	16,3	19,0	19,4	19,5	18,8	18,3	20,2	19,4	18,1	19,0
miR-223-3p	17,6	18,4	18,6	18,8	17,9	18,9	18,2	18,6	17,8	18,9
miR-301a-3p			21,2	21,6	20,7	21,2	22,2	21,5	20,7	21,0
miR-337-5p	26,5	27,6	27,5		27,4	27,3		28,9	27,8	26,4
miR-346	23,1	21,4	24,3			23,2	22,7	25,8	21,7	
miR-410-3p	14,8	14,5	14,6	14,9	16,4	13,1	12,8	16,5	14,6	14,8
miR-504-5p	30,5			30,3		29,9		31,2	29,5	28,6
miR-544a	25,6	25,2		26,3	26,4			27,6	25,6	25,5
cel39	22,8	24,0	24,2	24,2	24,1	23,2	23,4	25,9	23,4	22,5

Tablo Ek 3. qRT-PCR sonuçlarından elde edilen ortalama Cq değerleri. (D: Tedaviye dirençli hastalar). Cq değerleri 36 üzerinde olanlar ile reaksiyondaki bazı örneklerin tekrar edecek bütçemiz yeterli olmadığından tekrarlarında tutarsızlık olan örnekler çıkarıldı.

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18
miR-7-5p	21,8				21,0	21,7	19,3	24,0		20,9	21,7	21,5		22,5		20,8	22,0	
miR-10a-5p	26,7	26,0						28,2	26,2		27,0			27,6	26,6		27,6	25,4
miR-10b-5p	20,3	20,0	19,3	22,9	23,3	20,6	19,3	20,1	19,8	21,1	20,6	22,9	20,7	20,6	20,9	19,7	20,6	20,8
miR-22-3p	24,4	24,4	23,2	22,2	26,4	23,3		24,4	25,8	26,9	26,8	25,2	26,1	25,2	23,1	25,7		23,1
miR-27a-3p	19,5	19,6		16,2		18,8	18,9	20,6	19,4	21,1	20,1		19,3	20,6	19,3	19,2	21,2	19,1
miR-27b-3p		17,9	18,6		20,8	19,1				17,9			21,6			20,9		
miR-29a-3p	22,6	23,6	22,8	21,5	23,9	22,6	22,9	24,2	23,3	25,2	24,2	23,8	24,2	24,3	23,6	22,4	24,7	23,6
miR-29b-3p		19,6							21,2		21,0		20,8		21,8	20,1		
miR-29c-3p	17,9	18,7	17,8	19,9	17,8	16,6		18,2	18,2	17,7	19,5	18,0	19,9	19,7	18,4	17,7	19,3	18,2
miR-30b-5p	24,3		24,3	26,6	25,8	24,2	25,7	27,9	24,2	28,4	25,3	24,4	24,9	27,6	24,9	23,9	25,7	
miR-31-5p	24,1	23,5	23,4	23,2	24,5	23,9	23,6	24,3	23,3	24,9	24,2	23,9	23,8	23,3	24,5	23,4	24,4	22,0
miR-34a-5p	25,6	26,3	24,2		26,5	24,9	25,1		25,4	26,9	25,2		26,0	25,5	25,7	25,0	25,9	25,3
miR-128-3p		22,9		17,4	21,7	24,0	18,9	25,9	23,7		24,5	24,5	24,0	24,8	24,4	23,8		
miR-132-3p	19,7	20,5	19,5	20,5	21,0	19,1	20,8	21,8	19,6	22,4	20,0	19,6	19,8	21,8	19,5	19,0	20,2	19,8
miR-138-5p	20,3	20,6	19,3	18,5	21,3	19,7	19,1	21,9	20,0	21,0	21,3	21,0	20,1	21,7	20,1	19,8	21,2	19,4
miR-141-3p	17,6	17,2	16,6	19,6	17,8	16,2		17,6	16,7	18,8	16,9	17,9	16,4	19,4	17,0	15,3	17,6	15,2
miR-181b-5p	16,5	15,5	14,9	16,3		15,3	14,7	16,4	16,1	14,9	16,0	16,7	16,6	16,4	16,4	16,5	16,7	14,2
miR-190a-5p		27,4	26,8	23,7				21,5		22,8	21,0		26,5				22,7	21,1
miR-195-5p		22,7		21,7	23,5	22,0	21,3	22,5	22,8	22,5	22,3	25,0	22,9	24,4	23,6	21,9	22,4	21,8
miR-200a-3p	21,8	22,0	20,4		22,8		21,8	24,0	21,7	23,2	22,8		22,1	23,1	22,0	21,2	22,6	19,9
miR-203a-3p	18,6	19,2	17,3	20,7	20,0	18,5	18,2	20,7	18,4	20,3	19,8	18,5	21,2	20,6	19,1	18,0	20,3	16,7
miR-218-5p	18,2	18,5	16,8	20,2	19,7	17,5	16,4	19,9	18,5	18,1	18,5	17,5	19,4	18,8	18,6	17,5	19,5	16,6
miR-223-3p	18,6	19,8	17,6	18,3	18,8	17,5	22,5	19,9	18,0	20,5	19,2	18,1	19,1	17,8	17,7	17,9	18,7	17,8
miR-301a-3p		20,8		21,3	20,9	20,5	20,2		19,8	20,3	20,6	20,5	20,8	20,8	20,5	20,5	19,9	
miR-337-5p		26,7	27,0	22,4	28,2	26,3	25,4	20,2		25,4	23,9		27,1	28,5		26,5	23,3	26,1
miR-346	21,8	22,3		23,9	24,0	22,5	24,9	23,6	23,1	25,9		23,9		25,2			21,7	
miR-410-3p	14,8	14,9	16,4	16,9	16,8	11,5	13,6	14,9	15,9	16,0	13,2	16,4	14,4	15,8	13,5	12,5	14,6	15,4
miR-504-5p	29,1		28,4	26,0	30,2	27,6	28,4	28,7	28,4			30,0	28,5		29,5	28,1	29,7	28,8
miR-544a	25,1			19,5	26,7	24,3	26,9	27,2	24,7		26,1	25,4	25,8	27,6	25,9	24,1	23,9	
cel39	20,9	24,2	21,1	22,6	23,3	22,6	25,1	24,2	21,8	26,0	23,8	22,5	23,6	24,2	23,0	22,3	24,2	24,2

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. HASAN HERKEN
Proje No:	114S158
Proje Başlığı:	Şizofreni Hastalarında Tedaviye Direncin Mekanizmasıyla İlişkili mikroRNA'ların Saptanması
Proje Türü:	1002 - Hızlı Destek
Proje Süresi:	12
Araştırmacılar:	ŞAKİR AKGÜN
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	PAMUKKALE Ü. TIP F. DAHİLİ TIP BİLİMLERİ B. PSİKİYATRİ ABD.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/11/2014 - 01/11/2015
Onaylanan Bütçe:	29916.0
Harcanan Bütçe:	29914.01
Öz:	<p>Şizofrenide tedaviye direnç en önemli zorluklardan biridir. Şizofreni hastalarında başarılı bir tedavi stratejisi geliştirmek için antipsikotik ilaç tedavisine olan yanıtın önceden belirlenebilmesi oldukça önemlidir. Tedaviye direnç mekanizmalarında görev aldığı tespit edilen çeşitli genler (5-HTT, DRD1, DISC1 vb.) ile yapılan genetik çalışmalar daha ziyade polimorfizm çalışmaları şeklindedir. Gen ekspresyonunun kontrolünde önemli bir paya sahip olan mikroRNAlar, bu tür sınırlayıcı genetik çalışma alanına sahip hastalıklar için ideal bir moleküler teşhis elementi olmaktadır. Hem periferal dokularda hem de serumda stabil kalabilmeleri, genetik çalışmalar için mikroRNAları etkili bir hedef haline getirmektedir. Kansere ve birçok hastalığın moleküler teşhisinde yeni bir alan açmaktadırlar. Bu çalışmada amaç, şizofreni tedavisine direnç gösteren ve iyi yanıt veren hastalar arasındaki mikroRNA ilişkisini incelemek ve tedaviye direncin tespit edilebilmesi için aday mikroRNAları tanımlamaktır. Çalışma için; sağlıklı, tedaviye iyi yanıt veren ve tedaviye direnç gösteren hasta gruplarının plazmaları kullanıldı. Çalışma için şizofreni ile ilişkili 29 mikroRNA seçildi ve ekspresyon düzeyleri qRT-PCR ile tespit edildi. Analizler sonucunda, tedaviye dirençli şizofreni grupta, tedaviye iyi yanıt veren grup ile karşılaştırıldığında miR-181b-5p, miR-195-5p ve miR-301a-3p ekspresyonlarının anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. Bu mikroRNAlar, şizofrenide tedaviye dirençte potansiyel teşhis aracı olabilir. Bunların doğruluğu için ileri ve geniş ölçekte çalışmalara ihtiyaç vardır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Şizofreni, mikroRNA, tedaviye direnç, tedaviye yanıt, qRT-PCR
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır