

Periferik Kan Hücrelerindeki NLRP3 İnflamazom Bileşenlerinin Seviyeleri ile Obsesif Kompulsif Bozukluk Arasındaki İlişkiler

Associations Between Blood Levels of NLRP3 Inflammasome Components and Obsessive Compulsive Disorder

Melike TETİK¹, Neşe DİREK², Betül ÖNDER UZGAN³, Cansu AYKAÇ⁴, Burcu EKİNCİ^{5,6}, Tutku YARAŞ^{5,6}, Aykut KURUOĞLU^{5,6}, Fatih ÖZEL⁷, Çağatay ERMiŞ⁸, Tunç ALKIN^{1,4}, Yavuz OKTAY^{5,6,9}

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilimler Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Çanakkale, Turkey

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye

⁶İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

⁷Uppsala Üniversitesi, Organismal Biyoloji Bölümü, Uppsala, İsveç

⁸Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Erişkin Psikiyatrisi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

öz

Amaç: Obsesif kompulsif bozukluğun (OKB) patogenezinde enflamasyonun rol oynadığı bilinmektedir, ancak bunun altında yatan mekanizmalara dair bilgilerimiz eksiktir. NLRP3 enflamazom kompleksi, çeşitli uyaranlara enflamatuvar yanıtı başlatan ve aracılık eden, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir bileşenidir. Bu çalışmada, NLRP3 enflamazom kompleksi ile OKB arasındaki olası bir ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Bu vaka-kontrol çalışmasına 103 katılımcı (51 OKB hastası ve 52 sağlıklı kontrol) dâhil edildi. Tüm katılımcılar Yale Brown Obsesif Kompulsif Ölçeği, Hamilton Depresyon Ölçeği ve Hewitt Çok Boyutlu Mükemmeliyetçilik Ölçeği ile değerlendirildi. RNA ve proteinler, periferik kan mononükleer hücrelerinden saflaştırıldı. NLRP3 enflamazom bileşenlerinin ifadeleri, kantitatif gerçek-zamanlı polimeraz zincir

reaksiyonu (PCR) ve Western blot yöntemleri kullanılarak belirlendi; serum IL-1 beta ve IL-18 sitokin seviyeleri ise ELISA yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: NEK7 ve CASP1 mRNA seviyeleri ile Pro-kaspaz-1 protein seviyeleri, OKB hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksekti. Regresyon analizi, NEK7 mRNA ve pro-kaspaz-1 protein düzeylerinin, OKB ve sağlıklı kontrol gruplarını ayırt edebildiğini göstermiştir.

Sonuç: Sonuçlarımız, enflamasyon-OKB ilişkisinin altında yatan moleküler değişikliklere ışık tutmaktadır.

Anahtar Sözcükler: ASC, enflamazom, kaspaz-1, NEK7, NLRP3, obsesif kompulsif bozukluk

ABSTRACT

Introduction: Even though the effect of inflammation on pathogenesis of obsessive compulsive disorder (OCD) is known, information regarding the underlying mechanisms are yet to be revealed. The NLRP3 inflammasome complex is an important component of the innate immune system that initiates and mediates inflammatory response to a variety of stimuli. This study aims to inquire into a possible association between NLRP3 inflammasome complex and OCD.

Methods: This case-control study included 103 participants (51 cases with OCD and 52 healthy controls). All participants were evaluated with the Yale Brown Obsessive Compulsive Scale, Hamilton Depression Scale, and Hewitt Multidimensional Perfectionism Scale. RNA and proteins were extracted from peripheral blood mononuclear cells. Expression of NLRP3 inflammasome components were determined

using quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) and Western blotting. Levels of Serum IL-1beta and IL-18 cytokine were determined by ELISA.

Results: NEK7 and CASP1 mRNA levels were significantly higher in OCD patients, compared to controls. Pro-caspase-1 protein levels were elevated, as well. Regression analysis showed that NEK7 mRNA and pro-caspase-1 protein levels can differentiate OCD and healthy control groups.

Conclusion: Our results provide insight into the molecular alterations that could explain the inflammation-OCD association.

Keyword: ASC, caspase-1, inflammasome, NEK7, NLRP3, obsessive-compulsive disorder

Cite this article as: Tetik M, Direk N, Önder Uzgan B, Aykac C, Ekinçi B, Yaras T ve ark. Periferik Kan Hücrelerindeki NLRP3 İnflamazom Bileşenlerinin Seviyeleri ile Obsesif Kompulsif Bozukluk Arasındaki İlişkiler. Arch Neuropsychiatry 2023;60:28–36.

Öne Çıkan Noktalar

- NLRP3 inflamazom bileşenleri, OKB hasta kan hücrelerinde ifade artışı göstermektedir.
- NEK7 mRNA ve pro-Kaspaz-1 protein düzeyleri, iki grubu ayırt edebilmektedir.
- Artmış pro-Kaspaz-1 ifadesi, depresyon komorbidetisinden bağımsızdır.

GİRİŞ

Obsesif kompulsif bozukluk (OKB), kişinin günlük aktivitelerini ve işlevselliğini bozan, tekrarlayan, istemsiz düşünce ve davranışlarla karakterizedir. Obsesif kompulsif bozukluk, etiolojisinde çeşitli faktörlerin yer aldığı, semptomatik olarak heterojen bir hastalıktır. Bu faktörlerden biri de literatürde yer alan, ancak OKB ile ilişkisinin niteliği henüz netleştirilememiş olan enflamasyondur (1). Bu çalışmalarda sıklıkla enflamasyon belirteçleri olarak pro-enflamatuvar ve antienflamatuvar sitokinlerin periferik kandaki seviyeleri kullanılmıştır. Ancak, bu tür çalışmalar, enflamasyonun OKB etiolojisindeki rolü hakkında sınırlı bilgi sağlayabilmektedir. Altta yatan enflamatuvar süreçlerin sonucu olan sitokin düzeylerini ölçmenin aksine, bu süreçlerin düzenlenmesini incelemek, hastalığın etiyojisine dair içgörü sağlayabilir.

İnflamazomlar, çeşitli stres uyaranlarının sensörleri ve enflamatuvar yanıtın araçlarıdır. Bunlar, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptör (NLR) proteinlerinden oluşan oligomerik yapılarıdır. Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı, lösin bakımından zengin tekrar pirin alanı içeren protein 3 (NLRP3), pro-kaspaz-1 ve bir CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri proteinin (PYCARD/ASC) etkileşimi ile oluşur. Stres uyaranlarına yanıt olarak NLRP3 proteini, 'enflamatuvar kompleks' olarak bilinen bir oligomerik yapıyı başlatmak için aktive edilir. Aktif enflamatuvar kompleksi pro-kaspaz-1'i keserek, IL-1 β , IL-18 ve IL-33 gibi sitokinleri işleyen aktif Kaspaz-1'i oluşturur. NLRP3 enflamazomunun majör depresif bozukluk (MDB), bipolar bozukluk, şizofreni, Parkinson hastalığı ve multipl skleroz gibi nöropsikiyatrik durumlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (2-7); NLRP3 regülasyonundaki bozulmanın bu hastalıklarda enflamasyonu hızlandırdığı ve sürdürdüğü varsayılmaktadır.

Bilinen bir mikrotübül oluşumu ve mitoz düzenleyicisi olan Nima ile ilgili Kinaz 7 (NEK7), son yıllarda NLRP3 enflamazom aktivitesinin bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır. İnflamazomu aktive edici sinyaller hücreden potasyum akışına neden olur ve NLRP3 oligomerizasyonuna, daha sonra da benek oluşumuna yol açan NEK7'yi uyarır. NEK7, NLRP3 enflamazom aktivasyonu için gereklidir ve diğer enflamazom komplekslerin aktivasyonu üzerinde bir işlevi olmadığı için NLRP3'e özgüdür (8-10).

Psikoz, bipolar bozukluk ve MDB de dâhil olmak üzere enflamatuvar ve psikiyatrik bozukluklar arasındaki ilişkinin test edildiği yalnızca birkaç çalışma vardır. Ancak bu çalışmalarda, iltihaplanma ve OKB arasındaki olası bir ilişki araştırmamıştır. Nöroenflamasyonun OKB patogenezinde rol oynadığını ve NLRP3 enflamazomunun proenflamatuvar durumlarda tetikleyici rolüne işaret eden kanıtlar göz önüne alındığında, NLRP3 enflamazomunun OKB ile ilişkili olabileceği hipotezini oluşturduk ve bu çalışmada test ettik. Bu amaçla, OKB hastaları ve sağlıklı kontroller arasında NLRP3 enflamazom bileşenlerinin ve NEK7'nin mRNA ve protein düzeylerini karşılaştırdık. Ayrıca NLRP3 enflamazom bileşenleri ile hastalık şiddeti, birlikte var olan anksiyete, depresyon ve mükemmeliyetçilik dâhil olmak üzere OKB'nin klinik özellikleri arasındaki olası ilişkileri araştırdık.

YÖNTEM

Çalışma Popülasyonu

Mevcut çalışma, Şubat-Kasım 2018 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Psikiyatri Anabilim Dalı'nda bilgilendirilmiş onamları alınarak çalışmaya dâhil edilmiş 51 OKB hastası (18-45 yaş arası) ve 52 sağlıklı (18-45 yaş arası) kontrol ile gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı kontroller yaş ve cinsiyet olarak hastalarla eşleştirilmiş, kronik bir hastalık veya psikiyatrik bozukluk öyküsü olmayan katılımcılardan oluşmaktadır. Romatoid artrit, otoimmün bozukluklar (örn. Hashimoto tiroiditi) gibi enflamatuvar bir bozukluğu olan veya kortikosteroid, statin, anti-hipertansif veya steroid-olmayan antienflamatuvar tedavi alan bireyler çalışma dışında tutulmuştur. Bir katılımcı son beş gün içinde bir antienflamatuvar ilaç kullandıysa, kan alma ve psikiyatrik değerlendirmeler ertelenerek ileri bir tarihte bu işlemler gerçekleştirilmiştir. Ek olarak, kan alınmadan önceki bir hafta içinde herhangi bir enfeksiyon belirtisi olan kişiler bu çalışmaya dâhil edilmemiştir.

Tüm protokoller ve yöntemler Dokuz Eylül Üniversitesi Klinik Çalışmalar Etik Kurulu (11/05/2017 tarih ve 2017/08-06 karar no, Protokol numarası 378-SBKAEK) tarafından onaylanmıştır. Tüm katılımcılardan sözlü ve yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Klinik Değerlendirme

Sosyodemografik veriler toplandıktan sonra, OKB tanısını doğrulamak ve diğer psikiyatrik bozuklukların varlığını değerlendirmek için Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal Elkitabı (DSM-IV) Eksen I Bozuklukları için Yapılandırılmış Klinik Görüşme (SCID-I) uygulandı. Kontrol grubundaki tüm sağlıklı katılımcılar, herhangi bir psikiyatrik bozukluğu dışlamak için SCID-I ile de değerlendirildi. Obsesif kompulsif bozukluk şiddetini belirlemek için Yale-Brown Obsesyon ve Kompulsiyon Ölçeği (Y-BOCS) kullanıldı (11,12). Y-BOCS, obsesyonlar ve kompulsiyonlar için sınıflandırma başlıkları altında 74 soruluk bir semptom kontrol listesinden oluşmaktadır. Depresif belirtilerin şiddetini değerlendirmek için Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği (HAM-D) kullanıldı (13,14). Mükemmeliyetçilik düzeylerini değerlendirmek için Hewitt'in Çok Boyutlu Mükemmeliyetçilik Ölçeği (MPS) kullanıldı (15,16).

Enflamatuvar Belirteçlerin Moleküler Analizleri

Periferik Kan Mononükleer Hücre (PKMH) İzolasyonu

Moleküler çalışmalar için, sabah 9:00 ile 11:00 arasında açlık durumundaki katılımcılardan periferik venöz kan örnekleri (16,5 ml) toplandı. Üç ml lenfosit ayırma ortamı (Lonza, Cat#BE17-829E) üzerine eklendi, ardından 25 dakika boyunca dakikada 2200 devirde santrifüjleme gerçekleştirildi (Eppendorf 5810 R). Ara katmandan izole edilen PKMH'ler, 10 dakika boyunca dakikada 1500 devirde PBS ile yıkandı. RNA bütünlüğünü korumak için peletlere toplamda 500 μ l TRIzol (ThermoFisher) eklendi ve dört alikot/numune olacak şekilde RNA ve protein izolasyonuna kadar -80 °C'de saklandı.

RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

TRIzol içindeki alikotlar buz üzerinde eritildi ve 1:1 hacim: hacim EtOH (%100) ilave edildi. Üreticinin protokolüne göre Direct-zol RNA Miniprep Plus kiti (Zymo, Cat# R2072) kullanılarak RNA ekstraksiyonu yapıldı ve cDNA sentezine kadar -80 °C'de saklandı. RNA saflığı ve miktarı Nanodrop 2100 c spektrofotometre (Thermo Scientific) kullanılarak değerlendirildi. OD_{260/280} ve OD_{260/230} oranları hesaplandı ve sırasıyla 1,9-2,0 ve >1,5 olan örnekler cDNA sentezi için kullanıldı. Bir μ g RNA, First Strand cDNA Synthesis kiti (ProtoScript Cat# E6300) kullanılarak cDNA'ya dönüştürüldü.

Kantitatif Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPCR)

NLRP3, ASC, CASP1 ve NEK7'nin mRNA ekspresyon seviyeleri, Light Cycler 480 (Roche) cihazı yardımıyla GoTaq qPCR Master Mix (Promega, Cat#

A6001) kullanılarak belirlendi. Normalizasyon için GAPDH geni kullanıldı ve her bir genin bağıl ifadesi 2- $\Delta\Delta C_t$ yöntemine göre hesaplandı. Her bir gen için kullanılan primer çiftleri şunlardır:

NEK7_forw 5'-TTTACTCTGACAGCG -3',
 NEK7_rev 5'-GCAACAGGAAGTTTAGAACT -3',
 caspase-1_forw 5'-CTCAGGCTCAGAAGGGAATG -3',
 caspase-1_rev 5'-CGCTGTACCCAGATTTTGT -3',
 NLRP3_forw 5'-GCAGCAAAGTGGAAAGGAAG -3',
 NLRP3_rev 5'-CTTCTCTGATGAGGCCCAAG -3', ASC_
 forw 5'-AGTTTCACACCAGCTGGAA -3', ASC_rev
 5'-TTTTCAAGCTGGCTTTTCGT -3', GAPDH_forw
 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC -3', GAPDH_rev
 5'-TCCACCTGTTGCTGTA -3'.

Her reaksiyon üç tekrar halinde gerçekleştirildi ve ürünlerin özgüllüğünü kontrol amacıyla her bir primer çifti için erime eğrisi analizi yapıldı.

PKMH'lerden Protein Ekstraksiyonu ve Western Blotlama

TRIZol içinde korunan numunelere 1:5 hacim:hacim oranında kloroform ilave edildi. Santrifüjleme ve EtOH ile yıkamanın ardından proteinler, 0,3 M guanidyum hidroklorür ile çöktüldü. Yıkandıktan sonra peletler %1 SDS solüsyonunda çözüldü. Protein konsantrasyonu, BCA Test Kiti (Thermo, Cat#: 23227) kullanılarak ölçüldü. Eşit miktarda protein (30 µg), SDS-numune tamponu ile karıştırıldı ve proteinleri denatüre etmek için beş dakika kaynatıldı. Proteinler, iki saat boyunca Tris-Glisin tamponlu SDS-Poliakrilamid jel üzerinde ayrıştırıldı ve iki saat boyunca 250 mA'da PVDF membrana aktarıldı. Aktarılan proteinleri içeren membran, 1X TBS (Tris-tamponlu salin) çözeltisi içinde %5 yağsız süt ile bloke edildi. Her birincil antikor için optimum inkübasyon süreleri belirlendi ve ardından uygun yaban turpu-peroksidaz (HRP)-konjuge ikincil antikor ile inkübe edildi. Her bir protein için kullanılan antikorlar şunlardır: anti-CASP1 (Abcam Kat# ab1872), anti-ASC (AG, Kat# 25B-0006-C), anti-NEK7 (Abcam, Kat#ab13351), anti-NLRP3 (AG, Kat# 20B-0014-C), anti-beta-aktin (Abcam, Kat# ab6227). Son olarak, membranlar Luminata Forte Western HRP Substrate (Luminata, WBLUF0500) ile inkübe edildi ve kemilüminesans görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, ECX-F20L) üzerinde ölçüldü. Sisteme ait yazılım kullanılarak görüntü analizi yapıldı ve protein seviyeleri beta-aktin referans alınarak hesaplandı.

Enzim-bağılı Immunsorbent Ölçüm (ELISA) Analizi

Sarı kapaklı jel tabanlı tüplere alınan kandan izole edilen serum numuneleri üzerinde ELISA analizi yapıldı. Oda sıcaklığında 30 dakikalık bir inkübasyonun ardından numuneler dakikada 4000 devirde (2850 g) beş dakika santrifüjlendi ve 500 µl'lik alikotlar ölçüme kadar -80 °C'de saklandı. ELISA ölçümleri, IL-1 (Thermo Scientific, Invitrogen, Cat# BMS224-2) ve IL-18 (Thermo Scientific, Invitrogen, Cat# BMS267NST) kit üreticisinin talimatlarına göre yapıldı. Her katılımcıdan 50 µl serum örneği kullanıldı ve 450 nm - 620 nm'de absorbans ölçüldü (Varioskan, Thermo). Her numunenin IL-1 β ve IL-18 konsantrasyonunu belirlemek için standart eğriler kullanıldı.

İstatistiksel Analizler

Normallik eğrileri ve histogramları kullanarak sürekli değişkenlerin dağılımını test ettik. Normal dağılıma sahip olmayan değişkenler, doğal logaritma (LN) kullanılarak dönüştürüldü. Western blot ile değerlendirilen enflamazom bileşenlerini analiz ederken aykırı değerleri (n=3) hariç tuttuk. Kategorik değişkenler için ki-kare testi ve sürekli değişkenler için t testi ile grup karşılaştırmaları yapıldı.

İnflamazom bileşenleri, NEK7 ve interlökin düzeylerinin OKB durumu ile ilişkisi lojistik regresyon analizleri ile değerlendirildi. İlk modelde yaş, cinsiyet ve eğitim süresine göre analiz gerçekleştirildi. İkinci modelde ise toplam Hewitt MPS puanı da modele dâhil edildi. Bu analizlerde

enflamatuvar parametrelerin LN ile dönüştürülmüş değerleri kullanıldı ve sonuçlar geri dönüştürülmüş değerler olarak sunuldu.

Obsesif kompulsif bozukluk grubunda lineer regresyon analizi kullanarak enflamazom bileşenlerin, NEK7 ve interlökin düzeylerinin olası öngörücülerini test ettik. Bu analizlerde yaş, cinsiyet, eğitim süresi, Y-BOCS puanı, OKB tanısından itibaren geçen toplam süre, OKB ilaç kullanım durumu, Hewitt MPS toplam puanı ve HAM-D toplam puanları yordayıcı olarak kullanılmış ve sonuçlarda geri dönüştürülmüş değerler sunulmuştur.

İstatistiksel analizler için IBM Sosyal Bilimler için İstatistik Paket Programı (SPSS) sürüm 22.0 yazılımı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık değerlendirmesi için 0,05'lik tip I hata eşiği kullanıldı.

BULGULAR

Toplamda 51 OKB'li katılımcı ve 52 sağlıklı kontrol bu çalışmaya dâhil edildi. Obsesif kompulsif bozukluk hastalarının ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları sırasıyla 30,41 \pm 8,90 yıl ve 30,56 \pm 7,89 yıldır (p>0,05). Obsesif kompulsif bozukluk grubunun %60,8'i (n=31) ve sağlıklı kontrollerin %59,6'sı (n=31) kadındır (p>0,05). Obsesif kompulsif bozukluk olgularının eğitim süreleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha düşüktü (p=0,04). Obsesif kompulsif bozukluk grubunda çalışan katılımcı sayısı sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşüktü (p<0,001). Çalışma popülasyonunun ayrıntılı özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur.

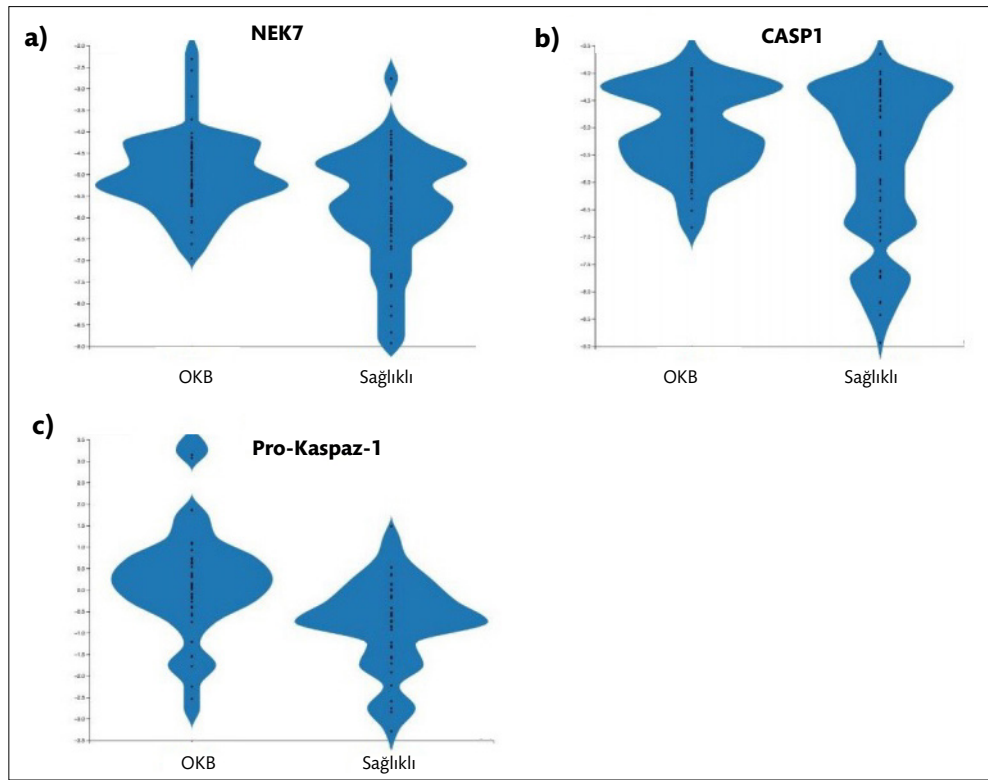
Obsesif kompulsif bozukluk hastalarının toplamda %45,1'i (n=23) antidepresan tedavi görüyordu. OKB grubunda ortalama Y-BOCS skoru 25,1 \pm 6,5 (ortalama \pm standard sapma) ve ortalama HAM-D skoru 14,8 \pm 8,3 idi. Obsesif kompulsif bozukluk hastalarında Hewitt MPS skorları sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olma eğilimindeydi, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (184,5 \pm 48,1 ile 167,1 \pm 41,2, p=0,05) (Tablo 1).

Obsesif kompulsif bozukluk hastalarında NEK7 mRNA (p=0,001), CASP1 mRNA (p=0,006) ve pro-Kaspaz-1 protein seviyeleri (p=0,002) sağlıklı kontrollere göre daha yüksek iken, diğer bileşenlerin mRNA veya protein seviyeleri iki grup arasında anlamlı değildi (Şekil 1, Tablo 1).

NLRP3, Kaspaz-1, ASC, NEK7, IL-1 β ve IL-18'in mRNA ve protein seviyelerinin OKB durumu ile ilişkisini test etmek için bir dizi lojistik regresyon analizi yapıldı. Yaş, cinsiyet, eğitim süresi uzunluğu, Hewitt MPS puanlarının dâhil edildiği modeller, NEK7 mRNA ve pro-Kaspaz-1 protein düzeylerinin OKB durumunu öngördüğünü gösterdi (Tablo 2). NLRP3, ASC mRNA/protein seviyeleri ile OKB arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu.

Obsesif kompulsif bozukluk grubunda enflamatuvar bileşenler, NEK7 ve interlökin düzeylerinin olası yordayıcılarını test etmek için lineer regresyon analizi yapıldı. Obsesif kompulsif bozukluk grubunda mRNA düzeylerinin anlamlı bir yordayıcısı yoktu. Bununla birlikte, OKB hastalarında antidepresan tedavi ile NLRP3 ve ASC protein seviyeleri yordalandı (Ek Tablo S1-S2, Şekil 2). Aynı modelde, OKB hastalarında yaş ve Y-BOCS skoru ASC protein seviyeleri ile negatif ilişkiliydi. Obsesif kompulsif bozukluk grubunda NEK7, pro-Kaspaz-1, IL-1 β veya IL-18 düzeylerinin anlamlı bir yordayıcısı yoktu.

Ayrıca OKB hastalarında NLRP3 enflamazom bileşenleri, NEK7 ve interlökin seviyeleri ve depresyon şiddeti arasındaki olası ilişkileri test ettik. Obsesif kompulsif bozukluk hastaları, HAM-D puanları için yaygın olarak kullanılan kesme puanına göre gruplandırıldı (<18 ve \geq 18). NLRP3, ASC veya Kaspaz-1'in mRNA veya protein seviyeleri OKB grubunda depresyon durumu ile ilişkili değildi. Öte yandan, NEK7 protein seviyeleri iki grup arasında anlamlı olarak farklıydı (HAM-D<18. HAM-D \geq 18, ile karşılaştırıldığında 6,156 \pm 19,460'a karşı 0,726 \pm 0,760, sırasıyla ortalama \pm



Şekil 1. NEK7 ve Kaspaz-1 düzeylerinin OKB hastaları ve sağlıklı kontroller arasında karşılaştırması. mRNA (**a, b**) ve protein (**c**) seviyelerinin dağılımını gösteren keman grafikleri. Ekspresyon seviyeleri LN ile dönüştürülmüş ve y eksenini, GAPDH mRNA (**a, b**) veya beta-aktin proteini (**c**) ile karşılaştırıldığında nispi ekspresyon gösterir.

Tablo 1. Sosyodemografik özellikler

Özellik	OKB n=51	Kontrol n=52	Çıkarımsal istatistikler	
			χ^2 (df) / t (df)	p
Yaş, yıl, ortalama (SS)	30,41 (8,90)	30,56 (7,89)	28,32 (27)	0,39
Cinsiyet, n (%)			0,020 (1)	0,90
Kadın	31 (60,80)	31 (59,60)		
Erkek	20 (39,20)	21 (40,40)		
Eğitim, yıl, ortalama (SS)	12,65 (3,41)	16,31 (4,15)	29,88 (18)	0,04
Medeni durum, n (%)			0,007 (1)	0,94
Evli	21 (41,18)	21 (40,38)		
Bekar	30 (58,82)	31 (59,62)		
Çalışma durumu, n (%)			14,76 (1)	<0,001
Çalışıyor	17 (33,30)	37 (71,20)		
Çalışmıyor	34 (66,70)	15 (28,80)		
VKİ, kg/m ² , ortalama (SS)	25,76 (4,29)	23,36 (3,77)	94,33 (93)	0,44
Sigara kullanımı n (%)			0,81 (1)	0,37
Kullanıyor	20 (39,20)	16 (30,80)		
Kullanmıyor	31 (60,80)	36 (69,20)		
Hewitt's MPS, ortalama (SS)	184,50 (48,10)	167,10 (41,20)	1,98 (101)	0,05
Y-BOCS, ortalama (SS)	25,10 (6,50)	NA	NA	NA
HAM-D, ortalama (SS)	14,80 (8,30)	NA	NA	NA
NEK7 mRNA	0,11 (0,017)	0,006 (0,009)	-3,34 (90,98)	0,001
CASP1 mRNA	0,008 (0,006)	0,007 (0,006)	-2,82 (78,70)	0,006
ASC mRNA	0,002 (0,003)	0,002 (0,003)	0,31 (100)	0,760
NLRP3 mRNA	0,004 (0,008)	0,003 (0,006)	-0,76 (100)	0,450
NEK7 protein	1,33 (2,20)	0,82 (0,76)	-0,31 (64,39)	0,760
Pro-Kaspaz-1 protein	1,43 (1,41)	0,71 (0,74)	-3,15 (76)	0,002
ASC protein	2,45 (6,03)	0,73 (0,52)	-1,49 (76)	0,140
NLRP3 protein	1,04 (1,04)	0,70 (0,54)	-1,83 (76)	0,071
IL-1 β	4,60 (2,31)	4,50 (2,04)	-0,04 (101)	0,965
IL-18	40,95 (39,77)	46,16 (47,71)	0,95 (101)	0,343

CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein; CASP1: Kaspaz-1; HAM-D: Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği; Hewitt's MPS: Hewitt's Çok Boyutlu Mükemmeliyetçilik Ölçeği Puanı; IL-1 β : interleukin 1 beta; IL-18: interleukin 18; mRNA: Mesajcı RNA; NA: Uygun değil; NEK7: Nima ile İlgili Kinaz 7; NLRP3: Pirin alanı içeren NLR ailesi 3; OKB: Obsesif Kompulsif Bozukluk; SS: Standard sapma; VKİ: Vücut Kütle İndeksi; Y-BOCS: Yale-Brown Obsesyon Kompulsiyon Ölçeği.

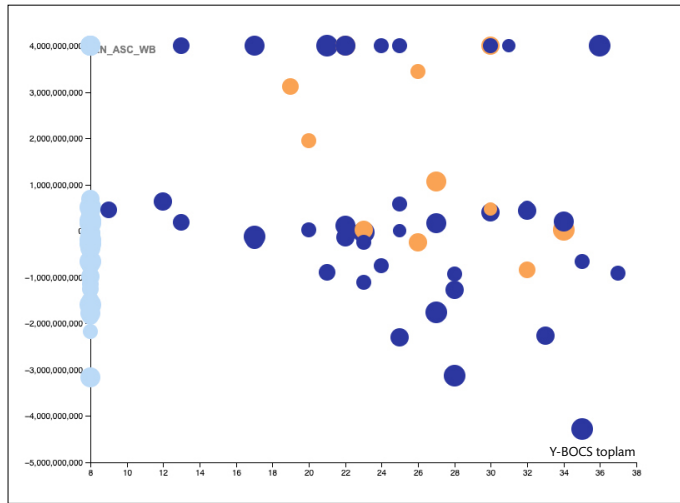
Tablo 2. NLRP3 enflamazom bileşenleri ve NEK7'nin OKB ile ilişkisi

	OR	%95 GA	p
NEK7 mRNA			
Model 1	1,89	0,348-0,970	0,003
Model 2	1,63	0,387-0,970	0,036
CASP1 mRNA			
Model 1	0,61	0,418-0,884	0,009
Model 2	0,70	0,463-1,061	0,093
ASC mRNA			
Model 1	1,06	0,746-1,498	0,755
Model 2	1,16	1,162-1,739	0,467
NLRP3 mRNA			
Model 1	1,13	0,822-1,560	0,446
Model 2	1,16	0,805-1,674	0,424
NEK7 protein			
Model 1	1,07	0,707-1,614	0,754
Model 2	0,98	0,625-1,540	0,934
Pro-Kaspaz-1 protein			
Model 1	2,10	1,252-3,533	0,005
Model 2	2,12	1,190-3,791	0,011
ASC protein			
Model 1	1,35	0,900-2,034	0,147
Model 2	1,25	0,811-1,923	0,312
NLRP3 protein			
Model 1	1,50	0,955-2,341	0,079
Model 2	1,50	0,925-2,428	0,101

ASC: CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein; CASP1: kaspaz-1; GA: Güven aralığı; IL-1 β : interleukin 1 beta; IL-18: interleukin 18; mRNA: Mesajcı RNA; NNEK7: Nima ile İlgili Kinaz 7; NLRP3: Pirin alanı içeren NLR ailesi 3; OKB: Obsesif Kompulsif Bozukluk; OR: odds ratio - göreceli olasılıklar oranı.

Model 1 yaş, cinsiyet ve eğitim süresi'ne göre düzeltilmiştir.

Model 2'de bunlara ek olarak Hewitt'in Çok Boyutlu Mükemmeliyetçilik Ölçeği puanları da düzeltmede kullanılmıştır.



Şekil 2. ASC protein düzeyleri ilaç kullanımı ve Y-BOCS puanı ile negatif yönde koreledir.

Kabarcık grafiği, ilaç kullanmayan OKB hastalarında (sarı kabarcıklar) ASC protein düzeylerinin, en az bir psikiyatrik ilaç kullanan OKB hastalarına (mavi) göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Grafik ayrıca, daha düşük Y-BOCS skorlarına sahip hastaların daha yüksek ASC protein seviyelerine sahip olma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Kabarcık boyutu hastanın yaşını gösterir. Açık mavi kabarcıklar sağlıklı kontrolleri gösterir (ASC: CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein; Y-BOCS: Yale-Brown Obsesyon Kompulsiyon Ölçeği)

standard sapma, Kruskal-Wallis p=0,03). NEK7 mRNA seviyeleri için böyle bir ilişki gözlenmedi. Obsesif kompulsif bozukluk grubunda IL-1 β veya IL-18 düzeylerinin depresyon durumu ile ilişkisi yoktu (Ek Tablo S3).

TARTIŞMA

Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, NLRP3 enflamazomu ile OKB arasındaki ilişkiyi araştıran ve kanıtlayan literatürdeki ilk çalışmadır (17). Bulgularımız, OKB hastalarında CASP1 mRNA ve pro-Kaspaz-1 protein seviyeleri ve NEK7 mRNA seviyeleri sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, NEK7 mRNA ve pro-Kaspaz-1 protein seviyelerinin, karıştırıcılardan bağımsız olarak OKB durumu ile ilişkili olduğu da öne çıkan bulgular arasındadır.

Tüm karmaşık insan fenotipleri için geçerli olduğu gibi, enflamasyonla ilişkili moleküllerin seviyeleri çok sayıda faktörden etkilenir. Bu zorluğa rağmen, nispeten küçük bir örneklemede NLRP3 enflamazomunun iki farklı bileşeninin OKB ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu gözlemlemiş olmamız dikkat çekicidir: mRNA seviyesinde NEK7 ve protein seviyesinde pro-Kaspaz-1. Yolağın diğer bileşenlerinde böyle bir ilişki istatistiksel anlamlılık seviyesinde görülme de, tüm bileşenlerde yukarı regülasyona yönelik ortak bir eğilim gözlemlendi. Hastalık şiddeti, enflamasyon ve OKB ilişkisini test ederken göz önünde bulundurulması gereken önemli bir husustur. Obsesif kompulsif bozukluk şiddetinin enflamasyon düzeyi üzerindeki rolünü araştıran bir çalışma bulunmamakla birlikte, farklı fenotiplerde enflamatuvar moleküller ile semptom şiddeti arasında pozitif korelasyonlar gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (18). Bu çalışmada OKB grubu için ortalama Y-BOCS puanı 25,1 olup, bu değer OKB grubunda sadece orta şiddette hastalık şiddeti olduğunu düşündürmektedir. Daha şiddetli vakaların olduğu bir kohortta bu ilişkilerin araştırılması daha belirgin farklılıklara yol açabilirdi.

Obsesif kompulsif bozukluk hastaları ve sağlıklı kontroller arasında NLRP3 ve ASC mRNA/protein ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiş olsa da, biyolojik süreçlerin ve yolağın

düzenlenmesinin karmaşık olduğu akılda tutulmalıdır. Bir yolaktaki tüm bileşenlerin değil, sadece sınırlı sayıda bileşenin yukarı regülasyonu/aktivasyonu veya aşağı regülasyonu/inhibisyonu pek çok hastalık ve fenotipte görülür. Örneğin, sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarının PKMH'lerinde NLRP3, NEK7, Kaspaz-1 ve ASC'nin mRNA ve protein düzeyleri ile serumlarında IL-1 β /IL18 seviyelerini sağlıklı kontrollerle karşılaştıran bir çalışmada, NLRP3, NEK7 ve ASC düzeyleri daha düşük, Kaspaz-1, IL-1 β ve IL18 ise daha yüksek bulunmuştur (19).

Obsesif kompulsif bozukluk hastalarında artan NEK7 mRNA seviyelerinin, artan NEK7 transkripsiyonuna ve/veya mRNA stabilitesine yol açan değişmiş epigenetik durumları yansıtması mümkündür. NLRP3 "priming" aşamasının iyi bilinen hedeflerine (IL-1 β ve IL-18) ek olarak, NEK7 transkripsiyonunun da NF-KB tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (20). Bir yukarı akış düzenleyicisi olarak NEK7'nin, aktivasyon sinyallerinin NLRP3 enflamazomuna iletilmesi için kritik olduğu gösterilmiştir ve NEK7 seviyelerinin enflamazom aktivasyonun hassasiyetini veya gücünü belirlediği öne sürülebilir. Başka bir deyişle, daha yüksek NEK7 seviyeleri, hücreleri, daha düşük seviyelerde enflamazom aktive edici sinyallere duyarlı hale getirebilir. Obsesif kompulsif bozukluk hastalarından izole edilen ve çeşitli uyarılara (örn. LPS) maruz kalan hücrelerin bulunduğu ileri çalışmalar bu hipotezi test etmeye yardımcı olacaktır.

Obsesif kompulsif bozukluk hastaları arasında psikiyatrik ilaç kullanımının yüksek olması (n=40/51, %88) çalışmamızın bir kısıtlılığıdır ve bu durum sonuçları etkileyebilir. Fluoksetin kullanımının NLRP3 aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (21). Başka bir çalışmada, dokuz farklı antidepresanın hem in vivo hem de in vitro olarak depresyonlu hastalarda IL-1 β ve IL-18 düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir (22). Ayrıca yazarlar, majör depresyonlu hastalarda antidepresanlara yanıtın göstergeleri olarak IL-1 β ve IL-18'in yanı sıra NLRP3 enflamazom düzeylerinin kullanılmasını önermişlerdir. Bununla birlikte, hali hazırda antidepresan kullanımı ile NEK7 seviyeleri arasında böyle bir ilişki bilinmemektedir. Obsesif kompulsif bozuklukta NLRP3 enflamazomunun sadece bazı bileşenlerinin yukarı regülasyonu gözlemimizin, uzun süreli antidepresan kullanımına bağlı olarak diğer bileşenlerin baskılanmasıyla açıklanması mümkündür. Nitekim, regresyon analizi, OKB hastalarında ASC ve NLRP3 protein düzeyleri ile antidepresan kullanımı arasında negatif bir ilişki olduğunu ortaya koydu. Şaşırtıcı bir şekilde, ASC protein seviyeleri ile Y-BOCS skoru arasında çok daha zayıf ama anlamlı bir negatif ilişki de gözlemlendi. Artan hastalık şiddeti ile birlikte azalan ASC ekspresyonu, OKB hastalarında artan Kaspaz-1 ve NEK7'nin etkilerine karşı çıkacağından, bu gözlem hastalardaki normal IL-1 β /IL-18 düzeylerini açıklayabilir. Görünüşte çelişkili olan bu tür değişikliklerin diğer enflamatuvar süreçlere yayılabileceğini ve OKB hastalarında enflamatuvar belirteçleri arasında farklı seviyelerde görülen değişikliklerin altında yatan neden olabileceğini düşünüyoruz (23). Bu nedenle, NLRP3 enflamazom ve OKB arasındaki ilişki karmaşık görünmektedir ve daha mekanistik bir anlayış geliştirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Obsesif kompulsif bozukluk hastası katılımcıların önemli bir kısmı antidepresan ilaç kullanıyor olsa da, NEK7 mRNA seviyeleri ve pro-Kaspaz-1 protein seviyeleri hastalarda anlamlı olarak daha yüksekti ve psikiyatrik ilaç kullanmayan hastalarda daha da yüksek olma eğilimindeydi (Ek Şekil 1). Kaspaz-1 farklı enflamazom komplekslerin bir parçası iken, NEK7'nin NLRP3 enflamazomunun spesifik bir düzenleyicisi olduğu da unutulmamalıdır. Bu nedenle, OKB grubunda NEK7 ve pro-Kaspaz-1'in eş zamanlı artışı, diğer enflamazomlardan ziyade NLRP3 enflamazomuna işaret etmektedir.

NLRP3 aktivasyonu MDB ile bağlantılı olduğundan, bazı OKB'li hastaların depresyon tanılı olması sonuçların yorumlanmasını karmaşıktırabilir (4). Ancak, NEK7 ve MDB arasında böyle bir ilişki olduğuna dair kanıt henüz yoktur. Bu nedenle, OKB hastalarında artan NEK7 ekspresyonu,

sadece MDB komorbiditesi ile açıklanamaz. Benzer şekilde, HAM-D skoru <18 olan hastaları sendromal seviyeye yakın olan HAM-D skoru \geq 18 olan hastalarla karşılaştırarak artan pro-Kaspaz-1 seviyeleri üzerindeki olası depresyon etkisini değerlendirdik. İki grup arasında fark olmaması, OKB hastalarında artmış pro-Kaspaz-1 düzeylerinin, depresyon komorbiditesinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca depresyonun NEK7 seviyeleri ile olası etkileşimini değerlendirdik ve HAM-D şiddet puanları ile NEK7 protein seviyeleri arasında negatif bir ilişki gözlemledik (Ek Tablo S3). Bu nedenle OKB hastalarında artmış NEK7 mRNA seviyelerinin depresyon durumundan bağımsız olduğu söylenebilir. Obsesif kompulsif bozukluk patogenezinde enflamasyonun rolü, diğer nöropsikiyatrik hastalıklara (örn. MDB) kıyasla çok daha az açıktır ve bugüne kadarki çalışmalarda kandaki ya da izole edilmiş makrofajlardaki sitokin düzeylerinin ölçümü dışında detaylı bilgi edinilememiştir.

Bulgularımız, NLRP3 yolu değişikliklerinin OKB patogenezindeki olası rolüne dair kanıtlar sağlayarak, OKB-enflamasyon ilişkisine yönelik yeni araştırma alanlarına öncülük edebilir. En azından, sıklıkla ölçülen enflamasyonla ilişkili moleküller listesine enflamazom bileşenlerinin eklenmesi beklenebilir. Özellikle NEK7 ve Kaspaz-1'e yönelik çalışmalar, OKB patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir ve araştırmacıların mevcut tedavi yaklaşımlarını geliştirmelerine yardımcı olabilir. Bir başka ilginç bulgu, ilaç kullanımından bağımsız olarak Y-BOCS skoru ile ilişkili olduğu için OKB hastalarının hastalık şiddetini belirlemek için ASC protein düzeylerinin kullanılabilirdir. Daha büyük örneklemli ve ideal olarak daha önce ilaç kullanmamış ve depresyonu olmayan hastaları içeren çalışmalar bulgularımızı test edebilecektir. Mekanistik çalışmalar ise NLRP3 enflamazomu ile OKB arasındaki nedensel ilişkinin kurulmasına yardımcı olacaktır.

Teşekkür: Yazarlar, sağladığı çalışma tasarımı ve reaktiflerle ilgili değerli önerileri için Prof. Dr. Sermin Genç'e (Dokuz Eylül Üniversitesi) teşekkür eder. Yazarlar katılımcılara katkılarından dolayı teşekkür eder.

Etik Komite Onayı: Tüm protokoller ve yöntemler Dokuz Eylül Üniversitesi Klinik Çalışmalar Etik Kurulu (11/05/2017 tarih ve 2017/08-06 karar no, Protokol numarası 378-SBKAEK) tarafından onaylanmıştır.

Hasta Onamı: Tüm katılımcılardan sözlü ve yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - MT, TA, YO, ND; Tasarım - MT, TA, YO, ND; Denetleme - MT, TA, YO, ND, TY; Kaynaklar - TA, YO, MT; Malzemeler - MT, TA, YO, BÖÜ, CA, CE, TY, AK, BE; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - MT, YO, BÖÜ, CA, CE, TY, AK, BE; Analiz ve/veya Yorum - MT, YO, TA, ND, TY, BE, AK, FÖ; Literatür Taraması - MT, TA, YO, ND, FÖ; Yazıyı Yazan - MT, YO, TA, ND, FÖ, TY, BE, AK, BÖÜ, CA, CE; Eleştirel İnceleme - MT, TA, YO, ND, FÖ.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Proje TÜBİTAK 1001 programı tarafından desteklenmiştir (Proje No: 217S128, TA, YO).

KAYNAKLAR

1. Jo E-K, Kim JK, Shin D-M, Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. Cell Mol Immunol. 2016;13:148-159. [Crossref]
2. Kaufmann FN, Costa AP, Ghisleni G, Diaz AP, Rodrigues AL, Peluffo H ve ark. NLRP3 inflammasome-driven pathways in depression: clinical and preclinical findings. Brain Behav Immun. 2017;64:367-383. [Crossref]
3. Mao Z, Liu C, Ji S, Yang Q, Ye H, Han H ve ark. The NLRP3 inflammasome is involved in the pathogenesis of Parkinson's disease in rats. Neurochem Res. 2017;42:1104-1115. [Crossref]
4. Alcocer-Gómez E, de Miguel M, Casas-Barquero N, Núñez-Vasco J, Sánchez-Alcazar JA, Fernández-Rodríguez A ve ark. NLRP3 inflammasome is activated in mononuclear blood cells from patients with major depressive disorder. Brain Behav Immun. 2014;36:111-117. [Crossref]

5. Frank MG, Weber MD, Watkins LR, Maier SF. Stress-induced neuroinflammatory priming: a liability factor in the etiology of psychiatric disorders. *Neurobiol Stress*. 2016;4:62–70. [\[Crossref\]](#)
6. Saresella M, La Rosa F, Piancone F, Zoppis M, Marventano I, Calabrese E ve ark. The NLRP3 and NLRP1 inflammasomes are activated in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2016;11:1–4. [\[Crossref\]](#)
7. Fan Z, Pan Y-T, Zhang Z-Y, Yang H, Yu S-Y, Zheng Y ve ark. Systemic activation of NLRP3 inflammasome and plasma α -synuclein levels are correlated with motor severity and progression in Parkinson's disease. *J Neuroinflammation*. 2020;17:1–0. [\[Crossref\]](#)
8. He Y, Zeng MY, Yang D, Motro B, Núñez G. NEK7 is an essential mediator of NLRP3 activation downstream of potassium efflux. *Nature*. 2016;530:354–357. [\[Crossref\]](#)
9. Schmid-Burgk JL, Chauhan D, Schmidt T, Ebert TS, Reinhardt J, Endl E ve ark. A genome-wide CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) screen identifies NEK7 as an essential component of NLRP3 inflammasome activation. *J Biol Chem*. 2016;291:103–109. [\[Crossref\]](#)
10. Shi H, Wang Y, Li X, Zhan X, Tang M, Fina M ve ark. NLRP3 activation and mitosis are mutually exclusive events coordinated by NEK7, a new inflammasome component. *Nat Immunol*. 2016;17:250–258. [\[Crossref\]](#)
11. Goodman WK, Price LH, Rasmussen SA, Mazure C, Delgado P, Heninger GR ve ark. The Yale-Brown obsessive compulsive scale: II. Validity. *Arch Gen Psychiatry*. 1989;46:1012–1016. [\[Crossref\]](#)
12. Karamustafaloğlu K, Üçışık A, Ulusoy M, Erkmen H. Validity and reliability of the Turkish version of the Yale-Brown obsessive compulsive scale. *Bursa: Savaş Ofset*; 1993. p.86.
13. Akdemir A, Örsel DS, Dağ İ, Türkçapar MH, İşcan N, Özbay H. Hamilton depresyon derecelendirme ölçeği (HDDÖ)'nin geçerliliği-güvenirliliği ve klinikte kullanımı. *Psikiyatri Psikoloji Psikofarmakoloji Derg*. 1996;4:251–259.
14. Williams JB. A structured interview guide for the Hamilton Depression Rating Scale. *Arch Gen Psychiatry*. 1988;45:742–747. [\[Crossref\]](#)
15. Hewitt PL, Flett GL, Turnbull-Donovan W, Mikail SF. The Multidimensional Perfectionism Scale: Reliability, validity, and psychometric properties in psychiatric samples. *Psychological Assessment: A Journal of Consulting and Clinical Psychology*. 1991; 3(3), 464–468. [\[Crossref\]](#)
16. Oral M. The relationship between dimensions of perfectionism, stressful life events and depressive symptoms in university students 'a test of diathesis-stress model of depression'. Master's thesis, Middle East Technical University; 1999.
17. Tetik M, Direk N, Onder B, Aykac C, Ekinci B, Yaras T ve ark. Blood levels of NLRP3 inflammasome components is associated with obsessive compulsive disorder. *medRxiv*. 2020. [\[Crossref\]](#)
18. Haapakoski R, Mathieu J, Ebmeier KP, Alenius H, Kivimäki M. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2015;49:206–215. [\[Crossref\]](#)
19. Ma Z-Z, Sun H-S, Lv J-C, Guo L, Yang Q-R. Expression and clinical significance of the NEK7-NLRP3 inflammasome signaling pathway in patients with systemic lupus erythematosus. *J Inflammation*. 2018;15:1–2. [\[Crossref\]](#)
20. Chen X, Liu G, Yuan Y, Wu G, Wang S, Yuan L. NEK7 interacts with NLRP3 to modulate the pyroptosis in inflammatory bowel disease via NF- κ B signaling. *Cell Death Dis*. 2019;10:1–2. [\[Crossref\]](#)
21. Du R-H, Tan J, Sun X-Y, Lu M, Ding J-H, Hu G. Fluoxetine inhibits NLRP3 inflammasome activation: implication in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2016;19:1–9. [\[Crossref\]](#)
22. Alcocer-Gómez E, Casas-Barquero N, Williams MR, Romero-Guillena SL, Cañadas-Lozano D, Bullón P ve ark. Antidepressants induce autophagy dependent-NLRP3-inflammasome inhibition in major depressive disorder. *Pharmacol Res*. 2017;121:114–121. [\[Crossref\]](#)
23. Gerentes M, Pelissolo A, Rajagopal K, Tamouza R, Hamdani N. Obsessive-compulsive disorder: autoimmunity and neuroinflammation. *Curr Psychiatry Rep*. 2019;21:78. [\[Crossref\]](#)

EK TABLO ve ŞEKİLLER

Tablo S1. NLRP3 kompleks mRNA düzeylerinin OKB grubunda olası tahmin edici değişkenler olarak kullanıldığı lineer regresyon analizi

	NEK7 mRNA			Kaspaz-1 mRNA			ASC mRNA			NLRP3 mRNA			IL-1beta			IL-18		
	Beta	SH	p	Beta	SH	p	Beta	SH	p	Beta	SH	p	Beta	SH	p	Beta	SH	p
Yaş	-0,009	0,019	0,651	0,019	0,016	0,265	-0,014	0,022	0,508	0,014	0,028	0,610	0,001	0,010	0,922	0,008	0,011	0,452
Cinsiyet	-0,403	0,297	0,182	0,100	0,256	0,697	-0,633	0,338	0,068	-0,211	0,432	0,627	-0,057	0,152	0,707	-0,135	0,166	0,420
Eğitim durumu	-0,065	0,044	0,150	0,002	0,038	0,964	-0,061	0,050	0,232	-0,041	0,064	0,529	0,004	0,022	0,872	-0,045	0,024	0,071
Y-BOCS puanı	0,006	0,022	0,805	-0,006	0,019	0,749	-0,008	0,025	0,744	0,008	0,032	0,804	0,016	0,012	0,176	-0,007	0,013	0,606
Hastalık süresi	-0,029	0,028	0,299	-0,013	0,024	0,601	-0,025	0,032	0,428	-0,048	0,040	0,244	-0,008	0,014	0,576	-0,017	0,016	0,275
ilaç kullanımı	-0,336	0,330	0,315	-0,474	0,285	0,104	0,326	0,375	0,389	0,541	0,479	0,265	0,040	0,164	0,808	0,001	0,179	0,994
Hewitt's MPS puanı	-0,003	0,003	0,344	-0,002	0,003	0,497	0,000	0,004	0,933	0,005	0,005	0,287	-6,995E-5	0,002	0,967	1,222E-6	0,002	0,999
HAM-D puanı	0,023	0,021	0,280	0,021	0,018	0,262	0,027	0,024	0,274	-0,005	0,031	0,864	-0,003	0,011	0,807	0,002	0,011	0,834

ASC: CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein; CASP1:caspase-1; HAM-D: Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği; Hewitt's MPS: Hewitt's Çok Boyutlu Mükemmeliyetçilik Ölçeği; IL-1 β : interlökin 1 beta; IL-18:interlökin 18; mRNA: Mesajcı RNA; NEK7: Nima ile ilgili Kinaz 7; NLRP3: Pirin alanı içeren NLR ailesi 3; OKB: Obsesif Kompulsif Bozukluk; SH: Standard hata; Y-BOCS: Yale-Brown Obsesyon Kompülsiyon Ölçeği.

Tablo S2. NLRP3 kompleks protein düzeylerinin OKB grubunda olası tahmin edici değişkenler olarak kullanıldığı lineer regresyon analizi

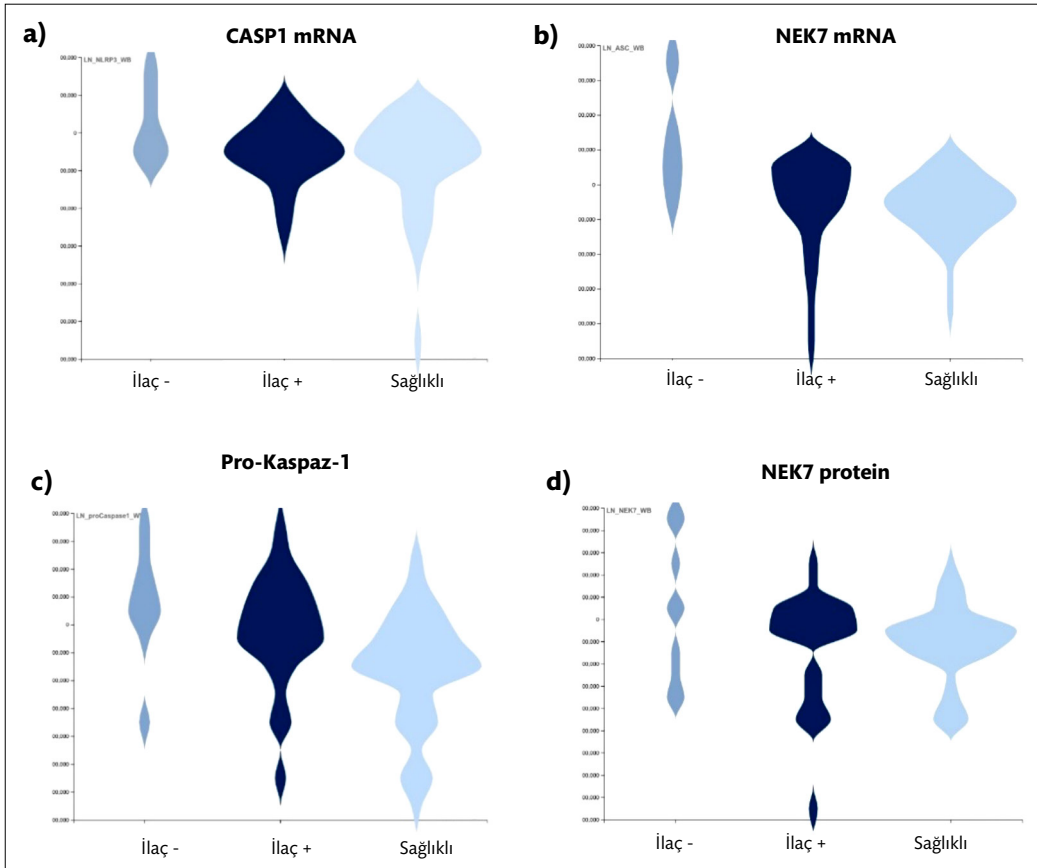
	NEK7 protein			Pro-Kaspaz-1 protein			ASC protein			NLRP3 protein		
	Beta	SH	p	Beta	SH	p	Beta	SH	p	Beta	SH	p
Yaş	-0,065	0,032	0,051	-0,025	0,027	0,361	-0,073	0,028	0,015	-0,001	0,026	0,982
Cinsiyet	0,046	0,473	0,924	0,302	0,400	0,456	-0,222	0,419	0,599	0,078	0,379	0,839
Eğitim durumu	-0,015	0,067	0,819	0,022	0,057	0,698	-0,013	0,059	0,829	-0,006	0,054	0,910
Y-BOCS puanı	-0,036	0,033	0,278	0,013	0,028	0,650	-0,082	0,029	0,008	0,025	0,026	0,340
Hastalık süresi	0,093	0,048	0,059	0,040	0,040	0,329	0,058	0,042	0,182	0,019	0,038	0,617
ilaç kullanımı	-0,859	0,474	0,080	-0,464	0,402	0,257	-1,731	0,420	0,000	-0,848	0,380	0,033
Hewitt's MPS puanı	0,006	0,005	0,227	-0,002	0,004	0,568	0,008	0,004	0,074	0,002	0,004	0,622
HAM-D puanı	-0,031	0,031	0,327	0,010	0,026	0,701	-0,004	0,027	0,884	-0,010	0,025	0,696

ASC: CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein; CASP1:caspase-1; HAM-D: Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği; Hewitt's MPS: Hewitt's Çok Boyutlu Mükemmeliyetçilik Ölçeği; IL-1 β : interlökin 1 beta; IL-18:interlökin 18; mRNA: Mesajcı RNA; NEK7: Nima ile ilgili Kinaz 7; NLRP3: Pirin alanı içeren NLR ailesi 3; OKB: Obsesif Kompulsif Bozukluk; SH: Standard hata; Y-BOCS: Yale-Brown Obsesyon Kompülsiyon Ölçeği.

Tablo S3. HAM-D <18 ve HAM-D ≥18 olan OKB hastaları arasında moleküler belirteçlerin karşılaştırılması

Özellik	HAM-D <18 Ortalama (SS)	HAM-D ≥18 Ortalama (SS)	p
NEK7 mRNA	0,010 (0,015)	0,012 (0,021)	0,201
CASP1 mRNA	0,007 (0,005)	0,010 (0,006)	0,171
ASC mRNA	0,002 (0,002)	0,002 (0,002)	0,156
NLRP3 mRNA	0,004 (0,008)	0,004 (0,008)	0,803
NEK7 protein	6,16 (19,46)	0,73 (0,760)	0,034
Pro-Kaspaz-1 protein	3,13 (5,83)	1,39 (1,46)	0,422
ASC protein	6,78 (16,82)	0,99 (0,69)	0,483
NLRP3 protein	6,70 (15,71)	0,84 (0,52)	0,365
IL-1β	4,69 (2,40)	4,07 (1,69)	0,977
IL-18	39,98 (40,10)	38,96 (38,04)	0,650

ASC: CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek-benzeri protein; CASP1: kaspaz-1; CASP1: caspase-1; HAM-D: Hamilton Depresyon Derecelendirme Ölçeği; IL-1β: interlökin 1beta; IL-18: interlökin 18; mRNA: Mesajcı RNA; NEK7: Nima ile İlgili Kinaz 7; NLRP3: Pirin alanı içeren NLR ailesi 3; OKB: Obsesif Kompulsif Bozukluk; SS: Standard sapma



Ek Şekil 1. İlaç kullanmayan OKB hastalarında NEK7 ve Kaspaz-1, hem mRNA hem de protein olarak, daha yüksek düzeyde olma eğilimi göstermektedir.