

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

**TÜM EKZOM DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ŞİZOFRENİYE
YOL AÇABİLECEK ADAY GENLERİN BELİRLENMESİ**

Dr. Veysel DOĞAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ömer ŞENORMANCI

ZONGULDAK

2016

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

**TÜM EKZOM DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ŞİZOFRENİYE
YOL AÇABİLECEK ADAY GENLERİN BELİRLENMESİ**

Dr. Veysel DOĞAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ömer ŞENORMANCI

ZONGULDAK

2016

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başığı : Tüm Ekzom Dizileme Yöntemi İle Şizofreniye Yol Açabilecek Aday Genlerin Belirlenmesi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Veysel DOĞAN

Tez Savunma Tarihi : 23/09/2016

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Ömer ŞENORMANCI

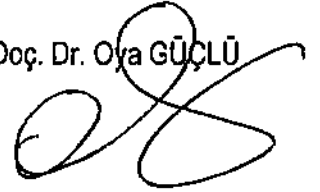
Prof.Dr. Nuray ATASOY
Jüri Başkanı



Doç.Dr. Ömer ŞENORMANCI



Doç. Dr. Oya GÜÇLÜ



UYGUNDUR



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Ömer ŞENORMANCI'ya

Yetişmemdeki katkılarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr .Nuray ATASOY, Doç. Dr. Levent ATİK, Doç. Dr. Özge SARAÇLI'ya

Geç dönemde tanışma ve çalışma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Sibel ÖRSEL'e,

Tez çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK'e

Rotasyon eğitimim süresince yetişmemdeki katkılarından dolayı Bülent Ecevit Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı ve Dicle üniversitesi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan değerli hocalarıma,

Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nde birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, tüm psikolog arkadaşlarıma, tüm psikiyatri hemşire ve personel ekibine,

Hayatımın her evresinde sevgi ve desteğini esirgemeyen anneme, babama, ağabeyime ve ablalarıma mesleki anlamda çok şey öğrendiğim hastalarıma sonsuz teşekkürler...

Dr. Veysel DOĞAN
ZONGULDAK, 2016

ÖZET

Veysel DOĞAN, Tüm Ekzom Dizileme Yöntemi ile Şizofreniye Yol Açabilecek Aday Genlerin Belirlenmesi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları Tezi, Zonguldak, 2016

Amaç: Şizofreni etiyolojisinde genetik faktörlerin önemli rol oynadığı ve kalıtılabilirliğin yaklaşık olarak %80 oranında rol oynadığı düşünülmektedir. Şizofreni genetiğinde tüm ekzom dizileme (TED) yöntemi kullanılarak yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, TED yöntemi kullanılarak Şizofreni patogenezinde rol aldığı düşünülen genlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmanın örneklemini iki aile oluşturuyordu. Birinci aile şizofreni hastalığı olan iki çocuk ve bunların sağlıklı ebeveynlerinden oluşmaktaydı. İkinci aile iki şizofreni olan kardeş ve 1 sağlıklı kardeş ile sağlıklı annelerinden oluşmaktaydı.

Bulgular: Çalışma sonunda sadece hastalarda olan ve sağlıklı aile bireylerinde olmayan 223 eklenme silinme mutasyonu ve 5595 tek nükleotid polimorfizmi belirlendi. Belirlenen bu mutasyonlardan SPON1, DISC1, NCAM1, GRIA3, CYFIP2, ZNF480, PPP1R9B, SARM1, SMAD5, PCLO, KMT2C, DNAPK gibi genlerin daha önce şizofreni patogenezinde rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızda bu genlerin yanısıra LTF geni 703. pozisyonda T silinmesi, SEMA3B geninde 81-82. nükleotidler arasında C eklenmesi, NCOR2 genin 5517-5518. nükleotidler arasına 9 nükleotidlik AGCAGCGGC eklenmesi, GPHB5 geninde 156-157. nükleotidler arasında C eklenmesi, TMEM216 432-433. nükleotidler arasında A eklenmesi, FAM174B geninde 206-211. nükleotidler arasında yer alan GCTCCA dizisinin silinmesi, CLTCL1 geninde 3602-3603. nükleotidler arasında G eklenmesi, CNTNAP4 geninde 43-44. nükleotidler arasında T eklenmesi tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışma sonucunda elde edilen gen mutasyonlarının şizofreni patogenezindeki rolü ile ilgili bildiğimiz kadarıyla yayınlanan bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak bu genler tarafından sentezlenen proteinlerin beyinde ifadesinin (ekspresyon) olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen bu gen mutasyonları ve bu genler tarafından sentezlenen proteinlerin şizofreni patogenezindeki rolü ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Şizofreni, genetik, tüm ekzom dizileme, aile

ABSTRACT

Veysel DOĞAN, Using Whole-Exome Sequencing to Identify Candidate Genes for Schizophrenia, Bulent Ecevit University School of Medicine, Mental Health and Disease Specialty Thesis. Zonguldak, 2016

Objectives: Genetic factors play an important role in the etiology of schizophrenia, as its heritability has been estimated to be about 80%. Few studies on schizophrenia have used the method of whole exome sequencing (WES). In the present study, we used WES to evaluate several genes that have been suggested to be involved in the pathogenesis of schizophrenia.

Methods: The study sample was composed of two families. In the first family, two siblings had schizophrenia and parents were healthy. In the second family, two siblings had schizophrenia, while the other sibling and the mother did not.

Results: The whole-exome sequencing showed 223 insertion/deletion mutations and 5595 single nucleotide polymorphisms in the evaluated participants with schizophrenia. Mutations were identified on the following genes: SPON1, DISC1, NCAM1, GRIA3, CYFIP2, ZNF480, PPP1R9B, SARM1, SMAD5, PCLO, KMT2C and DNAPK. These genes have previously been shown in several studies to play a role in the pathogenesis of schizophrenia. In the present study, in addition to these genes, we also identified the deletion of T at position 703 in the LTF gene, the insertion of C between nucleotides 81 and 82 in the SEMA3B gene, the insertion of a 9-nucleotide sequence (AGCAGCGGC) between nucleotides 5517 and 5518 in the NCOR2 gene, the insertion of C between nucleotides 156 and 157 in the GPHB5 gene, the insertion of A between nucleotides 432 and 433 in the TMEM216 gene, the deletion of the GCTCCA sequence between nucleotides 206 and 211 in the FAM174B gene, the insertion of G between nucleotides 3602 and 3603 in the CLTCL1 gene and the insertion of T between nucleotides 43 and 44 in the CNTNAP4 gene.

Conclusion: To the best of our knowledge, no previous studies have been performed on the relationship between pathogenesis of schizophrenia and the gene mutations identified in this study. However proteins synthesized by these genes are expressed in brain. Future studies are needed to identify the roles of the gene mutations and their protein products.

Keywords: Schizophrenia, genetic, whole exome sequencing, family

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO DİZİNİ	vi
ŞEKİL DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Şizofreni	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Sınıflandırma	2
2.1.3. Şizofreni Tanı Ölçütleri (DSM-5) (4)	2
2.1.4. Şizofreni Tarihçesi	4
2.1.5. Epidemiyoloji	7
2.1.6. Etiyoloji	7
2.1.7. Şizofrenide Genetik	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Katılımcı özellikleri ve değerlendirilmesi	19
3.2. Tam ekzom dizileme	19
3.3. Biyoinformatik analizleri	20
3.4. Veri temizleme	21
4. BULGULAR	22
4.1. SNP sonuçları	22
4.2. InDel Sonuçları	23
5. TARTIŞMA	27
6. KAYNAKLAR	34
7. EKLER	49
Ek 1: Etik Kurul Onayı	49
Ek 2: Gönüllü Olur Formu	50

TABLO DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Belirlenen SNP istatistiklerinin özeti.....	24
Tablo 2: Indel'leri kodlamak için işlevsel kategoriler	25
Tablo 3: Belirlenen InDel istatistiklerinin özeti.....	26



ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.TED analizi şeması 20



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Şizofreni, ruhsal durumun hemen hemen tüm alanlarında belirti ve bulgular gösteren, yaşam boyu devam eden, gidiş ve sonlanışı hastadan hastaya ve süreç içinde değişkenlik gösteren, henüz etiyojisi tam olarak bilinmeyen ve önemli ölçüde yeti yitimine yol açan, etkisinin ağır ve çoğunlukla uzun süreli olduğu bir toplum sağlığı sorunu olması nedeniyle etiyojisinin bilinmesine ve tedaviye yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesi açısından genetik faktörlerin araştırılması önem arz etmektedir. Şizofreni etiyojisinde genetik faktörlerin önemli rol oynadığı ve kalıtılabilirliğin yaklaşık olarak %80 oranında rol oynadığı düşünülmektedir. Şizofreni genetiğinde tüm ekzom dizileme (TED) yöntemi kullanılarak yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, TED yöntemi kullanılarak Şizofreni patogeneğinde rol aldığı düşünülen genlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Şizofreni

2.1.1. Tanım

Şizofreni, ruhsal durumun hemen hemen tüm alanlarında belirti ve bulgular gösteren, genellikle 25 yaşından önce başlayan ve yaşam boyu devam eden, gidiş ve sonlanması hastadan hastaya ve süreç içinde değişkenlik gösteren, henüz etiyojisi tam olarak bilinmeyen ve önemli ölçüde yeti yitimine yol açan, etkisinin ağır ve çoğunlukla uzun süreli olduğu bir toplum sağlığı sorunudur. (1, 2).

2.1.2. Sınıflandırma

Günümüzde şizofreni tanısı için en yaygın kullanılan sınıflandırma sistemleri DSM-V ve ICD-10 sınıflandırmalarıdır. DSM-V’de süre ve işlev bozukluğuna ICD-10’da Kurt Scheneider’in birinci sıra belirtilerine ağırlık verilir (3).

2.1.3. Şizofreni Tanı Ölçütleri (DSM-5) (4)

A) Aşağıdaki belirtilerden ikisinden (ya da daha çoğundan) her biri, bir aylık (ya da başarıyla tedavi edilmişse daha kısa) bir sürenin önemli bir kesiminde bulunur. Bunlardan en az birinin (1), (2) ya da (3) olması gerekir.

1. Sanrılar
2. Varsanılar
3. Darmadağın konuşma (örn. Sık sık konudan sapma gösterme ya da anlaşılmaz konuşma)
4. İleri derecede dağınık davranış ya da katatoni davranışı
5. Silik (Negatif) belirtiler (duygusal katılımda azalma ya da kalkışamama)

B) Bu bozukluğun başlangıcından beri geçen zamanın önemli bir kesiminde, iş, kişiler arası ilişkiler ya da kendine bakım gibi, bir ya da birden çok ana alanda işlevsellik düzeyi, bu bozukluğun başlangıcından önce erişilen düzeyin belirgin olarak altındadır (ya da çocukluk ya da ergenlikte başlamışsa, kişilerarası, okulda yada işle ilgili işlevsellik, erişilmesi beklenen düzeye erişemez).

C) Bu bozukluğun süregiden bulguları en az 6 ay sürer. Bu altı aylık evre, A tanı ölçütünü karşılayan, en az bir aylık (ya da başarıyla tedavi edilmişse daha kısa süreli) belirtileri (açık evre belirtilerini) kapsmalıdır ve ön (prodromal) ve artakalan (rezidüel) belirti evrelerini kapsayabilir. Bu bozukluk, ön ya da artakalan evreler sırasında yalnızca silik (negatif) belirtilerle ya da bu hastalığın A tanı ölçütünde sıralanan iki ya da daha çok belirtinin eşik altı biçimleriyle (Örn. Yadırganacak denli olağana yakın inançlar, olağan dışı algısal yaşantılar) kendini gösterebilir.

D) Şizoaffektif bozukluk ya da psikoz özellikleri gösteren depresyon bozukluğu ya da iki uçlu (bipolar) bozukluk dışlanır, çünkü ya 1) açık evre belirtileriyle eş zamanlı olarak yeğin (majör) depresyon ya da mani dönemleri ortaya çıkmamıştır ya da 2) açık evre belirtilerinin olduğu sırada duygudurum dönemleri ortaya çıkmışsa bile, bunlar açık ve artakalan dönemlerinin toplam süresinin az bir kesiminde bulunmuştur.

E) Bu bozukluk, bir maddenin (örn. Kötüye kullanılabilen bir madde, bir ilacı ya da başka bir sağlık durumunun fizyoloji ile ilgili etkilerine bağlanamaz.

F) Otizm açılımı kapsamında bir bozukluk ya da çocuklukta başlayan bir iletişim bozukluğu öyküsü varsa, şizofreni tanısı konabilmesi için gerekli diğer belirtilerin yanı sıra belirgin sanrılar ya da varsanılar da en az bir aylık (başarıyla tedavi edilmişse daha kısa) bir süreyle varsa, ayrıca şizofreni tanısı da konur.

2.1.4. Şizofreni Tarihçesi

Şizofreninin geçmişi insanlık tarihi kadar eskidir. Şizofreni belirtilerini konu alan ilk metinler M.Ö. 15. yüzyıla kadar uzanmaktadır. M.Ö. 1400 yıllarından kalmış Hint Veda yazılı metinlerinde bugün şizofreni olarak nitelendirilebilecek bir takım olgular ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Yine eski çağlara ait Çince metinlerde, Tevrat ve Talmut'ta, eski Yunan metinlerinde de şizofrenik davranışlardan bahsedildiği görülmektedir (5). Ortaçağ Avrupası'na girerken kilise tarafından şeytanın esiri ve cadı olarak nitelenen insanlar için yapılan tanımlamalar, şizofreni semptomlarıyla büyük ölçüde benzerdir (6,7). Şizofreninin araştırılmaya ve tedavi edilmeye değer tıbbi bir durum olarak değerlendirilmesi ancak Avrupa'da kilise otoritesinin zayıflamaya başladığı, aydınlanma devrinin hızlandığı 1800'lü yıllarında gerçekleşmiştir (7,8). Günümüzde bazı İngiliz psikiyatristler, şizofreniyi Pinel-Haslam hastalığı olarak da nitelendirmektedir (9). İlk isimlendirme 1850 yılında 'Demence Precoce' (erken bunama) şeklinde A. Morel tarafından yapıldı (10). Morel ergenlikte başlayan ve yıkımla giden hastalar için bu tanımlamayı kullanmıştır. 1871 yılında Hecker mantıklı düşüncenin olmadığı, uygunsuz ve regresif davranışlarla giden 'hebefreni' tanımlamasını kullanmış ve Kahlbaum ise 1874 yılında katatonik semptomları tanımlamıştır (10). Alman ruh hekimi Kraepelin bu iki hastalık tipine paranoid ve basit tipleri de ekleyerek, hepsini "dementia praecox" tanısı altında toplamıştır (10). Çağdaş şizofreni yaklaşımının oluşumunda en önemli isimlerden biri olan Emil Kraepelin ilk tanımlayıcı yaklaşımla 'Dementia Praecox' olarak adlandırdığı hastalığın farklı bilişsel özelliklere sahip olduğu ve erken başladığını bildirmiştir. Kraepelin hastalığın çoğunlukla tam bir yıkımla sonlanması gerektiğini düşünüyordu ve kronik gidişi tanımlamıştı. Hastalığın ergenlik döneminde başladığını, varsanı ve sanrılara, bilişsel ve duygusal kapasitede yaygın bozulmanın eşlik ettiğini, organik kökenli olduğunu ve buna bağlı olarak psikolojik semptomların ortaya çıktığını bildiren Kraepelin, hastalığı katatonik, paranoid ve hebefrenik olmak üzere günümüz sınıflandırmalarına çok benzeyen bir şekilde üçe ayırmıştı (11). Daha sonra bunu yinelemeler ve iyileşmelerle seyreden ve yıkıma yol açmayan manik-depresif psikozdan ayırmıştır (9). Diğer bir önemli isim ise Eugen Bleuler olup 1911 yılında şizofreni (zihin bölünmesi) terimini literatüre kazandırmıştır. Bleuler

düşünce, duygu ve davranış arasındaki bölünmeyi tanımlamış olup Krapelin'den farklı olarak hastalığın erken başlangıçlı olmasının şart olmadığını, otuzlu yaşlarda da başlayabileceğini bildirmiş ve erken bunama ile sonlanmasının zorunlu olmadığını tanımlamıştır. Bleuler'e göre şizofrenide birincil olan çağrışımlarda bozulma olması ve diğer semptomların buna ikincil olduğudur. 4A belirtisi olarak tanımladığı çağrışımlarda bozulma, ambivalans, otizm ve duygulanım bozuklukları temel belirtiler, varsanı ve sanrılar ise ikincil belirtiler olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Bleuler, şizofrenideki diğer alt tiplere ek olarak basit tipi de tanımlamıştır (7,12). 20. yüzyılın ortalarında Kurt Schneider, özel işitsel varsanılar, özel sanrılar, edilgen olmayla ilgili yaşantılar ve düşüncede yabancılaşmaya ilişkin bir grup belirti tanımlamış, bunları "birinci sıra belirtiler" olarak adlandırmış ve şizofreni tanısında bunlara öncelik vermiştir. Schneider'in tanımladığı; Birinci sıra belirtiler: Kendi düşüncelerinin yüksek sesle söylendiğini işitme, kendisine emir veren, yönlendiren seslerin işitilmesi, kendisiyle kavga eden, tartışan seslerin işitilmesi, somatik 10 edilgenlik, düşünce çalınması, düşünce yayınlanması, düşünce sokulması, sanrısız algılar, duygu, düşünce ve davranışta kontrol edilme ve etkilenme sanrıları, İkinci sıra belirtiler: Diğer hallüsinasyon şekilleri, depresif veya öforik duygudurum değişiklikleri, duygusal küntleşme, zihin bulanıklığı / şaşkınlık, ani sanrılı düşünceleri içerir (9). Lacan'a göre psikoz beden imgesinin dağılmasının yanında simgesel olarak oluşturulmuştur (13). Psikobiyoloji okulunun kurucusu olan Adolf Meyer, şizofreni ve diğer mental bozuklukları çeşitli yaşam streslerine karşı birer tepki olarak değerlendirmiş, bu sendroma da bu yüzden "şizofrenik reaksiyon" adını vermiştir (1). Gabriel Langfeldt ise kuramsal formülasyonlara gitmektense ampirik deneyimlerden yola çıkarak bir takım ölçütler tanımlamış ve bu bozukluğu "gerçek şizofreni" ve "şizofreniform psikoz" olarak ikiye ayırmış; gerçek şizofreni tanısını sinsi bir başlangıç, otizm, duygusal küntlük, depersonalizasyon, derealizasyon ve gerçek dışılık duyguları bulgularına dayandırmıştır (14). 1960'lı yıllarda Avrupa'da Schneiderian belirtiler yaygın kullanılırken, Amerika'da Bleuler'in ölçütleri kullanılıyordu. DSM-III'ün yayınlanmasıyla birlikte Amerikan psikiyatrisinde Bleuler'in hakimiyeti yerini Kraepelinci deskriptif yaklaşıma bırakmış, tanımlayıcı düzeyle sınırlı bir şizofreni kavramı ön plana çıkmıştır. Bununla birlikte Timothy Crow'un aynı yıllarda yayımlanan ve şizofreninin pozitif ve negatif olmak üzere iki

ayrı tipi olduğunu öne süren makalesi büyük ilgiyle karşılanmıştır. Pozitif ve negatif belirtilerin Kraepelin döneminden beri bilinmesine rağmen şizofrenin belki de ilk kez biyolojik karşılığı bulunan klinik alt gruplara ayrımı, pozitif-negatif ya da tip 1-tip 2 tanımlamalarıyla gerçekleşmiştir. Negatif şizofreni kavramı ilk kez 1980’de Crow tarafından ortaya atılmamışsa da, kabul etmek gerekir ki Crow’un şizofrenide iki sendromu tanımlamasıyla bu kavram psikiyatri literatüründe kalıcılık kazanmıştır. Negatif belirtilerin şizofren hastaların toplumsal yaşantıya uyum sağlamalarında önemli olduğunun fark edilmesiyle birlikte Bleuler hastalığının erken başlamasının ve bunama ile sonuçlanmasından ziyade bu hastalığı tanımlayan karakteristik belirtinin hastanın ruhsal yapısındaki bolunme/yarılma olduğunu ileri sürerek, hastalığa, Yunanca’da aklın bolunmesi anlamına gelen ve günümüzde de kullanılan, “şizofreni” ismini vermiştir (9). Bleuler, Assosiasyon (çağrısım) bozukluğunu, Otizmi (Autism), Ambivalansı (zıt durtu, arzu, düşünce ve duyguların aynı anda yaşanması), Affekt (duygulanım) bozukluğunu, şizofreninin temel belirtileri olarak kabul etmiş ve bunlara “4A belirtisi” adını vermiştir (15). Sonuç olarak, DSM-III tanı ölçütleri dışına itilen Bleulerci kavramlar daha ayrıntılı tanımlamalarla araştırma ölçeklerine dönüşerek klinik değerlendirme sürecine geri döndüler. 1994 yılında yayımlanan DSM-IV tanı ölçütleri negatif belirtilere de yer vererek bu dönüşü resmileştirmiştir (16).

Günümüze kadar önemli birçok teorisyen tarafından çok sayıda çalışmalar yapılmış ve şizofreni ile ilgili bilgilerimiz artmıştır ama daha birçok bilinmeyen yönler tartışmaya ve araştırmaya açıktır. Şizofreninin tek bir tanım altında toplanamayacağı ve heterojen bir bozukluk olduğu görüşü giderek kabul görmektedir. Şizofreni hastalarının birbirine benzeyen özellikleriyle birlikte kesitsel klinik özellikleri, tedaviye yanıt ve uzunlamasına klinik seyir açısından farklılıkları vardır. Son yirmi yıldır şizofreniye yapısal beyin bozukluklarının eşlik ettiği ve özellikle lateral ve üçüncü ventriküllerin genişlemiş olduğu ve medial temporal ve frontal bölgelerde hacim azalması, kortikal gri maddede genel bir azalma olduğu gösterilmiştir (17).

Günümüzde yapılan birçok görüntüleme çalışmaları, bilişsel testlerin kullanıldığı çalışmalar, hayvan deneyleri; nöronal dizgeler, dizgelerin işlevleri, şizofrenide tanımlanmış yapısal patolojilerle bağlantıları üzerine yoğunlaşmıştır. Son

yıllarda şizofrenide temel sorunun bilgi işlemeyle ve bilgi işleme sürecinde önemli olan kortiko-striato-talamikserebellar dizgenin işlevselliğinde bozulmayla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (11).

2.1.5. Epidemiyoloji

Şizofreninin gerçek sıklığı ve yaygınlığı üzerine veriler, şizofreni hastalarının önemli bir bölümünün, aşırı bir durum olmadıkça hekime gitmemeleri, tanı ölçütlerinin uzun yıllar çeşitli ülkelerde farklı olması, araştırma yöntemlerinde farklılıklar gibi sebeplerden ötürü oldukça değişiktir (16). Buna rağmen dünya çapında belirgin farklılık göstermemekte ve yaşam boyu prevalansı %0.5 ile %1.5 civarında olduğu bildirilmektedir (18). Şizofrenin sıklığı ve yaşam boyu yaygınlığının tüm dünyada eşit olduğu söylenmekte, ancak İsveç, İrlanda ve Hırvatistan'ın bazı bölgeleri ile Kanadalı Katoliklerde yüksek, Tayvan ve Gana'daki bazı kabilelerde düşük yaygınlık oranları bildirilmiştir. Şizofreni insidansı ise yılda 100.000 kişide 10-54 olarak verilmektedir (16). Başlangıç yaşı erkeklerde 20-25 yaşlarında en yüksek tepe değeri olup, ikinci tepe değeri 30-35 yaşlarında izlenmektedir. Kadınlarda başlangıç yaşı erkeklere oranla ortalama 5 yıllık bir gecikme süresi göstermektedir (18). Yakın zamanda yapılan iki ayrı sistematik gözden geçirme, şizofreninin sıklığının erkek ve kadınlar arasında farklı olduğunu ve erkek/kadın oranının 1.4 olduğunu (19).

2.1.6. Etiyoloji

Şizofreninin tek bir etken nedeniyle değil çok sayıda etkenin bir araya gelmesi ile oluştuğu görüşü giderek yaygınlaşmaktadır. Son yıllarda özellikle gen ve çevre etkileşimi üzerinde durulmaktadır (20). Bu görüşe göre kişilerin şizofreni için genetik bir yatkınlığı olabilir, fakat bu yatkınlığa başka faktörler eklenmedikçe hastalık ortaya çıkmamaktadır. Mutasyon oluşumuna ya da gen ekspresyonunda değişikliğe neden olan doğum komplikasyonları, beslenme gibi biyolojik ve daha az oranda psikolojik etkenleri kapsayan çevresel etkenler hastalığın ortaya çıkmasından sorumlu tutulmaktadır (16). Hastadan hastaya değişen belirti çeşitliliği, hastalığın başlangıç yaşı, klinik gidiş, nöroanatomik bulgular, farmakolojik tedaviye yanıtlar

arasındaki farklılıklar, hastalığın ortaya çıkışı ve gidişindeki heterojenite nedeniyle tüm olgularda ortak bir etiyoloji aranması uygun gözükmemekte, farklı beyin işlevlerini etkileyen, farklı beyin yapılarının, nöron tiplerinin, nörotransmitterlerin etkilendiği çok sayıda bozukluğun var olması olası kabul edilmektedir (21). Kalıtımın önemli rolü olmakla birlikte, kalıtsal yatkınlığın hastalıkla sonuçlanması diğer etkenlerin varlığı ile gerçekleşmektedir. Şizofreninin asıl nedeninin, henüz kanıtlanamamış bir beyin bozukluğu olduğu görüşü kesinlik kazansa bile, hastalığın ortaya çıkışında ve zaman zaman alevlenmelerinde çevresel-ruhsal etkenlerin varlığı söz konusudur (16).

Etyolojide rol oynayan önemli etkenler şunlardır:

1- Etiyoloji Genetik

Şizofreni multifaktöryel kalıtım gösteren kompleks bir hastalıktır. Şizofreni ve şizofreni ile ilişkili bozuklukların şizofreni hastalarının yakınlarında genel topluma nazaran yüksek oranlarda görülmesi genetik etkenlerin rolünü desteklemektedir (22).

Psikiyatrik bozuklukların etiyolojisinde genetik etkenlerin rolü, son 50-60 yılda yapılan çalışmalarla gösterilmiş ve şizofreni için kalıtsallık oranı %81 olarak hesaplanmıştır (23). Şizofreninin genetik geçişinin Mendel tek gen kalıtım modeline uymaması hastalığın oluşumunda birden çok genin rol oynadığını düşündürmektedir. Aile, ikiz ve evlat edinme çalışmalarından elde edilen kanıtlar en büyük rolün genetik geçiş olduğunu göstermiştir. Aile, ikiz ve evlat edinme çalışmalarından elde edilen genetik epidemiyolojik sonuçlar, şizofrenide poligenik kalıtımın varlığını da göstermiştir (24, 25). Genetik yatkınlık ile ilgili araştırmalar aile araştırmaları, ikiz araştırmaları, evlat edinme araştırmaları başlıkları altında incelenebilir (3).

- Aile araştırmaları:

Genel toplumda görülme sıklığı %1 civarında olan şizofreni riski, özellikle birinci derece akrabalarında şizofreni hastalığı bulunan bireylerde, ciddi derecede artmaktadır, bu risk ebeveynlerinden birinde şizofreni olanlarda %6, her ikisinde de hastalık olanlarda %46, kardeşlerinde şizofreni hastası olanlarda %10, çocuklarında şizofreni olanlarda %13'tür (26,27). 1980'den sonra 11 modern aile çalışması yayınlanmıştır (28). Bu çalışmalarda kontrollere göre şizofreni hastalarının 1.derece akrabalarında şizofreni görülme olasılığının kontrol grubundan 10 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmaların metaanalizi, şizofreninin aileselliği ile ilgili güçlü ve tutarlı kanıtlar sağlamıştır. Metodolojik zaafiyetler içeren 1980'den önce yapılmış aile çalışmalarında da benzer sonuçlara ulaşılmıştır (34).

-İkiz araştırmaları:

İkiz çalışmalarında monozigotik ikizlerin tüm genlerini, dizigotik ikizlerin genlerin yarısını paylaştıkları varsayımına dayanır. Bu alışmalar, bir özelliğin özgül etiyolojisi hakkında çok az bilgi vermekle birlikte yine de şizofrenide önemli olabilecek genlerin araştırılması için önemli bilgi verirler (29). Aile çalışmalarında toplum rnekleimine göre daha sık olarak saptanan bir hastalık için ikiz çalışmaları tasarlanmıştır. Kalıtsal olduğu dşnlen bir hastalıkta monozigotik ikizlerdeki eş hastalanma oranı dizigotik ikizlerden daha fazladır (30). Tek yumurta ikizlerinde konkordans yaklaşık %50'ler ile ifade edilirken, çift yumurta ikizlerinde bu oran % 15 civarında seyretmektedir (31). Ayrı olarak yetiştirilen 12 çift monozigot ikizin eş hastalanma oranının %58 olarak bulunmuş olması kalıtımın etkisini gosteren diğer bir kanıttır (26). Oniki ikiz çalışmasının sonuçlarını değerlendirildiği metaanalizde, şizofreniye yatkınlıkta genetik etkinin %81 oranında etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yine aynı metaanalizde gen ve evre etkisine vurgu yapılmış ve monozigotik ikizlerdeki farklılıklar çevresel etkenlere, dizigotik ikizler arasındaki farklılıklar ise kalıtım ve çevresel etkenlere bağlanmıştır (32).

-Evlat edinme araştırmaları:

Evlat edinme çalışmalarında; akrabalık bağı olmayan yabancılar tarafından yaşamın erken safhalarından itibaren büyütölmüş evlatlık kişiler değerlendirmeye alınır (29). Hasta ailelerin başka ailelerde büyüyen çocukları ile hastalığı olmayan ailelerin başka ailelerce evlat edinilmiş çocuklarını karşılaştırarak hastalık hakkında genetik kanıt aranır (33). Evlat edinme çalışmaları gostermiştir ki, biyolojik ebeveynleri şizofreni olan çocuklar, herhangi bir psikiyatrik hastalığı olmayan sağlıklı ailelerin yanında buyutulduklarında, hastalığa yakalanma oranları azalmamaktadır (31). Şizofreni oldukça ailevi bir bozukluk olup önemli miktarda genetik etmenlerden etkilenmektedir. Bununla birlikte küçük ancak anlamlı derecede ortak çevresel etmenlerin öneminin gösterilmesi, şizofreninin karmaşık bir bozukluk olduğunun altını çizmektedir ve bu nedenle genetik epidemiyolojik veriler şizofreniye yatkınlık oluşturabilecek genlerin araştırılmasının akla uygunluğunu göstermiştir (29).

2- Şizofreni Etiyolojisinde Nörogelişimsel Kuram

Nörogelişimsel kuram, erken gelişen merkezi sinir sistemi lezyonlarının, normal gelişim süreçlerini etkileyerek gelişimsel bir bozuklukla şizofreniye neden olabildiğini söylemektedir (34). Başka bir çalışmada bu kuram gen evre etkileşimine bağlı olarak gelişen beyindeki yapı ve işlev değişikliklerinin hayatın ilerleyen dönemlerinde şizofreninin ortaya çıkmasına katkıda bulunacağını öne sürmektedir (35,36). Nörogelişimsel kuram, başlangıçta sabit durumda olan bir lezyonun, daha sonra beyin olgunlaşmasını etkilediğini anlatır. Bu ilk lezyonun oluşumuna neden olduğu varsayılan etkenler ise kiş mevsiminde doğum, viral enfeksiyonlar, perinatal enfeksiyonlar, doğum komplikasyonları olarak bildirilmiştir (37).

3-Şizofreni Etiyolojisinde Nörodejeneratif Kuram

Şizofrenide nörogelişimsel boyutun önemine ilişkin birçok kanıtın varlığına rağmen bir grup araştırmacı şizofreninin nörodejeneratif gidişli bir süreç olduğunu durağan bir bozukluk olmadığını öne sürmüştür. Semptomların ilerleme göstermesi nörodejenerasyona kanıt olarak gösterilmiştir. Özellikle tedavisi güç olan negatif semptomların doğrudan ventriküler genişleme, frontal gri madde azalması ve

hipokampal hacim azalması ile ilişkili olması da şizofrenideki nörodejeneratif sürece destek sağlamaktadırlar (38).

Şizofreni tanımlanmaya başlandığı ilk yıllarda ilerleyici nörodejeneratif seyri, erken yaşta başlaması sebebiyle yine aynı yıllarda tanımlanmaya başlanan Alzheimer ve Huntington hastalığına benzetilmiş ve “Demansia Prekoks” ismi ile adlandırılmıştır (39).

Nörodejeneratif süreçlerdeki iki önemli özellik; gliosis ve klinik seyre paralel patolojik değişikliklerde ilerleme olmasıdır. Ancak şizofrenide süregiden bir nörodejeneratif sürece reaktif gliosis kanıtları bulunamamıştır ve morfometrik anormalliklerden ventriküllerde genişleme ve kortikal hacim azalması ile hastalık süresi arasında bağlantı saptanamamıştır (40).

2.1.7. Şizofrenide Genetik

Şizofreni hastalığına, sınırlı sayıda olguda kromozomal anomaliler eşlik etse de, hastalığın daha çok gen düzeyinde olduğu üzerinde durulmaktadır (40). Şizofreni hastalığının genetik yönden araştırılması üç temel hedefi kapsayabilir. Birinci ve en sık olanı; genetik yaklaşımların şizofreni etiyolojisinin anlaşılmasına yardım etmesi, ikincisi farmakogenetik yaklaşımların bireysel tedavilerin geliştirilmesine ve tedaviye cevabın optimal hale getirilip yan etkilerin en aza indirilmesi çabalarına yardımcı olması, üçüncüsü ise genetik yaklaşımların şizofreninin heterojen klinik yapısını anlamaya yardım etmesidir (29). 1900’lerin başlarında Kraepelin “Dementia Praecox”u kalıtlı bir bozukluk olarak tarif etmiştir ve onun tariflerinin yayınlanmasının ardından bu bozukluğun ailelerde nasıl kümелendiğini gösteren büyük kohort çalışmaları yayınlanmıştır (41). Genetik alanında meydana gelen ilerlemeler şizofreninin etyolojisinde genetik rolün daha ayrıntılı incelenmesine olanak vermiştir. İnsan Genom Projesi’nin tamamlanmasıyla birlikte şizofreni genetiğine yönelik sitede genetik ve moleküler genetik çalışmalar ve bununla birlikte gen-çevre etkileşimini açıklamaya yönelik epigenetik çalışmalar artmıştır (42,43,44). Huntington hastalığı ve kistik fibroz gibi tek gen bozukluklarının tersine şizofreni gibi karmaşık özellikler gösterenler daha sık görülür ve daha yüksek toplumsal yüke neden olurlar. Tek gen bozuklukları için yatkınlık yaratan genotipi taşıyan bir kişide o bozukluğun gelişme olasılığı yaklaşık

%100'dür ve genotip ve klinik özellikler arasındaki ilişki nedenseldir. Karmaşık özellikler gösterenlerde ise genotip ve fenotip arasındaki ilişki daha zayıftır ve genotipin oluşturduğu risk olasılıklara dayalıdır (29).

Şizofreni Etyolojisine Genomik Yaklaşımlar

- Geçiş Biçimi:

Çeşitli akrabalık derecelerinde yapılan çalışmalar, şizofreninin tek gen ya da bir grup tek gen bozukluğuna bağlı geçiş göstermediğini göstermiştir. Çalışmalar genetik geçiş şeklinin kompleks ve non Mendelian olduğunu göstermektedir. İlgili lokusların sayısı ve herbir lokusun hastalık riski, genetik heterojenitenin derecesi ve lokuslar arasındaki etkileşimin derecesi bilinmemektedir (45).

- Kromozom anormallikleri:

Şizofreniye yatkınlıktan sorumlu genlerin, hasarlı genomik bölgelerde yerleşmiş olabileceği düşüncesinden yola çıkarak, şizofrenide kromozomal bozuklukları tanımlamak için sayısız araştırma yapılmıştır. Sitogenetik anomaliler (translokasyon, delesyon), bir genin doğrudan bozukluğu ya da ayrı iki genin birleşmesi ile yeni bir gen oluşması, komşu genlerin konumları nedeni ile fonksiyonlarında doğrudan olmayan bozulma, bir genin kopya sayısında değişimler (delesyon, duplikasyon, dengeli olmayan translokasyon) gibi patogenetik mekanizmalarla olabilirler (29).

İkiyuzelli Japon şizofreni hastasında yapılan bir çalışmada, hastaların 5'inde X kromozomuna bağlı anoploidi (kazanım ve kayıp), 10'unda (%4) 9. kromozomda perisentrik inversiyon saptanmıştır (46). Japon populasyonunda perisentrik inv (9) sıklığı %1,7-2,1 olarak bildirildiğinden, araştırmacılar X kromozomuna ve 9. kromozoma ait bu değişikliklerin şizofrenlerde arttığı sonucuna varmışlardır (46). Yine Japonya'dan yapılan, takip eden bir çalışmada, 161 şizofreni hastası kromozom değişiklikleri açısından incelenmiş X'e bağlı anoploidi oranları ve inv (9) sıklığının aynı yaş grubundaki kontrol hastalarıyla benzer olduğu bulunmuştur (47).

Ülkemizden yapılan bir diğer sitogenetik çalışmada ise 101 şizofreni hastasından, folik asitsiz medyum ile, periferik kan lenfositlerinin kültürü yapılmış ve 27 bölgede kromozomal kırık tespit edilmiştir [29]; araştırmacılar, bu bölgelerin

sizofreniye yatkınlık oluşturablecek genlerin incelenmesi açısından uygun bölgeler olduklarını bildirmişlerdir [29]. Bu çalışmada tespit edilen bölgeler: 1q21, 1q32, 2p13, 2q21, 3p14, 3p25, 3q21, 5q22, 5q31, 6p21, 6q25, 6q26, 7q21, 7q22, 7q32, 8q22, 9q21, 10q21, 11q23, 12q24, 13q32, 14q24, 16q22, 17q21, Xp22, Xq22, Xq26'dır [29]. Distamisin A induksiyonu ile yapılan bir başka çalışmada ise yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde 3p14 ve 16q22 bölgelerinde kırık tespit edilmiştir fakat istatistiksel olarak 2q11.2 ve 9q12 bölgelerinin sizofreni ile ilişkisi anlamlı bulunmuştur (48).

- Bağlantı çalışmaları:

Şizofreni etyolojisiyle ilgili genlerin doğasını ve lokalizasyonunu saptamayı hedefleyen 20'den fazla sayıda genom taraması yapılmıştır. Yapılan metaanalizlerde istatistiksel olarak 12 anlamlı genomik bölge saptanmış ve özellikle 2. kromozomda bir bölge önemli bulunmuştur. Şizofreni yatkınlık genlerini içermesi olası lokuslarda, 12 bölgede 2181 gen saptanmıştır (29).

Şizofrenide bugün için saptanmış olan en uygun aday genler:

- DISC 1 (Disrupted in Schizophrenia 1):

Bu gen geniş bir ailedeki (1;11) (q42.1;q14.3) dengeli kromozom translokasyonunun kırılma noktasında tanımlanmıştır (49). Bir çalışmada bu genin 12. ekzonundaki silinmenin şizofreni ve şizoafektif bozuklukla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (50). Bu genin nöronal migrasyon, nöron yapısının düzenlenmesi ve intraselüler transportta etkin olduğu düşünülmektedir (51).

Beyin gelişimini düzenleyen DISC1 geninin pre ve perinatal fare beyinlerinde susturulması bu canlılarda erken yetişkinlik döneminde şizofrenideki gibi nörokimyasal ve davranışsal bozukluklara neden olmuştur (52).

- Nörogulin 1 (NRG1):

Niwa ve ark. NRG1 ve DISC1 gibi aday genlerin hassas allellerinin bazılarında var olan değişikliklerin prefrontal kortekste ve gelişmekte olan kortekste çok ciddi gelişimsel farklılıklar yarattıklarını ortaya koymuşlardır (53). Çeşitli

çalışmalar, NRG1'deki varyasyonların şizofreniye yatkınlıkla ilgili olduğunu göstermiştir ayrıca NRG1 isoformlarının sinir sistemi ve beyin gelişiminde kritik rol oynadıkları bulunmuştur (53). NRG1'in nikotinik asetil kolinerjik ve N-Metil-D-Aspartat (NMDA) gibi glutamaterjik nöroreseptörlerde ifadenme (expression) ve aktivite değişikliklerine yol açarak hastalığa yatkınlık yarattığı saptanmıştır. NRG1 bunların dışında da glial hücre ve myelinizasyon süreçlerinde de önemli regülatör rol oynar (29).

- Disbindin (Distrobrevin Bağlayıcı Protein 1, DTNBP-1):

DISC1, dysbindin (DTNBP1) ve neuregulin 1 (NRG1) gibi birçok bilinen aday gen bağlantı çalışmaları ile saptanmıştır. Postsinaptik dansite proteinlerinden distrofin protein kompleksinde (DPC) distrobrevine bağlanır. DPC, sinaps oluşumu ve korunmasının yanı sıra sinyal iletimi ve dönüştürülmesinde etkilidir. DPC'nin nikotinik ve NMDA reseptörlerinin kümelenmesinde görev alması, korteks, serebellum ve hipokampusta postsinaptik GABA-A reseptörleri ile birlikte bulunması ve postmortem çalışmalarda azaldığının gösterilmiş olması, disbindinin şizofreni patolojisiyle yakından ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu proteini kodlayan gen, bağlantı çalışmalarında şizofreniyle istatistik olarak en güçlü bağı gösteren 6p24-22'da yer almaktadır (54,55).

İrlanda'da yapılan bir çalışmada negatif belirti ağırlıklı tabloya sahip şizofreni hastalarında bu gene ait risk alelinin kalıtıldığını düşündüren güçlü verilere ulaşılmış, ancak asıl sorumlu polimorfizmlerin belirlenmesi henüz mümkün olmamıştır (56,57,58).

- G-Protein 4 Sinyalizasyon Düzenleyicisi (RGS4):

Şizofreni için özgül aday gen olarak tanımlanır (59)1q23.3'ün kromozomal alanında bulunur, bu alan daha önce anlamlı ilişkilerin saptandığı bir bölgeye yakın bir yerdedir (60).

İlk olarak, 2001 yılında şizofreni hastalarının beyinlerinde azalmış ekspresyonunun gösterildiği RGS4 proteini (61,62), dopamin ve serotonin reseptörlerinin aktivitesinden sorumludur. Bu genin kendi açılımının dopaminerjik

düzeneklerle kontrol edildiği (63) ancak olası etkisini serotonerjik ve glutamerjik reseptörler üzerinden gösterdiği düşünülmektedir (64,65).

Esas olarak, bu gen post mortem beyin örneklerinin çeşitli kortikal alanlarındaki azalmış transkripsiyon (mRNA) nedeniyle şizofrenideki genetik araştırmaların ilgi alanına girmiştir (61).

- 5HT2A:

Serotonin 5HT-2A (5-Hidroksitriptamin) Reseptör Geni; 20 kb üzerinde, 2 intron ve 3 ekzon bölgesinden oluşmaktadır (66). *HTR2A* geni promoter bölgesinde yer alır (67). Şu ana kadar biriken verilere dayanarak T102C 5HT2a polimorfizmi ile şizofreni arasında bir ilişki olduğu kanısına varılabilir. Bu genin polimorfizmlerinin antipsikotik tedaviye yanıtı yordamada bir gösterge olabileceği, şizofreniye yatkınlıktan çok, ortaya çıkan fenotipteki değişikliklerden sorumlu olduğu öne sürülmektedir (68). Dorsolateral prefrontal korteks azalmış 5-HT2A ve artmış 5-HT1A reseptör balgama alanlarına sahiptir. Bu alan, şizofreniyle ilişkilendirilen alandır (69,70).

- Dopamin D3 Reseptör Geni:

Şizofreni ile dopamin reseptör geni arasında bir ilişki olduğu önceki yıllarda bildirilmiştir. Negatif sonuçlar bildiren çalışmalar olmakla birlikte, şizofreni patogenezinde rol oynadığı öne sürülmektedir (70, 71). Şizofreni hastalarında D-3 reseptörün ekspresyonundaki değişikliklerden kaynaklanan limbik sistemin bilissel ve duygusal işlevlerle ilgili alanlarındaki D-3 mRNA'sının şizofreni hastalarının lenfositlerinde de en az iki katlık artış göstermesiyle, hem D-3 reseptörünün hastalıkla ilişkili olabileceği, hem de takip amaçlı olarak kullanılabilmesi düşüncesi önem kazanmıştır (72).

Neuregulin-1, Dysbindin, DAAO (D- amino asid oksidaz) gibi psikoz oluşturma olasılığı olan genler etkilerini dopamin regülasyonunu kontrol eden glutamat üzerinden, COMT geni ise etkisini doğrudan dopamin üzerinden göstermektedir (73).

- COMT (Katekol-O-metil transferaz enzimi geni):

Katekol-O-Metil transferaz (COMT) enzimi, dopamin, epinefrin, norepinefrin gibi katekolamin ve katekolamin içeren maddelerin metabolik inaktivasyonunda rol oynayan önemli bir enzimdir (74).

Bu enzim COMT geni tarafından kodlanır. COMT (47 başka genle birlikte) 22q11 kromozom fragmentinde bulunur, bu fragmentin silinmesi kompleks sendroma, şizofreni ve başka psikozları içeren psikiyatrik belirtilere yol açar (75). İnsan beynindeki postsinaptik alanlarda katekolaminleri inaktive eden COMT enzimi geni, psikoz araştırmalarında son yıllarda aday gen olarak önemli oranda dikkat çekmiştir. COMT'un uygun bir aday gen olmasının üç ana sebebi olduğu düşünölmektedir. Birincisi, COMT geni şizofreniyle ilgili olduğu düşünölen bölge olan 22q11 kromozomunda yer almaktadır (16,76). İkincisi, 22q11'deki mikro-silinme (microdelesyon) yüksek oranda psikozun birlikte göröldüğü, velo-cardio-facial sendromla ilişkilidir (16,77).

Üçüncüsü, COMT geni ürünü olan Katekol-O-metil transferaz enziminin şizofreni patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gösterilen dopamin işlev bozukluğuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (16, 78, 13). Egan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada COMT Val158Met polimorfizmi ile bilişsel işlevler ve beyin fizyolojisi arasında bir ilişki olduğu ve daha düşük enzim aktivitesine sahip COMT alleli (Met) ile Wisconsin Kart Eşleştirme Testinde daha iyi performans gösteren şizofreni hastaları, hastaların çocukları, ve sağlıklı kontrol grubu arasında bağlantı bildirilmişlerdir (79). Bu çalışmada COMT Val allelinin prefrontal dopamin katabolizmasını artırarak prefrontal işlevleri bozabileceğı ayrıca şizofreni riskini arttırabileceğı de bildirilmiştir. Ayrıca son olarak Okochi ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları metaanaliz çalışmasında COMT'un şizofreniye katkıda bulunmadığı sonucuna varmışlardır (80).

Genom çapı ilişkilendirme çalışmaları (Genome-wide association study, GÇİÇ) binden fazla hasta ve kontrol örneğı kullanarak tek nükleotid polimorfizmlerini (single nucleotide polymorphism, TNP) ve kopya sayısı farklılıklarını (copy number variants, KSF) inceleyerek küçük etkili genleri tanımlayabilen teknolojilerdir. Bu çalışmalar şizofreni gibi çoklu genetik geçiş özellikli (multigenetik) etmenli hastalıklarda çok yararlı olmuştur (81).

Yakın zamanlı GÇİÇ'nin meta-analizinin 36,989 hasta 113,075 sağlıklı kişi üzerinde yapıldığı çalışmada 108 lokus genom çapı ile ilişkili olarak anlamlı bulunmuş, bunların da 83'ü daha evvel bildirilmemiştir (82).

Tüm bu gelişmelere rağmen, şizofrenide GÇİÇ ile saptanan ortak risk lokusları genetik riskin büyük bir bölümünü açıklayamamaktadır (83).

GÇİÇ şizofreni genetiği için önemli bir perspektif sunmasına rağmen toplumda sıklığı en az %1 olan çeşitlilikler için çalışılabilmesi, uzun süre gerektirmesi ve maliyetli olması gibi nedenlerden ötürü bazı sınırlılıklara sahiptir. Tüm ekzom dizileme (whole exome sequencing, TED) yöntemleri yeni nesil dizileme yöntemi olarak ilk Ng SB ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Günümüzde nadir hastalıklarla ilgili mutasyonlarda ve çeşitliliklerin gösterilmesinde zorluk yaşanan durumlarda kullanılmaktadır. TED yöntemi klinik tanı konulması ve kişiselleştirilmiş hastalık riski profilinin saptanması gibi durumlarda oldukça faydalıdır. Bunların yanında hızlı sonuç alınabilmesi ve düşük maliyetlere sahip olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (84,85,86).

Şizofreni genetiğinde TED yöntemi kullanılarak yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Şizofrenide de novo mutasyonların araştırıldığı geniş katımlı TED temelli çalışmada, şizofreni etiolojisinde rol oynayan glutamaterjik sinapsların plastisitesini düzenleyen hücre iskeleti-ilişkili proteinleri içeren glutamaterjik postsinaptik proteinler ve N-metil-D-aspartat reseptör kompleksleri (NMDAR) arasında ufak de novo mutasyonlar gösterilmiştir (87).

2.536 şizofreni hastası ve 2.543 sağlıklı kişinin tüm ekzom sekanslama ile analiz edildiği vaka-kontrol çalışmasında çoklu genlerin açıklayıcılığı (polygenic burden) araştırılmıştır. Postsinaptik yoğunluğun aktivitesi düzenlenmiş hücre iskeleti ilişkili iskele proteini tarafından oluşturulan voltaj kapılı kalsiyum kanalları ve sinyalizasyon kompleksi sorumlu bulunmuştur. Çalışmada çoklu testlerin düzeltmelerinin ardından yapılan bireysel gen temelli testlerde ise anlamlılık bulunamamıştır (88, 89).

Bir Çin ailedeki şizofreni hastası monozigotik ayrık ikizler ve onların ebeveynlerine TED yöntemi ile somatik çeşitlilikler araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında bir somatik tek nükleotid çeşitliliği ve iki somatik eklenme-silme

saptanmasına rağmen, Sanger dizileme ile bulunan patojenik somatik çeşitlilikler doğrulanamamıştır (90).

Japonya’da Şizofreni hastalığı olan kişilerin bulunduğu bir ailede 2 şizofreni hastası ve 1 sağlıklı gönüllü üzerinde TED yöntemi ile unc-13 homolog B (*Caenorhabditis elegans*) (UNC13B) geni saptanmıştır (91).

Araştırmamızın amacı aynı ailede şizofreni hastalığı olan bireyler ile şizofreni hastalığı olmayan bireyleri karşılaştırarak şizofreniye özgü olabilecek gen varyantlarını daha kısa sürede ve kesin sonuç veren bir yöntem kullanarak tanımlamaktır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Katılımcı özellikleri ve değerlendirilmesi

Çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda düzenli olarak psikiyatrik izlemi yapılan şizofreni hastaları ve onların psikiyatrik hastalığı olmayan 1. Derecede akrabaları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın örneklemini her aileden 4 kişinin dahil olduğu iki aile oluşturmaktaydı.

Hastaların tanıları DSM-IV Eksen I Bozuklukları için Yapılandırılmış Klinik Görüşme (SCID-I) ile değerlendirilmiştir. SCID-I, DSM-IV'e göre birinci ekseninde yer alan psikiyatrik bozuklukların tanısını belirlemek amacıyla geliştirilmiş, Türkçe'ye uyarlanmış, yapılandırılmış bir klinik görüşmedir (92, 93)

Tüm hastalar DSM-IV ölçütlerine göre paranoid şizofreni alt grubu ölçütlerini karşılamaktaydı (4).

Sağlıklı kontrol grubu için herhangi bir DSM-IV tanısının olmaması ve daha önce psikiyatrik başvuru öyküsü olmaması koşulu arandı. On sekiz yaş altında olmak ve katılımcıların çalışmaya katılmak istememesi çalışmaya dahil edilmeme ölçütü olarak belirlendi.

Çalışma için Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 15.07.2014 tarih ve 2014-111-17/06 protokol numarası ile etik kurul onayı alınmıştır. Çalışma için Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 28.10.2014 tarih ve 2014-29808450-01 proje kod numarası ile desteklenmiştir. Çalışmaya katılmadan önce tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş olur alınmıştır.

3.2. Tam ekzom dizileme

DNA örnekleri randomize olarak Covaris teknolojisi ile parçalara ayrıldı ve kütüphane parçalarının boyutları çoğunlukla 200bp ve 300bp arasında sınıflandırıldı. Ardından adaptörler parçaların her iki uçlarına bağlandı. DNA zenginleştirmek için ligasyon aracılığıyla PCR (LM- PCR) ile çoğaltılıp saflaştırıldı ve ekzom dizileme

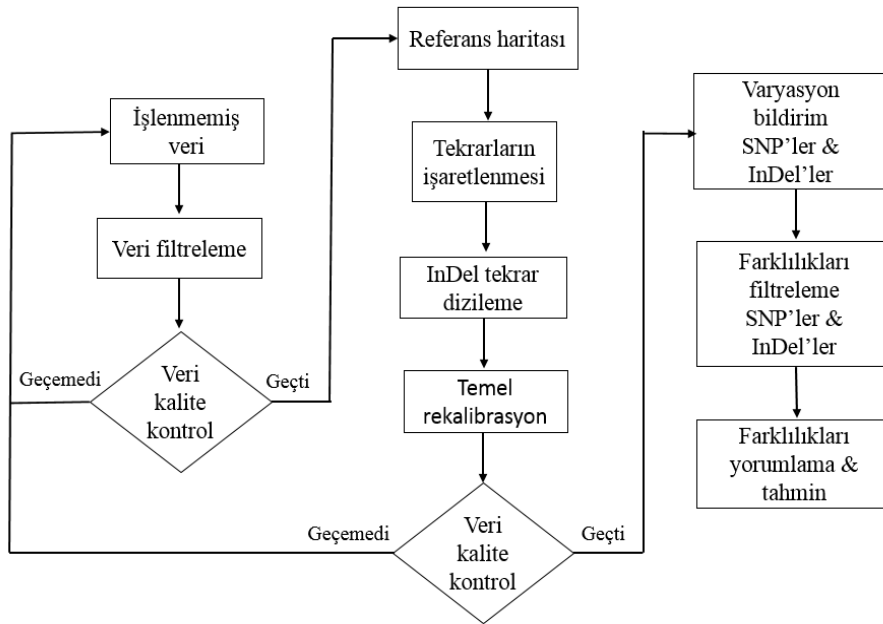
panellerine bağlandı. Bağlanmayan parçacıklar yıkanıp temizlendi. Elde edilen LM-PCR ürünleri kantitatif PCR ile ölçüldü. Elde edilen her işlenmiş DNA Illumina Hiseq platformlarına yüklendi. Her örneklemin istenen ortalama dizilim miktarını sağlamak için her kütüphane için yüksek verimli dizileme yapıldı Varsayılan parametreler ile baz bildirim için Illumina basecalling Software kullanıldı.

3.3. Biyoinformatik analizleri

Şekil 1’de TED analizinin şeması gösterilmiştir. Biyoinformatik analizi sıralanmış veri (Illumina makinasından gelen işlenmemiş veri) ile başladı, İlk olarak işlenmemiş veri üzerindeki veri filtreleme ile temiz veri üretildi. Her örneklemin tüm temiz verisi insan referans genomu ile karşılaştırıldı. (GRCh37/HG19). Dizileme için Burrows-Wheeler Aligner (BWA) yazılımı kullanıldı (94, 95).

Doğru varyasyon bildirim için, varyasyon analizi Genom Analiz Araç Takımı (Genome Analysis Toolkit, GATK, <https://www.broadinstitute.org/gatk/guide/best-practices>) kullanılarak gerçekleştirildi.

Şekil 1. TED analizi şeması



3.4. Veri temizleme

Dizilenmiş verideki kirliliği azaltmak için önce 3 basamaklı veri filtreleme yapıldı: (1) Dizileme adaptörünü içeren okumaların kaldırılması; (2) Düşük nitelikli temel oranlı okumaların kaldırılması (temel oran 5'e eş ya da daha az olması olarak belirlenmiştir) %50'den daha fazladır; (3) Bilinmeyen temel oran ('N' temel) okumalarının kaldırılması, %10'dan daha fazladır. Verinin istatistiksel analizi ve biyoinformatik analizi bu filtrelenmiş, yüksek nitelikli veri ('temiz veri') ile yapıldı. Yüksek güvenilirlikli SNPs ve İndeller belirlendikten sonra, SnpEff aracı (http://snpeff.sourceforge.net/SnpEff_manual.html) uygulaması (a) gen temelli yorumlama: SNPs ve İndellerin protein kodlama değişikliklerinin ve etkilenmiş amino asitlerin olup olmadığını belirlemek için (b) filtre temelli yorumlama: dbSNP v141'de raporlanan varyasyonların belirlenmesi ya da 1000 genom projesindeki <math><1\%</math> MAF ile varyasyonların belirlenmesi ya da SIFT puan <math><0.05</math> ile sinonim olmayan (non-synonymous) SNPs kodlamasının alt kümesinin belirlenmesi ya da GERP++ puan >2 ile gen dışı (intergenic) çeşitliliklerin bulunması ya da birçok diğer özgül mutasyonun belirlenmesi için kullanıldı.

4. BULGULAR

Aile 1'in örnekleme sağlıklı anne ve baba ile şizofreni hastası olan 2 kardeşten oluşmaktaydı. Birinci kardeş 36 yaşında kadın hastaydı, bekar, lise mezunu ve çalışmıyordu. Yedi yıllık hastalık öyküsü ve psikiyatri hastanesine 6 yatışı vardı. En son kullandığı ilaç tedavisi klozapin 600 mg/gün, haloperidol 10 mg/gün, biperiden 2 mg/gün idi (tablolarda aile 1, 1. kardeş). İkinci kardeş 37 yaşında erkek hastaydı, bekar, ilköğretim mezunu ve çalışmıyordu. 20 yıldır şizofreni tanısıyla takipli ve çok sayıda psikiyatri hastanesi yatışı vardı. En son kullandığı ilaç tedavisi klozapin 700 mg/gün idi (tablolarda aile 1, 2. kardeş).

Aile 2'nin örnekleme sağlıklı anne ve kardeş ile şizofreni hastası olan 2 kardeşten oluşmaktaydı. Hasta olan birinci kardeş 50 yaşında erkek hastaydı, ilköğretim mezunu ve çalışmıyordu. Otuz yıllık hastalık öyküsü ve psikiyatri hastanesine 4 yatışı vardı (tablolarda aile 2, 2. kardeş). En son kullandığı ilaç tedavisi palliperidon 12 mg/gün, ketiyapin 200 mg/gün idi. Hasta olan ikinci kardeş 40 yaşında kadın hastaydı, bekar, ilköğretim mezunu ve çalışmıyordu. 20 yıldır şizofreni tanısıyla takipli ve psikiyatri hastanesine 3 yatışı vardı. En son kullandığı ilaç tedavisi palliperidon 12 mg/gün, ketiyapin 200 mg/gün idi (tablolarda aile 2, 3. kardeş).

4.1. SNP sonuçları

Ayrıntılı olarak tüm katılımcılardan 72.025 SNP saptandı. Bu ç %96.07 dbSNP'yi temsil ediyordu. Çeşitliliklerin %92.37'si 1000 genom projesi veri tabanından olan yorumlamalardı. Yeni SNP'lerin sayısı 2406 idi. Transversiyona geçiş oranı %2.61 idi. Tüm SNP'lerin 17.525 i sinonim, 16.620'si kayıp (missense), 39'u stoploss, 151'i stopgain, 30'u startloss ve 113'ü ekleme bölgesi (splice site) idi. Bu SNP'lerden sadece hasta bireylerde olan sağlıklı aile bireylerinde olmayanların sayısı ise 5595 olarak belirlendi. Belirlenen SNP'lerin istatistiklerinin özeti tablo 1'de gösterilmiştir.

4.2. InDel Sonuçları

Tüm katılımcılarda toplam 6.129 indel saptandı. Bu eşitliliklerin %81.58'i dSNP'yi temsil ediyordu. eşitliliklerin 66.73%'si 1000 genom projesi veri tabanından olan yorumlamalardı. Yeni indel'lerin sayısı 928 idi. Tüm indels'lerin 380'i ereve kayması (frameshit), 6'sı stoploss, 6'sı startloss ve 56'sı ekleme bölgesi idi (tablo 2). Belirlenen indel'lerin istatistiklerinin özeti tablo 3'de gösterilmiştir. Bu belirlenen indel'lerden sadece hastalarda olan ve sağlıklı aile bireylerinde olmayanların sayısı ise 223 olarak belirlendi.



Tablo 1: Belirlenen SNP istatistiklerinin özeti

Katılımcılar	Toplam SNP'ler	dbSNP'deki SNP parçaları (%)	1000 genomdaki SNP parçaları (%)	Yeni	Homozigot	Heterozigot	İntron	5' UTRs	3' UTRs	Upstream	Downstream	Gen dışı
1. Aile												
Anne	39.733	98.09	93.82	645	15.177	24.556	14.937	661	787	548	388	1.676
Baba	40.092	97.96	93.69	691	15.086	25.006	15.085	643	761	573	430	1.747
1. kardeş	40.065	98.04	93.73	667	15.431	24.634	15.079	650	829	590	400	1.779
2. kardeş	39.905	97.96	93.61	695	15.080	24.825	14.968	655	793	550	439	1.643
2. Aile												
Anne	40.331	98.00	93.86	675	15.486	24.845	15.329	661	783	565	379	1.616
1. kardeş	39.470	97.99	93.82	657	16.321	23.149	14.948	677	766	567	394	1.625
2. kardeş	39.363	97.98	93.73	657	16.307	23.056	14.849	666	778	579	384	1.669
3. kardeş	39.907	97.99	93.83	677	15.731	24.176	15.059	668	778	560	410	1.607
Toplam	72.025	96.07	92.37	2.406	-	-	26.815	1.224	1.429	1.054	766	2.927

Tablo 2: Indel'leri kodlamak için işlevsel kategoriler

Katılımcılar	Çerçeve kayması	Çerçeve kayması olmayan eklemeler	Çerçeve kayması olmayan silinme	Stoploss	Startloss	İşlenme
1. Aile						
Anne	214	109	96	3	6	46
Baba	225	104	82	2	1	40
1. kardeş	229	94	95	5	6	44
2. kardeş	213	103	95	1	5	42
2. Aile						
Anne	218	107	100	5	3	47
1. kardeş	215	105	99	3	2	46
2. kardeş	217	104	90	1	4	48
3. kardeş	211	95	97	2	3	45
Toplam	380	177	201	6	6	56

Tablo 3: Belirlenen InDel istatistiklerinin özeti

Katılımcılar	Toplam İndel'ler	dbSNP'deki indel parçaları (%)	1000 genomdaki indel parçaları (%)	Yeni	Homozigot	Heterozigot	İntron	5' UTRs	3' UTRs	Upstream	Downstream	Gen dışı
1. Aile												
Anne	3.074	90.34	73.62	225	1.393	1.681	1.942	62	108	67	52	165
Baba	3.245	89.06	72.67	280	1.414	1.831	2.068	71	104	69	62	172
1. kardeş	3.284	89.04	72.32	273	1.436	1.848	2.084	72	115	73	61	173
2. kardeş	3.173	89.66	73.05	248	1.405	1.768	1.988	71	117	71	65	166
2. Aile												
Anne	3.361	89.17	72.66	264	1.415	1.946	2.154	71	111	67	58	181
1. kardeş	3.293	88.64	71.45	295	1.472	1.821	2.097	68	111	61	59	189
2. kardeş	3.259	87.94	71.49	308	1.448	1.811	2.066	75	104	68	50	203
3. kardeş	3.240	89.17	73.02	266	1.425	1.815	2.046	76	111	64	57	199
Toplam	6.129	81.58	66.73	928	-	-	3.965	124	213	122	106	303

5.TARTIŞMA

Her aile için hasta bireyler ve hasta olmayan bireyler arasındaki ortak gen mutasyonları belirlenmiş olup, daha sonra her iki ailedeki bu gen mutasyonlarının ortak havuzu oluşturulmuştur. Her iki ailedeki hasta bireylerinden oluşturulan eklenme/silinme (ins/del) mutasyonu taşıyan gen sayısı 200 olarak tespit edildi. Bu genlerin her birinin alan yazınında incelenmesi sonucu şizofreni ile ilgisi olabileceğini düşündüğümüz genlerin tartışmasını sunduk.

GÇİÇ ile yaşlılarda yapılan çalışmada 11. (11p15.2) kromozom üzerinde rs2618516'de SPON1 varyasyonu saptanmıştır. Bu varyantın yaşlılarda beyinde yapısal değişikliklere neden olduğu ve değişik düzeylerde bunamadan sorumlu olduğu gösterilmiştir. İleri analizlerde bu gen ve çevresindeki gen ağlarının otizm, gelişimsel bozukluklar ve zeka geriliği ile anlamlı ilişkileri olabileceği öne sürülmüştür (96). SPON1 geni tarafından kodlanan protein spondin-1 proteini olup F-spondin olarak da adlandırılmaktadır. Ventral plak hücreleri tarafından salgılanan spondin proteininin embriyonel gelişim sırasında aksonların hedef sinir hücrelerini bulmalarına rehberlik ettiği tespit edilmiş olup 807 aminoasitlik 6 trombospondin bölgesi, bir reelin bölgesi ve bir de spondin bölgesi içeren bir proteindir. Embriyonel gelişimdeki akson sinir kavşağındaki bu önemli görevi nedeni ile bu gendeki mutasyonların [özellikle proteinin tamamen işlevsiz olmasına yol açan çerçeve kayması (frameshit) mutasyonların] şizofreniye yakınlıkla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (97). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda SPON1 geninde 602. pozisyonda C eklenmesi saptanmıştır. SPON1 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Şizofrenide DISC1 geni olası bir yakınlık geni olarak bulunmuş ve bu proteinin beynin gelişmesi ve nöronal işlevler ile ilgisi konusunda birçok çalışma yapılmıştır (98). DISC-1 birçok metabolik yolaktaki proteinlerle etkileşimlerine sahiptir. Bu proteinler arasında nöronal göçte, nöronal çoğalmada (proliferasyon), nöron sinyal iletiminde görev alan ve sinaptik işlev gösteren proteinler sayılabilir. Bu nedenle nöronal gelişim ve işlevsel anlamda önemli olan bu yollarda kilit rol oynayan DISC-1 proteinin şizofreni patogenezinde rolü olabileceği düşünülmektedir (99). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda DISC1 geni eklenme ve

silinme mutasyonu saptanmış olup DISC1 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda NCAM1 geninde ekleme alıcı bölgesinde (splice acceptor site) silinme tespit edilmiştir. Tek bir N-CAM geninden transkripsiyonel varyasyonlar ve translasyon sonrası (posttranslasyonel) değişiklikler ile yapısal varyasyon gösteren birçok N-CAM proteini üretilmektedir. Nöronal hücre yapışma (adezyon) molekülü (N-CAM) erken embriyonik dönemde görülür ve hücre grupları oluşumu ile biçimsel oluşumda (morfogenez) oldukça büyük öneme sahiptir. Gelişimin daha geç evrelerinde çeşitli farklılaşmış dokularda bulunmakla birlikte temelde CAM aracılı yapışma sinirler arasında ve sinir kas bağlantılarında görülmektedir (100). Hastalarımızda görülen bu silinmenin etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte 45 şizofreni hastası ve 20 sağlıklı katılımcı arasında Western blot yöntemi ile yapılan çalışmada beyin omurilik sıvısında N-CAM seviyesinin arttığı saptanmıştır. N-CAM seviyesinin tedaviden ve hastalık dönemlerinden bağımsız olması, N-CAM'ın nörogelişimsel açıdan patogeneze etkili olabileceğini düşündürmüştür (101). N-CAM proteininin şizofreni patogenezindeki rolü ile ilgili yapılacak daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda WNK1 geninde 2173_2174. pozisyonda çerçeve kayması mutasyona neden olan bir C eklenmesi saptanmıştır. Farelerle yapılan bir çalışmada WNK1 geninin Northern blot ve RT-PCR analizi ile WNK1'in alternatif işlenmesi (splicing) sonucu WNK1'in sinir sistemindeki özgül izoform parçası olan HSN2'nin (12p13.33 üzerinde önemli bölgedeki HSN2;201300 içinde) sentezlendiği saptanmıştır (102). HSN2 proteininin duysal nöronların gelişimi ve korunmasında görev aldığını ortaya koyulmuştur. Bu eklenme WNK1'in alternatif işlenmesini etkileyerek HSN2 sentezini de engelliyor olabilir. Bu konuda yapılacak daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (103). Şizofreni hastaları ile sağlıklı katılımcıların ölüm ardı dorsolateral prefrontal korteks ve hipokampusunda WNK1 protein seviyesinin araştırıldığı çalışmada, şizofreni hastalarında hipokampusta WNK1 seviyesi anlamlı olarak fazla bulunmuştur (104).

CHRNA3 genotipleri ile şizofreni hastalarının klinik özellikleri arasında ilişkiler bulunmuştur (105). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda CHRNA3 geni 67-69 nükleotitler arasında 'CTG' silinmesi olduğu saptanmıştır.

Northern blot analizi ile ftal ve erişkin beyinde GRIA3 transkriptleri saptanmıştır (106). Ratlar zerinde GRIA3 geninin L-glutamat veya AMPA üzerinde farmakolojik ve kinetik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (107). GRIA3 geni bipolar bozukluk ve X'e bağlı zeka geriliği için aday gen olarak dşnlmekle birlikte (23), GRIA3 gen varyasyonlarının şizofreniyle ilişkili olduğu da bildirilmiştir (108).

Glutamat nörotransmitter sistemindeki genler şizofreni için potansiyel aday genler olarak düşünülebilir. Glutamat sinyal ağındaki bozulmanın şizofrenideki rolü, NMDA ve AMPA reseptör sinyallerinde bulunan sinaps sonrası genlerin şizofrenide mutasyon bakımından zengin olmasıyla desteklenir (89,90). AMPA reseptörü için gerçekleştirilen sistematik bir çalışmada da GRIA3'n kadınlarda şizofreni ile ilişkili olduğu saptanmıştır (109). GRIA3 geni promotor metilasyonunun şizofreni hastalarında hastalığı olmayan kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (110). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda GRIA3 geninde ereve kayması mutasyonuna yol açan bir eklenme/silinme mutasyonu saptanmıştır. ereve kayması mutasyonlarında promotor metilasyonundan farklı olarak ilgili protein üretilse de işlevsel olmayacağından bu çalışma bulgularımızı destekler niteliktedir. GRIA3 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Sinaps sonrası yoğunluk şizofreni gibi nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkili protein bileşenlerini içerir. Sinaps sonrası yoğunluğa dahil olan NMDA etkileşimli protein olan CYFIP2'nin şizofreni patofizyolojisinde rol oynadığı saptanmıştır (111). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda CYFIP2 geni 280_281. pozisyona C eklenmesi saptanmıştır. CYFIP2 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

On dört şizofreni hastası ile yapılan ekzom dizileme çalışması sonucunda 8 probandda 15 de novo mutasyon tespit edilmiştir. Araştırmacılar tespit edilen bu mutasyonlar arasında ZNF480 proteininde 55 amino asitlik bir kayba yol açan bu gendeki arg480-terminal mutasyonunun patojenik olabileceğini ileri sürmüşlerdir (112). Bizim alışmamızda da hastalardaki ortak gen havuzunda ZNF480 5-6. pozisyonda ereve kayması mutasyona yol açan TG silinmesi saptanmıştır. ZNF480 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Fareler üzerinde yapılan çalışmada SARM1 geninin doğuştan gelen bağışıklık sisteminin gelişiminde, nöronal gelişimde, sosyal davranışların ve bilişin düzenlenmesinde rol oynadığı saptanmıştır. Bozulmuş nöronal gelişim ve inflamatuvar sitokinlerin düzensizliği şizofreni gibi psikiyatrik hastalıkların etiolojisinde rol oynayabilir (113). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda SARM1 geninde çerçeve kayması mutasyonuna yol açan birçok eklenme mutasyonu saptanmıştır. SARM1 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Aynı bölgede yaşayan İrlanda kökenli katılımcılar (814 şizofreni hastası, 525 sağlıklı kontrol grubu) arasında yapılan vaka-kontrol çalışmasında FBXL21 geninin şizofreni ile ilişkisi olabileceği saptanmıştır (114). Beyaz ırktan şizofreni hastaları üzerinde yapılan diğer vaka-kontrol çalışmasında ise FBXL21 geni ile şizofreni arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (115). FBXL21 geni SCF (SKP1-cullin-F-box) bileşenindeki F-box proteinlerini kodlar. F-box proteinlerinin NMDA reseptör miktarını azaltmak gibi birçok farklı görevi vardır (115). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda FBXL21 geni 172. Pozisyonda Val aminoasidinin silinmesine yol açan 514_516delGTT silinmesi saptanmıştır. FBXL21 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Bulgar kökenli 300 şizofreni hastası ve 600 sağlıklı hasta yakınından oluşan örnekleme şizofreni için risk etmeni olduğu bilinen 5q31-32 kromozomu ile aday genleri belirlemek için çalışma yapılmıştır. Yapılan analizlerin sonunda SMAD5 geninin 5q31-32 bağlantı bölgesi ile ilişkili aday genler arasında olduğu saptanmıştır (116). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda SMAD5 geni çerçeve kayması mutasyonuna yol açan 1315-1316. pozisyona C eklenmesi saptanmıştır. SMAD5 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

PCLO'nun işlev kaybının nöron kaybı ile sonuçlanan sinapslarda işlev bozukluğu ve apoptoza neden olabileceği öne sürülmüştür (117). Amigdalaki sitomatriks aktif bölge (SAB) patofizyolojisinin şizofreni etiolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir. Şizofreni hastalarında SAB genlerinden olan PCLO'nun amigdalaki ifadesinde arttığı ve bu artışında haloperidol ve klozapin tedavisinden etkilenmediği gösterilmiştir (118,119). PCLO sinaps öncesi hücre iskeleti matriksin (presynaptic cytoskeletal matrix, PCM) bir bileşenidir. Sinaps öncesi hücre iskeleti matriks sinaptik veziküller arasında bulunmaktadır ve nörotransmitter salınımını ile

nörotransmitterlerin sinaps sonrasına alınmasında rolü olduğu düşünülmektedir (120). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda PCLO genine 8780-8781 nükleoitidler arasına TGA eklenmesi saptanmıştır. PCLO geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Histon H3 lizin 4 metilasyon (H3K4me) genom boyunca aktif olarak kopyalanan (transcribe) genin promotorlarında ve çoğaltıcılarında (enhancers) bulunan iyi tanımlanmış kromatin değişikliklerindedir. H3K4me düzenleyicilerinde mutasyon şizofreni gibi nörogelişimsel bozukluklarda görülmektedir. KMT2C geni H3K4me metiltransferazı olarak tanımlanmıştır (121,122). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda KMT2C geninde silinme saptanmıştır. KMT2C geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Sinaptik plastisite önemli rol oynadığı düşünülen disbindin-1 geni şizofreni çalışmalarının değerlendirildiği meta analizde şizofrenide birincil yatkınlık geni olarak saptanmıştır (123). DNAPK kompleksi disbindin-1'i bağlar ve fosforile eder. Şizofreni hastalarında dysbindin-1 ve DNAPK arasındaki fonksiyonel ilişkide bozulmalar olabilmektedir (124). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda DNAPK geni eklenme ve silinme saptanmıştır. DNAPK geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Hipotalamus-hipofiz-böbrek üstü ekseninde işlev bozukluğu şizofreni gelişiminde rol oynamaktadır. Şizofrenide 5 alfa redüktaz gibi kortizolu metabolize eden enzimlerin artmış sistemik etkinliği olduğu düşünülmektedir (125). Şizofreni hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında yapılan vaka kontrol çalışmasında idrarda serbest kortizol, serbest kortizon ve metabolitleri ile SNP'nin araştırıldığı çalışmada SRD5A2'nin SNP'sinin şizofreni grubunda anlamlı olarak bulunduğu saptanmıştır (126). 5 alfa redüktaz inhibitörlerinin hayvan modellerinde antipsikotik benzeri etkiye sahip olduğu saptanmıştır (127). Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda SRD5A2 geninde 89-90. Nükleoitidler arasına C eklenmesi olduğu saptanmıştır. SRD5A2 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Yakınsak fonksiyonel genomikler (convergent functional genomics) yöntemi ile şizofreni hastalarında yapılan çalışmada, SCAMP1'in daha az hezeyan belirtisi yaşanması ile ilişkili olan aday kan biyo göstergesi olarak saptanmıştır (128).

Çalışmamızda hastalardaki ortak gen havuzunda SCAMP1 geni eklenme ve silinme saptanmıştır. SCAMP1 geni şizofreni için aday gen olarak değerlendirilebilir.

Bu genlerin yanı sıra çalışmamızda LTF geni 703. pozisyonda T silinmesi, SEMA3B geninde 81-82. nükleotidler arasında C eklenmesi, NCOR2 genin 5517-5518. nükleotitler arasına 9 nükleotidlik AGCAGCGGC eklenmesi, GPHB5 geninde 156-157. nükleotidler arasında C eklenmesi, TMEM216 432-433. nükleotidler arasında A eklenmesi, FAM174B geninde 206-211. nükleotidler arasında yer alan GCTCCA dizisinin silinmesi, CLTCL1 geninde 3602-3603. nükleotidler arasında G eklenmesi, CNTNAP4 geninde 43-44. nükleotidler arasında T eklenmesi tespit edilmiştir. Bu genlerin şizofreni patogenezindeki rolü ile ilgili bildiğimiz kadarıyla yayınlanan bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak şizofreni hastalarında serum laktoferrin düzeyinde yükseklik olduğu, bunun da antipsikotik tedaviden etkilenmediği bildirilmiştir (129). SEMA3B geninin ise nöronal gelişim sırasında büyüme konileri rehberliğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (130). Beyin fare dokularında ise Northern blot analizi NCOR2 protein ifadesinde artış saptanmıştır (131). Ayrıca insanlarda PCR analizi ile GPHB5 proteini miktarının beyin dokularında arttığı tespit edilmiştir (132). İnsan embriyonik dokularından in situ melezlemeyle oluşturulan örnekleme santral sinir sisteminde TMEM216 ifadesinde artış bulunmuştur (133). Davranışsal sorunlar, epilepsi ve otizm spektrum bozukluğu olan bir hastada FAM174B'nin de dahil olduğu 3 gen bölgesinde kromozomla silinme saptanmıştır (134). CLTCL1 gen ifadesinin konsepsiyon sonrası gelişmekte olan insan beyinde arttığı ve sinir ucu gelişiminde etkili olduğu saptanmıştır (135). ELISA ve ardından RT-PCR ile yapılan çalışmada birçok beyin bölgesinde CNTNAP4 ifadesinde yüksek oranda artma saptanmıştır (136).

Her iki ailenin hasta bireylerinde tespit edilip sağlıklı bireylerinde görülmeyen bu gen mutasyonlarının şizofreni patogenezinde rolü bilinmemekle birlikte bu genler tarafından sentezlenen proteinlerin beyinde ifadesi olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Tespit edilen bu genler ve bu genler tarafından sentezlenen proteinlerin şizofreni patogenezindeki rolü ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Ekzom dizileme, hastalık-gen ilişkilerini saptamak amacıyla genomun sadece kodlanan bölgelerinin seçici olarak dizilenmesi prensibine dayalı bir yöntemdir (137). Genetik varyantlar ile ilişkili hastalıkların nedenlerini belirlemede birçok teknoloji bulunmaktadır. Her tekniğin kendine özgü teknik, finansal ve kullanılan materyaller ile ilgili kısıtlamaları vardır. Ekzom dizileme diğer teknolojilere göre pahalı bir yöntem olsa da yeni veri analiz programlarıyla büyük miktarlarda bilgi elde edilmesini sağlamaktadır (138). Çalışmamızda bu tekniğin tercih edilmesinin en önemli nedeni bu olmakla birlikte pahalı bir yöntem olması nedeni ile ancak az sayıda örnekle çalışabilmemiz bu çalışmanın kısıtlılıkları arasında yer almaktadır. Beyinde ifadeleri olduğu bilinen ancak şizofreni patogenezindeki rolleri ile ilgili henüz çalışma yapılmamış genlerin tespit edildiği bu çalışma bundan sonraki çalışmalara ışık tutabilecek nitelikte bir çalışmadır.

6.KAYNAKLAR

1. Sadock BJ, Sadock VA (2005) Klinik psikiyatri. Aydın H, Bozkurt A (Çeviri editörleri), 2. ed. Ankara: Günes Kitabevi.
2. Soygür H, Erkoç İ (2007) Şizofreni kavramına tarihsel bir bakış: Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu EC ve ark. (Editörler). Şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar. 1.baskı, Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları, Ankara, 1-12.
3. Erol A (2007) Şizofrenide klinik özellikler ve tanı ölçütleri, kullanılan ölçekler: Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu EC ve ark. (Editörler). 1.baskı, Şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar, Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları, Ankara, 165-195.
4. American Psychiatric Association (2013). DSM-5 (Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fifth edition), Washington, DC.
5. Erkoç Ş, Aker T (1998) Şizofreni monografı-I, Okyanus Yayın, İstanbul.
6. Mete L (1998) Şizofreni: En uzak ülke, İletişim Yayınları, İstanbul.
7. Sadock BJ, Sadock V (2000) Kaplan and sadock's comprehensive textbook of psychiatry, Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
8. Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO (2006). Textbook of schizophrenia 1st ed, American Psychiatric Publishing, Washington.
9. Işık E (2006). Güncel şizofreni, Format Matbaacılık, Ankara.
10. Öztürk O (1997). Ruh sağlığı ve bozuklukları, Hekimler Yayın Birliği, Ankara.
11. Andreasen N. The evolving concept of schizophrenia: from Kraepelin to the present and future. Schizophr Res 1997; 28:105-109.

12. Moskowitz A, Heim G. Eugen Bleuler's Dementia praecox or the group of schizophrenias (1911): a centenary appreciation and reconsideration. Schizophr Bull 2011; 37:471-479.
13. Vanier A (2004). Semptom ve Psikoz. 6. İstanbul psikanaliz buluşmaları, Bağlam Yayınları, İstanbul.
14. Kaplan HI, Sadock BJ (1998). Kaplan and Sadock's Synopsis of Psychiatry, Eight Edition, Williams&Wilkins, Philadelphia.
15. Ozturk MO (2001). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara.
16. Köroğlu E, Güleç C (2007) Psikiyatri temel kitabı, Hekimler Yayın Birliği, Ankara.
17. Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu C ve ark. (2007). Şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar, Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları, Ankara.
18. Işık E, Işık U (2008). Şizofreni: Işık E, Taner E, Işık U (Editörler). (2008) Güncel klinik psikiyatri. Ankara: Golden Print Matbaası, 83-114.
19. Jablensky A, Sartorius N, Emberg G ve ark. Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. Psychol Med Monogr Suppl 1992; 20:1-97.
20. The European Network of Schizophrenia Networks for the Study of Gene Environment Interactions (EU-GEI). Schizophrenia aetiology: Do gene environment interactions hold the key? Schizophr Res 2008; 102:21-26.

21. Ertuğrul A (2007) Şizofreni etiyojisi: Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu EC ve ark. (Editörler). (2007) 1.baskı, şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar, Ankara: Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları. 28-52.
22. Buchanan RW, Carpenter WT (2007) Şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar. Sadock BJ, Sadock VA (Editörler). Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry, volum II, (8th ed) H Aydın, A Bozkurt (Çeviri editörleri). Günes Kitabevi, Ankara, 1329-1512.
- 23 . Doğan O (2011). Psikiyatrik Genetik Epidemiyoloji: Psikiyatrik epidemiyoloji, Esform ofset, Sivas, 89-102.
24. Dölek B, Herken H. Şizofreni ve bipolar bozukluğun genetiği; örtüşen ve ayrılan noktalar. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2008; 18:7-20.
25. Gottesman II, Shields J. A polygenic theory of schizophrenia. Proc Natl Acad Sci USA 1967; 58:199-205.
26. Gottesman I (1991) Schizophrenia genesis: the origin of madness. W-H Freeman and Company Press. New York.
27. Vogel F, Motulsky AG (1997) Human genetics: problems and approaches. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag Press.
28. Kendler KS (2000). Schizophrenia: In Sadock BJ, Saddock VA (Editörler). Comprehensive textbook of psychiatry. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1147-1159.
29. Sullivan PF, Owen MJ, O'Donovan MC ve ark. (2006) Genetics: In Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO (Editörler). Textbook of schizophrenia. 1st. Ed. Washington DC and London: Sigma Publishing, 39-53.

30. Yüncü Z, Savaş HA. Madde kullanım bozukluklarında genetik: Bir gözden geçirme. Bağımlılık Dergisi 2007; 8:146-152.
31. Kety SS, Wender PH, Jacobsen B ve ark. Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. Arch Gen Psychiatry 1994; 51:442-455.
32. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. Arch Gen Psychiatry 2003; 60:1187-1192.
33. Herken H, Ceylan ME (2009) Genetik: Ceylan ME, Çetin M (Editörler). Araştırma ve klinik uygulamada biyolojik psikiyatri, 4. Baskı, İstanbul, İncekara Yayıncılık, 319-353.
34. Balım EÖ. Erken başlangıçlı şizofreni, Klinik Psikiyatri 2001; 4:60-70.
35. Rapoport JL, Addington AM, Frangou S. The Neurodevelopmental model of schizophrenia: update. Mol Psychiatry 2005; 10:434-449.
36. Opler MGA, Susser ES. Fetal environment and schizophrenia. Environ Health Perspect 2005; 113:1239-1242.
37. Dilbaz N, Özalp E, Bayam G. Nörolojik Silik işaretler Açısından Erken Başlangıçlı şizofreniyle Yetişkin Tıp şizofreninin Karşılaştırılması. Klinik Psikiyatri 2000; 3:176-184.
38. Ashe PC, Berry MD, Boulton AA. Schizophrenia, a neurodegenerative disorder with neurodevelopmental antecedents. Prog Neuropsychopharmacol and Biol Psychiatry 2001; 55:691-707.

39. Gönül AS, Eker Ç, Donat Ö (2009) Şizofrenide nörogelişimsel ve nörodejeneratif hipotez: Ceylan ME, Çetin M (Editörler). Araştırma ve klinik uygulamada biyolojik psikiyatri. 4. Baskı, İstanbul: İncekara Yayıncılık, 239-254.
40. McGue M, Gottesman II. A single dominant gene still cannot account for the transmission of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry 1989; 46:478-480.
41. DeLisi LE, Fleischhaker W. Genom çağında şizofreni araştırmaları, Current Opinion in Psychiatry (Türkçe Baskı) 2007; 3:1.
42. Venter JC, Adams MD, Myers EW ve ark. The sequence of the human genome. Science 2001; 291:1304-1351.
43. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001; 409:860-921.
44. International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. Nature 2005; 437:1299-1320.
45. Owen MJ, Cardno AG, O'Donovan MC. Psychiatric genetics: back to the future. Mol Psychiatry 2000; 5:22-31.
46. Kunugi H, Lee KB, Nanko S. Cytogenetic findings in 250 schizophrenics: evidence confirming an excess of the X chromosome aneuploidies and pericentric inversion of chromosome 9. Schizophr Res 1999; 40:43-47.
47. Toyota T, Shimizu H, Yamada K ve ark. Karyotype analysis of 161 unrelated schizophrenics: no increased rates of X chromosome mosaicism or inv (9), using ethnically matched and age-stratified controls. Schizophr Res 2001; 52:171-179.
48. Chen CH, Shih HH, Wang-Wuu S ve ark. Chromosomal fragile site expression in lymphocytes from patients with schizophrenia. Hum Genet 1998; 103:702-706.

49. Millar JK, Wilson-Annan JC, Anderson S ve ark. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2000; 9:1415-1423.
50. Sachs NA, Sawa A, Holmes SE ve ark. A frameshift mutation in Disrupted in Schizophrenia 1 in an American family with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Mol Psychiatry* 2005; 10:758-764.
51. Di Forti M, Lappin JM, Murray RM. Risk factors for schizophrenia--all roads lead to dopamine. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17:101-107.
52. Niwa M, Kamiya A, Murai R ve ark. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron* 2010; 65:480-489.
53. Falls DL. Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies. *Exp Cell Res* 2003; 284:14-30.
54. Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ ve ark. Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2002; 71:337-348.
55. Morris DW, McGhee KA, Schwaiger S ve ark. No evidence for association of the dysbindin gene [DTNBP1] with schizophrenia in an Irish population-based study. *Schizophr Res* 2003; 60:167-172.
56. Fanous AH, Van den Oord EJ, Riley BP ve ark. Relationship between a high-risk haplotype in the DTNBP1 (dysbindin) gene and clinical features of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2005; 162:1824-1832.

57. Ito H, Nagata K. Possible relationship of the function of dysbindin-1 with the pathophysiology of schizophrenia. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 2011; 31:35-40.
58. Owen MJ, Craddock N, Jablensky A. The genetic deconstruction of psychosis. *Schizophr Bull* 2007; 33:905-911.
59. Tyrone D. Şizofrenide Ara Fenotiplerin kalıtımı. *Current Opinion In Psychiatry (Türkçe Baskı)* 2005; 1:49.
60. Şengül C, Herken H. Antipsikotiklere bağlı kilo alımının farmakogenetiği. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2009; 19:297-303.
61. Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD ve ark. Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2001; 6:293-301.
62. Levinson DF. Molecular genetics of schizophrenia: a review of the recent literature. *Curr Opin Psychiatry* 2003; 16:157-170.
63. Taymans JM, Kia HK, Claes R ve ark. Dopamine receptor-mediated regulation of RGS2 and RGS4 mRNA differentially depends on ascending dopamine projections and time. *Eur J Neurosci* 2004; 19:2249-2260.
64. De Blasi A, Conn PJ, Pin J ve ark. Molecular determinants of metabotropic glutamate receptor signaling. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22:114-120.
65. Beyer CE, Ghavami A, Lin Q ve ark. Regulators of G-protein signaling 4: modulation of 5-HT (1A)- mediated neurotransmitter release in vivo. *Brain Res* 2004; 1022:214-220.

66. Chen K, Yang W, Grimsby J ve ark: The human 5-HT₂ receptor is encoded by a multiple intron-exon gene. *Brain Res Mol Brain Res* 1992; 14:20-26.
67. Norton N, Owen MJ. HTR2A: association and expression studies in neuropsychiatric genetics. *Ann Med* 2005; 37:121-129.
68. Stockmeier CA, Dicards JJ, Zhang Y ve ark. Characterization of typical and atypical antipsychotic drugs based on in vivo occupancy of serotonin 2 and dopamine 2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266:1374-1384.
69. Kebabian JK, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 1979; 277:93-96.
70. Gümüş D, Herken H (2007) Şizofreni genetiği: Soygür H, Alptekin K, Atbaşoğlu EC ve ark. (Editörler), 1.baskı, Şizofreni ve diğer psikotik bozukluklar, Ankara: Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları, 53-71.
71. Crocq MA, Mant R, Asherson P ve ark. Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D₃ receptor gene. *J Med Genet* 1992; 29:858-860.
72. Harrison PJ. Neurochemical alterations in schizophrenia affecting the putative receptor targets of atypical antipsychotics. Focus on dopamine (D-1,D-3,D-4) and 5-HT_{2a} receptors. *Br J Psychiatry* 1999; 174:12-22.
73. Harrison PJ, Owen MJ. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet* 2003; 361:417-419.
74. Varma GS, Karadağ F, Erdal ME, ve ark. Katekol-O-Metiltransferaz Geni Val158Met polimorfizminin şizofreni hastalarındaki bilişsel işlevlere etkileri. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2011; 21:24-32.
75. Hywel J. Williams, Michael J ve ark. O'Donovan. Is COMT a susceptibility gene for schizophrenia? *Schizophr Bull* 2007; 33:635-641.

76. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH ve ark. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2003; 73:34-48.
77. Murphy KC, Jones LA, Owen MJ. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56:940-945.
78. Moore H, West AR, Grace AA. The regulation of forebrain dopamine transmission: relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1999; 46:40-55.
79. Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS ve ark. Effect of COMT Val108/158Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:6917-6922.
80. Lewandowski KE. Relationship of catechol-O-methyltransferase to schizophrenia and its correlates: evidence for associations and complex interactions. *Harv Rev Psychiatry* 2007; 15:233-244.
81. Levinson DF, Levinson MD, Segurado R ve ark. Genome scan metaanalysis of schizophrenia and bipolar disorder part 1: methods and power analysis. *Am J Hum Genet* 2003; 73:17-33.
82. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 2004; 511:421-427.
83. Purcell SM, Wray NR, Stone JL ve ark. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 2009; 460:748-752.
84. Ng SB, Turner EH, Robertson PD ve ark. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature* 2009; 461:272-276.

85. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW ve ark. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet* 2011; 12:745-755.
86. Michael L. Metzker. Sequencing Technologies - the next generation. *Nature Reviews Genetics* 2010; 11:31-46.
87. Fromer M, Pocklington AJ, Kavanagh DH ve ark. De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature* 2014; 506:179-184.
88. Purcell SM, Moran JL, Fromer M ve ark. A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature* 2014; 506:185-190.
89. Lander ES, Hultman CM, Sullivan PF ve ark. A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature* 2014; 506:185-190.
90. Lyu N, Guan LL, Ma H ve ark. Failure to Identify Somatic Mutations in Monozygotic Twins Discordant for Schizophrenia by Whole Exome Sequencing. *Chin Med J (Engl)*. 2016; 129:690-695.
91. Egawa J, Hoya S, Watanabe Y ve ark. Rare UNC13B variations and risk of schizophrenia: Whole-exome sequencing in a multiplex family and follow-up resequencing and a case-control study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2016, doi: 10.1002/ajmg.b.32444.
92. First MB, Spitzer RL, Gibbon M ve ark. (1996) Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV), Washington, D.C. American Psychiatric Press, Inc.
93. Özkürkçügil A, Aydemir Ö, Yıldız M. DSM-IV Eksen I Bozuklukları için Yapılandırılmış Klinik Görüşmenin Türkçe'ye Uyarlanması ve Güvenilirlik Çalışması. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 1999; 12:233-236.

94. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 2009; 25:1754-1760.
95. Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with burrows-wheeler transform. *Bioinformatics* 2010; 26:589-595.
96. Jahanshad N, Rajagopalan P, Hua X ve ark. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110:4768-4773.
97. Nagae M, Nishikawa K, Yasui N ve ark. Structure of the F-spondin reeler domain reveals a unique beta-sandwich fold with a deformable disulfide-bonded loop. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2008;64:1138-1145.
98. Chubb JE, Bradshaw NJ, Soares DC ve ark. The DISC locus in psychiatric illness. *Mol Psychiatry* 2008; 13:36-64.
99. Bradshaw NJ, Porteous DJ. DISC1-binding proteins in neural development, signalling and schizophrenia. *Neuropharmacology* 2012; 62:1230-1241.
100. Rutishauser U, Acheson A, Hall AK ve ark. The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell-cell interactions. *Science* 1988; 240:53-57.
101. van Kammen DP, Poltorak M, Kelley ME ve ark. Further studies of elevated cerebrospinal fluid neuronal cell adhesion molecule in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1998 ;43:680-686.
102. Shekarabi M, Girard N, Riviere J ve ark. Mutations in the nervous system-specific HSN2 exon of WNK1 cause hereditary sensory neuropathy type II. *J Clin Invest* 2008; 118:2496-2505.

103. Lafreniere RG, MacDonald MLE, Dube M-P ve ark. Identification of a novel gene (HSN2) causing hereditary sensory and autonomic neuropathy type II through the study of Canadian genetic isolates. *Am J Hum Genet* 2004; 74:1064-1073.
104. Fernandez-Enright F, Andrews JL, Newell KA ve ark. Novel implications of Lingo-1 and its signaling partners in schizophrenia. *Transl Psychiatry* 2014; 21:4:e348.
105. Petrovsky N, Quednow BB, Ettinger U ve ark. Sensorimotor gating is associated with CHRNA3 polymorphisms in schizophrenia and healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 2010; 35:1429-1439.
106. Gecz J, Barnett S, Liu J ve ark. Characterization of the human glutamate receptor subunit 3 gene (GRIA3), a candidate for bipolar disorder and nonspecific X-linked mental retardation. *Genomics* 1999; 62:356-358.
107. Sommer B, Keinänen K, Verdoorn TA ve ark. Flip and flop: a cell-specific functional switch in glutamate-operated channels of the CNS. *Science* 1990; 249:1580-1585.
108. Lipsky RH, Goldman D. Genomics and variation of ionotropic glutamate receptors. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1003:22-35.
109. Magri C, Gardella R, Valsecchi P ve ark. Study on GRIA2, GRIA3 and GRIA4 genes highlights a positive association between schizophrenia and GRIA3 in female patients. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 147B:745-753.
110. Kordi-Tamandani DM, Dahmardeh N, Torkamanzehi A. Evaluation of hypermethylation and expression pattern of GMR2, GMR5, GMR8, and GRIA3 in patients with schizophrenia. *Gene* 2013; 515:163-166.

111. Föcking M, Lopez LM, English JA ve ark. Proteomic and genomic evidence implicates the postsynaptic density in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2015; 20:424-432.
112. Girard SL, Gauthier J, Noreau A ve ark. Increased exonic de novo mutation rate in individuals with schizophrenia. *Nature Genet* 2011; 43:860-863.
113. Lin CW, Hsueh YP. Sarm1, a neuronal inflammatory regulator, controls social interaction, associative memory and cognitive flexibility in mice. *Brain Behav Immun* 2014; 37:142-151.
114. Chen X, Wang X, Sun C ve ark. FBXL21 association with schizophrenia in Irish family and case-control samples. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 5:1231-1237.
115. Andrews JL, Fernandez-Enright F. . Investigation of genetic variants in ubiquitin enzyme genes involved in the modulation of neurodevelopmental processes: a role in schizophrenia susceptibility? *Genet Res (Camb)* 2014; 96:e15.
116. Zaharieva I, Georgieva L, Nikolov I ve ark. Association study in the 5q31-32 linkage region for schizophrenia using pooled DNA genotyping. *BMC Psychiatry* 2008; 25:8-11.
117. Ahmed MY, Chioza BA, Rajab A ve ark. Loss of PCLO function underlies pontocerebellar hypoplasia type III. *Neurology* 2015; 84:1745-1750.
118. Weidenhofer J, Bowden NA, Scott RJ ve ark. Altered gene expression in the amygdala in schizophrenia: up-regulation of genes located in the cytomatrix active zone. *Molecular and Cellular Neurosciences* 2006; 31:243-250.

119. Weidenhofer J, Scott RJ, Tooney PA. Investigation of the expression of genes affecting cytomatrix active zone function in the amygdala in schizophrenia: effects of antipsychotic drugs. *J Psychiatr Res* 2009; 43:282-290.
120. Fenster SD, Chung W J, Zhai R ve ark. Piccolo, a presynaptic zinc finger protein structurally related to bassoon. *Neuron* 2000; 25:203-214.
121. Vallianatos CN, Iwase S. Disrupted intricacy of histone H3K4 methylation in neurodevelopmental disorders. *Epigenomics* 2015; 7:503-219.
122. Shen E, Shulha H, Weng Z ve ark. Regulation of histone H3K4 methylation in brain development and disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014; 369.
123. Allen NC, Bagade S, McQueen MB ve ark. Systematic metaanalyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet* 2008; 40:827-834.
124. Oyama S, Yamakawa H, Sasagawa N ve ark. Dysbindin-1, a schizophrenia-related protein, functionally interacts with the DNA- dependent protein kinase complex in an isoform-dependent manner. *PLoS One* 2009; 4:e4199.
125. Steen NE, Methlie P, Lorentzen S ve ark. Increased systemic cortisol metabolism in patients with schizophrenia and bipolar disorder: a mechanism for increased stress vulnerability? *J Clin Psychiatry* 2011; 72:1515-1521.
126. Steen NE, Tesli M, Kähler AK ve ark. SRD5A2 is associated with increased cortisol metabolism in schizophrenia spectrum disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010; 34:1500-1506.
127. Bortolato M, Frau R, Orrù M ve ark. Antipsychotic-like properties of 5-alpha-reductase inhibitors. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33:3146-3156.

128. Kurian SM, Le-Niculescu H, Patel SD ve ark. Identification of blood biomarkers for psychosis using convergent functional genomics. *Mol Psychiatry* 2011; 16:37-58.
129. Hällgren R, Venge P, Wistedt B. Elevated serum levels of lactoferrin and eosinophil cationic protein in schizophrenic patients. *Br J Psychiatry* 1982; 140:55-60.
130. Gong S, Zheng C, Doughty ML ve ark. A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. *Nature* 2003; 425:917-925.
131. Ordentlich P, Downes M, Xie W ve ark. Unique forms of human and mouse nuclear receptor corepressor SMRT. *Proc Nat Acad Sci* 1999; 96:2639-2644.
132. Hsu SY, Nakabayashi K, Bhalla A. Evolution of glycoprotein hormone subunit genes in bilateral metazoa: identification of two novel human glycoprotein hormone subunit family genes, GPA2 and GPB5. *Mol Endocrinol* 2002; 16:1538-1551.
133. Valente EM, Logan CV, Mougou-Zerelli S ve ark. Mutations in TMEM216 perturb ciliogenesis and cause Joubert, Meckel and related syndromes. (Letter) *Nature Genet* 2010; 42:619-625.
134. Kamien B, Harraway J, Lundie B ve ark. Characterization of a 520 kb deletion on chromosome 15q26.1 including ST8SIA2 in a patient with behavioral disturbance, autism spectrum disorder, and epilepsy. *Am J Med Genet A* 2014; 164A:782-788.
135. Nahorski MS, Al-Gazali L, Hertecant J ve ark. A novel disorder reveals clathrin heavy chain-22 is essential for human pain and touch development. *Brain* 2015; 138:2147-2760.
136. Nagase T, Kikuno R, Hattori A ve ark. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XIX. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. *DNA Res* 2000; 7:347-355.

137. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C ve ark. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. Nat Genet 2010; 42:30-35.

138. Kahvejian A, Quackenbush J, Thompson JF. What would you do if you could sequence everything? Nat Biotechnol 2008; 26:1125-1133.



7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

TOPLANTI TARİHİ : 15/07/2014
TOPLANTI NO : 2014/14

KARARLAR :

- 4- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2014-111-17/06 Protokol no'lu "Tüm Ekzom Dizileme Yöntemi İle Şizofreniye Yol Açabilecek Aday Genlerin Belirlenmesi" konulu çalışmanın Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

Doç. Dr. Fırat AYOĞLU
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkan V.

Ek 2: Gönüllü Olur Formu

 T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Bac ve Tıbbi Cihaz Kurumu	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Doküman Adı: KADB-F.23-R.00
		Yayın Tarihi: 18.04.2013
		Sayfa No: 1/3
		Onaylayan: Daire Başkanı

Sayın

Sizi Bülent Ecevit Üniversitesi'nde "Tüm ekzom dizileme yöntemi ile şizofreniye yol açabilecek aday genlerin belirlenmesi" başlıklı araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın niçin ve nasıl yapılacağını, bu araştırmanın gönüllü katılımcılara getireceği olası faydaları, riskleri ve rahatsızlıklarını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. İsterseniz bu bilgileri aileniz, yakınlarınız ve/veya doktorunuzla tartışınız. Eğer anlayamadığımız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz. Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde, gerekli yerleri siz, doktorunuz ve kuruluş görevlisi bir tanık tarafından doldurup imzalanmış bu formun bir kopyası saklamanız için size verilecektir.

Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkında sahipsiniz. Ayrıca sorumlu araştırmacı gerek duyarsa sizi çalışma dışı bırakabilir. Çalışmaya katılmama, çalışmadan çıkma veya çıkarılma durumlarında bir ceza veya tedaviniz ve klinik izleminizde hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

Araştırma konusuyla ilgili ve sizin araştırmaya katılmayı devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde, siz veya yasal temsilciniz zamanında bilgilendirilecektir.

Araştırmanın yürütücüleri, Etik Kurul Üyeleri, Sağlık Bakanlığı ve diğer ilgili sağlık otoriteleri sizin bu araştırmadaki tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişebileceklerdir; ancak kimlik bilgileriniz kesinlikle gizli tutulacaktır ve bu çalışmadan elde edilen bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

Araştırma Sorumlusu
Yard. Doç. Dr. Ömer Şenormancı

Araştırmanın Amacı:

Araştırmamızın amacı aynı ailede şizofreni hastalığı olan bireyler ile şizofreni hastalığı olmayan bireyleri karşılaştırarak şizofreniye özgü olabilecek gen varyantlarının belirlenmesidir.

İzlenecek Olan Yöntem ve Yapılacak İşlemler:

Çalışma için şizofreni hastalarından alınan kan incelenmek için genetik laboratuvarına gönderilecektir

Araştırmanın Yapılacağı Yer(ler): Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi psikiyatri AD.

Araştırmanın Süresi: 24 ay

Katılması Beklenen Gönüllü Sayısı: 4 şizofreni hastası, 4 kontrol grubu

Size Getirebileceği Olası Faydalar:

 T.C. Sağlık Bakanlığı Tıbbi Araştırma ve Tıbbi Cihaz Kurumu	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Doküman Adı: KADB-F.23-R.00
		Yayın Tarihi: 18.04.2013
		Sayfa No: 2/3
		Onaylayan: Daire Başkanı

Şizofreni hastalığının ortaya çıkışı ve gelişimi ile ilgili bilgilerimiz hala kısıtlıdır. Çalışmada değerlendirilecek olan sorumlu gen analizi, hastalığın nedeni ve tedavi için yeni hedefler belirleme konusunda katkıda bulunabilecektir

Size Getirebileceği Ek Risk ve Rahatsızlıklar:

Ek bir risk ya da rahatsızlığa yol açması beklenmemektedir

Masraflar:

Çalışmada kullanılacak olan malzemelerin ödemesi Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında yapılacaktır

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

Çalışmaya Katılan Araştırmacılar:

Yard. Doç. Dr. Ömer Şenormancı

Yard. Doç. Dr. Sevim Karakaş Çelik

Araş. Gör. Dr. Veysel Doğan

İletişim Kurulacak Kişi(ler):

Araştırma hakkında, kendi haklarınız hakkında veya araştırmayla ilgili daha fazla bilgi temin edebileniz veya meydana gelebilecek herhangi bir olumsuz durum için günün 24 saatinde 05305673112 nolu telefondan Dr. Veysel Doğan'a ulaşabilirsiniz.

Araştırma konusuyla ilgili ve araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde siz veya yasal temsilcisinin zamanında bilgilendirilebileceksiniz

Ben,.....[gönüllünün adı, soyadı (kendi el yazısı ile)]

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. Çalışma hakkında soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi ve araştırmadan ayrıldığım zaman mevcut tedavimin olumsuz yönde etkilenmeyeceğini biliyorum.

Bu koşullarda;

- Söz konusu Klinik Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı (çocuğumun/vasimin bu çalışmaya katılmasını) kabul ediyorum.
- Gerek duyulursa kişisel bilgilerime mevzuatta belirtilen kişi/kurum kuruluşların erişebilmesine,
- Çalışmada elde edilen bilgilerin (kimlik bilgilerim gizli kalmak koşulu ile) yayın için kullanılma, arşivleme ve eğer gerek duyulursa bilimsel katkı amacı ile ülkemiz ve/veya ülkemiz dışına aktarılmasına olur veriyorum.

 TC Sağlık Bakanlığı Tıbbi İşler ve Tıbbi Hizmetler Dairesi	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Doküman Adı: KADB-F.23-R.00
		Yayın Tarihi: 18.04.2013
		Sayfa No: 3/3
		Onaylayan: Daire Başkanı

“[.....] çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);
(Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Biyolojik materyallerimin analizlerinin yurtdışında yapılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Gönüllünün (Kendi el yazısı ile)

Adı-Soyadı:

İmzası:

Adresi:

(varsa Telefon No, Faks No):

Tarih (gün/ay/yıl):/...../.....

Velayet veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin

Veli veya Vasisinin (kendi el yazısı ile)

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Varsa Telefon No, Faks No:

Tarih (gün/ay/yıl):/...../.....

Onay Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih (gün/ay/yıl):/...../.....

Açıklamaları Yapan Kişinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Tarih (gün/ay/yıl):/...../.....

NOT: Bu formun bir kopyası gönüllüde kalacak, diğer kopyası ise hasta dosyasına yerleştirilecektir. Hasta dosyası veya protokol numarası olmayan sağlıklı gönüllülerden alınacak onam formunun bir kopyası mutlaka sorumlu araştırmacı tarafından saklanacaktır.