

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR HASTALIKLARINDA ROL  
OYNAYAN GENLERİN ARAŞTIRILMASI**

**Biyolog Mavi Deniz SÖZÜGÜZEL**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans Programı İçin Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ 2008



T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR HASTALIKLARINDA ROL  
OYNAYAN GENLERİN ARAŞTIRILMASI**

**Biyolog Mavi Deniz SÖZÜGÜZEL**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Biyoloji AD. Yüksek Lisans Programı İçin Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Ali SAZCI

KOCAELİ 2008

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

İşbu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK

Üye Prof. Dr. Ali SAZCI

Üye Prof. Dr. M. Doğan GÜLKAÇ

Üye Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Üye Doç. Dr. Mustafa ÇEKMEN

---

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../200..

Prof.Dr. Ümit BİÇER

Enstitü Müdürü

## ÖZET

### Şizofreni ve Bipolar Hastalıklarında Rol Oynayan Genlerin Belirlenmesi

Şizofreni ve bipolar hastalığı; benzer epidemiyolojik özelliklere sahip, yaygın ve kronik hastalıklardır. Örneğin her iki hastalığında populasyonda görülme sıklığı %1 oranındadır. Son yıllarda yapılan genetik çalışmalarda da, şizofreni ve bipolar hastalığının örtüşen yanları olduğu tespit edilmiştir. Her iki hastalıkta genetik olarak kompleks bir yapı gösterir ve Mendel tek gen kalıtım modeline uyum göstermezler. Şizofreni ve bipolar hastalıklarında hem genetik hem de çevresel faktörler rol oynamaktadır. Nöronal gelişim ve kontrolünde rol oynayan genlerin incelenmesi bu hastalıkların oluşumunda önemini belirlemek için bu çalışmada sırasıyla şu genler incelenmiştir: BDNF (11p13) (Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör) geni nöron gelişiminde, canlılığında ve fonksiyonlarını sürdürmesinde önemli rol oynayan nörotrofin ailesine dâhildir. NOTCH4 (6p21.3) (Notch homolog 4 *Drosophila*) geni de sinir sistemi gelişiminin farklı aşamalarında rol oynayan bir genidir. CLOCK (4q12) (Circadian Locomoter Output Cycles Kaput) geni ise bu genlerden farklı olarak sirkadiyan ritimlerinin kontrolünde rol oynar.

Tezin amacı, bu genler üzerinde bulunan tek nükleotid polimorfizmlerini (BDNF için rs6265 ve rs27656701, NOTCH4 için rs367398, rs2071282, rs422951 ve rs387071, CLOCK için rs1801260 ve rs2070062) hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırıp, gen formlarının hastalıklara göre dağılımı belirlemektir. Bu amaçla DSM-IV'e göre tanı konmuş, şizofreni ve bipolar hastaları ile gönüllü olarak çalışmaya katılan sağlıklı kontrollerden kan toplanmıştır. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak 58 şizofrene karşılık, 58 kontrol ile 36 bipolar hastasına karşılık, 36 kontrolün bu polimorfizmler açısından genotipleme yapılmıştır. İstatistiksel analize göre hastalarla kontroller arasında allelik ilişki bulunmamıştır. Çalışılan populasyonda NOTCH4 rs2071282 polimorfizmi için herhangi bir mutasyona rastlanmazken, cinsiyetlere göre analiz yapıldığında şizofreni kadın grubunda NOTCH4 rs422951 AA genotipinin genotipinin kadınlarda 5,3 kat risk oluşturduğu tespit edilmiştir. (OR=5,333, %95 Güven aralığı=1,142-24,899, df=1, p=0.026) Şizofreni erkek grubunda ise NOTCH4 rs367398 TT genotipinin 7,1 kat koruyucu olduğu tespit edilmiştir. (OR=0,141, %95 Güven aralığı=0,016-1,232, df=1, p=0.044)

Sonuç olarak BDNF ve CLOCK polimorfizmlerinin şizofreni ve bipolar hastalığına yatkınlık sağlayan bağımsız risk faktörleri olmadığı, NOTCH4 için ise sadece rs422951 polimorfizminin şizofren kadın grubunda risk faktörü olduğu bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Şizofreni, Bipolar Hastalığı, BDNF, NOTCH4, CLOCK, Polimorfizm, Bağlantı

## ABSTRACT

### The Investigation of the Genes Involved in Schizophrenia and Bipolar Disorders

Schizophrenia and bipolar disorder are common chronic illnesses that share several epidemiologic characteristics. For example, both disorders have lifetime risks of %1 worldwide. Recent genetic studies have shown that there is an overlap between schizophrenia and bipolar disorders. Both disorders are genetically complex disorders and do not follow the Mendelian transmission. To find the role of the genes involved in the neuronal development and control of neurons, we investigated the following genes in connection with both disorders: BDNF (11p13) (Brain Derived Neurotrophic Factor) is a member of the neurotrophin family, has been shown to promote neuronal growth, survival and modulates the differentiation of nerve cells in the nervous systems. NOTCH4 (6p21.3) (Notch homolog 4 *Drosophila*) plays a critical role in the development of the nervous systems at different levels. CLOCK (4q12) (Circadian Locomoter Output Cycles Kaput) gene is an essential regulator of circadian rhythms.

The aim of the thesis was to investigate the relationship of single nucleotide polymorphisms (rs6265 and rs27656701 for BDNF, rs367398, rs2071282, rs422951 and rs387071 for NOTCH4, rs1801260 and rs2070062 for CLOCK) to schizophrenia and bipolar disorder risk in a population-based case-control study. We collected blood from patients with schizophrenia and bipolar disorder diagnosed by the DSM-IV criteria and age and sex-matched voluntary healthy controls. By using PCR-RFLP method we genotyped 58 healthy controls, and 58 schizophrenia patients, 36 healthy controls and 36 bipolar disorder patients. Statistical analysis of the data suggested that there was no allelic association between the cases and healthy controls in both disorders. There wasn't any mutation for NOTCH4 rs2071282 polymorphism. When patients and healthy controls were stratified according to gender difference, the AA genotype of NOTCH4 rs422951 polymorphism was found to have a 5,3 fold increased risk in women for schizophrenia. (OR=5,333, %95 CI=1,142-24,899, df=1, p=0.026) The TT genotype of NOTCH4 rs367398 polymorphism was found to have a 7,1 fold protective effect in men for schizophrenia. (OR=0,141, %95 CI=0,016-1,232, df=1, p=0.044)

In conclusion, it appears that NOTCH4 rs422951 polymorphism was a risk factor in women for schizophrenia. The other polymorphisms of NOTCH4, BDNF and CLOCK were not independent genetic risk factors for schizophrenia or bipolar disorders.

**Keywords:** Schizophrenia, Bipolar Disorder, BDNF, NOTCH4, CLOCK, Polymorphism, Association

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sűresince kıymetli bilgileri, ilgisi ve desteği ile yanımda olan çok değerli hocam ve danıőmanım Prof. Dr. Ali SAZCI'ya,

Katkı ve yardımlarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a,

Çalıőma arkadaşlarım Arő. Gör. Melda YILMAZ, Arő. Gör. Dr. Emel ERGÜL, Arő. Gör. Dr. Gűrler AKPINAR, Yrd. Doç. Dr. Murat KASAP ve Arő. Gör. Dr. Aylin KANLI'ya,

Tez çalıőmam sűresince beni hiç yalnız bırakmayan ve her koőulda yanımda olduęunu bildięim canım ailem ve dostlarıma teőekkűr ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	1
1.1.ŞİZOFRENİ	1
1.1.1. Şizofreninin Epidemiyolojisi	1
1.1.2. Şizofreninin Genetik Epidemiyolojisi	2
1.1.3. Şizofreninin Klinik Özellikleri	2
1.1.3.1. Şizofreninin Semptomları	3
1.1.4. Şizofreninin Etiyolojisi	3
1.1.4.1. Nörogelişimsel Nedenler	3
1.1.4.1.1. Erken Beyin Gelişimi	4
1.1.4.1.2. Beyin Yapısı ve Fiziopatolojisi	4
1.1.4.2. Biyokimyasal Nedenler	5
1.1.4.3. Çevresel Nedenler	6
1.1.5. Şizofreni Alt Tipleri	7
1.2. BİPOLAR HASTALIĞI	7
1.2.1. Bipolar Hastalığının Epidemiyolojisi	7
1.2.2. Bipolar Hastalığının Genetik Epidemiyolojisi	8
1.2.3. Bipolar Hastalığının Klinik Özellikleri	8
1.2.3.1. Bipolar Hastalığının Semptomları	8
1.2.4. Bipolar Hastalığının Alt Tipleri	9
1.3. Hastalıklarda Rol Oynayan Genlerin Belirlenmesi	9
1.3.1. Genetik Bağlantı	10
1.3.2. Kromozomal Anomaliler	10



1.3.3. İlişkilendirme Çalışmaları	10
1.3.4. Dönüştürsel (Konvergent) Genomik	10
1.3.5. Şizofrenide Rol Oynayan Genler	11
1.3.6. Bipolar Hastalığında Rol Oynayan Genler	11
1.4. Şizofreni ve Bipolar Hastalığında Genetik Örtüşme	14
1.4.1. Epidemiyolojik ve Klinik Benzerlikler	14
1.4.2. Genetik Örtüşme	14
1.5. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP)	16
1.6. BEYİN KÖKENLİ NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF)	17
1.6.1. Nörotrofinler	17
1.6.2. Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör (BDNF)	18
1.6.3. BDNF Geni Üzerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmleri	20
1.6.4. BDNF Polimorfizmlerinin Hastalıklarla İlişkisi	21
1.7. NOTCH HOMOLOG 4 <i>DROSOPHILA</i> (NOTCH4)	26
1.7.1. Notch Homolog 4 – <i>Drosophila</i> - (NOTCH4)	28
1.7.2. NOTCH4 Geni Üzerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmleri	29
1.8. CIRCADIAN LOCOMOTER OUTPUT CYCLES KAPUT (CLOCK)	31
1.8.1. Memelilerde Clock Gen Döngüsü	32
1.8.2. CLOCK Geni Üzerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmleri	34
2. AMAÇ VE KAPSAM	36
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	37
3.1. Gereçler	37
3.1.1. Enzimler ve Primerler	37
3.1.2. Kimyasallar	38
3.1.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	38
3.1.3.1. DNA İzolasyon Çözeltileri	38
3.1.3.2. Elektroforez Solusyonları	39
3.1.3.3. Gümüş Boyama Solusyonları	40
3.1.4. Kullanılan Cihazlar	40

3.1.5. Etik Kurul Onayı	40
3.1.6. Hasta Grubu	41
3.1.7. Kontrol Grubu	41
3.2. YÖNTEMLER	41
3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	41
3.2.2. DNA Konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü	42
3.2.3. Genotipleme	42
3.2.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	42
3.2.3.1.1. PCR ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektroforezinde Kontrolü	43
3.2.3.2. Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)	43
3.2.3.2.1. Kesim Ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektroforezi	44
3.2.3.2.2. Gümüş Boyama	45
3.2.4. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	46
4.1 Genel Bulgular	46
4.2 Cinsiyete Dayalı Bulgular	55
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	79

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BDNF	: Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör
BTA	: Başka Türü Adlandırılmayan
CAT	: Bilgisayarlı Aksiyel Tomografi
CCK	: Kolesitokinin
CLOCK	: Circadian Locomoter Output Cycles Kaput
COMT	: Catechol-O-Metyltransferase (Katekol-O-Metiltransferaz)
CRY	: Cryptochrome
DISC1	: Disrupted in Schizophrenia 1
Dll	: Delta Like Ligand
DRD3	: Dopamin Reseptör 3
DSM-IV	: Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition of Mental Disorders (Ruhsal Bozukluklar Tanı ve İstatistik El Kitabı, 4. Basım)
DTNBP1	: Dystrobrevin Binding Protein 1
EDT	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
G.A	: Güven Aralığı
GABA	: Gamma-Amino Bütirik Asit
G72	: D-Amino Asit Oksidaz Aktivatör
HLA	: Human Leukocyte Antigen (İnsan Lökosit Antijen)
ICD-10	: Tenth Revision of the International Classification of Diseases (Dünya Sağlık Örgütü Sınıflandırılması, 10. Basım)
JAG	: Jagged Ligand
MHC	: Major Histocompatibility Complex(Büyük Doku Uyumu Kompleksi)
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MTHFR	: 5,10-Methylene tetra hydrofolate reductase (5,10-Metilen tetra hidrofolat reduktaz)
NRG1	: Neuregulin 1

NGF	: Nerve Growth Factor (Sinir Büyüme Faktörü)
NT	: Nörotrofin
NOTCH4	: Notch Homolog 4 Drosophila
NICD	: Intraselüler Bölge
OR	: Odds Ratio
PET	: Pozitron Emisyon Tomografi
PRODH	: Prolin Dehidrogenaz 1
P75NR	: p75 Nörotrofin Reseptörü
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
Per	: Period
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi)
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SCN	: Suprakaryotik Çekirdekler
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SPECT	: Tek Foton Emisyon Kompütörize Tomografi
TEMED	: Tetrametiletilediamin
Trk	: Tirozin Kinaz
Df	: Degrees of freedom (serbestlik derecesi)
$\chi^2$	: Chi-square (khi kare)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.1:</b> Genel populusyona oranla akrabalarda şizofren olma riski	2
<b>Şekil 1.2:</b> Şizofreni için risk faktörleri	6
<b>Şekil 1.3:</b> Nörotrofinler ve reseptörleri	17
<b>Şekil 1.4:</b> BDNF transkripsiyonu ve sinaps aktivitesi arasındaki ilişki	19
<b>Şekil 1.5:</b> Major Histocompatibility Complex (MHC) içerisinde yer alan HLA sınıf III bölgesi ve içerdiği genler	26
<b>Şekil 1.6:</b> Memelilerde CLOCK gen döngüsü	33
<b>Şekil 4.1:</b> BDNF geni rs6265 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	61
<b>Şekil 4.2:</b> BDNF geni rs27656701 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	62
<b>Şekil 4.3:</b> NOTCH4 geni rs367398 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	62
<b>Şekil 4.4:</b> NOTCH4 geni rs2071282 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	62
<b>Şekil 4.5:</b> NOTCH4 geni rs422951 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	63
<b>Şekil 4.6:</b> NOTCH4 geni rs387071 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	63
<b>Şekil 4.7:</b> CLOCK geni rs1801260 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	63
<b>Şekil 4.8:</b> CLOCK geni rs2070062 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü	64

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1:</b> Şizofreni de rol oynayan genlerden bazıları ve fonksiyonları	12
<b>Çizelge 1.2:</b> Bipolar hastalığında rol oynayan genlerden bazıları ve fonksiyonları	13
<b>Çizelge 1.3:</b> Şizofreni ve bipolar hastalığında rol oynayan genler	15
<b>Çizelge 1.4:</b> Değişik populasyonların şizofreni ve kontrol gruplarında rs6265 polimorfizminin Valin alleli için dağılımları, Odds Ratio ve %95 güven aralıkları	23
<b>Çizelge 1.5:</b> Değişik populasyonların bipolar ve kontrol gruplarında rs6265 polimorfizminin Val alleli için dağılımları, Odds Ratio ve %95 güven aralıkları	24
<b>Çizelge 1.6:</b> Değişik populasyonların şizofreni ve kontrol gruplarında rs27656701 polimorfizminin allelik dağılımları, Odds Ratio ve %95 güven aralıkları	25
<b>Çizelge 1.7:</b> NOTCH4 geni promotor bölgesinde bulunan polimorfizmlerin farklı populasyonlara göre sonuçları	30
<b>Çizelge 3.1:</b> Polimorfizmlere göre kullanılan primer dizileri ve enzimler	37
<b>Çizelge 3.2:</b> Polimorfizmlere göre PCR için annealing koşulları, MgCl <sub>2</sub> miktarları	43
<b>Çizelge 3.3:</b> Polimorfizmlere göre RFLP için kullanılan enzimler, kesimde kullanılacak enzim, distile su ve PCR ürünü miktarları	44
<b>Çizelge 3.4:</b> Her polimorfizm için poliakrilamid jel elektroforezi koşulları	45
<b>Çizelge 4.1:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri	47
<b>Çizelge 4.2:</b> Bipolar hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri	51
<b>Çizelge 4.3:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerine göre dağılımı	55
<b>Çizelge 4.4:</b> Bipolar hasta ve kontrol grubunun cinsiyetlerine göre dağılımı	55
<b>Çizelge 4.5:</b> Şizofreni için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)	56

<b>Çizelge 4.6:</b> Şizofreni için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)	56
<b>Çizelge 4.7:</b> Bipolar hastalığı için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)	57
<b>Çizelge 4.8:</b> Bipolar hastalığı için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)	57
<b>Çizelge 4.9:</b> Şizofreni için kadınlarda NOTCH4 rs422951 polimorfizminin genotip ve allel dağılımları, p değerleri, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri	58
<b>Çizelge 4.10:</b> Şizofreni için erkeklerde NOTCH4 rs367398 polimorfizminin genotip ve allel dağılımları, p değerleri, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri	58
<b>Çizelge 4.11:</b> PCR ile çoğaltılan BDNF rs6265 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	59
<b>Çizelge 4.12:</b> PCR ile çoğaltılan BDNF rs27656701 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	59
<b>Çizelge 4.13:</b> PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs367398 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	59
<b>Çizelge 4.14:</b> PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs2071282 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	60
<b>Çizelge 4.15:</b> PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs422951 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	60
<b>Çizelge 4.16:</b> PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs387071 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	60
<b>Çizelge 4.17:</b> PCR ile çoğaltılan CLOCK rs1801260 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	61
<b>Çizelge 4.18:</b> PCR ile çoğaltılan CLOCK rs2070062 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu	61
<b>Çizelge 4.19:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları	64
<b>Çizelge 4.20:</b> Bipolar hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları	64
<b>Çizelge 4.21:</b> Şizofreni alt tiplerine göre dağılım	64

## 1.GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

### 1.1 ŞİZOFRENİ

Şizofreni; zihinsel, duygusal ve sosyal fonksiyonları etkileyen psikiyatrik bir bozukluktur. Şizofreni tanımı, ilk kez 1893 yılında, Alman psikiyatrist Emil Kraepelin (1856-1926) tarafından *dementia praecox* (*de*: ayrı, *mentia*: akıl, *praecox*: erken) şeklinde yapılmıştır. Şizofreni kelimesi ise, ilk kez 1908 yılında, İsviçre’li psikiyatrist Eugen Bleuler (1857-1926) tarafından kullanılmıştır. *Schizo*: bölünme, *Phrenia*: akıl anlamına gelmektedir. Yani hastalıktaki ana bozukluk, psikolojik süreçler arasında bağlantı kopmasıdır.

Şizofreni, dünyada uzun süreli devamlılığı olan zihinsel hastalıklar arasında ilk on içerisinde yer almaktadır. En önemli semptomları arasında psikoz, ilgisizlik ve bilişsel hasarlar yer almaktadır. Bu semptomlar sonucu hasta sosyal çevresinde, iş, okul, aile hayatında ve kişisel bakımında problemler yaşar (Mueser and McGurk, 2004).

#### 1.1.1 Şizofreninin Epidemiyolojisi

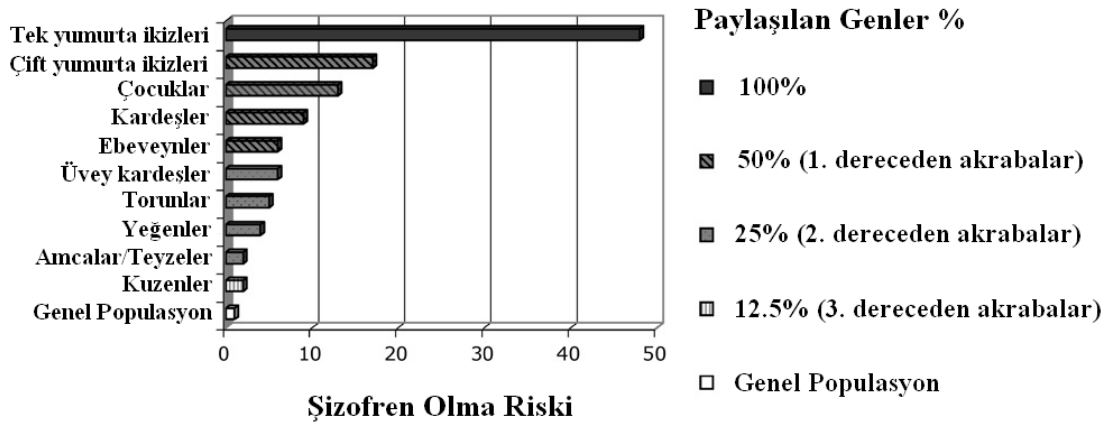
Şizofreni dünya çapında, popülasyonun yaklaşık %1’ini etkilemektedir. Görülme sıklığı kadınlar ve erkeklerde eşittir ama genelde kadınlarda daha geç yaşta başlar. Hastalık genellikle ergenlik veya erken yetişkinlik dönemlerinde (15-30 yaş) başlamakla beraber daha geç yaşlarda başlaması da mümkündür. Hastalık ne kadar erken başlarsa, kişilik üzerindeki harabiyet o kadar fazla olmakta, normal bir yaşam sürme şansı da o kadar azalmaktadır.

Farklı ülkeler ve kültürel gruplar arasında dağılım ve görülme sıklığı bakımından önemli varyasyonlar görülmesine rağmen, daha sıkı tanı kriterleri uygulandığında bu varyasyonlar azalmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’nün (World Health Organization) on farklı ülkede yaptığı çalışmalarda, şizofreni görülme sıklığı oldukça benzer çıkmıştır. Bu çalışma ayrıca gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere şizofreninin klinik belirtilerinin de aynı olduğunu göstermiştir (Mueser and McGurk, 2004).



### 1.1.2 Şizofreninin Genetik Epidemiyolojisi

Yapılan ayrıntılı genetik epidemiyolojik araştırmalar sonucu hastalığın kalıtsal olduğu belirlenmiştir. Aile, ikiz ve evlat edinme araştırmaları göstermiştir ki, genel nũfusta %1 olan hastalanma riski, akrabalık derecesiyle yani paylaşılan gen yũzdesiyle ilişkili olarak artmaktadır (şekil 1.1). Örneğin; tek yumurta ikizlerinden biri şizofren ise, diğer kardeşin hasta olma riski %48 oranında artmaktadır (Faraone et al. 2002; Mueser and McGurk, 2004; Austin J, 2005; Owen MJ, 2005).



şekil 1.1 Genel populasyona oranla akrabalarda şizofren olma riski (Austin J, 2005)

### 1.1.3 Şizofreninin Klinik zellikleri

Dũnyada hastalıkları sınıflandırmak için kullanılmakta olan iki çeşit sistem vardır. Bunlar ICD-10 (Tenth Revision of the International Classification of Diseases-1990) ve DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition-1994) şeklinde dir. Her iki sistemde, semptomları ve hastalığın karakteristik özelliklerini benzer şekilde tanımlasa da, aralarında bazı farklılıklar vardır. En önemli farklılıklar şu şekildedir;

DSM-IV sosyal çevre ve iş alanındaki yetersizlikleri de kapsarken, ICD-10 bunları sınıflandırma ölçütü olarak kullanmaz. Ayrıca DSM-IV için 6 aylık bir hastalık süreci gerekirken, ICD-10'da 1 aylık süreç yeterlidir. Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakũltesi, Psikiyatri Anabilim Dalı'nda DSM-IV tanı lçütleri kullanılmaktadır.

### 1.1.3.1 Şizofreninin Semptomları

Şizofreni semptomları 3 alt sınıfta toplanır. Bunlar;

**Pozitif semptomlar:** Normal bir bireyde olmayan davranış bozukluklarının artması ile ilgili semptomlardır. Psikotik semptomlar olarak adlandırılabilirler (Sanrılar, varsanılar, dağınık düşünce ve davranışlar gibi).

**Negatif semptomlar:** Normal bireyde bulunan temel duygusal ve davranışsal süreçlerde değişik derecelerde kayıplar söz konusudur (Yüz ifadesinin değişmemesi, sosyal ilgilerin kaybı, duygusal yanıtızsızlık gibi).

**Bilişsel semptomlar:** Algısal, bilişsel yeteneklerde ortaya çıkan bozukluklardır. Dikkat, konsantrasyon, öğrenme ve hafıza ile ilgili süreçlerde problemler oluşur (Karar verme kabiliyetinin azalması, dikkat dağınıklığı, bilgiyi anlama ve yorum yapmada güçlük gibi) (Mueser and McGurk, 2004).

Bunların dışında şizofrenlerde, ilgi kaybı, isteksizlik, aile ve arkadaşlardan uzaklaşma, bazı konularla aşırı ilgilenmeye başlama, uyku düzeninin bozulması, çökkünlük, alınganlık, çabuk sinirlenme, başkalarına ve kendine zarar verme düşüncesi, madde kötü kullanımı gibi durumlar da görülebilmektedir.

### 1.1.4 Şizofreninin Etiyolojisi

Şizofreni fizyopatolojisini oluşturan etiyolojik süreç ya da süreçler tam olarak bilinmemektedir. Ama yapılan aile, ikiz ve evlat edinme çalışmalarından elde edilen kanıtlar en büyük rolün genetik geçiş olduğunu göstermiştir. Şizofreninin genetik geçişi, Mendel tek gen kalıtım modeline uymamaktadır. Yani hastalığın oluşumunda birden çok genin rol oynadığı düşünülmektedir. Genlerin etkisinin yanında birçok başka etmen hastalık oluşumunda yer almaktadır. Şizofreninin nedenleri şu başlıklar altında toplanabilir:

#### 1.1.4.1 Nörogelişimsel Nedenler

Nöronal gelişim psikiyatrik bozukluklarda çok önemli bir süreçtir. Beyinde 100 milyardan fazla sinir hücresi bulunmaktadır. Bunlar nöron veya glial hücre şeklinde düzenlenmişlerdir. Nöronlar, sinaps oluşturma yetenekleri sayesinde beyindeki sinyal mekanizmalarını oluştururlar. Bu bölgelerde nörotransmitterler

salınarak mesajların iletimini sağlarlar. Bu nörotransmitterlerden bazıları şizofreni oluşumunda önemli rol oynar (Dopamin, serotonin ve glutamat gibi). Glial hücreler de beynin destekleyici hücreleridir, ayrıca sinyal mekanizmasında da rol oynarlar.

#### **1.1.4.1.1 Erken Beyin Gelişimi**

Hafıza, dikkat gibi fonksiyonlar, beynin farklı bölgeleri ile sinir hücreleri arasındaki karmaşık etkileşimlere bağlıdır. Bir nöron 150.000'den fazla mesaj alıp, iletebilir. Embriyonik ve fetal dönemde, beyin gelişiminde oluşan nöronal ilişkilerdeki ve biyokimyasal süreçlerdeki bozukluk hayatın ilerleyen aşamalarında bilişsel ve duygusal problemler olarak ortaya çıkmaktadır. Sinir hücrelerinin gelişimi özellikle hamilelik döneminde çok önemli bir süreçtir. Hamilelik döneminde açlığa, psikolojik bir travmaya, enfeksiyona maruz kalan annelerin çocuklarında şizofreni görülme riski daha yüksektir. Ayrıca çocuklukta merkezi sinir sistemi enfeksiyonu geçiren veya doğum esnasında hipoksi geçiren kişilerde ilerleyen yaşlarda psikoz gelişme riski 5 kat daha fazla görülmektedir (Lang et al. 2007).

#### **1.1.4.1.2 Beyin Yapısı ve Fizyopatolojisi:**

Yapılan araştırmalar sonucunda, şizofreninin tüm beyin işlemlerinde olmasa da, bazılarında bozukluğa neden olması sonucu, belirli beyin bölgelerinin ya da nöral döngülerin etkilendiği belirlenmiştir. Görüntüleme yöntemlerinin günümüzde oldukça gelişmesi, bu çalışmaların daha geniş boyutlu olmasını sağlamıştır. Yapısal (örneğin; bilgisayarlı aksiyel tomografi-CAT ve manyetik rezonans görüntüleme-MRI) ya da fonksiyonel (örneğin; pozitron emisyon tomografisi-PET, tek foton emisyon kompütörize tomografi-SPECT, fonksiyonel MRI ve manyetik rezonans spektroskopisi) in vivo görüntüleme yöntemleriyle beyin yapısı ve fizyolojisinin daha detaylı görüntülerinin alınması sağlanmıştır. Bu çalışmalardan çıkan bazı sonuçlar şu şekildedir; Şizofrenlerde normal kontrollere oranla anlamlı oranda ventrikül genişlemesi, prefrontal ve frontal kortekslerde kortikal gri madde azalması (Thompson et al. 2001), serebral beyaz madde değişimleri, hipokampus ve talamus gibi limbik sistem yapılarında hacim azalması görülmektedir (Kaplan&Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry).

#### 1.1.4.2 Biyokimyasal Nedenler

Bilgi, nöral döngüler içinde oluşan elektrik sinyalinin bir sinir hücresi aksonu ve sinapslar boyunca diğer bir sinir hücresinin bileşenleri üzerindeki postsinaptik reseptörlere aktarılması yoluyla iletilir. Sinir hücreleri sinyalleri alır, işler ve binlerce diğer hücreye gönderir. Sinyalin sinaps boyunca iletimi ve sinyalin bir hücre içinde işlenmesi karmaşık biyokimyasal olaylara ihtiyaç duyar. Şizofrenideki genel biyokimyasal kavramdan, özgül teorilere geçiş üç temel bilgi kaynağına dayanmaktadır. Birinci kaynak; hücre zarından çekirdeğin genetik materyaline doğru olan hücre içi iletişimin ve beyindeki birçok nörotransmitter sistemi boyunca meydana gelen hücreler arası iletişimin iyice anlaşılmasıdır. İkincisi; davranış ve bilişsel işlevlerin temel farmakolojisi hakkında artan bilgilerdir. Üçüncüsü ise; şizofreni benzeri davranışlar ortaya çıkaran veya şizofreni hastalarındaki semptom şeklini değiştiren ilaçların etki mekanizmasının anlaşılmasıdır (Kaplan&Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry).

Araştırmacılar, tüm bu bilgi kaynaklarından yola çıkarak, 1990'ların ortalarında şizofreninin biyokimyasal/nörokimyasal teorilerini 3 temel alana ayırmışlardır. Bunlar;

1. Beyindeki monoamin mekanizmalarındaki anormal süreçler (Dopamin, serotonin, noradrenalin ve bunların yıkımından sorumlu enzim)
2. Amino asit nörotransmitterleri (Gamma-aminobütirik asit-GABA) inhibitörleri, uyarıcı bir nörotransmitter olan glutamat)
3. Nöropeptidler (Kolesitokinin-CCK) (The Encyclopedia of Schizophrenia and Other Psychotic Disorders).

Şu ana kadar yapılan araştırmalar arasında, en baskın biyokimyasal teori dopamin teorisidir. Dopamin beyinde mezolimbik yolakta görev alan bir nörotransmitterdir. Beyin nöronları arasındaki iletişimi sağlar ve dopamin reseptörlerini aktive eder. Dopamin ayrıca hipotalamustan salgılanan bir nörohormondur. Bu hormonun görevi hipofiz bezinin anterior lobundan prolaktin salgılanmasını inhibe etmektir.

Dopamin reseptörleri D1 ve D2 olmak üzere iki ayrı sınıfa ayrılır. D1 reseptörleri (D1 ve D5) beyinde daha çok kortikal bölgeye dağılmış durumdayken, D2 reseptörleri (D2, D3 ve D4) subkortikal bölgede bulunurlar (Williamson, 2006).

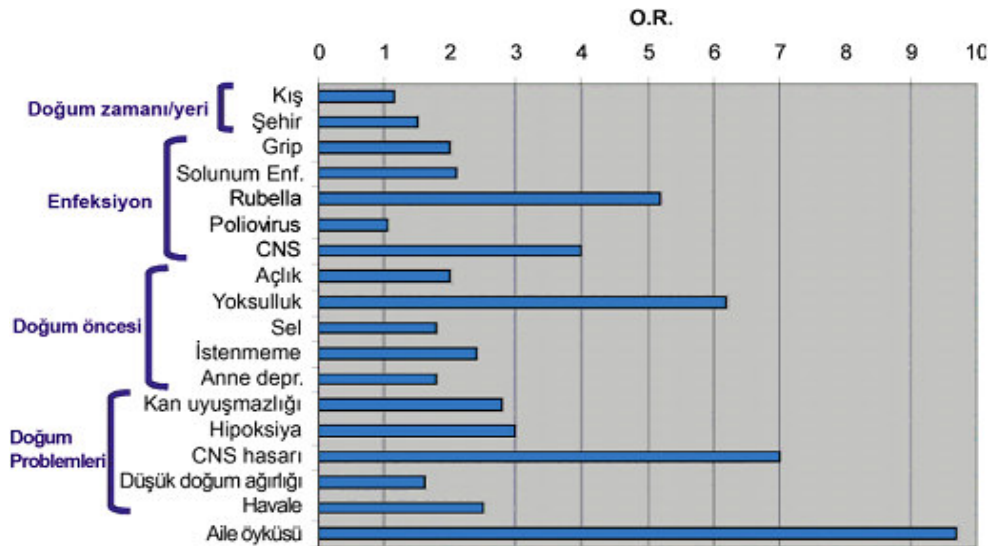
Şizofrenik belirtilerin, beyin dopaminerjik sistemlerinin (özellikle mezolimbik dopamin sistemi) aşırı aktivitesinin (salgılanmasının) sonucu olduğu düşünülür. Dopamin hipotezinin iki temel dayanağı vardır:

1) Psikotik belirtileri ortadan kaldıran nöroleptik ilaçlar, dopaminerjik reseptörleri (özellikle Dopamin2 reseptörlerini) bloke ederek, beyinin dopamin salgılanmasını azaltırlar.

2) Dopaminerjik aktiviteyi arttıran ilaçlar, şizofreniye benzer psikotik belirtilere neden olabilirler (Özellikle pozitif semptomları arttırlar).

### 1.1.4.3 Çevresel Nedenler

Şizofreni oluşumu için çevresel nedenler, biyolojik ve psikososyal faktörleri içerir. Doğum öncesi ve sonrası komplikasyonlar, yetersiz beslenme, diyabet gibi biyolojik faktörlerin yanı sıra sosyoekonomik koşullar, etnik köken, meslek gibi sosyal nedenler de hastalığın oluşumda rol oynayabilir. Şekil 1.2'de şizofreni için diğer risk faktörlerinden bazıları görülmektedir (Sullivan PF, 2004; Mueser and McGurk, 2004).



Şekil 1.2 Şizofreni için risk faktörleri (O.R: Odds Ratio, Enf: Enfeksiyon, CNS: Merkezi sinir sistemi, Depr: Depresyon) (Sullivan PF, 2004)

### 1.1.5 Şizofreni Alt Tipleri

Kişide, teşhis aşamasında belirlenen baskın belirti özelliklerine göre 5 alt tipten bahsedilebilir. Hastalığın ilerleme durumuna bağlı olarak, kişiye farklı teşhisler konulabilir. DSM-1V ölçütlerine göre şizofreninin alt tipleri sırasıyla;

- Paranoid şizofreni
- Dezorganize (hebefrenik) şizofreni
- Katatonik şizofreni
- Ayrışmamış şizofreni
- Rezidüel (kalıntı) şizofreni şeklindedir.

Bunların dışında, başka türlü adlandırılmayan (BTA) şizofreni tipi de bulunmaktadır (The Encyclopedia of Schizophrenia and Other Psychotic Disorders).

## 1.2 BİPOLAR HASTALIĞI

Şizofrenide olduğu gibi, bipolar hastalığının da tanımı ilk önce Alman psikiyatrist Emil Kraepelin (1856-1926) tarafından yapılmıştır. Kraepelin, bipolar hastalarıyla, stabilizatörler keşfedilmeden çok daha önceleri çalışıp, hastalığı 1902'de "*manik depresif*" psikoz olarak tanımlamıştır. Hastaların manik veya depresif dönemleri olduğunu ayrıca zaman zaman herhangi bir semptom göstermeden normal davranabildiğini belirtmiştir.

Manik-depresif hastalık olarak da bilinen bipolar bozukluk; mani ve depresyon nöbetlerini içeren bir ruh hastalığıdır. Hastanın duygu durumu aniden yükselir, ya çok neşeli olur ya da tam aksine çok üzgün ve ümitsiz kalır. Daha sonra hasta eski durumuna geri döner. Hastalığın etkili bir tedavisi vardır ve hastayı boşanma, iş kaybı, alkol ve madde kötü kullanımı ve intihar gibi sonuçlardan korur.

### 1.2.1 Bipolar Hastalığının Epidemiyolojisi

Bipolar hastalığının, popülasyonda görülme sıklığı %1'dir. Kadın ve erkeklerde genelde aynı oranda görülür (Craddock et al. 2005). Bipolar bozukluk tipik olarak adolesan ya da erken erişkin dönemde başlar ve hayat boyu devam eder. Bipolar hastalık erkeklerde manik nöbetlerle, kadınlarda depresif nöbetlerle başlar.

Kadınlar genellikle depresif fazda, erkekler ise manik fazda daha çok zaman geçirirler. Farklı yaş, etnik grup, sosyal sınıflarda görülebilir. Hastalık ailede devamlılık gösterir. Yani şizofreni gibi bipolar hastalığı da kalımsaldır. Ayrıca depresyon vb. durumlar gibi çevresindekileri negatif etkiler. Aile fertleri genellikle ağır davranış bozukluklarıyla savaşmak zorunda kalırlar.

### **1.2.2 Bipolar Hastalığının Genetik Epidemiyolojisi**

Yapılan aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları da bipolar hastalığının da, aynı şizofreni gibi kalımsal olduğunu göstermiştir. Paylaşılan gen miktarı ile hastalanma riski doğru orantılı olarak artmaktadır. Örneğin; genel popülasyonda %1 olan hastalanma riski, tek yumurta ikizlerinde %40-70 oranında, birinci dereceden akrabalarda %5-10 oranında artmaktadır (Craddock and Jones, 1999).

### **1.2.3 Bipolar Hastalığının Klinik Özellikleri**

Manik depresif olarak da bilinen bipolar bozukluk tanısı konulabilmesi için hastanın hayatı boyunca bir veya daha fazla (depresyon eşliğinde veya değil) mani nöbeti geçirmiş olması gerekmektedir. Geçirilen en son epizot tanı konmasında, alt türlere ayrılmasında belirleyici olmaktadır. Bu hastalarda hastanede yatış oranı yüksek olmakla beraber, %15'lere varan intihar ile ölümler görülmektedir (Craddock and Jones, 1999). Bipolar hastalığını sınıflandırmak için, Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı'nda DSM-IV tanı ölçütleri kullanılmaktadır.

#### **1.2.3.1 Bipolar Hastalığının Semptomları**

Bipolar hastalığının semptomları mani ve depresyon olmak üzere iki kümede incelenir:

##### Manik nöbetin belirtileri:

Manik belirtiler; sinirlilik, aşırı öfke ya da neşe durumları, her zamankinden farklı davranışların bulunduğu dönemler, enerji ve aktivitenin artması, düşünce akışının ve konuşmanın hızlanması, uykuya ihtiyacın azalması, hastanın kendi gücü ve yetenekleri hakkında gerçekçi olmayan inanışlara kapılması, kişinin muhakeme

yeteneğinin azalması, cinsel ilginin artması, madde kötü kullanımı (özellikle kokain, alkol ve uyku ilaçları kullanımı), öfkeliendiren ya da her şeye karışan, baştan çıkarıcı davranış biçimleri şeklindedir.

#### Depresif nöbetin belirtileri:

Depresyon belirtileri; kendini devamlı üzgün ve endişeli hissetme, kötümserlik, ümitsizlik duygusu, suçluluk ve değersizlik hisleri, günlük aktivitelere ilgi ve isteğın azalması, konsantrasyon ve karar vermede güçlük, unutkanlık, yerinde duramama, sinirlilik uyku bozukluğu, iştah ve kilo kaybı ya da kilo alımı, bedensel bir hastalığa bağlı olmayan kronik ağrı, geçmeyen bedensel şikayetler, ölüm ve intihar düşünceleri, intihar girişimi şeklindedir (National Institute of Mental Health-Bipolar Disorder).

#### **1.2.4 Bipolar Hastalığın Alt Tipleri**

Kişide, teşhis aşamasında belirlenen baskın belirti özelliklerine göre 5 alt tipten bahsedilebilir. Hastalığın ilerleme durumuna bağlı olarak, kişiye farklı teşhisler konulabilir. DSM-IV ölçütlerine göre bipolar hastalığın alt tipleri sırasıyla;

- Bipolar I
- Bipolar II
- Bipolar III
- Siklotimik bozukluk (Hızlı döngü)
- Başka yerde sınıflandırılmayan bipolar bozukluk şeklindedir (Maj et al. 2002).

#### **1.3 HASTALIKLARDA ROL OYNAYAN GENLERİN BELİRLENMESİ**

Hastalıkta rol oynayan genlerin tespit edilmesinde dört ana yöntem vardır (Owen, 2005). Bunlar:

- 1) Genetik bağlantı
- 2) Kromozomal anomaliler
- 3) İlişkilendirme çalışmaları
- 4) Dönüşümsel (Konvergent) genomik



### **1.3.1 Genetik Bağlantı**

Genetik bağlantı çalışmalarında, hasta ve ailesi incelenir. Genetik markırlar kullanılarak hasta ve aile bireyleri arasında ortak olan kromozomal bölgeler takip edilir. Eğer böyle bölgeler bulunursa şüpheli genin bu bölgede olduğu düşünülür. Konumsal genetik veya konumsal klonlama kavramı, genlerin fonksiyonlarından ziyade, genomdaki yerlerine odaklanır. Bağlantı bir kez pozitif sonuç verdiyse, insan genom projesindeki bilgiler de kullanılarak, daha ileri çalışmalar yapılabilir.

### **1.3.2 Kromozomal Anomaliler**

Hastalıkla ilişkili kromozomal anomaliler (translokasyon, delesyon vb.) ailelerde kalıtımla aktarılabilir veya popülasyon düzeyinde ilişkisi olabilir. Bu da hastalıkla ilişkili genin nerde bulunduğuyla ilgili ipuçları verebilir.

### **1.3.3 İlişkilendirme çalışmaları**

Popülasyonda, genetik markırlar yardımıyla hasta ve kontrol grupları karşılaştırılarak, potansiyel bağlantılar saptanır. Bu yöntem hastalığa sebep olan genlerin saptanmasında çok güçlü bir yöntemdir. Bununla beraber, kullanılan genetik markırlar ya gene çok yakın ya da genin üzerinde bulunan değişimleri saptamalıdır. Bu yüzden çalışmaya başlamadan, önceki bilgiler iyi araştırılmalı, genin lokalize olabileceği kısımlar belirlenmelidir. Böylece daha doğru sonuçlar elde edilebilir.

### **1.3.4 Dönüşümsel (Konvergent) Genomik**

Son zamanlarda tüm genlerin dokuya özel ekspresyonunu ölçmek mümkün hale gelmiştir. Bu yöntem kullanılarak hasta ve kontrol grupları karşılaştırılabilir. Sonuçlardan yola çıkarak hangi genin hastalıkta rol aldığı diğer genetik yöntemlerden daha ayrıntılı şekilde belirlenebilir.

### **1.3.5 Şizofrenide Rol Oynayan Genler**

Şizofreni kompleks genetik hastalık olduğundan dolayı, Mendel tek gen kalıtım modelini takip etmez. Genom çapında yapılan genetik bağlantı çalışmaları ile şizofrenide rol oynadığı düşünülen bazı kromozom bölgeleri tespit edilmiştir. Bunlara örnek olarak; İnsan kromozomlarının 1q, 2q, 2p, 3p, 5q, 6p, 6q, 8p, 10p, 11p, 11q, 13q, 14p, 14q, 20q, 20p ve 22q bölgeleri verilebilir (Craddock et al. 2005; Harrison and Weinberger, 2005; Gogos and Gerber, 2006).

Yakın zamanda ise bu bölgelerde bulunan genler, ilişkilendirme çalışmaları ile değerlendirilerek şizofreniyle ilgili olduğu düşünülen genler tespit edilmiştir. Bu araştırmalar sürekli güncellenmekte, her geçen gün yeni genler eklenmektedir. Şizofrenide rol oynadığı düşünülen genlerden bazılarının, lokalizasyon ve fonksiyonları çizelge 1.1’de verilmektedir.

### **1.3.6 Bipolar Hastalığında Rol Oynayan Genler**

Bipolar hastalığı da aynı şizofreni gibi kompleks genetik hastalıktır ve Mendel tek gen kalıtım modelini takip etmez. Bağlantılı olduğu düşünülen kromozom bölgelerinden bazıları; 9p, 10q, 11p, 13q, 14q, 22q olarak gösterilebilir (Craddock et al. 2005, 2006). Bu kromozom bölgelerinden yola çıkılarak yapılan araştırmalar sonucu, bipolar hastalığında rol oynadığı düşünülen genlerden bazıları ve fonksiyonları çizelge 1.2’de verilmektedir.

**Çizelge 1.1 Şizofreni de rol oynayan genlerden bazıları ve fonksiyonları**

<i>Gen</i>	<i>Tanım</i>	<i>Lokus</i>	<i>Fonksiyon</i>	<i>Referans</i>
NRG1	Neuregulin 1	8p12	Nöron gelişimi ve canlılığı ve sinaptik fonksiyon	Gogos and Gerber,2006
DTNBP1	Dystrobrevin binding protein 1	6p22	Uyarıcı sinapslarda glutamat salınımı üzerine presinaptik etki	Gogos and Gerber,2006
PRODH	Proline dehidrogenaz 1	22q11	L-prolin metabolize edilmesi, glutamat aracılığıyla iletimde etkili	Gogos and Gerber,2006
DISC1	Disrupted in schizophrenia	1q42	Hücre iskeleti ve sentromerde görevli, hücre membran reseptör lokalizasyonu ve sinyal iletimi	Harrison and Weinberger,2005
BDNF	Brain derived neurotrophic factor	11p13	Nöron gelişimi nöronal canlılığın devamlılığı ve esnekliği	Craddock et al. 2006
COMT	Catechol-O-Metiltransferase	22q11	Prefrontal kortekste, ekstraselüler dopamin düzeyinin regülasyonu	Sazci et al. 2004
G72	D-Amino acid oxidase activator	13q34	D-amino asit oksidaz aktivitesinde modülatör, glutamat aracılığıyla iletimde etkili	Gogos and Gerber,2006
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate reductase	1p36.3	5,10-metilentetrahidrafolat'ı 5-metiltetrahidrafolat' a katalizlemesi sonucu, homosisteinin metiyonine dönüşümü –DNA metilasyonuda görevli	Sazci et al. 2003,2005
DRD3	Dopamine receptor 3	3q13.31	Dopamin reseptör mekanizmasında görevli	Sullivan, 2005

**Çizelge 1.2 Bipolar hastalığında rol oynayan genlerden bazıları ve fonksiyonları**

<i>Gen</i>	<i>Tanım</i>	<i>Lokus</i>	<i>Fonksiyon</i>	<i>Referans</i>
NRG1	Neuregulin 1	8p12	Nöron gelişimi ve canlılığı ve sinaptik fonksiyon	Craddock and Forty, 2006
DISC1	Disrupted in schizophrenia	1q42	Hücre iskeleti ve sentromerde görevli, hücre membran reseptör lokalizasyonu ve sinyal iletimi	Craddock and Forty, 2006
BDNF	Brain derived neurotrophic factor	11p13	Nöron gelişimi, nöronal canlılığın devamlılığı ve esnekliği	Craddock and Forty, 2006
COMT	Catechol-O-Metiltransferase	22q11	Prefrontal kortekste, ekstraselüler dopamin düzeyinin regülasyonu	Craddock and Forty, 2006
G72	D-Amino acid oxidase activator	13q34	D-amino asit oksidaz aktivitesinde modülatör, glutamat aracılığıyla iletimde etkili	Craddock and Forty, 2006

## 1.4 ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR HASTALIĞINDA ÖRTÜŞME

### 1.4.1 Epidemiyolojik ve Klinik Benzerlikler

Şizofreni ve bipolar hastalığı; benzer epidemiyolojik özelliklere sahip, yaygın ve kronik hastalıklardır. Örneğin her iki hastalığın da popülasyonda görülme sıklığı %1 oranındadır. Yani dünyadaki yüz kişiden biri bu hastalıkların birinden etkilenmektedir. Her iki hastalığın da başlama zamanı genellikle erken yetişkinlik (15-30 yaşları arası) dönemindedir. Çocuklukta veya 50 yaşından sonra ortaya çıkma durumuna genelde rastlanmaz.

Şizofreni ve bipolar hastalıklarının her ikisi de DMS-IV ölçütlerine göre benzer özellikler gösterirler. Örneğin; her iki hastalık da ömür boyu devam eder. Kadın ve erkeklerde görülme durumları eşittir ve bu hastalıklarda intihar riski oldukça yüksektir.

Klinik durumlara baktığımızda ise; bipolar hastalığı tekrarlayan depresyon ve mani atakları ile karakterize edilirken, şizofrenide bu tarz zıt kutuplar söz konusu değildir. Bununla beraber şizofreninin bazı negatif semptomları (asosyallik, isteksizlik, düşünme güçlüğü vb.), bipolar hastalığının depresyon semptomlarıyla oldukça benzerdir. Ayrıca şizofreninin bazı pozitif semptomları ise (sanrı, varsanı vb.), bipolar hastalığının mani semptomları ile benzeşmektedir (Berrettini W, 2003).

### 1.4.2 Genetik Örtüşme

Son yıllarda yapılan genetik çalışmalarda da, şizofreni ve bipolar hastalığının örtüşen yanları olduğu tespit edilmiştir. Her iki hastalık da genetik olarak kompleks bir yapı gösterir ve Mendel tek gen kalıtım modeline uyum göstermezler. Bu hastalıklar için aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları yapılmıştır. Sonuçta her iki hastalığın da genetik olarak aktarıldığı ve oluşum riskinin ailede ve yakın akrabalarda arttığı belirlenmiştir. Örneğin; hastanın çocuklarında risk 10 kat, tek ve çift yumurta ikizlerinde ise %60-80 kat artar (Maier et al. 2006).

Yapılan bağlantı çalışmaları sonucunda ise, her iki hastalıkta da rol oynadığı düşünülen kromozom bölgeleri tespit edilmiştir. Bu bölgelerde en belirgin olanları; 13q, 22q, 6q ve 18q'dur. Sonrasında tek tek genler araştırılmaya başlanmış ve her iki hastalıkta da rol oynadığı düşünülen genlerde örtüşmeler görülmüştür. Çizelge 1.3'de bu genlerden bazıları yer almaktadır (Craddock et al. 2006).

Gen	Krom. Lok.	Şizofrenide Kanıt	Karışık Bipolar Bozukluk ve Psikoz Özelliklerinde Kanıt	Bipolar Bozuklukta Kanıt
DTNP1	6p22	+++++	+	
NRG1	8p21	++++	+	+
DISC1	1q42	+++	++	+
COMT	22q11	+		+
DAOA	13q33	++		++
BDNF	11p13	+		++

**Çizelge 1.3 Şizofreni ve bipolar hastalığında rol oynayan genler (+ sayısı kanıt miktarı ile doğru orantılıdır.)**

Tüm bu benzerlikten yola çıkarak, genetik örtüşmenin birden fazla anlamı olduğu söylenebilir. Örneğin;

- Hastalıklardan birisi veya ikisi de etiyolojik ve patofizyolojik olarak heterojendir. Ayrı bir alt tip oluşabilir (Psikotik bipolar hastalığı gibi).
- Her iki hastalık, ortak semptomatik veya nörofizyolojik özelliklere sahip olup, her birinin kendine özgü genetik temeli olabilir.
- Kompleks davranışlar, multipl genlerle belirlenir. Bu genlerdeki oluşan her varyant, çevre ile etkileşim gen ekspresyon kalıplarında değişiklikler yaratabilir. Aynı genetik faktör şizofrenide olduğu kadar bipolar semptomların oluşumunu da tetikleyebilir (Maier et al. 2005).

## 1.5 TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİ (SNP)

DNA varyasyonları çeşitli şekillerde görülebilir. Genellikle bu değişimler duplikasyonlar, insersiyonlar, delesyonlar veya transpozisyonlar şeklinde olabilir. Bunların hastalıkla ilişkisi olabilir ya da olmayabilir. Populasyonda tekrarlayan mutasyonlar şeklinde açıklanamayan, yaygın şekilde görülen DNA varyasyonlarına *polimorfizm* denir (Strachan and Read, 2004). Bir varyasyonun polimorfizm olarak adlandırılabilmesi için, populasyonda en az %1 oranında görülmelidir. DNA dizisinde en sık görülen polimorfizmler, *tek nükleotid polimorfizmleridir* (SNP: Single Nucleotide Polymorphism). Her 100-300 baz çiftinde bir görülür. Tek nükleotid değişimlerine örnek olarak; AAGGCTAA şeklindeki bir dizinin ATGGCTAAA formuna dönüşmesi gösterilebilir. Burada ikinci nükleotidde Adenin>Timin değişimi olmuştur. Bu değişimler kodlama bölgesinde (ekson) veya kodlanmayan bölgelerde (intron, promotor bölgesinde) olabilirler.

Tek nükleotid polimorfizmleri evrimde iyi korunmuşlardır. Nesilden nesile çok fazla değişim göstermezler. Bu sebeple populasyon çalışmalarında takibi daha kolaydır. İnsan DNA dizisinin %99'u aynıdır. DNA dizisi üzerinde bulunan SNP'lerin, hastalığın dış faktörlere (Bakteri, virüs, toksin, kimyasallar, ilaç vb.) nasıl yanıt vereceğinde önemli bir etkisi vardır. Bu sebeple SNP araştırmaları; biyomedikal ve farmakoloji alanlarında, hastalıklara tanı konmasında oldukça önem kazanmıştır ([www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome)).

1980'li yılların başında DNA polimorfizmleri marker olarak geliştirilmeye başlanmıştır. Bu markerları saptamada kullanılan ilk yöntem restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmidir (RFLP). Değişimi içeren DNA dizisi PCR ile çoğaltılır. Bu değişimin, bir restriksiyon enzimi tanıma bölgesi üzerinde olup olmaması, kesim sonrası oluşacak fragmanların büyüklüklerini belirler.

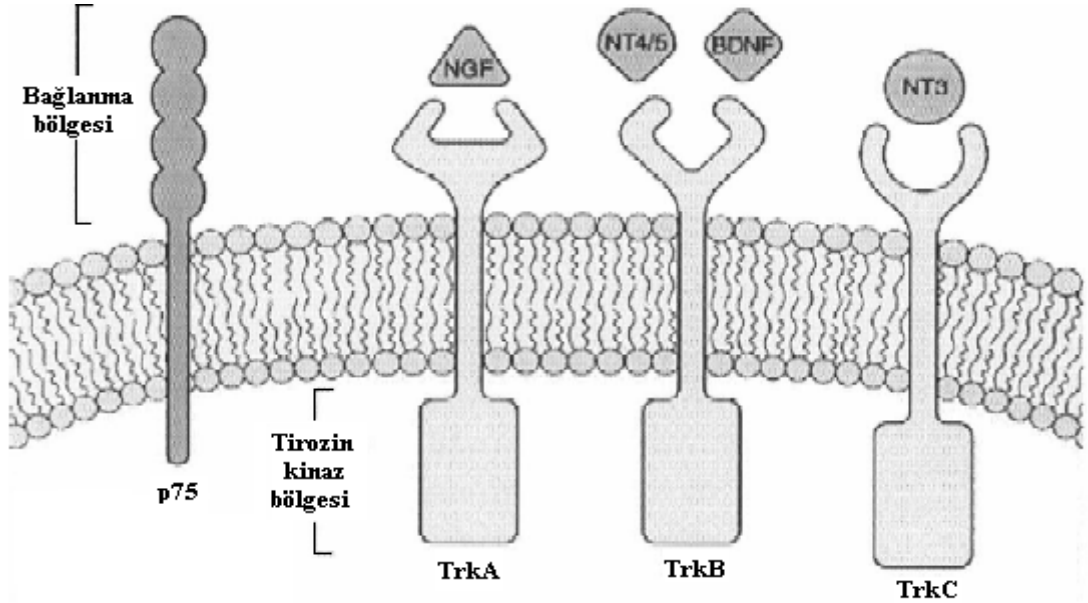
Dünya üzerindeki tüm nükleotid varyasyonlarının aynı veri tabanında toplanması için, akademik ve endüstriyel birimlerin ortaklığıyla bir konsorsiyum oluşturulmuştur. Bu veri tabanında 12 milyondan fazla varyasyon (tek nükleotid polimorfizmleri, insersiyon/delesyonlar, kısa ardı ardına tekrarlar) bulunmaktadır. Bu site aracılığıyla şimdiye kadar belirlenmiş SNP'lerle ilgili bilgilere ulaşılabilir (NCBI: National Center for Biotechnology Information-dbSNP).

## 1.6 BEYİN KÖKENLİ NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF)

### 1.6.1 Nörotrofinler

Nörotrofinler; Sinir Büyüme Faktörü (NGF), Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör (BDNF), Nörotrofin-3 (NT-3), Nörotrofin-4 (NT-4), Nörotrofin-5 (NT-5)'i içeren bir salgı proteini ailesine dâhildirler. Bu proteinler fonksiyonlarını, kendilerine özgü reseptörlerine bağlandıklarında gerçekleştirirler. Bütün nörotrofinler, p75 nörotrofin reseptörüne (p75NR) ve kendilerine özgü tirozin kinaz (Trk) reseptörlerine bağlanırlar. Şekil 1.3'de görüldüğü gibi;

- NGF; Trk A reseptörüne
- BDNF ve NT-4/5; Trk B reseptörüne
- Nt-3 ise Trk C reseptörüne bağlanır.



Şekil 1.3 Nörotrofinler ve reseptörleri

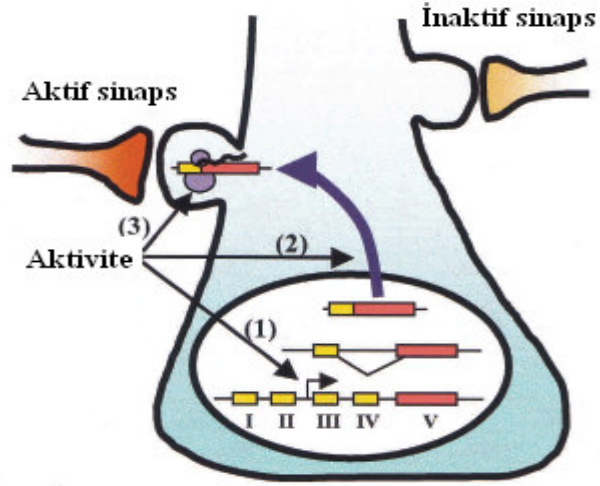


Bağlanma sonucu Trk reseptörlerinin dimerizasyon ve otofosforilasyonu gerçekleşir. Böylece aktifleşmiş reseptörler sinyal iletimini başlatır. Bu sinyaller nükleusa geçip, transkripsiyon faktörlerini uyarır ve gen ekspresyonu böylece kontrol edilmiş olur. Ayrıca nörotrofinler, embriyonik dönemde nöronal gelişim ve yetişkin dönemde nöron canlılığının sürdürülmesinden sorumludurlar (Lu, 2003).

### **1.6.2 Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör (BDNF)**

BDNF geni ilk olarak Maisonpierre et al. (1991) ile Özçelik ve ark. (1991) tarafından 11. kromozomun kısa kolunda (11p13) belirlenmiş ama daha sonra Hanson et al. (1992) tarafından 11p13 ile 11p14 bantları arasındaki sınırda bulunduğu gösterilmiştir (Neves-Pereira et al. 2002). 66,856 bazdan oluşan bu gen, 11. kromozomun kısa kolu (p) üzerinde; 27.633.016 baz çifti ile 27.699.872 baz çifti arasına lokalize olmuştur. BDNF geni 247 amino asit kodlar. 27.818 Da ağırlığında, monomer ve heterodimerlerden oluşan proteini sentezler. Protein tipi salgı proteinidir. Yani sentezlendikten sonra gerekli bölgeye taşınır.

Timmusk et al. (1993) farede BDNF'nin genomik yapısını çıkartmışlardır. BDNF geni; protein sentezini denetleyen, promotor elementlerine sahip dört kısa 5' eksona ve olgun BDNF proteinini sentezleyen 1 tane 3' eksona sahiptir (Skibinska et al. 2004). Ekson 4; en çok akciğer ve kalpte eksprese olurken, ekson 1,2,3 transkriptleri en çok beyinde bulunur. Ekson 3 içeren transkript, hipokampus ve kortekste nöronal aktivite kontrolünde önemli etkiye sahiptir (Lu, 2003). Bu gende çoklu promotorların bulunması, BDNF gen ekspresyonunu, transkripsiyonunu, mRNA stabilitesini, translasyonunu, hücresel taşınım ve dağılımını kontrol eder. Şekil 1.4'de görüldüğü gibi BDNF transkripsiyonu ve sinaps aktivitesi birbiriyile bağlantılı olarak gerçekleşmektedir.



**Şekil 1.4 BDNF transkripsiyonu ve sinaps aktivitesi arasındaki ilişki (1-BDNF transkripsiyonu, 2-BDNF translasyonu, 3- aktifleşmiş sinaps) (Lu, 2003)**

Nöronal aktivitenin, sinaptik esneklikte önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Sinaps aktivitesi, esnekliği ve nörotrofik regülasyon arasındaki ilişkinin halen bazı belirlenmemiş kısımları bulunmasına rağmen, araştırmalar büyük bir hızla ilerlemektedir. En baskın hipoteze göre;

Aktivite-bağımlı sinaptik değişimler, nörotrofinler aracılığıyla gerçekleşir. BDNF'yi ele alacak olursak, nöronal aktivite ile BDNF geninin transkripsiyonu, mRNA'sının taşınması, BDNF proteininin dendritlere geçişi ve salgılanması kontrol edilir.

Beynin tecrübe ve çevresel koşullara kendini adapte edip, değiştirme yeteneği uzun ve kısa vadede sinaptik bağlantılara bağlıdır. Nöronal aktivite tarafından sinapsların sayısının ve dayanıklılığının değiştirilebileceği kanıtlanmıştır. Sinapsların aktivite-bağımlı değişimi, beyin gelişiminde kritik rol oynar (Özellikle beyin kognitif fonksiyonlardan sorumlu kısımlarında). BDNF mRNA'sının, felçe uğratılmış deney hayvanlarının hipokampusunda ciddi miktarda artışı, BDNF geninin aktivite-bağımlı transkripsiyonunu ilk destekleyen gözlem olmuştur. Sonrasında BDNF mRNA ekspresyonunun öğrenme ve hafızayla ilişkisinin araştırılması oldukça önem kazanmıştır. Fiziksel aktivite, koşma, diyetel kısıtlamalar, uyku, sirkadiyan ritmi gibi fizyolojik durumlarda BDNF gen ekspresyonunu etkiler. Bununla beraber

beyinde nöronal aktiviteyi etkileyen çeşitli patolojik durumlarda da (Alzheimer's, iskemi, depresyon, stres vb.) BDNF mRNA seviyesi etkilenir.

Ayrıca BDNF'nin diğer görevleri de; nöronal canlılık ve farklılaşma, sinaptik iletişim ve esneklik, transmitter sentezi, metabolize edilmesi ve salgılanması, postsinaptik iyon kanalı akışı, dopaminerjik ve serotonerjik nöronların gelişimi ve canlılığının sağlanması şeklinde söylenebilir (Jönsson et al. 2006). BDNF, özellikle Dopamin2 reseptör ailesine dâhil olan D3 reseptörünün ekspresyonunu da kontrol eder. Böylece beynin kortikal bölgesi, BDNF ve dopamin mekanizması arasındaki ilişki oldukça önemlidir (Guillin et al. 2007).

### **1.6.3 BDNF Geni Üzerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmleri**

BDNF geni üzerinde, birçok tek nükleotid polimorfizmi bulunmaktadır. Bu polimorfizmler popülasyona özgüdür ve hastalıklarla ilişkileri buna göre değişkenlik gösterir. BDNF geni üzerinde bulunan bu polimorfizmlerden özellikle iki tanesinin şizofreni ve bipolar hastalıklarıyla ilişkisi dünya çapında çalışılmıştır. Bunlardan biri rs6265, diğeri de rs27656701 polimorfizmidir.

rs6265 polimorfizmi, 5' BDNF öncül peptid (proBDNF) dizisi üzerinde bulunur. Bu dizi daha sonra post translasyonel aşamada, proteolitik olarak kesilerek olgun proteini oluşturur. Bu polimorfizmde 196 numaralı nükleotidde Guanin>Adenin değişimi gerçekleştiğinden G196A şeklinde de adlandırılmaktadır. Bu değişiklik sonucu kodonun 66. pozisyonunda valin-metiyonin substitisyonu gerçekleşmektedir. Bu amino asit değişikliği, olgun BDNF proteininin içsel biyolojik aktivitesinde farklılıklar yaratabileceği gibi, hücre içi süreçlerde, BDNF salgılanmasında ve hipokampal fonksiyonlarda hasarlara neden olabilmektedir. Şizofrenlerde de hipokampal bozukluklar söz konusu olduğundan bu polimorfizmin başta şizofrenide olmak üzere, bipolar hastalığı vb. diğer psikiyatrik bozukluklarda incelenmesi gerekmektedir (Egan et al. 2003).

BDNF geninin 5' kodlamayan bölgesinde bulunan rs27656701 polimorfizmi ise translasyon başlangıç bölgesinden önce -270 numaralı nükleotidde Sitozin>Timin değişimini gerçekleştirdiğinden C270T şeklinde de adlandırılmaktadır. Bu polimorfizm ilk olarak Japon popülasyonunda geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı ile

ilişkili bulunmuştur (Kunugi et al. 2001). Kodlanmayan bölgede bulunmasından ötürü herhangi bir amino asit değişikliği gerçekleştirmez. Ama BDNF gen ekspresyonu bu değişimden etkilenebilir. Böylece BDNF ekspresyonunda meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik ile nöronal canlılık, farklılaşma, nöronlar arası sinaptik iletişim ve esneklik, transmitter sentezi, BDNF'nin metabolize edilmesi ve salgılanması, postsinaptik iyon kanalı akışı, dopaminerjik ve serotonerjik nöronların gelişimi ve canlılığının sağlanması gibi aktivitelerde etkilenebileceğinden şizofreni, bipolar gibi psikiyatrik hastalıklarda da incelenmesi oldukça önemlidir.

#### **1.6.4 BDNF Polimorfizmlerinin Hastalıklarla İlişkisi**

Şizofrenlerde çizelge 1.4'de görüldüğü gibi, BDNF rs6265 polimorfizmi açısından değişik populasyonlarda meta-analiz yapıldığında 2955 şizofreni ve 4035 kontrol için Metiyonin allelinin bir risk oluşturmadığı belirlenmiştir (OR= 1.00, %95 güven aralığı= 0.89-1.11 ve p= 0,944). Polimorfizmin dağılımı, populasyonlar arasında farklılık gösterse de yine de istatistiksel anlamda bir ilişki ortaya çıkmamaktadır (Kanazawa et al. 2007).

Bipolar için, çizelge 1.5'de görüldüğü gibi 3143 bipolar hasta ve 6347 kontrolden oluşan oldukça büyük bir grup meta-analiz yapıldığında ise şizofreniye oranla daha güçlü bir ilişki var gibi gözükse de (OR= 0.95, %95 güven aralığı= 0.88-1.02 ve p=0.161) ortaya çıkan sonuç istatistiksel olarak anlamsızdır (Kanazawa et al. 2007).

Çizelge 1.6'da görüldüğü gibi, Xu et al. (2007) şizofrenlerde BDNF rs27656701 polimorfizmi açısından 8 değişik populasyon çalışmasını meta-analiz yaparak incelemiştir. Toplamda 1533 hasta, 1748 kontrol elde edilmiştir. 8 grup birbiriyle karşılaştırıldığında önemli bir heterojenite görülmüştür (p<0.001). Daha sonra etnik kökenlere göre sınıflandırılarak 5 Beyaz ırk (Caucasian), 3 Asya çalışması kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. 5 Beyaz ırk çalışmasında anlamlı bir heterojenite görülmemesine rağmen 3 Asya çalışması için hala heterojenite mevcuttur (p<0.001). Etnik kökenlerine göre sınıflandırılmış bu çalışmalarda rs27656701 açısından polimorfizmin hastalıkla ilişkisi incelendiğinde ise; Beyaz ırk grubu için OR= 0.736, %95 güven aralığı= 0.476-1.139 ve p= 0.169'dur. Asya grubu

için ise OR= 0.445, %95 güven aralığı= 0.144-1.373 ve p= 0.159'dur. Yani bu polimorfizmin şizofreni ile ilişkisi saptanamamıştır (Xu et al. 2007).

Bipolar hastalığında BDNF rs27656701 polimorfizmi için yapılan çalışmalara örnek olarak; Japon popülasyonunda 132 bipolar ile 190 kontrol karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p= 0.39) (Nakata et al. 2003).

BDNF rs27656701 polimorfizmin ilişkisi, başka hastalıklarlada çalışılmıştır. Örneğin; iki ayrı çalışmada geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı için anlamlı sonuç bulunmuştur. Bunlardan ilkinde; Japon popülasyonunda 119 geç başlangıçlı Alzheimer hastası ve 498 kontrol karşılaştırıldığında, hastaların T allelini kontrollere oranla çok daha fazla taşıdıkları saptanmıştır (OR= 3.8, %95 güven aralığı= 1.9-7.4 ve p= 0.00004) (Kunugi et al. 2001). Diğer çalışmada ise Amerika'da Latin kökenli olmayan beyaz popülasyonunda, geç başlangıçlı Alzheimer hastalarında T allelinin kontrole oranla çok daha sık görüldüğünü göstermişlerdir (p<0.00001) (Olin et al. 2005). Başka bir çalışmada ise; Amerika'da Latin kökenli olmayan beyaz popülasyonda, ailesel Parkinson hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında T allelinin hastalarda çok daha fazla olduğu görülmüştür (p= 0.0006) (Parsian et al. 2004).

BDNF rs6265 polimorfizmi ile ilgili çalışılmış diğer hastalıklara örnek olarak Alzheimer hastalığı verilebilir. Japon popülasyonunda yapılmış bir çalışmada, hastalarda rs6265 Valin (G) alleli kontrollere oranla daha fazla görülürken (p= 0.028) (Matsushita et al. 2005), Çin'de yapılmış bir başka çalışmada rs6265 ile Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki saptanamamıştır (p>0.05) (Bian et al. 2005). Çin popülasyonunda yapılan bir başka çalışmada ise, 171 ileri yaş depresyon hastası ile 171 kontrol karşılaştırıldığında, Metiyonin (A) alleli, hastalarda kontrole oranla daha fazla görülmektedir (p= 0.001) (Hwang et al. 2005).

**Çizelge 1.4 Değişik populasyonların şizofreni ve kontrol gruplarında rs6265 polimorfizminin Valin alleli için dağılımları, Odds Ratio (Risk oranı) ve %95 güven aralıkları (G.A) (Kanazawa et al. 2007)**

Köken	Toplam		Val alleli		OR	%95 G.A.	Referans
	H	K	H	K			
Beyaz ırk	203	133	332	218	0.99	0.66-1.48	Egan et al. 2003
Çin (Han)	93	198	85	189	0.92	0.65-1.31	Hong et al. 2003
Japonya	178	332	147	282	0.95	0.73-1.24	Nanko et al. 2003
Beyaz ırk	336	375	565	613	1.18	0.89-1.56	Skibinska et al. 2004
Beyaz ırk	321	350	541	547	1.50	1.13-1.98	Neves-Pereira et al. 2005
Çin (Han)	108	145	117	165	0.90	0.63-1.28	Tan et al. 2005
Beyaz ırk	19	25	31	40	1.11	0.38-3.24	Szeszko et al. 2005
Beyaz ırk	533	1097	842	1777	0.84	0.70-1.00	Schumacher et al. 2005
Beyaz ırk	94	98	156	166	0.88	0.51-1.52	Antilla et al. 2005
Beyaz ırk	210	99	351	160	1.21	0.78-1.87	Gourion et al. 2005
Beyaz ırk	273	580	435	932	0.96	0.74-1.24	de Krom et al. 2005
Beyaz ırk	27	27	46	53	0.11	0.01-0.90	Hashimoto and Lewis, 2006
Çin (Han)	560	576	573	607	0.94	0.80-1.11	Chen et al. 2006
Toplam	2955	4035	4221	5749	1.00	0.89-1.11	

**Çizelge 1.5 Değişik populasyonların bipolar ve kontrol gruplarında rs6265 polimorfizminin Val alleli için dağılımları, Odds Ratio (Risk oranı) ve %95 güven aralıkları (G.A) (Kanazawa et al. 2007)**

Köken	Toplam		Val alleli		OR	%95 G.A.	Referans
	H	K	H	K			
Çin (Han)	108	392	118	406	0.89	0.65-1.21	Hong et al. 2003
Japonya	100	190	118	220	0.96	0.67-1.35	Nakata et al. 2003
Beyaz ırk	108	158	166	247	1.11	0.73-1.68	Oswald et al. 2004
Japonya	347	588	412	702	1.01	0.84-1.23	Kunugi et al. 2004
Beyaz ırk	352	375	588	565	1.04	0.78-1.39	Skibinska et al. 2004
Afro-Amerikan	20	20	36	35	0.78	0.19-3.14	Strauss et al. 2004
Beyaz ırk	79	79	120	129	1.41	0.82-2.43	Straus et al. 2004
Beyaz ırk	263	350	417	547	0.93	0.71-1.23	Neves-Pereira et al. 2005
Beyaz ırk	281	1097	456	1778	0.99	0.78-1.26	Schumacher et al. 2005
Beyaz ırk	621	998	1020	1576	0.82	0.68-0.98	Lohoff et al. 2005
Beyaz ırk	864	2100	1418	3404	0.93	0.81-1.08	Green et al. 2006
Toplam	3143	6347	4869	9609	0.95	0.88-1.02	

**Çizelge 1.6 Değişik populasyonların şizofreni ve kontrol gruplarında rs27656701 polimorfizminin allelik dağılımları, Odds Ratio (Risk oranı) ve %95 güven aralıkları (G.A) (Xu et al. 2007)**

Köken	Toplam		C alleli		T alleli		OR	%95 G.A.	Referans
	H	K	H	K	H	K			
Japonya	178	332	339	649	17	15	0.46	0.23-0.93	Hong et al. 2003
Macar	101	68	174	132	28	4	0.19	0.06-0.55	Egan et al. 2003
İtalya	107	111	201	211	13	11	0.81	0.35-1.84	Nanko et al. 2003
Finlandiya	94	98	171	182	17	14	0.77	0.37-1.62	Skibinska et al. 2004
Polonya	397	380	755	725	39	35	0.93	0.59-1.49	Antilla et al. 2005
Çin	194	187	332	364	56	10	0.16	0.08-0.32	He et al. 2005
İsveç	187	275	354	521	20	29	0.99	0.55-1.77	Neves-Pereira et al. 2005
Çin	275	297	534	574	16	20	1.16	0.60-2.27	Schumacher et al. 2005
Toplam	1533	1748					0.59	0.36-0.96	Xu et al. 2007
Beyaz ırk	647	816					0.74	0.48-1.14	
Asya	886	932					0.45	0.14-1.37	



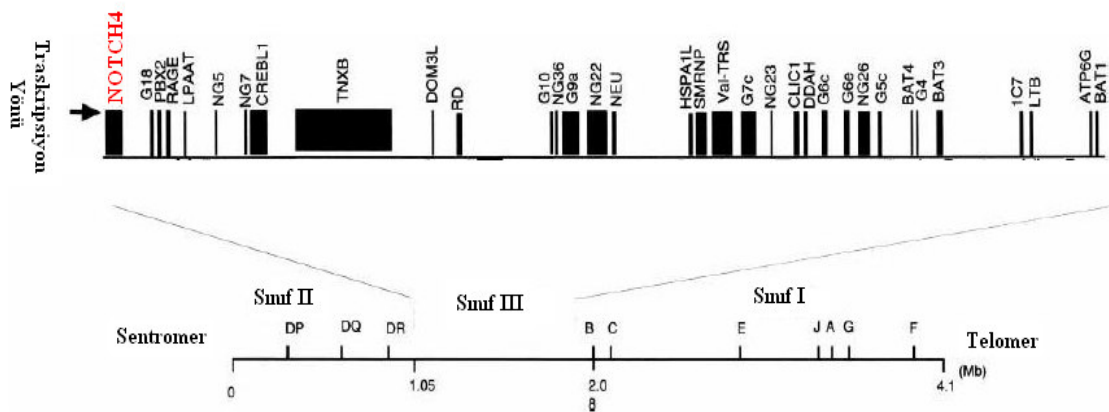
## 1.7 NOTCH HOMOLOG 4 –DROSOPHILA- (NOTCH4)

Genom taramalarında, kromozom 6p'nin şizofreni için şüpheli bir lokus içerebileceği düşünülmüştür. Özellikle büyük doku uyumu kompleksi (Major histocompatibility Complex-MHC) kromozom 6p21 üzerinde bulunması sonrasında bu bölgede şizofreni ile ilgili araştırmalar önem kazanmıştır (Zhang et al. 2004). MHC, tüm omurgalılarda bulunan büyük bir gen ailesidir ve memeli genomunda en çok gen burada bulunur.

İnsanda MHC, kromozom 6'nın kısa kolu üzerindeki p21-31 bantları arasında 3.6 Mb'lık bir kısmı kapsamaktadır. İmmun sistemde ve otoimmünitede çok önemli rolü vardır. MHC'den kodlanan proteinler hücre yüzeyinde eksprese olurlar ve hücreye özgü antijen görevi görürler.

Bu bölge üst üste çakışmayan üç kısımdan oluşur (Sınıf I, II ve III). Şekil 1.7'de görüldüğü gibi; İnsan Lökosit Antijen (Human Leukocyte Antigen-HLA) sınıf III bölgesi diye adlandırılan kısım sınıf I ve II arasında bulunur ve en az 59 gen içermektedir. Bu yüzden bu 3 sınıf arasında en çok gen içeren bölgedir. Ayrıca sınıf III içerisinde yer alan bütün genlerin fonksiyonel olması (pseudogen değil) önemlidir (Matsuzaka et al. 2001).

2000 yılında MHC III. Sınıf bölgesi üzerinde bulunan NOTCH4 geninin şizofreni ile güçlü bir ilişkisi olduğu bulunmuştur (Wei and Hemmings, 2000).



**Şekil 1.7** Major Histocompatibility Complex (MHC) içerisinde yer alan HLA sınıf III bölgesi ve içerdiği genler

Notch sinyal mekanizması, deniz kestanesinden insana kadar evrimde çok iyi korunmuştur. Özellikle büyümeyi kontrol eden programlarda, apoptosis ve metazoonlarda farklılaşmada çok önemli rolü vardır (Sparrow et al. 2002). Notch sinyal mekanizması, özellikle farklılaşma aşaması için kilit noktası olarak tanımlanabilir. Birçok mekanizma gibi Notch'da birçok farklı organda yer almakla beraber, organların tek olarak olgunlaşmasında da yer alır. Ayrıca Notch sinyal mekanizması birçok farklı dokuda hücre kaderini kontrol eder. Örneğin: Vasküler sistem, hematopoiyetik sistem, kas, deri ve pankreasta bulunur. Özellikle sinir sisteminde glial hücre tiplerinin; astrosit, müller glial hücre veya radial glial hücre tiplerinden hangisine farklılaşacağını kontrol eder.

Notch sinyal mekanizması öncelikle *Drosophila melanogaster* adlı meyve sineklerinde bulunmuştur. Notch adının verilmesinin nedeni ise, bazı Notch allellerinin etkisiyle çentikli kanatlar oluşmasıdır.

Memelilerde 4 adet Notch gen homoloğu vardır. Bunlar sırayla;

NOTCH1: *Xenopus*'tan insanlara kadar korunmuştur. Presomitik mezoderm'de eksprese olan proteinleri kodlarlar.

NOTCH2: NOTCH1'e komplementer bir ekspresyon modeli gösterir.

NOTCH3: Daha yeni bir filogenetik orijine sahip olan bu gen sadece memelilerde görülür.

NOTCH4: Diğerlerinden birçok yönüyle farklılık gösteren bu gende sadece memelilerde görülür (Bianchi et al. 2006).

NOTCH genleri, Tip I transmembran reseptörlerini kodlarlar. Bu reseptörler gelişim esnasında hücre kaderinin kontrol edilmesinde rol oynarlar. Bu reseptörler birçok farklı hücrede eksprese olurlar ve farklı kesim şekilleri bulunur. Ayrıca bu reseptörler 2 farklı membrana-bağlı ligand türüyle etkileşimde bulunurlar (Hansson et al. 2004). İsimlerini *Drosophila*'daki kanat fenotiplerinden alan bu ligandlar şu şekildedir:

- Serrate/Jagged ligand: Kendi içerisinde de ikiye ayrılır; Jagged1 ve Jagged2
- Delta-like ligand: Kendi içerisinde üçe ayrılır; Dll1, Dll3 ve Dll4

Bu ligandlar; NOTCH reseptörlerinin FRINGE glikosilaz ile modifikasyonuna hassaslık derecesine göre farklılık gösterirler. Uzamış glikozil zincirleri NOTCH reseptörüne bağlanırsa JAG'ın bağlanmasını engeller ama Dll'ler bağlanabilir. NOTCH reseptörleri ve ligandlarının ekspresyonları kendi kendini destekleyen ve çapraz inhibitör etkilidir. Organize olmuş dokularda, farklı hücrelerde farklı reseptör veya ligandlar eksprese olabilir (Schulz, 2005).

### **1.7.1 Notch Homolog 4 -Drosophila- (NOTCH4)**

NOTCH4 geni 6. kromozomun kısa kolunun 21.3 numaralı bandı üzerinde bulunur. 33.301 bazdan oluşan bu gen, 6. kromozomun kısa kolu (p) üzerinde; 32.226.521 baz çifti ile 32.229.822 baz çifti arasına lokalize olmuştur. Notch gen ailesi içerisinde bulunan NOTCH4 geni bir promotor bölgesi ve 30 eksondan oluşmaktadır (Li et al. 1998).

Bu gen 209.622 Da ağırlığında olan 2003 amino asitten oluşan proteini kodlar. Bu proteinin yapısı ise; Disülfid bağları ile bağlı C-terminal dizi N(TM) ve N-terminal dizi N(EC) şeklindedir. Bu protein NOTCH4 için transkripsiyon faktörü olan; MAML1, MAML2 ve MAML3 ile etkileşir. Notch4 proteini hücre membranında bulunur. Tek geçişli tip I membran proteinidir. Bir ekstraselüler bölge ve bir intraselüler bölge (NICD) içermektedir. Bu intraselüler bölge proteolitik kesimlerden sonra nukleusa taşınır.

Notch sinyal mekanizmasının yetişkin beyinde de bazı etkileri mevcuttur. NOTCH4 geninin transkriptleri gelişen sinir sistemi içerisinde mevcuttur. Kortekste Notch aktivitesinin artışı ile nöronlar arası bağlantıların sayısı artar ve nöronal büyümeye ara verilir. Bu sinyal ayrıca gamma-aminobutiric asit-ergic nöronların farklılaşmasını da sağlar. Yetişkin hipokampusunda nöroglial kök hücrelerinin devamlılığından da sorumlu olmasıyla beraber sinapsların şekillenmesinde de rol oynar. Tüm bunlar Notch sinyal mekanizmasının yetişkin sinir sisteminde çok önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Anttila et al. 2004). Nörogelişimle ilişkili bir gen olmasından ötürü özellikle şizofreni için potansiyel bir gen durumundadır.

## 1.7.2 NOTCH4 Geni Üzerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmleri

NOTCH4 geninde birçok SNP (tek nükleotid polimorfizmi) bulunmaktadır, yani yüksek derecede polimorfik bir genidir. Eğer NOTCH4 geni şizofreni oluşumunda rol oynuyor ise; bu SNP'lerin birçoğu aynı anda veya tek başına rol oynuyor olabilir. Bu sebeple incelenmek üzere 4 adet tek nükleotid polimorfizmi seçilmiştir. Bunlardan ilk üçü sırayla;

**rs367398:** Translasyon başlangıç bölgesinin -25. bazındaki Sitozin>Timin değişimidir. Bu değişim NOTCH4 geninin promotor bölgesinde bulunmaktadır. Bu bölgede transkripsiyon olmadığından herhangi bir amino asit değişimi söz konusu değildir.

**rs2071282:** Ekson 4 üzerinde bulunan Sitozin>Timin değişimidir. Bu değişim sonucunda Lösin>Prolin amino asit değişimi gerçekleşir. Böylece genin kodladığı protein dizisi de değişmiş olur.

**rs422951:** Ekson 6 üzerinde bulunan Adenin>Guanin değişimidir. Bu değişim sonucunda Treonin>Alanin amino asit değişimi gerçekleşir. Böylece genin kodladığı protein dizisi de değişmiş olur (Shibata et al. 2006).

İncelenen dördüncü SNP ise;

**rs387071:** Translasyon başlangıç bölgesinin -1745. bazındaki Adenin>Guanin değişimidir. Bu değişim NOTCH4 geninin promotor bölgesinde bulunmaktadır. Bu bölgede transkripsiyon olmadığından herhangi bir amino asit değişimi söz konusu değildir (Kaneko et al. 2004).

NOTCH4 geni promotor bölgesinde bulunan iki polimorfizm için farklı populasyonlarda(şizofreni/kontrol) ortaya çıkan sonuçlardan bir kısmı çizelge 1.7'de verilmiştir (Wang et al. 2006). Bu çizelgede görüldüğü gibi NOTCH4 promotor bölgesinde bulunan, iki polimorfizm için bu populasyonlarda ilişki saptanamamıştır.

**Çizelge 1.7 NOTCH4 geni promotor bölgesinde bulunan polimorfizmlerin farklı populasyonlara göre sonuçları (İ.Y: İlişki Yok=  $p>0.05$ ) (Wang et al. 2006)**

Köken	N (Sayı) Hasta/Kontrol	rs387071	rs367398	Referans
İngiliz	152/169	–	İ.Y.	Sklar et al. 2001
Japon	227/43	İ.Y.	İ.Y.	Ujike et al. 2001
Japon	235/235	İ.Y.	İ.Y.	Kaneko et al. 2004
Japon	284/284	İ.Y.	İ.Y.	Tochigi et al. 2004
Çin	544/621	İ.Y.	İ.Y.	Fan et. al. 2002
İsveç	74/135	–	İ.Y.	Carmine et. al. 2003

Bu çalışmaların dışında, rs387071 polimorfizminin şizofreni için önemli bir risk olduğunu gösteren bir çalışma da mevcuttur (Wei and Hemmings, 2000; Prathikanti et al. 2004).

Ayrıca Finlandiya’da NOTCH4 rs367398 polimorfizmi için erken başlangıçlı erkek şizofrenlerde T allelinin hastalıkla ilişkili olduğunu ( $p<0.0001$ ) ortaya koyan bir çalışma söz konusudur. Bu çalışma genel populasyon bazında çalışıldığında ilişki saptanmamıştır ( $p= 0.580$ ) (Anttila et al. 2003).

Japon populasyonunda (şizofreni/kontrol), eksonlar üzerinde bulunan diğer polimorfizmler rs2071282 ve rs422951 çalışılmıştır. Bunlardan sadece rs2071282 polimorfizminin, istatistiksel olarak şizofreni ile ilişkili olduğu saptanmıştır ( $p= 0.04$ ) (Shibata et al. 2006).

Bu polimorfizmler bipolar hastalığında, şizofreni kadar incelenmemiştir. Her polimorfizm için yeterli bilgi bulunmamaktadır. İncelenen rs387071 polimorfizmi, Amerika’da yapılan bir çalışmada istatistiksel olarak anlamlı ( $p= 0.049$ ) sonuç vermiştir (Prathikanti et al. 2004).

Alzheimer hastalığında, iki ayrı İngiliz populasyonunda incelenen rs387071 ve rs367398 polimorfizmleri, hastalıkla ilişkili bulunmamış, aynı çalışma içerisinde Fransız populasyonu için incelenen rs367398 polimorfizmi de istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermemiştir (Lambert et al. 2004).

## 1.8 CIRCADIAN LOCOMOTER OUTPUT CYCLES KAPUT (CLOCK)

Bir organizmada yaklaşık 24 saatlik aralıklarla tekrarlanan biyolojik süreçler “sirkadiyen ritim” olarak adlandırılır. *Circa diem* Latince’de “yaklaşık bir gün” anlamına gelmektedir. Bu şekilde ritmik tekrarlanma süreçleri birçok organizma için büyük önem taşır ve evrimsel aşamada korunmuşlardır. Bu ritimler, içsel olarak kendini destekleyen elektriksel mekanizmalarla kontrol edilirler. Sirkadiyen ritmin fonksiyonu ise biyolojik aktiviteleri, dış uyaranlara (ışık vb.) karşı senkronize etmektir. Memelilerde bu rolü hipotalamusa bilateral şekilde yerleşmiş suprakiazmatik çekirdekler (SCN) üstlenmiştir.

Hücre seviyesinde baktığımızda sirkadiyen ritimler, clock (saat) genleri olarak adlandırılan genlerin ekspresyonlarına bağlıdır. Bu genler arasından; memelilerde temel olarak ilk ortaya konan; Circadian Locomoter Output Cycles Kaput (CLOCK) genidir. Moleküler seviyede baktığımızda ise; Clock proteini değişik makromoleküllerle etkileşerek transkripsiyonel-translasyonel feedback döngüsünü düzenler. Gen ekspresyonundaki bu pozitif veya negatif etkiler sirkadiyan ritimleri tarafından gerçekleşir (Pirovano et al. 2005).

CLOCK geni insanda, 4. kromozomun uzun (q) kolunda bulunur. (4q12) 114.337 bazdan oluşan bu gen 4. kromozom üzerinde 56.139.588 baz çifti ile 56.253.925 baz çifti arasına lokalize olmuştur. 20 eksona sahiptir. CLOCK geni ilk kez farelerde tespit edilip, haritası çıkarılmıştır (Vitaterna et al. 1994; Bailer et al. 2005).

Sonrasında ise bu genin insandaki homoloğu olan CLOCK mRNA’sının en çok suprakiazmatik çekirdekler ve beyincikte eksprese olduğu keşfedilmiştir (Steeves et al. 1999).

CLOCK geni; transkripsiyon faktörlerinin, basic Helix Loop Helix (bHLH) ailesine dahil olan bir proteini (Clock) kodlar. Bu protein 846 amino asitten oluşur ve 95.3 kDa ağırlığındadır (www.genatlas.org).

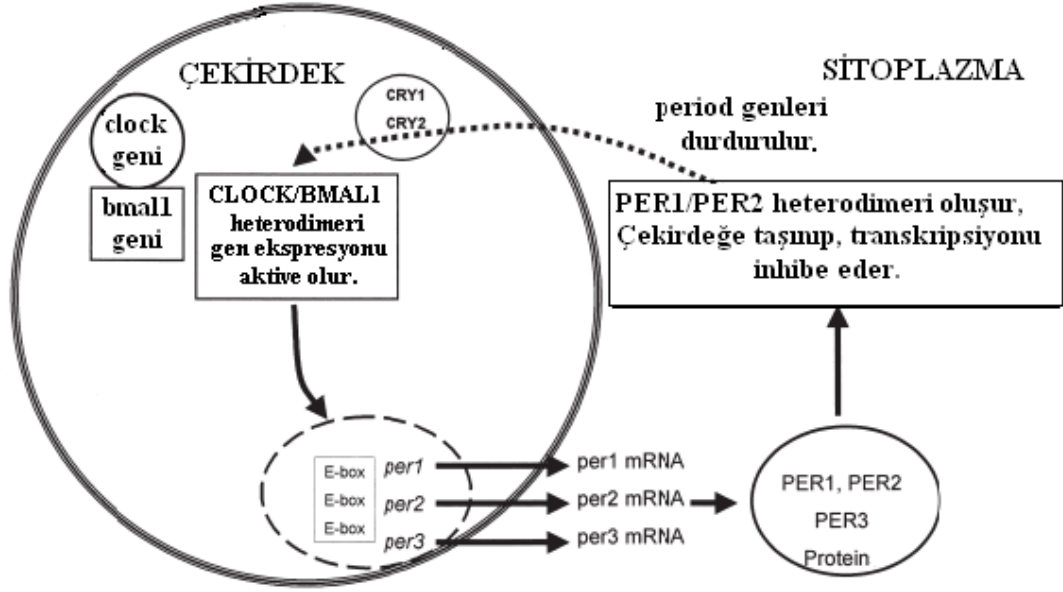
### 1.8.1 Memelilerde Clock Gen Döngüsü

*Drosophila*'da Period (*per*) geninin keşfi sonrasında fare ve sineklerde mutasyon çalışmalarının artması ile en az 10 tane sirkadiyen ritim gen mutasyonu keşfedilmiştir. Merkezi sirkadiyen genleri ve kodladıkları proteinler sirkadiyen ritim oluşturma ve kontrolünde mutlaka bulunması gereken bileşenlerdir. Memelilerde 2 tane merkezi clock geni vardır. Bunlar:

- CLOCK
- BMAL1 genleridir. Bu genler basic Helix Loop Helix transkripsiyon ailesine dahil olan proteinleri kodlarlar.

CLOCK mRNA ve proteini suprakiazmatik çekirdekte sürekli eksprese olurken, BMAL1 transkript seviyesi sirkadiyen gecenin ortasında en yüksek düzeye ulaşır (Hamet and Tremblay, 2006).

Şekil 1.6'da görüldüğü gibi CLOCK ve BMAL1 proteinleri, sitoplazmada heterodimer bir yapı oluştururlar. Bu yapı çekirdeğe geçer. Promotor bölgesinin yanında transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi (E-box) içeren *period* genlerinin (*per1*, *per2*, *per3*) ekspresyonunu aktive eder. *Per1*, *per2*, *per3* mRNA'ları transkribe olur ve sitoplazmaya geçerek PER1, PER2, PER3 proteinlerini kodlarlar. PER1 ve PER2 protein seviyesi arttıkça, PER1/PER2 heterodimerini oluştururlar ve çekirdeğe geçerler. Bu sistemde Cryptochrome proteinleri (CRY1;CRY2) negatif bir feedback görevi yaparlar. Bunlar çekirdek proteinleridir ve PER proteinleri ile etkileşerek, PER proteinlerinin sitoplazmadan çekirdeğe geçişini sağlarlar. CRY1 ve CRY2, CLOCK/BMAL1 heterodimeri için inhibitör etki yaparlar. CLOCK/BMAL1 aktivitesi bloke edildiğinde, *period* gen transkripsiyonu da sonlandırılır (Bunney and Bunney, 2000).



**Şekil 1.6 Memelilerde Clock gen döngüsü (Bunney and Bunney, 2000)**

İnsanlarda clock genleri sirkadiyen ritimlerini oluşturma ve kontrol etmede temel bir rol oynar. Bu genetik sistem duygudurum bozukluklarındaki, biyoritim disfonksiyonlarına neden olabileceği gibi bu genlerdeki polimorfizmlerin feedback döngü mekanizmalarında hatalara yol açması ve sonucunda da birçok hastalıkta rol oynayabileceği düşünülmektedir. Sirkadiyen ritimlerdeki bozukluklar birçok klinik durum yaratabilir. Örneğin; uyku bozuklukları, bunama, immün bozukluklar, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar (multiple sklerosis ve başağrısı vb.) ve psikiyatrik bozukluklarda sirkadiyen ritimler önemli bir rol oynar (Chen and Tan, 2004). Özellikle bipolar hastalığında gün içerisinde birçok ani değişim söz konusudur. Bu yüzden bu genlerin duygudurum bozukluklarında önemli bir yeri vardır.

CLOCK geninin sadece sirkadiyen ritimlerde değil, dopaminerjik sistemlerde de rol oynadığı belirlenmiştir. CLOCK geni susturulmuş farelerde yapılan bir fenotipleme çalışmasında, CLOCK proteininin dopamin iletimini kontrol ettiği belirlenmiştir. Ayrıca CLOCK mutant fareler normale oranla hiperaktif davranışlar göstermiştir. Yani CLOCK geni beynin karşılıklı döngülerinde ve kompleks davranışsal mekanizmalarda anahtar görevi görür (McClung et al. 2005).



### 1.8.2 CLOCK Geni Üzerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmleri

CLOCK geni üzerindeki tek nükleotid polimorfizmleri, Clock gen döngüsünde önemli rol oynayabilir. Bu sebeple incelenmek üzere 2 adet tek nükleotid polimorfizmi seçilmiştir. Bunlar sırayla;

**rs1801260:** CLOCK geni 3' kodlanmayan bölgesinde 3111. pozisyonda Timin>Sitozin değişimidir. Bu SNP T3111C şeklinde de adlandırılmaktadır. Kodlanmayan bölge üzerinde bulunduğu için herhangi bir amino asit değişikliği gerçekleşmez (Steveves et. al.1999).

**rs2070062:** CLOCK geni 5' promotor bölgesinde 257. pozisyonda bulunan Timin>Guanin değişimidir. Bu SNP T257G şeklinde de adlandırılmaktadır. Kodlanmayan bölgede bulunduğu için herhangi bir amino asit değişimi gerçekleşmez (Moreira et al. 2005).

Bu polimorfizmlerden rs1801260 birçok hastalıkta araştırılmıştır. Örneğin; Amerika'da yaşayan Avrupalı'lardan oluşan 280 kişilik bir populasyon (143 depresyon hastası, 137 kontrol) ile 58 kişilik Afro-Amerikan kontrol populasyonu farklı şekillerde karşılaştırılmıştır. Avrupa-Amerika'lı populasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ( $p>0.61$ ). Ama her iki grubun kontrolleri karşılaştırıldığında C allelinin Afro-Amerikan'larda daha az görüldüğü belirlenmiştir ( $p<0.05$ ) (Desan et al. 2000).

İtalya'da yapılan bir çalışmada, 101 kişilik bipolar hasta grubunda bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0.05$ ). Ama bu hasta grubu içerisinde en az 5 yıldır hasta olanlar seçilip ( $n= 69$ ) tekrar istatistik yapıldığında homozigot C genotipinin, homozigot T genotipi ve heterozigotlara oranla 2 kat daha fazla oldu görülmüştür ( $p= 0.026$ ) (Benedetti et al. 2003).

Avusturya'da 102 şizoafektif hastası ve 103 kişilik kontrol grubu için yapılan bir araştırmada anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0.2$ ) (Bailer et al. 2005).

İtalya'da 107 kişilik küme başağrısı hastası ve 210 kişilik kontrol grubu karşılaştırıldığında rs1801260 ile hastalık arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $p= 0.87$ ) (Rainero et al. 2005).

Japonya'da 145 şizofren, 128 kontrol grubu karşılaştırıldığında, hem genotip, hem de allel bazında önemli bir ilişki saptanmıştır ( $p= 0.022$ ) (Takao et al. 2007).

İngiltere’de yapılan bir haplotipleme çalışmasında ise, rs1801260 polimorfizminin düşük bel ve kalça çevresi, düşük vücut kitle indeksi oranı ve düşük leptin seviyesiyle ilişkisi bulunmuştur. Burdan yola çıkarak CLOCK rs1801260 polimorfizminin obezite oluşumunda koruyucu rolü olduğu belirlenmiştir (Scott et al. 2007).

CLOCK rs2070062 için yapılmış çalışmalar diğer polimorfizme göre daha azdır. Brezilya’da 43 narkolepsi hastası ve 87 kontrol karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir ( $p= 0.520$ ). Aynı çalışmada rs1801260 polimorfizmi de çalışılmıştır. Allelik ilişki saptanamamıştır ( $p= 0.520$ ) (Moreira et al. 2005).

Brezilya’da yapılan başka bir çalışmada ise, gecikmiş uyku faz sendromlu 17 hasta ile, 282 kontrol karşılaştırıldığında rs2070062 için  $p= 0.146$ , rs1801260 için  $p= 0.149$  olduğundan her iki polimorfizm için de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Pedrazzoli et al. 2007).

## 2. AMAÇ VE KAPSAM

Şizofreni ve bipolar hastalıkları dünyada en sık görülen psikiyatrik bozukluklardır. Dünya popülasyonunun %1'i bu hastalıkların birinden etkilenmektedir. Her iki hastalıkta genetik olarak kompleks bir yapı gösterir ve Mendel tek gen kalıtım modeline uyum göstermezler. Bu hastalıklar için aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları yapılmıştır. Sonuçta her iki hastalığında genetik olarak aktarıldığı ve oluşum riskinin ailede ve yakın akrabalarda arttığı belirlenmiştir. Ayrıca çevresel birçok faktör (yetersiz beslenme, sosyoekonomik durum, etnik köken vb.) hastalıkların oluşumunda rol oynamaktadır.

Bu hastalıklarda incelenecek genler sırasıyla; BDNF (11p13) (Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör), NOTCH4 (6p21.3) (Notch homolog 4 Drosophila) ve CLOCK (4q12) (Circadian Locomoter Output Cycles Kaput) şeklindedir. Bu genler üzerinde bulunan tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) hasta ve kontrol gruplarında PCR-RFLP yöntemi ile karşılaştırılmasıyla, gen formlarının hastalıklara göre dağılımı belirlenecektir. İncelenecek polimorfizmler şu şekildedir:

**BDNF (Beyin Kökenli Nörotrofik Faktör) geni için:** 2 ayrı SNP incelenecektir. SNP numaraları sırasıyla; rs6265, rs27656701 şeklindedir.

**NOTCH4 (Notch homolog 4 Drosophila) geni için:** 4 ayrı SNP incelenecektir. SNP numaraları sırasıyla; rs367398, rs2071282, rs422951, rs387071 şeklindedir.

**CLOCK (Circadian Locomoter Output Cycles Kaput) geni için:** 2 ayrı SNP incelenecektir. SNP numaraları sırasıyla; rs1801260, rs2070062 şeklindedir.

Ortaya çıkan sonuçlar, hasta ve kontrol gruplarında istatistiksel olarak karşılaştırılıp, bu SNP'lerin hastalık ile ilişkileri belirlenecektir. Buna ek olarak bu genler açısından hastalıkların örtüşüp örtüşmediği belirlenecek, şizofreni ve bipolar hastalıklarının birbirlerine olan genetik benzerliklerinin gösterilmesinde bir adım olacaktır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

#### 3.1 Gereçler

##### 3.1.1 Enzimler ve Primerler

*Taq* DNA polimeraz (Fermentas)

Proteinaz *K* (Sigma)

Çizelge 3.1 Polimorfizmlere göre kullanılan primer dizileri ve enzimler

Gen Adı	SNP no	Primer	Enzim
<b>BDNF</b>	rs6265	F: 5'-ACTCTGGAGAGCGTGAATGG-3' R: 5'-ACTACTGAGCATCACCCCTGGA-3'	<i>Eco72I</i> ( <i>PmaCI</i> ) (Fermentas)
<b>BDNF</b>	rs27656701	F: 5'-CAGAGGAGCCAGCCCGGTGCG-3' R: 5'-CTCCTGCACCAAGCCCCATTC-3'	<i>HinfI</i> (Fermentas)
<b>NOTCH4</b>	rs367398	F: 5'-TAGTGTTCTCCACTCTTCCTC-3' R: 5'-AGTGAAGGGGGCTGCATTCCAC-3'	<i>MspI</i> ( <i>HpaII</i> ) (Fermentas)
<b>NOTCH4</b>	rs2071282	F: 5'-CTTCGGGACTTCTGTTTCAGCC-3' R: 5'-AGGCAGAGGTGAAAGGTGGAG-3'	<i>HinfI</i> (Fermentas)
<b>NOTCH4</b>	rs422951	F: 5'-CGAAGATGTGGATGAGTGTGA-3' R: 5'-AGCAATACAGTCATCCAGGTT-3'	<i>BsuRI</i> ( <i>HaeIII</i> ) (Fermentas)
<b>NOTCH4</b>	rs387071	F: 5'-TGCTGGCTCACGGGCTTCC-3' R: 5'-TGGATTGCAGTGGCACGACC-3'	<i>MspI</i> ( <i>HpaII</i> ) (Fermentas)
<b>CLOCK</b>	rs1801260	F: 5'-TCCAGCAGTTTCATGAGATGC-3' R: 5'-GAGGTCATTTTCATAGCTGAGC-3'	<i>SduI</i> ( <i>Bsp1286I</i> ) (Fermentas)
<b>CLOCK</b>	rs2070062	F: 5'-TTCTGAGACTTATGGTTGGTCA-3' R: 5'-CCTTGGATCTTTTAAACTGATTC-3'	<i>RsaI</i> (Fermentas)

### 3.1.2 Kimyasallar

Agaroz	Sigma	
Akrilamid	Merck	8.00830.0500
Amonyum asetat	Riedel-de Haen	25006
Amonyum persülfat	Sigma	A 1433
Asetik asit	Riedel-de Haen	27225
Bisakrilamid	Sigma	M 7256
Borik asit	Fluka	71999
Brom fenol mavisi	Sigma	B 5525
Etanol	Merck	1.00986.2500
Etidium bromid	Sigma	E 8751
EDTA	Sigma	ED2SS
Formaldehit	Riedel-de Haen	15512
Gümüş nitrat	Fluka	85228
Ksilen siyanol	Sigma	X4126
Sodyum hidroksit	Riedel-de Haen	06203
Sodyum klorid	Riedel-de Haen	13423
Sodyum karbonat	Sigma	S 7277
TEMED	Merck	8.08742.0250
Tris baz	Sigma	T 1503
Sodyum Dodesil Sülfat	Fluka	71725

### 3.1.3 Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

#### 3.1.3.1 DNA İzolasyon Çözeltileri

#### RBCL( eritrosit parçalama çözeltisi) pH 7,4

0.15 M NH<sub>4</sub>Cl

0.01 M KHCO<sub>3</sub>

0.01 M EDTA (pH 8,0)

### **WBL( beyaz hücre parçalama çözeltisi)**

0.1 M NaCl

0.025 M EDTA (pH 8,0)

### **Amonyum asetat çözeltisi**

9.5 M NH<sub>4</sub>Asetat (sterilizasyon için 0.2 mikronluk filtreden geçirilir)

### **TE tamponu (pH 8.0)**

10 mM Tris HCl

1 mM EDTA pH 8.0 (+20°C)

### **SDS stok solüsyonu**

10% (w/v) SDS

0.2-0.45 µm membran ile filtre edilmiş

### **3.1.3.2 Elektroforez Çözeltileri**

#### **5X TBE**

0.45 M Tris Borat

0.01 M EDTA (pH 8,0)

#### **% 8'lik non-denatüre poliakrilamid jel solüsyonu (29:1 akrilamid: bisakrilamid)**

%8 Akrilamid-Bisakrilamid

1X TBE

Polimerizasyon için;

0.001 M amonyumpersülfat (APS), % 0,1 TEMED ilave edildi.

**% 12'lik non-denatüre poliakrilamid jel solüsyonu (29:1 akrilamid: bisakrilamid)**

%12 Akrilamid-Bisakrilamid

1X TBE

Polimerizasyon için;

0.001 M amonyumpersülfat (APS), % 0,1 TEMED ilave edildi.

### **3.1.3.3. Gümüş Boyama Çözeltileri**

**10 X A solüsyonu:** %5 asetik asit % 95 absolüt etil alkol

**10 X B solüsyonu:** %1 gümüş nitrat

**C solüsyonu:** 3 g NaOH, 0.02 g Boraks, %0,2 formaldehit

**10 X D solüsyonu:** 22,5 g Sodyum bikarbonat/ 1lt (opsiyonel)

### **3.1.4. Kullanılan Cihazlar**

Thermocycler (Eppendorf Mastercycler)

Dikey elektroforez (BIORAD)

Yatay elektroforez (BIORAD)

Güç kaynağı (BIORAD Power Pac 3000)

UV transilimünatör (BIORAD)

Spektrofotometre (SHIMADZU)

CanoScan N670U (Canon)

Bilgisayar

### **3.1.5 Etik Kurul Onayı**

Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurul'una yapılan başvuru sonucu, çalışma için etik kurul onayı alındı (Etik kurul karar no: 12/10). Hasta ve gönüllüler için uygun onam formları hazırlandı.

### **3.1.6 Hasta Grubu**

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı'na başvuran, aynı anabilim dalında tedavi gören şizofreni ve bipolar hastalarına ayrıntılı bilgi verdikten sonra onam formları imzalatıldı. Sonrasında EDTA'lı tüplere 10'ar cc kan alındı.

### **3.1.7 Kontrol Grubu**

Ailesinde şizofreni veya bipolar bozukluk bulunmayan gönüllü katılımcılara ayrıntılı bilgi verilerek onam formları imzalatıldı. Daha sonra EDTA'lı tüplere 10'ar cc kan alındı.

## **3.2. YÖNTEMLER**

### **3.2.1 Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

1. 10 ml periferik kan 50 ml'lik falkon tüpüne aktarılarak üzerine 1:3 oranında eritrosit lizis tamponu eklendi. +4°C'de 20 dakika bekletilip, 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
2. Örnek santrifüjden alınarak üzerindeki süpernatant atıldı. Pellet süspansiyon edildi ve üzerine 20 ml eritrosit lizis tamponu eklendi. Tekrar 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
3. Pellet tamamen süspansiyon edilip üzerine 500 µl SDS (%10'lük), 50µl proteinaz K (20mg/ml) ve 9,4 ml WBL (White Blood-Cell Lysis) tamponu eklenerek 56°C'de gece boyu bekletildi.
4. İnkübasyon sonrası üzerine 4 ml Amonyum asetat (9.5M) eklenip iyice karıştırıldı. 20 dakika 4500 rpm'de santrifüj edildi.
5. Üstteki temiz kısım alınarak yeni bir falkon tüpe aktarıldı, pellet atıldı. Süpernatantın üzerine 20 ml etanol eklendi ve DNA'nın toplanması için bekletildi. DNA alınarak bir eppendorf tüpe aktarıldı ve üzerine 1ml % 70 etanol koyuldu.



Maksimum hızda (13.200 rpm) 10 dakika santrifüj edilerek DNA çöktürüldü ve süpernatant atıldı. Kurutma işlemi ile kalan alkol uçuruldu.

6. Elde edilen DNA'nın miktarına göre 100–300µl kadar TE (Tris-EDTA, pH= 8.0) tamponu eklenerek 56°C'de 1 saat bekletilerek +4°C'de muhafaza edildi.

### 3.2.2 DNA Konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü

1. Stok DNA tüpünden 1µl örnek alındı ve 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı.
2. Üzerine 99µl TE eklenerek 1/100 oranında sulandırıldı.
3. Örneğin spektrofotometrede 260 ve 280 nm ultraviyole dalgaboyunda absorpsiyon değerleri okundu
4. DNA miktarı formüle göre hesaplandı:  
Konsantrasyon= 100 (sulandırma) x 50 (sabit) x OD 260= ng/µl DNA
5. OD 260/280 > 1,8 RNA, < 1,8 protein kontaminasyonu olarak değerlendirildi.

### 3.2.3 GENOTİPLEME

Genotipleme alınan kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Polymerase Chain Reaction-Restriction Length Polymorphism (PCR-RFLP) metodu ile yapıldı.

#### 3.2.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR reaksiyonunda 100 ng genomic DNA, 10 pmol forward ve reverse primerler kullanıldı. Her polimorfizm için annealing dereceleri ve PCR karışımındaki MgCl<sub>2</sub> miktarları farklılık göstermektedir. Çizelge 3.2'de bu değerler yer almaktadır. PCR şartları; 95°C'de 5 dk. ilk denatürasyon, 95°C'de 1 dk. denatürasyondan sonra uygun annealing derecesinde 30 sn. ve 72 °C'de 1 dk. 35 döngü ve son olarak 72 °C'de 10 dk. şeklinde yapıldı. Total miktarı 25µl olan PCR karışımını 10mM Tris-Cl (pH 8,8), 50 mM KCl, %0.08 Nonidet P40 ve uygun MgCl<sub>2</sub> miktarı, 200 µM dNTP ve 1,0 U *Taq* DNA polimeraz (MBI Fermentas) içerecek şekilde hazırlandı.

**Çizelge 3.2 Polimorfizmlere göre PCR için annealing koşulları, MgCl<sub>2</sub> miktarları**

Gen adı	SNP nosu	Annealing (°C) 30 sn.	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Referans
BDNF	rs6265	56°C	1.5	Nakata,2003
BDNF	rs27656701	64°C	1.5	
NOTCH4	rs367398	62°C	1.25	Shibata,2006
NOTCH4	rs2071282	59°C	1.25	
NOTCH4	rs422951	54°C	1.5	
NOTCH4	rs387071	62°C	1.5	Kaneko,2004
CLOCK	rs1801260	54°C	1.5	Bailer,2005
CLOCK	rs2070062	52°C	1.5	Moreira,2005

### 3.2.3.1.1 PCR Ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektrofrezinde Kontrolü

Toplam 25µl hacimde gerçekleştirilen reaksiyondan kontrol amacı ile 5µl alınarak 6X agaroz yükleme tamponu ile karıştırıldı. %8'lik poliakrilamid jele pUC-Mix (MBI) büyüklük (size) markır ile birlikte yüklenen PCR ürünleri, 20 V akımda yaklaşık 30 dk yürütüldü. PCR ürünleri markır ile kıyaslandı ve doğru bantlar elde edildiğinde, restriksiyon enzimleri ile kesime geçildi.

### 3.2.3.2 Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi(RFLP)

Restriksiyon enzim kesiminin toplam hacmi 15 µl olup, her enzime uygun 1.5 µl 1X tampon çözeltisi, enzim, PCR ürünü ve steril distile su içerecek şekilde hazırlandı. Kesim, gece boyunca 37°C'de bekletilerek yapıldı. Her polimorfizm için koşullar çizelge 3.3'de yer almaktadır. Kesim ürünleri poliakrilamid jelde yürütülüp, gümüş nitrat metodu ile boyanarak görüntülendi. Tarayıcı yardımı ile tüm görüntüler bilgisayara kaydedildi.

**Çizelge 3.3 Polimorfizmlere göre RFLP için kullanılan enzimler, Kesimde kullanılacak enzim, distile su ve PCR ürünü miktarları**

Gen Adı	SNP nosu	Enzim	Enzim miktarı	Steril distile su (µl)	PCR ürünü (µl)
<b>BDNF</b>	rs6265	<i>Eco72I</i>	2 U	11.3	2
<b>BDNF</b>	rs27656701	<i>HinfI</i>	2.5 U	10.25	3
<b>NOTCH4</b>	rs367398	<i>MspI</i>	2 U	11.3	2
<b>NOTCH4</b>	rs2071282	<i>HinfI</i>	2.5 U	10.25	3
<b>NOTCH4</b>	rs422951	<i>BsuRI</i>	2.5 U	10.25	3
<b>NOTCH4</b>	rs387071	<i>MspI</i>	2 U	11.3	2
<b>CLOCK</b>	rs1801260	<i>SduI</i>	2.5 U	10.25	3
<b>CLOCK</b>	rs2070062	<i>RsaI</i>	2.5 U	8.25	5

### 3.2.3.2.1 Kesim Ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektroforezi

35 cm x 10 cm ebatlarında hazırlanan jelin elektroforezi için dikey elektroferez cihazı kullanıldı. Jelin kalınlığı 0,5 mm olarak ayarlandı. Yüzde sekizlik, onluk ve on ikilik PAGE stok solüsyonlarına sırası ile % 10'luk APS stoğundan % 1 hacim ve TEMED'den % 0,1 hacim ilave edilip 0,5 mm'lik cam aralığına döküldü. Polimerizasyonun tamamlanması için en az 1/2 saat beklendi.

Polimerizasyon sonrası camlar elektroferez cihazına yerleştirildi, 1X TBE içeren yürütme tamponu ilave edildi. Örnekler jel kuyucuklarına yüklendi. Yükleme tamponu içinde bulunan ve elektrik alanında hareket eden brom fenol mavisini ve ksilen siyanol boyalarının yürüdükleri mesafe takip edilerek akım çizelge 3.4'de verildiği gibi ayarlandı ve çizelge 3.4'de verilen süreler sonunda jel çıkartılarak gümüş boyama işlemine geçildi.

**Çizelge 3.4 Her polimorfizm için poliakrilamid jel elektroforezi koşulları**

SNP no	Akım			PAGE (%)	Yürüme zamamı (dk)
	mA	V	W		
rs6265	~50	~180	20	8	20
rs27656701	~50	~180	20	8	25
rs367398	~50	~180	20	8	30
rs2071282	~50	~180	20	12	50
rs422951	~50	~180	20	8	30
rs387071	~50	~180	20	12	65
rs1801260	~50	~180	20	8	30
rs2070062	~50	~180	20	8	17

### 3.2.3.2.2 Gümüş Boyama

Solüsyonlarda ve yıkamada kullanılan suyun kalitesi önemli olduğundan test edilmiş distile su kullanıldı. Elde hafif çalkalama ile aşağıdaki solüsyonlarda sıra ile bekletildi. C solüsyonu kullanımdan hemen önce hazırlandı. Sonraki solüsyonlara geçerken aralarda distile su ile bir kaç saniyelik kısa süreler ile yıkandı.

**A solüsyonu** (Asetik asit-etanol): 200 ml distile suya stok solüsyondan 10 ml ilave edilerek hazırlandı ve jel bu solüsyonla 5 dakika muamele edildi.

**B solüsyonu** (Gümüş nitrat): 200 ml distile suya stok solüsyondan 10 ml ilave edilerek hazırlandı ve jel bu solüsyonla 10 dakika muamele edildi.

**C solüsyonu** (NaOH-Boraks-Formaldehit): 200 ml distile suya 2.5 gr NaOH ve 0.02 gr boraks ilave edildi ve jel bu solüsyona alındıktan sonra solüsyonun içerisine 1ml formaldehit ilave edilerek bantlar görülünceye kadar jel solüsyon içerisinde tutuldu.

**D solüsyonunu** (NaHCO<sub>3</sub>): 200 ml distile suya stok solüsyondan 20 ml ilave edilerek hazırlandı ve jel bu solüsyonla 5 dakika muamele edildi.

Distile suda yıkanan jel nemli olarak asetat arasına alındı ve naylon dosya poşeti içine alınarak hava alması engellenecek şekilde saklandı.

### 3.2.4 İstatiksel Analiz:

Odds ratio, %95 güven aralığı ve  $\chi^2$  analizi, conditional logistic regression analizi kullanılarak yapıldı. Hücre frekansları 5'ten az olduğunda gerçek metodlar kullanılarak risk oranları hesaplandı. Tüm analizler PC için SPSS 12,0 versiyonu kullanılarak yapıldı.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Genel Bulgular

Şizofreni ve bipolar hastalıkları ile BDNF, NOTCH4 ve CLOCK genleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bu çalışmada PCR-RFLP yöntemi ile BDNF geni için 2, NOTCH4 geni için 4, CLOCK geni için 2 adet polimorfizm incelenmiştir. 58 şizofreni vakasına karşılık 58 kontrolün, 36 bipolar hastasına karşılık 36 kontrolün genotiplenmesi yapılmıştır. İstatistiksel analize göre hastalarla kontroller arasında allel ve genotip dağılımları bakımından ilişki bulunamamıştır (İstatistiksel olarak anlamlılık  $p < 0.05$  için geçerlidir). Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de hem şizofreni, hem de bipolar hastalığı için allel ve genotip dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri verilmiştir. Çalışılan polimorfizmlerin şizofreni ve bipolar hastalığının oluşumunda bağımsız olarak risk oluşturmadığı bulunmuştur.

Ayrıca NOTCH4 rs2071282 polimorfizmi açısından, çalışılan tüm hasta ve kontrol gruplarında (toplam 188 kişi) hiçbir varyasyona rastlanmamıştır.

**Çizelge 4.1 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	GG	AA	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											G	A
B D N F	rs6265	Kontrol	Gözlenen	43	0	15	58	2,035	1	0,154	87,1	12,9
			Beklenen	41,5	1	15,5	58				84,9	15,1
			Oran(%)	74,1	0	25,9	100					
		Hasta	Gözlenen	40	2	16	58				82,8	17,2
			Beklenen	41,5	1	15,5	58				84,9	15,1
			Oran(%)	69	3,4	27,6	100					
		OR (%95 güven aralığı)				0,775 (0,345-1,741)	1,036 (0,987-1,087)				1,092 (0,480-2,486)	
				CC	TT	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											C	T
B D N F	rs27656701	Kontrol	Gözlenen	54	1	3	58	2,038	2	0,361	95,7	4,3
			Beklenen	53	0,5	4,5	58				95,3	4,7
			Oran(%)	93,1	1,7	5,2	100					
		Hasta	Gözlenen	52	0	6	58				94,8	5,2
			Beklenen	53	0,5	4,5	58				95,3	4,7
			Oran(%)	89,7	0	10,3	100					
		OR (%95 Güven aralığı)				0,642 (0,171-2,406)	0,983 (0,950-1,017)				2,115 (0,503-8,900)	

**Çizelge 4.1 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri (devam)**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	CC	TT	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											C	T
N O T C H 4	rs367398	Kontrol	Gözlenen	16	7	35	58	0,904	2	0,636	57,8	42,2
			Beklenen	16,5	5,5	36	58				59,5	40,5
			Oran(%)	27,6	12,1	60,3	100					
		Hasta	Gözlenen	17	4	37	58				61,2	38,8
			Beklenen	16,5	5,5	36	58				59,5	40,5
			Oran(%)	29,3	6,9	63,8	100					
		OR (%95 güven aralığı)	1,088 (0,486-2,439)	0,540 (0,149-1,954)	1,158 (0,547-2,453)							
				CC	TT	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
N O T C H 4	rs2071282	Kontrol	Gözlenen	58	–	–	58	–	–	–	100	0
			Beklenen	58	–	–	58				100	0
			Oran(%)	100	–	–	100					
		Hasta	Gözlenen	58	–	–	58				100	0
			Beklenen	58	–	–	58				100	0
			Oran(%)	100	–	–	100					
		OR (%95 Güven aralığı)	–	–	–							

**Çizelge 4.1 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri (devam)**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	AA	GG	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											A	G
N O T C H 4	rs422951	Kontrol	Gözlenen	15	15	28	58	0,435	2	0,805	50	50
			Beklenen	15,5	13,5	29	58				51,7	48,3
			Oran(%)	25,9	25,9	48,3	100					
		Hasta	Gözlenen	16	12	30	58				53,5	46,5
			Beklenen	15,5	13,5	29	58				51,7	48,3
			Oran(%)	27,6	20,7	51,7	100					
		OR (%95 güven aralığı)	1,092 (0,480-2,486)	0,748 (0,315-1,777)	1,148 (0,554-2,378)							
				AA	GG	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
N O T C H 4	rs387071	Kontrol	Gözlenen	25	6	27	58	0,883	2	0,643	66,4	33,6
			Beklenen	27	6,5	24,5	58				67,7	32,3
			Oran(%)	43,1	10,3	46,6	100					
		Hasta	Gözlenen	29	7	22	58				69	31
			Beklenen	27	6,5	24,5	58				67,7	32,3
			Oran(%)	50	12,1	37,9	100					
		OR (%95 Güven aralığı)	1,320 (0,635-2,743)	1,190 (0,374-3,782)	0,702 (0,335-1,471)							



**Çizelge 4.1 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri (devam)**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	TT	CC	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											T	C
C L O C K	rs1801260	Kontrol	Gözlenen	29	3	26	58	3,549	2	0,170	72,4	27,6
			Beklenen	28,5	6	23,5	58				69,4	30,6
			Oran(%)	50	5,2	44,8	100					
		Hasta	Gözlenen	28	9	21	58				66,4	33,6
			Beklenen	28,5	6	23,5	58				69,4	30,6
			Oran(%)	48,3	15,5	36,2	100					
		OR (%95 güven aralığı)	0,933 (0,451-1,933)	3,367 (0,862-13,149)	0,699 (0,332-1,471)							
				TT	GG	GT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
C L O C K	rs2070062	Kontrol	Gözlenen	29	3	26	58	3,549	2	0,170	72,4	27,6
			Beklenen	28,5	6	23,5	58				69,4	30,6
			Oran(%)	50	5,2	44,8	100					
		Hasta	Gözlenen	28	9	21	58				66,4	33,6
			Beklenen	28,5	6	23,5	58				69,4	30,6
			Oran(%)	48,3	15,5	36,2	100					
		OR (%95 Güven aralığı)	0,933 (0,451-1,933)	3,367 (0,862-13,149)	0,699 (0,332-1,471)							

**Çizelge 4.2 Bipolar hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	GG	AA	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)						
											G	A					
<b>B D N F</b>	rs6265	<b>Kontrol</b>	Gözlenen	27	0	9	36	2,618	2	0,270	87,5	12,5					
			Beklenen	27,5	1,0	7,5	36				86,8	13,2					
			Oran(%)	75,0	0	25,0	100										
		<b>Hasta</b>	Gözlenen	28	2	6	36				86,1	13,9					
			Beklenen	27,5	1,0	7,5	36				86,8	13,2					
			Oran(%)	77,8	5,6	16,7	100										
		<b>OR (%95 güven aralığı)</b>				1,167 (0,393-3,467)	1,059 (0,978-1,146)				0,600 (0,189-1,907)						
						CC	TT				CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
						C	T										
<b>B D N F</b>	rs27656701	<b>Kontrol</b>	Gözlenen	33	0	3	36	3,130	1	0,077	95,8	4,2					
			Beklenen	34,5	0	1,5	36				97,9	2,1					
			Oran(%)	91,7	0	8,3	100										
		<b>Hasta</b>	Gözlenen	36	0	0	36				100	0					
			Beklenen	34,5	0	1,5	36				97,9	2,1					
			Oran(%)	100	0	0	100										
		<b>OR (%95 Güven aralığı)</b>				0,917 (0,831-1,012)	-				0,917 (0,831-1,012)						

**Çizelge 4.2 Bipolar hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri (devam)**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	CC	TT	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											C	T
N O T C H 4	rs367398	Kontrol	Gözlenen	13	4	19	36	0,817	2	0,665	62,5	37,5
			Beklenen	11,5	5,0	19,5	36				59,0	41,0
			Oran(%)	36,1	11,1	52,8	100					
		Hasta	Gözlenen	10	6	20	36				55,5	44,5
			Beklenen	11,5	5,0	19,5	36				59,0	41,0
			Oran(%)	27,8	16,7	55,6	100					
		OR (%95 güven aralığı)	0,680 (0,251-1,845)	1,600 (0,411-6,232)	1,118 (0,442-2,828)							
				CC	TT	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
N O T C H 4	rs2071282	Kontrol	Gözlenen	36	-	-	36	-	-	-	100	0
			Beklenen	36	-	-	36				100	0
			Oran(%)	100	-	-	100					
		Hasta	Gözlenen	36	-	-	36				100	0
			Beklenen	36	-	-	36				100	0
			Oran(%)	100	-	-	100					
		OR (%95 Güven aralığı)	-	-	-							

**Çizelge 4.2 Bipolar hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri (devam)**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	AA	GG	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											A	G
N O T C H 4	rs422951	Kontrol	Gözlenen	11	11	14	36	0,561	2	0,755	50	50
			Beklenen	12,5	10,5	13,0	36				52,8	47,2
			Oran(%)	30,6	30,6	38,9	100					
		Hasta	Gözlenen	14	10	12	36				55,5	44,5
			Beklenen	12,5	10,5	13,0	36				52,8	47,2
			Oran(%)	38,9	27,8	33,3	100					
		OR (%95 güven aralığı)				1,446 (0,545-3,837)	0,874 (0,316-2,417)				0,786 (0,300-2,060)	
				AA	GG	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
N O T C H 4	rs387071	Kontrol	Gözlenen	16	2	18	36	0,727	2	0,695	69,4	30,6
			Beklenen	15,5	3,0	17,5	36				67,4	32,6
			Oran(%)	44,4	5,6	50,0	100					
		Hasta	Gözlenen	15	4	17	36				65,3	34,7
			Beklenen	15,5	3,0	17,5	36				67,4	32,6
			Oran(%)	41,7	11,1	47,2	100					
		OR (%95 Güven aralığı)				0,893 (0,351-2,271)	2,125 (0,364-12,409)				0,895 (0,355-2,256)	

**Çizelge 4.2 Bipolar hasta ve kontrol gruplarına göre genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri (devam)**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	TT	CC	CT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
											T	C
C L O C K	rs1801260	Kontrol	Gözlenen	17	2	17	36	0,792	2	0,673	70,8	29,2
			Beklenen	16,0	3,0	17,0	36				68,1	31,9
			Oran(%)	47,2	5,6	47,2	100					
		Hasta	Gözlenen	15	4	17	36				65,3	34,7
			Beklenen	16,0	3,0	17,0	36				68,1	31,9
			Oran(%)	41,7	11,1	47,2	100					
		OR (%95 güven aralığı)				0,798 (0,315-2,026)	2,125 (0,364-12,409)				1,000 (0,396-2,523)	
				TT	GG	GT	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)	
C L O C K	rs2070062	Kontrol	Gözlenen	17	2	17	36	1,576	2	0,455	70,8	29,2
			Beklenen	15,5	3,5	17,0	36				66,7	33,3
			Oran(%)	47,2	5,6	47,2	100					
		Hasta	Gözlenen	14	5	17	36				62,5	37,5
			Beklenen	15,5	3,5	17,0	36				66,7	33,3
			Oran(%)	38,9	13,9	47,2	100					
		OR (%95 Güven aralığı)				0,711 (0,279-1,814)	2,742 (0,496-15,168)				1,000 (0,396-2,523)	

## 4.2. Cinsiyete Dayalı Bulgular

Çizelge 4.3 ve 4.4’de şizofreni ve bipolar hastaları ve kontrol grupları için, cinsiyetlere göre dağılımlar verilmektedir. Her iki grup, cinsiyetlerine göre ayrılıp istatistiksel analiz yapıldığında ortaya çıkan sonuçlar ise çizelge 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8’de gösterilmektedir. Şizofreni grubu için 2 polimorfizmde anlamlı sonuç bulunmuştur.

Bunlardan ilki şizofreni kadın grubunda NOTCH4 rs422951 polimorfizminde görülmektedir ( $\chi^2=4,959$ ,  $df=2$ ,  $p=0,084$ ). Bu polimorfizm için genotip ve allel dağılımları, %95 güven aralığı içerisinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri çizelge 4.9’da verilmektedir. NOTCH4 rs422951, AA genotipinin kadınlarda 5,3 kat risk oluşturduğu tespit edilmiştir (OR=5,333, %95 Güven aralığı=1,142-24,899,  $df=1$ ,  $p=0.026$ ).

İkincisi ise şizofreni erkek grubunda NOTCH4 rs367398 polimorfizminde görülmektedir ( $\chi^2=4,061$ ,  $df=2$ ,  $p=0,131$ ). Bu polimorfizm için genotip ve allel dağılımları, %95 güven aralığı içerisinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri çizelge 4.10’da verilmektedir. NOTCH4 rs367398, TT genotipinin erkeklerde 7,1 kat koruyucu olduğu tespit edilmiştir (OR=0,141, %95 Güven aralığı=0,016-1,232,  $df=1$ ,  $p=0.044$ ).

Diğer polimorfizmler açısından hem şizofreni, hem de bipolar hastalığında cinsiyetlere dayalı olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

**Çizelge 4.3 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerine göre dağılımı**

Grup	Şizofreni	%	Kontrol	%
Kadın	18	31	19	32,8
Erkek	40	69	39	67,2
Toplam	58	100	58	100

**Çizelge 4.4 Bipolar hasta ve kontrol grubunun cinsiyetlerine göre dağılımı**

Grup	Bipolar	%	Kontrol	%
Kadın	21	58.3	21	58.3
Erkek	15	41.7	15	41.7
Toplam	36	100	36	100

**Çizelge 4.5 Şizofreni için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
<b>BDNF</b>	rs6265	1,474	2	0,479
<b>BDNF</b>	rs27656701	2,232	1	0,135
<b>NOTCH4</b>	rs367398	1,247	2	0,536
<b>NOTCH4</b>	rs2071282	-	-	-
<b>NOTCH4</b>	rs422951	4,959	2	0,084
<b>NOTCH4</b>	rs387071	3,709	2	0,157
<b>CLOCK</b>	rs1801260	3,461	2	0,177
<b>CLOCK</b>	rs2070062	3,461	2	0,177

**Çizelge 4.6 Şizofreni için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
<b>BDNF</b>	rs6265	1,543	2	0,462
<b>BDNF</b>	rs27656701	1,144	2	0,564
<b>NOTCH4</b>	rs367398	4,061	2	0,131
<b>NOTCH4</b>	rs2071282	-	-	-
<b>NOTCH4</b>	rs422951	2,608	2	0,272
<b>NOTCH4</b>	rs387071	3,428	2	0,180
<b>CLOCK</b>	rs1801260	1,287	2	0,525
<b>CLOCK</b>	rs2070062	1,287	2	0,525

**Çizelge 4.7 Bipolar hastalığı için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
<b>BDNF</b>	rs6265	2,400	2	0,301
<b>BDNF</b>	rs27656701	1,204	1	0,311
<b>NOTCH4</b>	rs367398	0,248	2	0,884
<b>NOTCH4</b>	rs2071282	-	-	-
<b>NOTCH4</b>	rs422951	2,574	2	0,276
<b>NOTCH4</b>	rs387071	3,429	2	0,180
<b>CLOCK</b>	rs1801260	0,984	2	0,611
<b>CLOCK</b>	rs2070062	0,984	2	0,611

**Çizelge 4.8 Bipolar hastalığı için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
<b>BDNF</b>	rs6265	0,240	1	0,624
<b>BDNF</b>	rs27656701	2,143	1	0,143
<b>NOTCH4</b>	rs367398	1,708	2	0,426
<b>NOTCH4</b>	rs2071282	-	-	-
<b>NOTCH4</b>	rs422951	0,710	2	0,701
<b>NOTCH4</b>	rs387071	0,792	2	0,673
<b>CLOCK</b>	rs1801260	0,674	2	0,714
<b>CLOCK</b>	rs2070062	1,250	2	0,535



**Çizelge 4.9 Şizofreni için kadınlarda NOTCH4 rs422951 polimorfizminin genotip ve allel dağılımları, p değerleri, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri**

Grup	Dağılım	AA	GG	AG	Top.	Allel A	Allel G
Hasta	Gözlenen	9	2	7	18	69,4	30,6
	Beklenen	5,8	2,9	9,2	18	58	42
	Oran(%)	50	11,1	39,9	100		
Kontrol	Gözlenen	3	4	12	19	47,4	52,6
	Beklenen	6,2	3,1	9,8	19	58,4	41,6
	Oran(%)	15,8	21,1	63,2	100		
P		0,026	0,412	0,140			
OR (%95G.A.)		5,333 (1,142-24,899)	0,469 (0,075-2,945)	0,371 (0,098-1,403)			

**Çizelge 4.10 Şizofreni için erkeklerde NOTCH4 rs367398 polimorfizminin genotip ve allel dağılımları, p değerleri, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri**

Grup	Dağılım	CC	TT	CT	Top.	Allel C	Allel T
Hasta	Gözlenen	12	1	27	40	63,8	36,2
	Beklenen	11,1	3,5	25,3	40	59,5	40,5
	Oran(%)	30	2,5	67,5	100		
Kontrol	Gözlenen	10	6	23	39	55,1	44,9
	Beklenen	10,9	3,5	24,7	39	59,4	40,6
	Oran(%)	25,6	15,4	59	100		
P		0,666	0,044	0,432			
OR (%95G.A.)		1,243 (0,463-3,334)	0,141 (0,016-1,232)	1,445 (0,576-3,622)			

**Çizelge 4.11 PCR ile çoğaltılan BDNF rs6265 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs6265	171	<u>ACTCTGGAGAGCGTGAATGGGCCCAAGGCAGGTTCAAGAG</u> GCTTGACATCATTGGCTGACACTTTCGAA <u>CACGTGATAG</u> AAGAGCTGTTGGATGAGGACCAGAAAGTTCGGCCCAATG AAGAAAACAATAAGGACGCAGACTTGTACAC <u>GTCCAGGG</u> <u>TGATGCTCAGTAGT</u>

**Çizelge 4.12 PCR ile çoğaltılan BDNF rs27656701 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs27656701	223	<u>CAGAGGAGCCAGCCC</u> <u>GGTGC</u> <u>CCCCCTCCACCTCCTGCTCG</u> GGGGGCTTTAATGAGACACCCACCGCTGCTGTGGGGCCG GCGGGGAGCAGCACC GCGACGGGGACCGGGGCTGGGCG CTGGAGCCAGAATCGGAACCACGATGTGACTCCGCCGCC GGGGAC <u>CCGTGAGGTTTGTGTGGACCCGAGGTAGGCAA</u> <u>GCGCTGGGAATGGGGCTTGGTGCAGGAG</u>

**Çizelge 4.13 PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs367398 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs367398	230	<u>TAGTGTTCCCTCCACTCTTCTCCGCCCCCATTACTAGGGT</u> GTCCAGGACATTGTGTGACTCAGGAAACAGCTCAGACGT GAGGCTTGCAGCAGGCCGAGGAGGAAGAAGAGGGGCAG TGGGAGCAGAGGAGGTGGCTCCTGCCCCAGTGAGAGCTC TGAGGGTCCCTGCCTGAAGAGGGACAGGGACTGGGGCTT GGAGAAGGGGCT <u>GTGGAATGCAGCCCCCTCACT</u>

**Çizelge 4.14 PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs2071282 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs2071282	323	<u>CTTCGGGACTTCTGTTCAGCCAACCCATGTGTTAATGGAG</u> GGGTGTGTCTGGCCACATACCCCAGATCCAGTGCCACT GCCACCGGGCTTCGAGGGCCATGCCTGTGAACGTGATG TCAACGAGTGCTTCCAGGACCCAGGACCCTGCCCAAAG GCACCTCCTGCCATAACACCCTGGGCTCCTTCCAGTGCCT CTGCCCTGTGGGGCAGGAGGGTCCACGTTGTGAGCTGCG GGCAGGACCCTGCCCTCCTAGGGGCTGTTTCAATGGGGG CACCTGCCAGCTGATGCCAGAGAAAGACTCCACCTTTCAC <u>CTCTGCCT</u>

**Çizelge 4.15 PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs422951 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs422951	148	<u>CGAAGATGTGGATGAGTGTGAGACCCAGGGTCCCCCTCAC</u> TGCAGAAACGGGGGCACCTGCCAGAACTCTGCTGGTAGC TTTCACTGCGTGTGTGTGAGTGGCTGGGGCGGCACAAGC TGTGAGGAGA <u>ACCTGGATGACTGTATTGCT</u>

**Çizelge 4.16 PCR ile çoğaltılan NOTCH4 rs387071 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

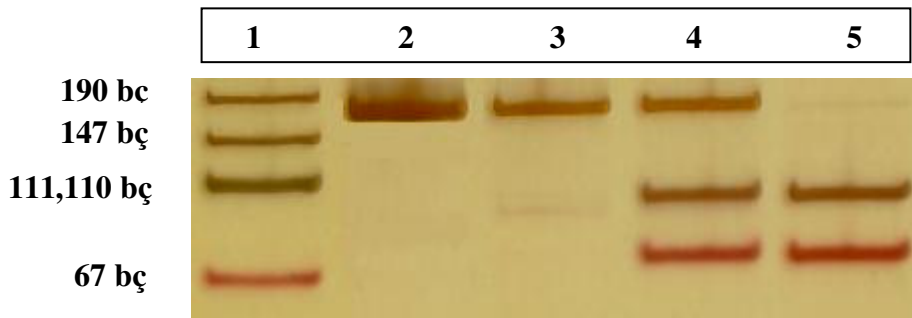
SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs387071	382	<u>TGCTGGCTCACGGGCTTCCAAATGTGATACACTGGTACTT</u> GTGCCCAAAAATGCATAAACACCAGACATACTCAAATTT AGGAACAGTCTACAAAACAAGTGCCTGTATGCTTAAAA ATGCCAGTATCGCCAGGTGCGGTGGCTCACGCTATAA TCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGATGGGTGGATTGCCTA AGCTCAGGAATTTGAGACCAGCCTGGGCACCATGGTGAA ACCCTGTCTCTACTAAAATACAAAAAGTCAGCCAGGCGT GGTGGTGGGGCGCTGTAATTCCAGCTACTCAGGAGGCTG AGGCACGAGAATTGCTTGAACCCAGGCGGTGGAGGTTGC AGTGAGCCAAGGTCGTGCCACTGCAATCCA

**Çizelge 4.17 PCR ile çoğaltılan CLOCK rs1801260 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

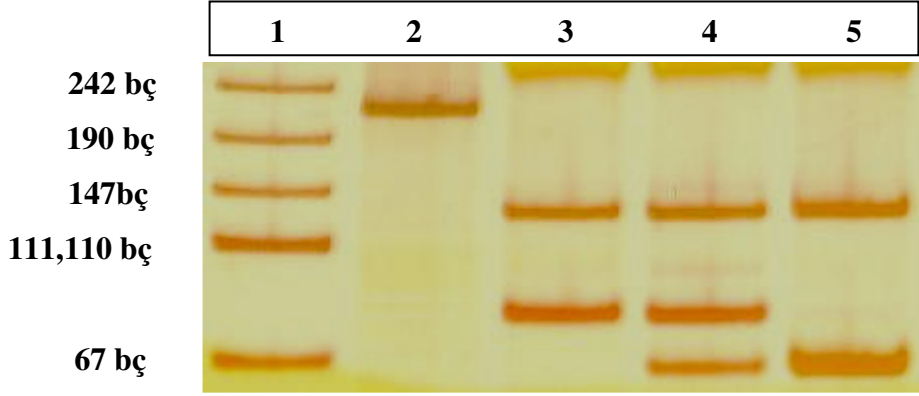
SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs1801260	221	<i>TCCAGCAGTTTCATGAGATGCAGTATTGAGTGTTCTAGTTC CTGGAATTAGTTGGCAGAGAAAATGCTGCCTAGTGCTAC AGATGTACATTAATAACCAGCCAGCAGGAGGTGATCATA GGGGC<u>AC</u>AGCCAGTTCTGACAGTGTTTTAGGTGCCTGGA TATTTTTGATGGAAAAAGAATATATTGCCAAATATTAA GAAGCTCAGCTATGAAATGACCTC</i>

**Çizelge 4.18 PCR ile çoğaltılan CLOCK rs2070062 polimorfizmini içeren gen dizisi ve uzunluğu**

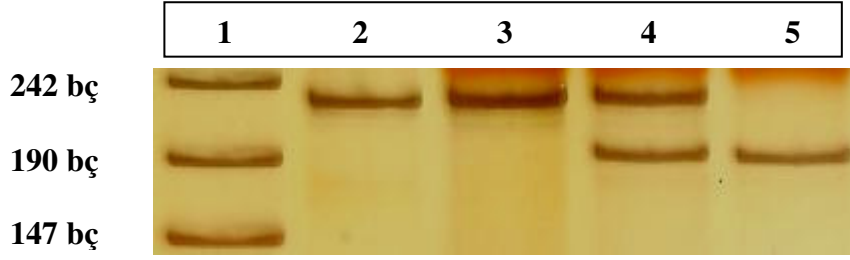
SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
rs2070062	80	<i>TTCTGAGACTTATGGTTGGTCATATAGAAGAGTACCTTGAA CCTATAGTTTCTGAAGAATCAGTTTAAAAGATCCAAGG</i>



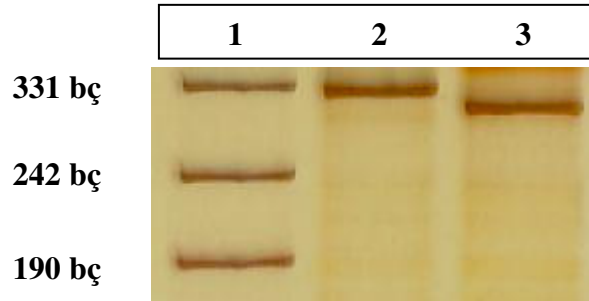
**Şekil 4.1 BDNF geni rs6265 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-171 bç, 3: AA-171 bç, 4: AG-171, 99,72 bç, 5: GG-99,72 bç)**



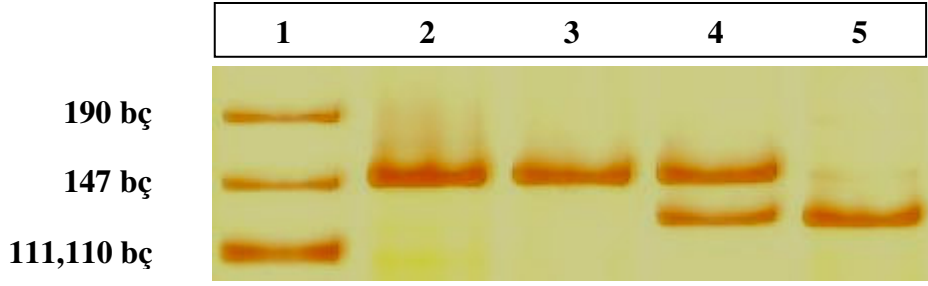
**Şekil 4.2 BDNF geni rs27656701 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-223 bç, 3: CC-127,78 bç, 4: CT-127,78,63 bç, 5: TT-127,63 bç / 18 ve 15 bç'lik fragmanlar gösterilmemektedir.)**



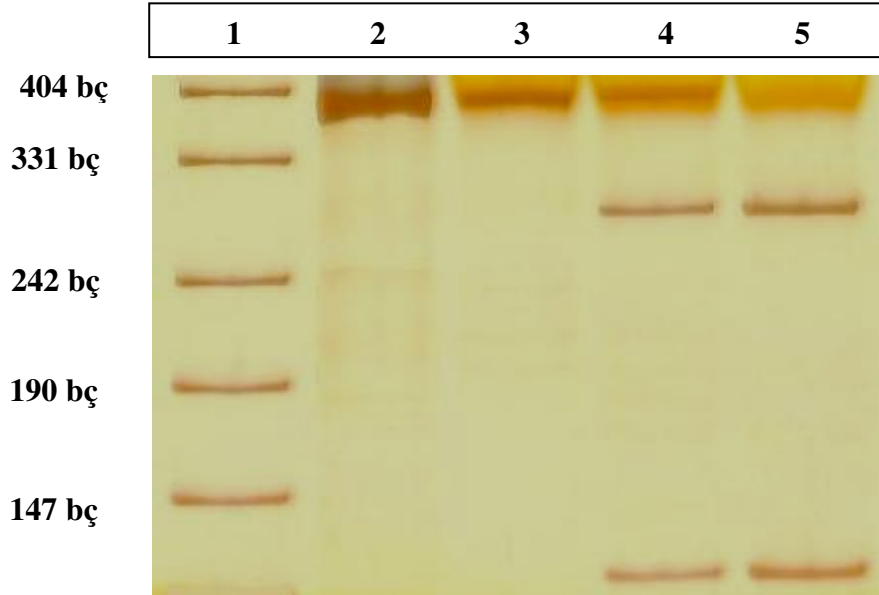
**Şekil 4.3 NOTCH4 geni rs367398 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-230 bç, 3: TT-230 bç, 4: CT-230, 190 bç, 5: CC-190 bç / 40 bç'lik fragman gösterilmemektedir.)**



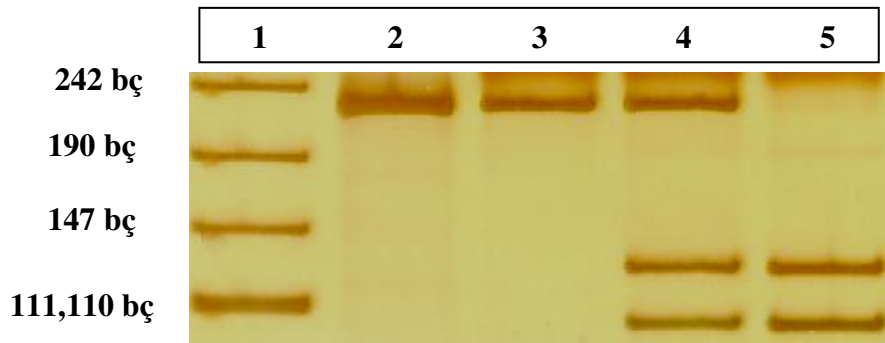
**Şekil 4.4 NOTCH4 geni rs2071282 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-323 bç, 3: CC-301 bç / 22 bç'lik fragman gösterilmemektedir.)**



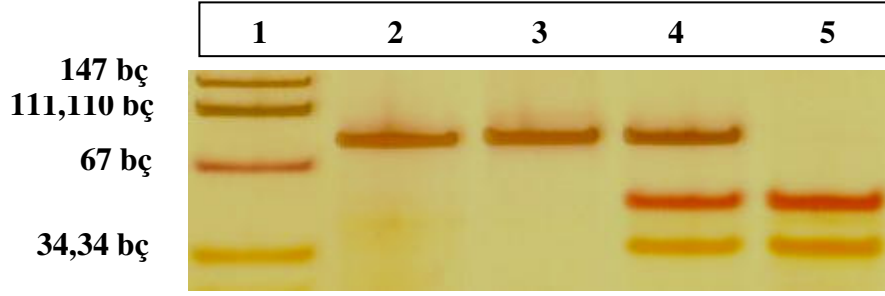
**Şekil 4.5 NOTCH4 geni rs422951 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-148 bç, 3: AA-148 bç, 4: AG-148, 125 bç, 5: GG-125 bç / 23 bç'lik fragman gösterilmemektedir)**



**Şekil 4.6 NOTCH4 geni rs387071 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-382 bç, 3: AA-382 bç, 4: AG-382,267,115 bç, 5: GG-267,115 bç)**



**Şekil 4.7 CLOCK geni rs1801260 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-221 bç, 3: TT-221 bç, 4: CT-221, 126,95 bç, 5: CC-126,95 bç)**



**Şekil 4.8** CLOCK geni rs2070062 polimorfizmini içeren gen bölgesinin poliakrilamid jel görüntüsü (1: pUC mix 8 M, 2: kesilmemiş PCR ürünü-80 bç, 3: GG-80 bç, 4: GT-80, 47,33 bç, 5: TT-47,33 bç)

**Çizelge 4.19** Şizofreni hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları

	N Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
<b>Kontrol</b>	58	21	69	34,47	9,498
<b>Hasta</b>	58	22	70	34,53	9,508

**Çizelge 4.20** Bipolar hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları

	N Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
<b>Kontrol</b>	36	21	64	37,39	10,848
<b>Hasta</b>	36	21	64	37,61	11,139

**Çizelge 4.21** Şizofreni alt tiplerine göre dağılım

Şizofreni Alt Tipi	n	%
<b>Paranoid</b>	27	46.5
<b>Rezidüel</b>	4	6.9
<b>Dezorganize</b>	5	8.6
<b>Farklaşmamış</b>	13	22.4
<b>Şizoafektif Bozukluk</b>	9	15.5
<b>Toplam</b>	58	100

## 5. TARTIŞMA

Şizofreni ve bipolar hastalıklarında rol oynayan genlerin belirlenmesini amaçlayan bu çalışmamızda, PCR-RFLP yöntemi ile BDNF için rs6265 ve rs27656701, NOTCH4 için rs367398, rs2071282, rs422951 ve rs387071, CLOCK için rs1801260 ve rs2070062 polimorfizmleri incelenmiştir. 58 şizofreni vakasına karşılık 58 kontrolün, 36 bipolar hastasına karşılık 36 kontrolün genotiplemesi yapılmıştır. Genel bazda yapılan istatistiksel analize göre, hastalarla kontroller arasında allel ve genotip dağılımları bakımından ilişki bulunamamıştır.

**BDNF** geni, nöronal canlılık ve farklılaşma, sinaptik iletişim ve esneklik, transmitter sentezi, metabolize edilmesi ve salgılanması, postsinaptik iyon kanalı akışı, dopaminerjik ve serotonerjik nöronların gelişimi ve canlılığının sağlanmasından sorumludur (Jönsson et al. 2006). BDNF geni üzerinde birçok SNP bulunmaktadır. Özellikle 2 tanesinin şizofreni ve bipolar hastalıklarıyla olan ilişkisi dünya çapında çalışılmıştır. Bunlar sırasıyla rs6265 ve rs27656701'dir.

rs6265: Bu polimorfizm açısından Kanazawa et al. (2007) değişik populasyonlar için meta-analiz yapmıştır. Şizofrenide; toplam 13 farklı populasyon vaka-kontrol çalışmasını biraraya getirerek, toplamda 2955 şizofreni ve 4035 kontrol için Metiyonin (A) allelinin şizofreni için bir risk oluşturmadığını belirlemiştir (OR=1.00, %95 güven aralığı= 0.89-1.11 ve p= 0.944). Populasyonlar arasında polimorfizmin dağılımı açısından farklılıklar görülse de yine de istatistiksel anlamda bir ilişki ortaya çıkmamaktadır. Yine aynı çalışma içerisinde bipolar hastalığı için de meta-analiz yapılmış, 3143 bipolar hastası ve 6347 kontrol değerlendirilmiştir. Bu grupta şizofreniye oranla daha güçlü bir ilişki var gibi gözükse de ortaya çıkan sonuç istatistiksel olarak anlamsızdır (OR= 0.95, %95 güven aralığı= 0.88-1.02 ve p= 0.161).

Lohoff et al.(2005) Avrupa kökenli 621 bipolar hastası ile 998 kontrolü BDNF rs6265 polimorfizmi için karşılaştırmıştır. Valin (G) allelinin bipolar hastalarında önemli miktarda artmış olduğunu göstermiştir ( $\chi^2 = 4.8$ , df= 1, p= 0.028, OR= 1.22, %95 güven aralığı= 1.02-1.47).

Her iki hastalıkta da rs6265 polimorfizminin ortak olarak araştırıldığı çalışmalara örnek olarak; Neves-Pereira et al. (2005) İskoç populasyonunda 321



şizofreni/şizoafektif bozukluk, 263 bipolar hastası ve 350 kontrol kullandığı çalışma örnek olarak verilebilir. Sonuçta Valin (G) alleli sadece şizofrenlerde ilişkili ( $p= 0.005$ ) bulunmuştur. Bipolar hastalığı ile ilişki saptanmamıştır.

BDNF rs6265 polimorfizmi ile ilgili çalışılmış diğer hastalıklara örnek olarak Alzheimer hastalığı verilebilir. Japon popülasyonunda yapılmış bir çalışmada, hastalarda rs6265 Valin (G) alleli kontrollere oranla daha fazla görülürken ( $p= 0.028$ ) (Matsushita et al. 2005), Çin'de yapılmış bir başka çalışmada rs6265 ile Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ) (Bian et al. 2005). Çin popülasyonunda yapılan bir başka çalışmada ise, 171 ileri yaş depresyon hastası ile 171 kontrol karşılaştırıldığında, Metiyonin (A) alleli, hastalarda kontrollere oranla daha fazla görülmektedir ( $p= 0.001$ ) (Hwang et al. 2005).

rs27656701: Bu polimorfizm ilk olarak Japon popülasyonunda geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı ile ilişkili bulunmuştur. 170 Alzheimer hastası ile (51 erken başlangıçlı, 119 geç başlangıçlı), 498 kontrol karşılaştırılmış, T allelinin geç başlangıçlı Alzheimer hastalarında daha yaygın olduğu tespit edilmiştir ( $p= 0.00004$ , OR= 3.8, %95 güven aralığı= 1.9-7.4) (Kunugi et al. 2001).

Xu et al.(2007) şizofrenlerde BDNF rs27656701 polimorfizmi açısından 8 değişik popülasyon çalışmasını meta-analiz yaparak incelemiştir. Toplamda 1533 hasta, 1748 kontrol elde edilmiştir. 8 grup birbiriyle karşılaştırıldığında önemli bir heterojenite görülmüştür ( $p<0.001$ ). Daha sonra etnik kökenlere göre sınıflandırılarak 5 Beyaz ırk, 3 Asya çalışması kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. 5 Beyaz ırk çalışmasında anlamlı bir heterojenite görülmemesine rağmen, 3 Asya çalışması için hala heterojenite mevcuttur ( $p<0.001$ ). Etnik kökenlerine göre sınıflandırılmış bu çalışmalarda rs27656701 açısından polimorfizmin hastalıkla ilişkisi incelendiğinde ise; Beyaz ırk grubu için OR= 0.736, %95 güven aralığı= 0.476-1.139 ve  $p= 0.169$ 'dur. Asya grubu için ise OR= 0.445, %95 güven aralığı= 0.144-1.373 ve  $p= 0.159$ 'dur. Yani bu polimorfizmin şizofreni ile ilişkisi saptanamamıştır.

Şizofreni ile bu polimorfizm arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin; Szekeres et al. (2003) Beyaz ırk popülasyonunda, 101 şizofreni ve 68 kontrolü karşılaştırdığında CT genotipinin ( $\chi^2= 11.17$ ,  $df= 1$ ,  $P= 0.0008$ ) ve TT genotipinin ( $\chi^2= 11.31$ ,  $df= 1$ ,  $P= 0.0008$ ) şizofrenlerde kontrollere oranla daha yaygın olduğu bulunmuştur.

Bipolar hastalığı için de BDNF rs27656701 polimorfizmi için yapılmış çalışmalar mevcuttur. Japon popülasyonunda 132 bipolar ile 190 kontrol karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p= 0.39$ ) (Nakata et al. 2003).

BDNF rs27656701 polimorfizmi, başka hastalıklarda da çalışılmıştır. Örneğin; Amerika'da Latin kökenli olmayan beyaz popülasyonunda, geç başlangıçlı Alzheimer hastalarında T alleli kontrollere oranla çok daha sık görülmektedir ( $p<0.00001$ ) (Olin et al. 2005). Bir diğer çalışmada ise; Amerika'da Latin kökenli olmayan beyaz popülasyonda, ailesel Parkinson hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında T allelinin hastalarda çok daha fazla olduğu görülmüştür ( $p= 0.0006$ ) (Parsian et al. 2004).

Çalışmamızda incelenen hasta ve kontrol grubunda BDNF polimorfizmlerinin p değerleri şizofreni için sırasıyla; rs6265 için  $p= 0.154$  ve rs27656701 için  $p= 0.361$  şeklindedir. Bipolar hasta grubu için bulunan değerler ise; rs6265 için  $p= 0.270$  ve rs27656701 için  $p= 0.077$  şeklindedir. Çalışılan grupları, cinsiyetlerine göre ayırıp yeniden istatistiksel analiz yaptığımızda her iki polimorfizm açısından sonuçlar değişmemektedir.

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar hastalıklarında, BDNF geni rs6265 ve rs27656701 polimorfizmleri için elde edilen bulgular; Kanazawa et al. (2007), Xu et al. (2007) ve Nakata et al. (2003) yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir. Sonuçta çalışılan BDNF polimorfizmlerinin bu hastalıklara yatkınlık sağlayan bağımsız risk faktörleri olmadığı belirlenmiştir.

**NOTCH4** geni, Notch reseptör ailesine dahil bir gendir. Bu reseptörlerin metazoonlarda, hücre kaderini belirleyen sinyal transdüksiyon yollarında merkezi bir rolü vardır. Ayrıca yetişkin hipokampusünde nöroglial kök hücrelerinin devamlılığından da sorumlu olmasıyla beraber sinapsların şekillenmesinde de rol oynar. NOTCH4 geninde birçok SNP bulunmaktadır, yani yüksek derecede polimorfik bir gendir. Eğer NOTCH4 geni şizofreni veya bipolar hastalığının oluşumunda rol oynuyor ise; bu SNP'lerin birçoğu aynı anda veya tek başına rol oynuyor olabilir. Bu çalışmada incelenen polimorfizmler sırasıyla; rs367398, rs2071282, rs422951, rs387071 şeklindedir.

Şizofrenlerde, NOTCH4 geni promotor bölgesinde bulunan iki polimorfizmin (rs367398 ve rs387071) hastalıkla ilişkisini araştırmak için farklı popülasyonlarda

çalışmalar yapılmıştır. Etnik kökenlerine göre İngiliz, Japon, Çin ve İsveç popülasyonlarında yapılmış çalışmalarda her iki polimorfizm açısından ilişki bulunamamıştır ( $p>0.05$ ) (Wang et al. 2006).

Bu çalışmaların dışında, rs387071 polimorfizminin şizofreni için önemli bir risk olduğunu gösteren bir çalışma da mevcuttur (Wei and Hemmings, 2000; Prathikanti et al. 2004).

Ayrıca Finlandiya’da NOTCH4 rs367398 polimorfizmi için erken başlangıçlı erkek şizofrenlerde T allelinin hastalıkla ilişkili olduğunu ( $p<0.0001$ ) ortaya koyan bir çalışma söz konusudur. Bu çalışma genel popülasyon bazında çalışıldığında ilişki saptanamamıştır ( $p= 0.580$ ) (Anttila et al. 2003).

Eksonlar üzerinde bulunan diğer polimorfizmler rs2071282 ve rs422951 için Japon popülasyonunda(şizofreni/kontrol) ortaya çıkan sonuçları inceleyecek olursak, rs422951 için anlamlı bir genotipik ilişki saptanamazken, rs2071282 polimorfizmi için şizofreni ve kontrol grupları arasında genotipik olarak ilişki ( $p= 0.04$ ) saptanmıştır (Shibata et al. 2006).

Bu polimorfizmler bipolar hastalığında, şizofreni kadar incelenmemiştir. Her polimorfizm için yeterli bilgi bulunmamaktadır. İncelenen rs387071 polimorfizmi, Amerika’da yapılan bir çalışmada istatistiksel olarak anlamlı ( $p= 0.049$ ) sonuç vermiştir (Prathikanti et al. 2004).

Araştırılan diğer hastalıklara örnek verecek olursak; Alzheimer hastalığında, iki ayrı İngiliz popülasyonunda incelenen rs387071 ve rs367398 polimorfizmleri, hastalıkla ilişkili bulunmamış, aynı çalışma içerisinde Fransız popülasyonu için incelenen rs367398 polimorfizmi de istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermemiştir (Lambert et al. 2004).

Çalışmamızda incelenen hasta ve kontrol grubunda NOTCH4 polimorfizmlerinin p değerleri şizofreni için sırasıyla; rs367398 için  $p= 0.636$ , rs422951 için  $p= 0.805$  ve rs387071 için  $p= 0.643$ , şeklindedir. rs2071282 için heterozigot (CT) veya homozigot mutant (TT) genotipe sahip bir bireye rastlanmamıştır. Tüm popülasyon homozigot doğal tip (wild type) şeklindedir. Bipolar hasta ve kontrol grubunda ise; rs367398 için  $p= 0.665$ , rs422951 için  $p= 0.755$  ve rs387071 için  $p= 0.695$  şeklindedir. rs2071282 için, şizofrenide olduğu gibi herhangi bir heterozigot veya homozigot mutant genotipe sahip bir bireye

rastlanmamıştır. Yani tüm hasta ve kontrol grupları (n= 188) bu polimorfizm açısından homozigot doğal tip şeklindedir.

Çalışılan grupları, cinsiyetlerine göre ayırıp yeniden istatistiksel analiz yaptığımızda rs2071282 ve rs387071 açısından sonuçlar değişmemektedir. Ama rs367398 polimorfizmi, şizofreni için erkek grubunda(40 hasta, 39 kontrol) istatistiksel olarak anlamlı çıkmaktadır. NOTCH4 rs367398 TT genotipinin erkeklerde 7,1 kat koruyucu olduğu tespit edilmiştir (OR= 0,141, %95 Güven aralığı= 0,016-1,232, df= 1, p= 0.044).

rs422951 polimorfizmi ise şizofreni için kadın grubunda (18 hasta, 19 kontrol) istatistiksel olarak anlamlı çıkmaktadır. NOTCH4 rs422951 AA genotipinin kadınlarda 5,2 kat risk oluşturduğu belirlenmiştir (OR= 5,333, %95 Güven aralığı= 1,142-24,899, df= 1, p= 0.026).

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar hastalıklarda, NOTCH4 geni rs367398 ve rs387071 polimorfizmleri için elde edilen bulgular; Wang et al.(2006) yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir. rs422951 için ise elde ettiğimiz veriler genel bazda bakıldığında Shibata et al. (2006) ile uyum göstermektedir. Ama Shibata et al. çalışılan popülasyonu cinsiyetlerine göre ayırmamıştır. rs2071282 için ise bizim sonuçlarımızla uyum gösteren bir çalışma mevcut değildir. Sonuçta çalışılan NOTCH4 polimorfizmlerinden sadece rs422951 şizofreni için kadınlarda bir risk faktörü oluştururken, diğerlerinin bu hastalıklara yatkınlık sağlayan bağımsız risk faktörleri olmadığı belirlenmiştir.

### **CLOCK:**

Sirkadiyen ritimler, clock (saat) genleri olarak adlandırılan genlerin ekspresyonlarına bağlıdır. Bu genler arasından; memelilerde temel olarak ilk ortaya konan; Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (CLOCK) genidir. CLOCK geni üzerindeki tek nükleotid polimorfizmleri, Clock gen döngüsünde önemli rol oynayabilir. Örneğin; biyoritim disfonksiyonlarına neden olabileceği gibi, feedback döngü mekanizmalarında hatalara yol açması sonucunda birçok hastalığı oluşturabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada incelenen polimorfizmler sırasıyla; rs1801260 ve rs2070062 şeklindedir.

Bu polimorfizmlerden rs1801260 birçok hastalıkta araştırılmıştır. Örneğin; Amerika'da yaşayan Avrupalı'lardan oluşan 280 kişilik bir populasyon (143 depresyon hastası, 137 kontrol) ile 58 kişilik Afro-Amerikan kontrol popülasyonu farklı şekillerde karşılaştırılmıştır. Avrupa-Amerika'lı popülasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ( $p>0.61$ ). Ama her iki grubun kontrolleri karşılaştırıldığında C allelinin Afro-Amerikan'larda daha az görüldüğü belirlenmiştir ( $p<0.05$ ) (Desan et al. 2000).

İtalya'da yapılan bir çalışmada, 101 kişilik bipolar hasta grubunda bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0.05$ ). Ama bu hasta grubu içerisinde en az 5 yıldır hasta olanlar seçilip ( $n= 69$ ) tekrar istatistik yapıldığında homozigot C genotipinin, homozigot T genotipi ve heterozigotlara oranla 2 kat daha fazla oldu görülmüştür ( $p= 0.026$ ) (Benedetti et al. 2003).

Avusturya'da 102 şizoafektif hastası ve 103 kişilik kontrol grubu için yapılan bir araştırmada anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0.2$ ) (Bailer et al. 2005).

İtalya'da 107 kişilik küme başağrısı hastası ve 210 kişilik kontrol grubu karşılaştırıldığında rs1801260 ile hastalık arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $p= 0.87$ ) (Rainero et al. 2005).

Japonya'da 145 şizofren ve 128 kişilik kontrol grubu karşılaştırıldığında, hem genotip, hem de allelik bazda önemli bir ilişki saptanmıştır ( $p= 0.022$ ) (Takao et al. 2007).

İngiltere'de yapılan bir haplotipleme çalışmasında ise, rs1801260 polimorfizminin düşük bel ve kalça çevresi, düşük vücut kitle indeksi oranı ve düşük leptin seviyesiyle ilişkisi bulunmuştur. Burdan yola çıkarak CLOCK rs1801260 polimorfizminin obezite oluşumunda koruyucu rolü olduğu belirlenmiştir (Scott et al. 2007).

CLOCK rs2070062 için yapılmış çalışmalar diğer polimorfizme göre daha azdır. Brezilya'da 43 narkolepsi hastası ve 87 kontrol karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir ( $p= 0.520$ ). Aynı çalışmada rs1801260 polimorfizmi de çalışılmıştır. Allelik ilişki saptanamamıştır ( $p= 0.520$ ) (Moreira et al. 2005).

Brezilya'da yapılan başka bir çalışmada ise, gecikmiş uyku evre sendromlu 17 hasta ile 282 kontrol karşılaştırıldığında rs2070062 için  $p= 0.146$ , rs1801260 için  $p= 0.149$  olduğundan her iki polimorfizm için de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Pedrazzoli et al. 2007).

Çalışmamızda incelenen hasta ve kontrol grubunda CLOCK polimorfizmlerinin p değerleri şizofreni için sırasıyla; rs1801260 için  $p= 0.170$  ve rs2070062 için  $p= 0.170$  şeklindedir. Bipolar hasta grubu için bulunan değerler ise; rs1801260 için  $p= 0.673$  ve rs2070062 için  $p= 0.455$  şeklindedir. Çalışılan grupları, cinsiyetlerine göre ayırıp yeniden istatistiksel analiz yaptığımızda her iki polimorfizm açısından sonuçlar değişmemektedir.

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar hastalıklarında, CLOCK geni rs1801260 polimorfizmi için elde edilen bulgular; Bailer et al. (2005) yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir. rs2070062 için elde ettiğimiz veriler ise Pedrazzoli et al. (2007) ile uyum göstermektedir. Sonuçta çalışılan CLOCK polimorfizmlerinin bu hastalıklara yatkınlık sağlayan bağımsız risk faktörleri olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda sadece NOTCH4 rs422951 polimorfizminde şizofreni için kadın ve erkekler arasında farklılık görülmektedir. Kadınlarda bu polimorfizmin AA genotipi risk faktörü iken, erkeklerde herhangi bir risk oluşturmamaktadır. Türk populasyonunda, NOTCH4'ün diğer polimorfizmleri, BDNF ve CLOCK genlerindeki çalışılan polimorfizmler açısından elde ettiğimiz sonuçlar şizofreni ve bipolar hastalıklarının örtüştüğünü göstermektedir. Çünkü her iki hastalıkta da, bu genlerin allel ve genotipleri aynı dağılımları vermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda BDNF, NOTCH4 ve CLOCK polimorfizmlerinin şizofreni ve bipolar hastalığına yatkınlık sağlayan bağımsız risk faktörleri olmadığı bulunmuştur. Çalışılan grupları cinsiyetlerine göre ayırıp, istatistiksel analiz yaptığımızda ise, sadece NOTCH4 geninin rs367398 polimorfizminin TT genotipinin erkeklerde 7,1 kat koruyucu olduğu saptanmıştır (OR= 0,141, %95 Güven aralığı= 0,016-1,232, df= 1, p= 0.044). NOTCH4 rs422951 polimorfizminde ise AA genotipinin kadınlarda 5,3 kat risk oluşturduğu belirlenmiştir (OR= 5,333, %95 Güven aralığı= 1,142-24,899, df= 1, p= 0.026). Ayrıca NOTCH4 rs2071282 polimorfizmi açısından, çalışılan tüm hasta ve kontrol gruplarında (toplam 188 kişi) hiçbir varyasyona rastlanmamıştır.

Cinsiyetlere göre analiz yapıldığında hasta sayımız oldukça azalmaktadır. Örneğin NOTCH4 rs367398 ve rs422951 polimorfizmleri için ortaya istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç çıkmasına rağmen, bunlar güçlü bir ilişkiyi temsil etmemektedir. Bu analizler hasta sayısı arttırılarak yeniden yapılmalıdır. Aynı nedenden ötürü, hasta gruplarının alt tiplerine ayrılarak istatistiksel analizi yapılmamıştır.

Daha net sonuçların elde edilebilmesi için daha geniş hasta ve kontrol popülasyonuna ihtiyaç vardır. Hastaların ve kontrollerin etnik kökenleri, yaşları, tanı ve alt tipleri göz önüne alınarak daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılması sonuçların aydınlatılmasında önem taşımaktadır. Ayrıca psikiyatrik hastalıkların oluşumunda genetik faktörler kadar birçok çevresel faktör de yer aldığından (etnik köken, sosyoekonomik durum, beslenme koşulları vb.) her popülasyona özgü SNP haritaları çıkarılmalıdır. Birçok psikiyatrik hastalık için BDNF, NOTCH4 ve CLOCK genleri başka popülasyonlarda da araştırılmıştır. Türk popülasyonu açısından bu çalışma ilk kez yapılmıştır.

Hasta sayısı arttırıldıktan sonra, bu genler üzerindeki polimorfizmlerin önce kendi aralarında, sonra da genlerin birbirleriyle olan ilişkileri analiz edilmeli, böylece gen-gen etkileşimleri belirlenmelidir. Ayrıca hem şizofreni hem de bipolar hastalığında rol oynadığı düşünülen diğer genlerin de (NRG1, COMT, DISC1, DTNP1, DRD3, G72, PRODH gibi.) incelenmesi, hastalıkların oluşum mekanizmalarını açığa çıkarmak için önemli bir adım olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Anttila, S., Illi, A., Kampman, O., Mattila, KM., Lehtimäki, T., Leinonen, E. (2004). Interaction between NOTCH4 and catechol-O-methyltransferase genotypes in schizophrenia patients with poor response to typical neuroleptics. *Pharmacogenetics*. May;14(5):303-7.
- Anttila, S., Kampman, O., Illi, A., Roivas, M., Mattila, KM., Lassila, V., Lehtimäki, T., Leinonen, E. (2003). NOTCH4 gene promoter polymorphism is associated with the age of onset in schizophrenia. *Psychiatr Genet*. Jun;13(2):61-4.
- Austin, J. (2005). Schizophrenia: an update and review. *J Genet Couns*. Oct;14(5):329- 40.
- Bailer, U., Wiesecker, G., Leisch, F., Fuchs, K., Leitner, I., Letmaier, M., Konstantinidis, A., Stastny, J., Sieghart, W., Hornik, K., Mitterauer, B., Kasper, S., Aschauer, HN. (2005). No association of clock gene T3111C polymorphism and affective disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*. Jan;15(1):51-5.
- Benedetti, F., Serretti, A., Colombo, C., Barbini, B., Lorenzi, C., Campori, E., Smeraldi, E. (2003). Influence of CLOCK gene polymorphism on circadian mood fluctuation and illness recurrence in bipolar depression. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. Nov 15;123(1):23-6.
- Berretini, W. (2003). Evidence for shared susceptibility in bipolar disorder and schizophrenia. *Am J Med Genet C (Semin Med Genet.)* Nov 15;123(1):59-64.
- Bian, JT., Zhang, JW., Zhang, ZX., Zhao, HL. (2005). Association analysis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene 196 A/G polymorphism with Alzheimer's disease (AD) in mainland Chinese. *Neurosci Lett*. Oct 14;387(1):11-6
- Bianchi, S., Dotti, MT., Federico, A. (2006). Physiology and pathology of notch signalling system. *J Cell Physiol*. May;207(2):300-8.
- Bunney, WE., Bunney, BG. (2000). Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression. *Neuropsychopharmacology*. Apr;22(4):335-45.
- Chen, Y., Tan, EC. (2004). Identification of human Clock gene variants by denaturing high performance liquid chromatography. *J Hum Genet*. 49(4):209-14
- Craddock, N., Forty, L. (2006). Genetics of affective (mood) disorders. *European Journal of Human Genetics* Jun;14(6):660-8
- Craddock, N., Jones, I. (1999). Genetics of bipolar disorder. *J Med Genet*. Aug;36(8):585-94.
- Craddock, N., O'Donovan, MC., Owen, MJ. (2005). The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. *J. Med. Genet*. Mar;42(3):193-204



- Desan, PH., Oren, DA., Malison, R., Price, LH., Rosenbaum, J., Smoller, J., Charney, DS., Gelernter, J. (2000). Genetic polymorphism at the CLOCK gene locus and major depression. *Am J Med Genet.* Jun 12;96(3):418-21.
- Egan, MF., Kojima, M., Callicott, JH., Goldberg, TE., Kolachana, BS., Bertolino, A., Zaitsev, E., Gold, B., Goldman, D., Dean, M., Lu, B., Weinberger, DR. (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell.* Jan 24;112(2):257-69.
- Faraone, SV., Taylor, L., Tsuang, MT. (2002). The molecular genetics of schizophrenia: an emerging consensus. *Expert Rev Mol Med.* May 23;2002:1-13.
- Gogos, JA., Gerber, JG. (2006). Schizophrenia susceptibility genes: emergence of positional candidates and future directions. *Trends in Pharmacological Sciences* Apr;27(4):226-33.
- Guillin, O., Demily, C., Thibaut, F. (2007). Brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia and its relation with dopamine. *Int Rev Neurobiol.* 78:377-95.
- Hamet, P., Tremblay, J. (2006). Genetics of the sleep-wake cycle and its disorders. *Metabolism.* Oct;55(10 Suppl 2):S7-12.
- Hansson, EM., Lendahl, U., Chapman, G. (2004). Notch signaling in development and disease. *Semin Cancer Biol.* Oct;14(5):320-8.
- Harrison, PJ., Weinberger, DR. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry.* Jan;10(1):40-68
- Hwang, JP., Tsai, SJ., Hong, CJ., Yang, CH., Lirng, JF., Yang, YM. (2005). The Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic-factor gene is associated with geriatric depression. *Neurobiol Aging.* Dec;27(12):1834-7.
- Jönsson, EG., Edman-Ahlbom, B., Sillén, A., Gunnar, A., Kulle, B., Frigessi, A., Vares, M., Ekholm, B., Wode-Helgodt, B., Schumacher, J., Cichon, S., Agartz, I., Sedvall, GC., Hall, H., Terenius, H. (2006). Brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF) variants and schizophrenia: An association study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 30:924–933
- Kanazawa, T., Glatt, SJ., Kia-Keating, B., Yoneda, H., Tsuang, MT. (2007). Meta-analysis reveals no association of the Val66Met polymorphism of brain-derived neurotrophic factor with either schizophrenia or bipolar disorder. *Psychiatr Genet.* Jun;17(3):165-70.
- Kaneko, N., Muratake, T., Amagane, H., Sakurai, M., Tanaka, T., Tsuji, S., Someya, T. (2004). Transmission disequilibrium test and haplotype analysis of the NOTCH4 gene in Japanese patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* Apr;58(2):199-205.
- Kunugi, H., Ueki, A., Otsuka, M., Isse, K., Hirasawa, H., Kato, N. (2001). A novel polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene associated with late-onset Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 6:83–86.

- Lambert, JC., Mann, D., Harris, J., Araria-Goumidi, L., Chartier-Harlin, MC., Cotel, D., Iwatsubo, T., Amouyel, P., Lendon, C. (2004). Association study of Notch 4 polymorphisms with Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Mar;75(3):377-81.
- Lang, UE., Puls, I., Muller, DJ., Strutz-Seebohm, N., Gallinat, J. (2007). Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*. 20(6):687-702.
- Li, L., Huang, GM., Banta, AB., Deng, Y., Smith, T., Dong, P., Friedman, C., Chen, L., Trask, BJ., Spies, T., Rowen, L., Hood, L. (1998). Cloning, characterization, and the complete 56.8-kilobase DNA sequence of the human NOTCH4 gene. *Genomics*. Jul 1;51(1):45-58.
- Lohoff, FW., Sander, T., Ferraro, TN., Dahl, JP., Gallinat, J., Berrettini, WH. (2005). Confirmation of association between the Val66Met polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and bipolar I disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. Nov 5;139(1):51-3.
- Lu, B. (2003). BDNF and activity-dependent synaptic modulation. *Learn Mem*. Mar-Apr;10(2):86-98
- Maier, W., Zobel, A., Wagner, M. (2006). Schizophrenia and bipolar disorder: differences and overlaps. *Current Opinion in Psychiatry* 19:165–170
- Maier, W., Höfgen, B., Zobel, A., Rietschel, M. (2005). Genetic models of schizophrenia and bipolar disorder Overlapping inheritance or discrete genotypes? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 255:159–166
- Maisonpierre, PC., Le, Beau MM., Espinosa, R 3rd., Ip, NY., Belluscio, L., de la Monte, SM., Squinto, S., Furth, ME., Yancopoulos, GD. (1991). Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations. *Genomics* 10: 558-568
- Maj, M., Akiskal, HS., Lopez-Ibor, JJ., Sartorius, N. (2002). *İki Uçlu Bozukluk*, Cilt 5, Çeviri Ed.: Oral, T. John Wiley&Sons Ltd.
- Matsushita, S., Arai, H., Matsui, T., Yuzuriha, T., Urakami, K., Masaki, T., Higuchi, S. (2005). Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms and Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. May;112(5):703-11.
- Matsuzaka, Y., Makino, S., Nakajima, K., Tomizawa, M., Oka, A., Bahram, S., Kulski, JK., Tamiya, G., Inoko, H. (2001). New polymorphic microsatellite markers in the human MHC class III region. *Tissue Antigens*. May;57(5):397-404.
- McClung, CA., Sidiropoulou, K., Vitaterna, M., Takahashi, JS., White, FJ., Cooper, DC., Nestler, EJ. (2005). Regulation of dopaminergic transmission and cocaine reward by the Clock gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jun 28;102(26):9377-81.
- Moreira, F., Pedrazzoli, M., Dos Santos Coelho, FM., Pradella-Hallinan, M., Lopes da Conceição, MC., Pereira Peregrino, AJ., de Oliveira, EC., Tufik, S. (2005). Clock gene polymorphisms and narcolepsy in positive and negative HLA-DQB1\*0602 patients. *Brain Res Mol Brain Res*. Oct 31;140(1-2):150-4.

- Mueser, KT., McGurk, SR. (2004). Schizophrenia. *Lancet*. Jun 19;363(9426):2063-72.
- Nakata, K., Ujike, H., Sakai, A., Uchida, N., Nomura, A., Imamura, T., Katsu, T., Tanaka, Y., Hamamura, T., Kuroda, S. (2003). Association study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene with bipolar disorder. *Neurosci Lett* 337: 17-20
- Neves-Pereira, M., Mundo, E., Muglia, P., King, N., Macciardi, F., Kennedy, JL. (2002). The brain-derived neurotrophic factor gene confers susceptibility to bipolar disorder: evidence from a family-based association study. *Am J Hum Genet* 71:651-5.
- Neves-Pereira, M., Cheung, JK., Pasdar, A., Zhang, F., Breen, G., Yates, P. et al. (2005). BDNF gene is a risk factor for schizophrenia in a Scottish population. *Mol Psychiatry* 10:208-12.
- Noll, R. (2000). *The Encyclopedia of Schizophrenia and Other Psychotic Disorders*. Second Edition, New York
- Olin, D., MacMurray, J., Comings, DE. (2005). Risk of late-onset Alzheimer's Disease associated with BDNF C270T polymorphism. *Neuroscience Letters* 381: 275-278
- Owen, MJ. (2005). Genomic Approaches to Schizophrenia. *Clinical Therapeutics/ Volume 27, Supplement A. A:S2-7*.
- Ozcelik, T., Rosenthal, A., Franke, U. (1991) Chromosomal mapping of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 genes in man and mouse. *Genomics* 10: 569-575
- Parsian, A., Sinha, R., Racette, B., Zhao, JH., Perlmutter, JS. (2004). Association of a variation in the promoter region of the brain-derived neurotrophic factor gene with familial Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. Jun;10(4):213-9
- Pedrazzoli, M., Louzada, FM., Pereira, DS., Benedito-Silva, AA., Lopez, AR., Martynhak, BJ., Korcak, AL., Koike Bdel, V., Barbosa, AA., D'Almeida, V., Tufik, S. (2007). Clock polymorphisms and circadian rhythms phenotypes in a sample of the Brazilian population. *Chronobiol Int*. 24(1):1-8.
- Pirovano, A., Lorenzi, C., Serretti, A., Ploia, C., Landoni, S., Catalano, M., Smeraldi, E. (2005). Two new rare variants in the circadian "clock" gene may influence sleep pattern. *Genet Med*. Jul-Aug;7(6):455-7
- Prathikanti, S., Schulze, TG., Chen, YS., Harr, B., Akula, N., Hennessy, K., Potluri, S., Lyons, J., Nguyen, T., McMahan, FJ. (2004). Neither single-marker nor haplotype analyses support an association between genetic variation near NOTCH4 and bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. Nov 15;131(1):10-5.
- Rainero, I., Rivoiro, C., Gallone, S., Valfrè, W., Ferrero, M., Angilella, G., Rubino, E., De Martino, P., Savi, L., Lo Giudice, R., Pinessi, L. (2005). Lack of association between the 3092 T-->C Clock gene polymorphism and cluster headache. *Cephalalgia*. Nov;25(11):1078-81.

- Sadock, BJ., Sadock, VA. (2007). *Kaplan&Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry*. Çeviri Ed.: Aydın H., Bozkurt A, New York, 8.Baskı, 12. Bölüm, Lippincott Williams&Wilkins, Güneş Kitabevi Ltd. Şti.
- Sazci, A., Ergul, E., Kucukali, I., Kaya, G. (2005). Association of the C677T and A1298C polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase gene with schizophrenia: association is significant in men but not in women. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Sep;29(7):1113-23
- Sazci, A., Ergul, E., Kucukali, I., Kilic, G., Kaya, G., Kara, I. (2004). Catechol-O-Methyltransferase gene Val108/158Met polymorphism, and susceptibility to schizophrenia: association is more significant in women. *Mol Brain Res*. Dec 6;132(1):51-6.
- Sazci, A., Ergül, E., Güzelhan, Y., Kaya, G., Kara, I. (2003). Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in patients with schizophrenia. *Mol Brain Res*. Sep 10;117(1):104-7.
- Schulz, W.A., (2005). Breast Cancer. *Molecular Biology of Human Cancers. An Advanced Student's Textbook* Netherland Springer. Chapter 6.
- Scott, EM., Carter, AM., Grant, PJ. (2008). Association between polymorphisms in the Clock gene, obesity and the metabolic syndrome in man. *Int J Obes (Lond)*. Apr;32(4):658-62.
- Shibata, N., Ohnuma, T., Higashi, S., Higashi, M., Usui, C., Ohkubo, T., Watanabe, T., Kitajima, A., Ueki, A., Nagao, M., Arai, H. (2006). Genetic association between Notch4 polymorphisms and Japanese schizophrenics. *Psychiatr Genet*. Apr;16(2):77-9.
- Skibinska, M., Hauser, J., Czerski, P., Leszczynska-Rodziewicz, A., Kosmowska, M., Kapelski, P. (2004). Association Analysis of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) gene Val66Met polymorphism in schizophrenia and bipolar affective disorder. *World J Biol Psychiatry* 5:215–20.
- Sparrow, DB., Clements, M., Withington, SL., Scott, AN., Novotny, J., Silience, D., Kusumi, K., Beddington, RS., Dunwoodie, SL. (2002). Diverse requirements for Notch signalling in mammals. *Int J Dev Biol*. 46(4):365-74.
- Steeves, TD., King, DP., Zhao, Y., Sangoram, AM., Du, F., Bowcock, AM., Moore, RY., Takahashi, JS. (1999). Molecular cloning and characterization of the human CLOCK gene: expression in the suprachiasmatic nuclei. *Genomics*. Apr 15;57(2):189-200.
- Strachan, T. and Read, A.P., (2004). *Human Molecular Genetics* 3. Gerland Science, Taylor and Francis Group, London and New York.
- Sullivan, PF. (2005). The genetics of schizophrenia. *PLoS Med*. Jul;2(7):e212.
- Szekeres, G., Juhász, A., Rimanóczy, A., Kéri, S., Janka, Z. (2003). The C270T polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene is associated with schizophrenia. *Schizophr Res*. Dec 1;65(1):15-8.

- Takao, T., Tachikawa, H., Kawanishi, Y., Mizukami, K., Asada, T. (2007). CLOCK gene T3111C polymorphism is associated with Japanese schizophrenics: a preliminary study. *Eur Neuropsychopharmacol.* Mar;17(4):273-6.
- Timmusk, T., Palm, K., Metsis, M., Reintam, T., Paalme, V., Saarma, M., Persson, H. (1993). Multiple promoters direct tissue-specific expression of the rat BDNF gene. *Neuron* 10: 475-489.
- Wang, Z., Wei, J., Zhang, X., Guo, Y., Xu, Q., Liu, S., Shi, J., Yu, Y., Ju, G., Li, Y., Shen, Y. (2006). A review and re-evaluation of an association between the NOTCH4 locus and schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* Dec 5;141(8):902-6.
- Wei, J., Hemmings, GP. (2000). The NOTCH4 locus is associated with susceptibility to schizophrenia. *Nat. Genet.* 25:376-377
- Williamson, P. (2006). *Mind, Brain and Schizophrenia*. Oxford University Press, New York
- [www.genatlas.org](http://www.genatlas.org)
- [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) - NCBI: National Center for Biotechnology Information-dbSNP
- [www.nimh.nih.gov](http://www.nimh.nih.gov) (National Institute of Mental Health- Bipolar Disorder)
- [www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome)
- Xu, MQ., St Clair, D., Ott, J., Feng, GY., He, L. (2007). Brain-derived neurotrophic factor gene C-270T and Val66Met functional polymorphisms and risk of schizophrenia: a moderate-scale population-based study and meta-analysis. *Schizophr Res.* Mar;91(1-3):6-13.
- Zhang, X., Wei, J., Yu, YQ., Liu, SZ., Shi, JP., Liu, LL., Ju, GZ., Yang, JZ., Zhang, D., Xu, Q., Shen, Y., Hemmings, GP. (2004). Is NOTCH4 associated with schizophrenia? *Psychiatr Genet.* Mar;14(1):43-6.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1983 yılında Bursa'da doğdum. İlk ve ortaokulu Bursa Altıparmak Fethi Açañçiçek İlköğretim Okulu'nda okudum. 2001 yılında Bursa Yabancı Dil Ağırlıklı Kız Lisesi'nden mezun oldum. 2005 yılında Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden bölüm birincisi olarak mezun oldum. 2005 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programına başladım. Halen Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.