

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR BOZUKLUKTA GENOM BAĞLANTI  
ANALİZİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI**

**Uzman Biyolog Mavi Deniz ÖZEL**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Biyoloji AD. Doktora Programı İçin Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ  
2015



T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR BOZUKLUKTA GENOM BAĞLANTI  
ANALİZİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI**

**Uzman Biyolog Mavi Deniz ÖZEL**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Biyoloji AD. Doktora Programı İçin Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Ali SAZCI

KOCAELİ  
2015

Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi proje no: 2011/68

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İşbu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Üye Prof. Dr. Şükrü ÖZTÜRK

Üye Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Üye Prof. Dr. Mehmet Doğan GÜLKAÇ

Üye Prof. Dr. Ali SAZCI (Danışman)

Üye Doç. Dr. Emel ERGÜL

---

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

16/01/2015

Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

Enstitü Müdürü

## ÖZET

### Şizofreni ve Bipolar Bozuklukta Genom Bağlantı Analizi ile İlişkili Genlerin Araştırılması

Şizofreni ve bipolar bozukluk; genel popülasyonda %1 oranında görülen, poligenik kalıtım gösteren, kompleks, yaygın ve kronik psikiyatrik hastalıklardır. Hem semptomatik, hem de genetik olarak örtüşmekte olup, Mendel tek gen kalıtım modeline uyum göstermemektedirler. Bu iki hastalık arasındaki benzerlikler her zaman psikiyatrinin ilgi alanı olmuştur. Poligenik kalıtım yapısına sahip olmaları ve yaygın görülmeleri nedeniyle Genom Bağlantı Analizi çalışmaları (GWAS) için çok uygun hastalıklardır. “Yaygın hastalık, yaygın varyant” temelini esas alan, sistematik ve tarafsız olan GWA çalışmaları ile popülasyonlar arası farklılıklar belirlenip, popülasyona özgü olan hastalıkla ilişkili varyantlar belirlenebilecektir.

Bu çalışmada; Türk popülasyonu için hasta ve kontrol gruplarında incelenmek üzere, DSM-IV’e göre tanı konmuş, gönüllü olarak çalışmaya katılan 105 şizofreni hastasına karşılık 137 kontrol ve 95 bipolar hastasına karşılık 108 kontrolden kan toplanmıştır. Daha sonra PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelenmek üzere, şizofreni ve bipolar bozuklukta GWAS ilişkili olduğu belirlenen, 7 ayrı gen üzerinde bulunan tek nükleotid polimorfizmleri seçilmiştir. Bunlar; ZNF804A rs1344706, AGAP1 rs13025591, TCF4 rs9960767, CACNA1C rs4765913, TENM4 rs12576775, RELN rs7341475 ve CSF2RA rs4129148’dir. Hasta ve kontrollerde genotiplenmeler tamamlandıktan sonra istatistiksel analizler yapılmıştır. Genel analizlerde; çalışılan 7 gen açısından bipolar hastaları ve kontroller arasında allelik bir ilişki bulunmamıştır. Şizofreni hastaları ile kontroller arasında ise ZNF804A rs1344706 GG genotipinin 2.5 kat koruyucu olduğu (OR=0.395, %95 Güven aralığı=0.161-0.967,  $x^2=4.359$ , df=1, p=0.037), T allelinin ise 2.5 kat risk oluşturduğu (OR=2.537, %95 Güven aralığı=1.034-6.213,  $x^2=4.359$ , df=1, p=0.037) belirlenmiştir. Cinsiyetlere göre analiz yapıldığında bipolar bozukluk için herhangi bir allelik ilişki belirlenmemiştir. Şizofreni için erkek grubunda, ZNF804A rs1344706 TT genotipinin 2.2 kat risk oluşturduğu (OR=2.229, %95 Güven aralığı=1.096-4.532,  $x^2=4.977$ , df=1, p=0.026), G allelinin ise 2.2 kat koruyucu olduğu (OR=0.449, %95 Güven aralığı=0.221-0.912,  $x^2=4.977$ , df=1, p=0.026) belirlenmiştir. Şizofreni kadın grubunda ise CSF2RA ve RELN genleri ile bağlantılar saptanmıştır. CSF2RA rs4129148 GC genotipinin 4.3 kat koruyucu olduğu (OR=0.233, %95 Güven aralığı=0.090-0.601,  $x^2=9.775$ , df=1, p=0.002), RELN rs7341475 GG genotipinin 2.7 kat risk oluşturduğu (OR=2.760, %95 Güven aralığı=1.058-7.197,  $x^2=4.490$ , df=1, p=0.034), GA genotipinin 3.1 kat koruyucu olduğu (OR=0.322, %95 Güven aralığı=0.118-0.881,  $x^2=5.147$ , df=1, p=0.023) ve A allelinin ise 2.7 kat koruyucu olduğu (OR=0.362, %95 Güven aralığı=0.139-0.945,  $x^2=4.490$ , df=1, p=0.034) belirlenmiştir.

Sonuçta; Türk popülasyonunda incelenen 7 polimorfizmden, ZNF804A rs1344706’nin şizofreni için hem genel, hem de erkek grubunda risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Şizofreni kadın grubunda ise RELN rs7341475 polimorfizminin risk faktörü olduğu, CSF2RA rs4129148 polimorfizminin ise koruyucu faktör olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada çalışılan tüm tek nükleotid polimorfizmleri için kullanılan PCR-RFLP yönteminin dizaynı ilk defa bizim tarafımızdan geliştirilip, literatüre kazandırılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Şizofreni, Bipolar Bozukluk, GWAS, ZNF804A, AGAP1, TCF4, CACNA1C, TENM4, RELN, CSF2RA, Polimorfizm, Bağlantı, SNP

## ABSTRACT

### The Investigation of the Genome Wide Association Studies-Associated Genes in Schizophrenia and Bipolar Disorder

Schizophrenia and bipolar disorder are polygenic, common and chronic psychiatric disorders that have lifetime risks of %1 worldwide. They are overlapping both symptomatically and genetically. They do not follow the Mendelian transmission. The overlap between schizophrenia and bipolar disorder has always been area of interest in psychiatry. They are very appropriate for Genome Wide Association Studies because of their polygenic and common characteristics. GWAS are systematic and objective studies based on “common disease, common variant” hypothesis that allow us to identify population specific and disease associated variants.

In this study; we collected blood from 105 patients with schizophrenia versus 137 voluntary healthy controls and 95 patients with bipolar disorder versus 108 voluntary healthy controls to examine in Turkish population. Both disorders are diagnosed according to the DSM-IV criteria. We selected seven GWAS-associated gene variants for investigation and genotyped this variants by using PCR-RFLP method. These variants were; ZNF804A rs1344706, AGAP1 rs13025591, TCF4 rs9960767, CACNA1C rs4765913, TENM4 rs12576775, RELN rs7341475 and CSF2RA rs4129148. Statistical analysis of the data suggested that there was no allelic association between the cases and healthy controls in bipolar disorder. For schizophrenia, GG genotype of ZNF804A rs1344706 polymorphism was found to have a 2.5 fold protective effect (OR=0.395, %95 CI=0.161-0.967,  $\chi^2=4.359$ , df=1, p=0.037) and T allele was found to have 2.5 increased risk (OR=2.537, %95 CI=1.034-6.213,  $\chi^2=4.359$ , df=1, p=0.037). When patients and healthy controls were stratified according to gender difference, there was no allelic association in men and women between bipolar disorder and healthy controls. When we analysed schizophrenia according to the gender, we found associations between ZNF804A gene variants in men and we found associations between CSF2RA and RELN genes variants in women. For ZNF804A rs1344706; TT genotype was found to have 2.2 increased risk (OR=2.229, %95 CI=1.096-4.532,  $\chi^2=4.977$ , df=1, p=0.026) and G allele was found to have a 2.2 fold protective effect (OR=0.449, %95 CI =0.221-0.912,  $\chi^2=4.977$ , df=1, p=0.026) in men for schizophrenia. GC genotype of CSF2RA rs4129148 was found to have 4.3 fold protective effect in women for schizophrenia (OR=0.233, %95 Güven aralığı=0.090-0.601,  $\chi^2=9.775$ , df=1, p=0.002). For RELN rs7341475; GG genotype was found to have 2.7 fold increased risk (OR=2.760, %95 CI=1.058-7.197,  $\chi^2=4.490$ , df=1, p=0.034), GA genotype was found to have 3.1 fold protective effect (OR=0.322, %95 CI=0.118-0.881,  $\chi^2=5.147$ , df=1, p=0.023) and A allele was found to have 2.7 fold protective effect in women for schizophrenia (OR=0.362, %95 CI=0.139-0.945,  $\chi^2=4.490$ , df=1, p=0.034).

In conclusion, it appears that only ZNF804A rs1344706 polymorphism was a risk factor for schizophrenia. According to the gender; ZNF804A rs1344706 polymorphism was a risk factor for schizophrenia in men, RELN rs7341475 polymorphism was a risk factor for schizophrenia in women and CSF2RA rs4129148 polymorphism was a protective factor for schizophrenia in women. In this study, we developed the PCR-RFLP methods to genotype these single nucleotide polymorphisms and these variants were studied for the first time in Turkish population.

**Keywords:** Schizophrenia, Bipolar Disorder, GWAS, ZNF804A, AGAP1, TCF4, CACNA1C, TENM4, RELN, CSF2RA, Polymorphism, Association, Single Nucleotide Polymorphism, SNP

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince kıymetli bilgileri, ilgisi ve desteği ile yanımda olan çok değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Ali SAZCI'ya,

Katkı ve yardımlarından dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Mustafa YILDIZ ve Doç. Dr. Emel ERGÜL'e,

Bana yardımcı eksik etmeyen sevgili iş arkadaşım Arş. Gör. Nihal ÜREN'e,

Tez çalışmam süresince beni hiç yalnız bırakmayan sevgili eşim Cihan ÖZEL'e, canım annem Zehra SÖZÜGÜZEL ve kardeşim Derya SÖZÜGÜZEL'e, tezimi yazdığım sırada kaybettiğim canım babam Salih Ertan SÖZÜGÜZEL'e ve her koşulda yanımda olduğunu bildiğim tüm dostlarıma çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XV
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVII
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	3
1.1.3.1. Şizofreninin Belirtileri	3
1.1.4. Şizofreninin Etiyolojisi	4
1.1.4.1. Şizofrenide Rol Oynayan Nörobiyolojik ve Patofizyolojik Nedenler	4
1.1.4.2. Erken Beyin Gelişimi	5
1.1.4.3. Biyokimyasal Nedenler	5
1.1.4.4. Çevresel Nedenler	6
1.1.5. Şizofreni Alt Tipleri	7
1.2. BİPOLAR BOZUKLUK	7
1.2.1. Bipolar Bozukluğun Epidemiyolojisi	8
1.2.2. Bipolar Bozukluğun Genetik Epidemiyolojisi	8
1.2.3. Bipolar Bozukluğun Klinik Özellikleri	8
1.2.3.1. Bipolar Bozukluğun Belirtileri	9
1.2.3.2. Bipolar Bozuklukta Nörobiyolojik Nedenler, Beyin Yapısı ve İşlevi	9
1.2.3.3. Bipolar Bozukluğun Alt Tipleri	10
1.3. Psikiyatrik Hastalıklarda Rol Oynayan Genlerin Belirlenmesi	11
1.3.1. Genom Bağlantı Analizleri	13
1.4. Şizofreni ve Bipolar Bozuklukta Örtüşme	23



1.4.1. Epidemiyolojik ve Klinik Benzerlikler	23
1.4.2. Genetik Örtüşme	25
1.5. Genetik Polimorfizmler	27
1.5.1. Kopya Sayısı Varyasyonları	28
1.5.2. Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP)	30
1.5.2.1. ÇİNKO PARMAKÇIK PROTEİNİ 804A (ZNF804A)	33
1.5.2.2. GTPase BÖLGESİ, ANKYRIN TEKRARI ve PLECKSTRİN HOMOLOJİ BÖLGESİNE SAHİP ADP-RIBOZILASYON FAKTÖRÜ 1 (AGAP1)	37
1.5.2.3. TRANSKRİPSİYON FAKTOR 4 (TCF4)	39
1.5.2.4. VOLTAJ-BAĞIMLI, L TİPİ KALSİYUM KANALI, 1C ALT ÜNİTESİ (CACNA1C)	42
1.5.2.5. TENEURİN TRANSMEMBRAN PROTEİNİ 4 (TENM4)	46
1.5.2.6. REELIN (RELN)	47
1.5.2.7. KOLONİ UYARICI FAKTÖR 2 RESEPTÖRÜ, ALFA, DÜŞÜK AFİNİTE, GRANÜLOSİT-MAKROFAJ (CSF2RA)	54
2.AMAÇ VE KAPSAM	58
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	59
3.1. Gereçler	59
3.1.1. Enzimler ve Primerler	59
3.1.2 Kimyasallar	59
3.1.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	60
3.1.3.1. DNA İzolasyon Çözeltileri	60
3.1.3.2.Elektroforez Solusyonları	61
3.1.3.3.Gümüş Boyama Solusyonları	62
3.1.4. Kullanılan Cihazlar	62
3.1.5. Etik Kurul Onayı ve Destek	62
3.1.6. Hasta Grubu	62
3.1.7. Kontrol Grubu	63
3.2. YÖNTEMLER	63
3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	63
3.2.2. DNA Konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü	63
3.2.3. Genotipleme	64
3.2.3.1.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	64

3.2.3.1.1. PCR ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektroforezinde Kontrolü	65
3.2.3.2. Restriksiyon Fragman Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)	66
3.2.3.2.1. Kesim Ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektroforezi	66
3.2.3.2.2. Gümüş Boyama	67
3.2.4. İstatistiksel Analiz	68
4. BULGULAR	69
4.1. Jel Görüntüleri ve Şematik Çizimler	69
4.2. Genel Sonuçlar	76
4.3. Cinsiyete Dayalı Bulgular	85
4.3.1. Şizofreni için Cinsiyete Bağlı bulgular	85
4.3.2. Bipolar Bozukluk için Cinsiyete Bağlı Bulgular	88
5. TARTIŞMA	90
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	112
KAYNAKLAR	116
ÖZGEÇMİŞ	124

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AGAP1	:GTPase Bölgesi, Ankyrin Tekrarı ve Plecstrin Homoloji Bölgesine Sahip ADP-Ribozilasyon Faktörü 1
ANK3	:Ankyrin 3
APA	:Amerikan Psikiyatri Birliği (American Psychiatric Association)
APOE	:Apolipoprotein E
APOER2	:Apolipoprotein E Reseptör 2
ATP2A2	:ATPaz, Kalsiyum Transport, Kardiyak Kas, Yavaş Atım 2
BCL11B	:B-Hücreli CLL/ Lenfoma 11B
BTA	:Başka Türü Adlandırılmayan
C2H2	:Sistein 2, Histidin 2
CACNA1C	:Kalsiyum Kanalı, Voltaj-Bağımlı, L Tipi, Alfa 1C Alt Ünitesi
CACNA1I	:Kalsiyum Kanalı, Voltaj-Bağımlı, T Tipi, Alfa 1 I Alt Ünitesi
CACNB2	:Kalsiyum Kanalı, Voltaj-Bağımlı, Beta 2 Alt Ünitesi
CAMKK2	:Kalsiyum/Kalmodulin-Bağımlı Protein Kinaz 2, Beta
CAT	:Bilgisayarlı Aksiyel Tomografi
CCK	:Kolesitokinin
CHRNA3	:Kolinerjik Reseptör, Nikotinik, Alfa 3 (Nöronal)
CHRNA5	:Kolinerjik Reseptör, Nikotinik, Alfa 5 (Nöronal)
CHRN4	:Kolinerjik Reseptör, Nikotinik, Beta 4 (Nöronal)
CI	:Confidence Interval (Güven Aralığı)
CLCN3	:Klorid Kanal, Voltaj-Duyarlı, 3
CNKSR2	:Ras 2 Kinaz Supresörleri Bağlayıcı Yükseltici
CNP	:Kopya Sayısı Polimorfizmi
CNTNAP2	:Contactin ilişkili, protein benzeri 2
CNTN4	:Kontaktin 4

CNV	:Copy Number Variation (Kopya Sayısı Varyasyonu)
COMT	:Catechol-O-Metyltransferase (Katekol-O-Metiltransferaz)
CSF2RA	:Koloni Uyarıcı Faktör 2 Reseptörü, Alfa, Düşük Afinite, Granülosit,Makrofaj
CSMD1	:CUB ve Sushi Multiple Bölgeleri 1
CTR	:C- Terminal Bölgesi
DAB1	:Disabled-1
dbSNP	:Tek Nükleotid Polimorfizmi Databankası
Df	:Degrees of freedom (serbestlik derecesi)
DNMT1	:DNA Metil Transferaz 1
DRD2	:Dopamin Reseptör 2
DSM-IV	:Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition of Mental Disorders (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, 4. Basım)
DSM-V	:Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition of Mental Disorders (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, 5. Basım)
EDTA	:Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EGF	:Epidermal Büyüme Faktörü
FISH	:Floresan in Situ Hibridzasyon
FXR1	:Frajil X Mental Retardasyon, Otozomal Homolog 1
GABA	:Gamma-Amino Bütirik Asit
GAD-67	:Glutamat Dekarboksilaz, 67 kDa
GNB1L	:Guanin Nükleotid Bağlanma Proteini (G protein), Beta polipeptid 1 benzeri
GRIA1	:Glutamat Reseptör, İyonotropik, AMPA 1
GRIN2A	:Glutamat Reseptör, İyonotropik, N-Metil D-Aspartat 2A
GRM2	:Glutamat Reseptör, Metabotropik 2
GRM3	:Glutamat Reseptör, Metabotropik 3
GRM7	: Glutamat Reseptör, Metabotropik 7
GWAS	:Genom Bağlantı Analizi Çalışmaları

HCN1	:Hiperpolarizasyon-Aktive Siklik Nükleotid-Kapılı Potasyum Kanalı1
HOXC8	:Homeobox C8
HWE	:Hardy-Weinberg Equilibrium
ICD-10	:Tenth Revision of the International Classification of Diseases (Dünya Sağlık Örgütü Hastalıkların Sınıflandırılması, 10. Sürüm)
IGSF9B	:İmmunoglobulin Super aile, Üye 9B
Indel	:İnsersiyon,Delesyon
ISC	:Uluslar arası Şizofreni Konsorsiyumu
JAK	:Janus Kinaz
KCNB1	:Voltaj-Kapılı Potasyum Kanalı, Shab-İlişkili Alt aile, üye 1
KCTD13	:Potasyum Kanal Tetramerizasyon Bölgesi İçeren, 13
LD	:Linkage Disequilibrium
LDL	:Düşük Özgül Ağırlığa Sahip Lipoprotein
MAPK	:Mitogen-Activated Protein Kinase
MEF2C	:Miyosit Yükseltici Faktör, 2C
MGS	:Şizofreninin Moleküler Genetiği
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)
NCBI	:National Center for Biotechnology Information
NIMH	:Ruh Sağlığı Ulusal Enstitüsü (National Institute of Mental Health)
NLGN4X	:Nöroligin 4, X-bağlı
NMDA	:N-Metil D-Aspartat
NNMT	:Nikotinamid N Metil Transferaz
NRGN	:Nörogranin
OR	:Odds Ratio (Risk Oranı)
PAK6	:p21 Protein (Cdc42/Rac)-Activated Kinase 6

PAK7	:p21 Protein (Cdc42/Rac)-Activated Kinase 7
PAP	:Pulmoner 4, Sürfaktan Metabolizma Bozukluğu
PBRM1	:Polibromo 1
PCR	:Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PET	:Pozitron Emisyon Tomografi
PH	:Pleckstrin Homoloji
PODXL	:Podokaliksin Benzeri
PRSS16	:Proteaz, Serin, 16
PTN	:Pleiotrofin
RAVLT	:Rey İşitsel Sözel Öğrenme Testi (Rey Auditory Verbal Learning Test)
RELN	:Reelin
RFLP	:Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi)
RIMS1	:Sinaptik Membran Ekzositoz Regülatör 1
SAM	:S-Adenozil Metiyonin
SATB2	:SATB Homeobox 2
SDS	:Sodyum Dodesil Sülfat
SNAP91	:Sinaptozomal İlişkili Protein, 91 kDa
SNP	:Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SPECT	:Tek Foton Emisyon Kompütörize Tomografi
SRR	:Serine Racemase
STMN3	:Statmin Benzeri 3
TCF4	:Transkripsiyon Faktör 4
TEMED	:Tetrametiletilenediamin
TENM4	:Teneurin Transmembran Proteini 4
TLE1	:Split 1, Transdusin Benzeri Yükseltici
TLE3	:Split 3, Transdusin Benzeri Yükseltici

VLDLR :Çok Düşük Özgül Ağırlığa Sahip Lipoprotein Reseptörü  
WHO :Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)  
ZNF804A :Çinko Parmakçık Proteini 804A  
 $\chi^2$  :Chi-square (khi kare)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1: Genel popülasyona oranla akrabalarda şizofreni hastası olma riski	2
Şekil 1.2: 2005-6/2012 arası yayınlanan GWAS makale sayısı	14
Şekil 1.3: 12/2012 itibariyle yayınlanan, 17 kategoriye ait GWA çalışmaları	15
Şekil 1.4: Genetik çalışmalar ile risk allellerinin frekansının ve penetransının saptanabilirlik durumları	16
Şekil 1.5: Şizofreni ile kromozomlar arasındaki bağlantı dereceleri	20
Şekil 1.6: Şizofreni ve bipolar bozukluk için tanısal kriterlerin 5 temel boyutta gösterilmesi	24
Şekil 1.7: Şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynayan etmenlerin dağılımı	26
Şekil 1.8: Tez çalışması akış şeması	31
Şekil 1.9: ZNF804A geninin kromozom 2 üzerindeki yerleşimi	33
Şekil 1.10: AGAP1 geninin kromozom 2 üzerindeki yerleşimi	37
Şekil 1.11: AGAP1'in yapısal bölgelerinin şematik görüntüsü	39
Şekil 1.12: TCF4 geninin kromozom 18 üzerindeki yerleşimi	39
Şekil 1.13: CACNA1C geninin kromozom 12 üzerindeki yerleşimi	42
Şekil 1.14: Voltaj-bağımlı kanal tipleri	43
Şekil 1.15: TENM4 geninin kromozom 11 üzerindeki yerleşimi	46
Şekil 1.16: RELN geninin kromozom 7 üzerindeki yerleşimi	48
Şekil 1.17: Kromozom X üzerinde rs4129148'in yerleşimi	56
Şekil 1.18: Kromozom Y üzerinde rs4129148'in yerleşimi	56
Şekil 4.1: ZNF804A geni rs1344706 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	69
Şekil 4.2: AGAP1 geni rs13025591 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	70
Şekil 4.3: CSF2RA geni rs4129148 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	71
Şekil 4.4: TCF4 geni rs9960767 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	72
Şekil 4.5: TENM4 geni rs12576775 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	73



<b>Şekil 4.6:</b> CACNA1C geni rs4765913 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	74
<b>Şekil 4.7:</b> RELN geni rs7341475 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi ve poliakrilamid jel görüntüsü	75
<b>Şekil 6.1:</b> Şizofeni de gen-çevre etkileşimi için geliştirilen metodolojiler	113

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1:</b> Şizofreni için çevresel risk faktörleri ve bunların genetik faktörlerle doğrudan ve dolaylı etkileşimleri	6
<b>Çizelge 1.2:</b> Şizofreni için genel yaklaşımlar ve genel sonuçlar	12
<b>Çizelge 1.3:</b> Şizofreni ile ilgili GWA çalışmalarından bazı örnekler	19
<b>Çizelge 1.4:</b> Şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynayan genlerden bazıları	26
<b>Çizelge 1.5:</b> Bipolar bozukluk için GWA çalışmaları ile belirlenen aday genler ve kromozomal yerleşimleri	27
<b>Çizelge 1.6:</b> Şizofreni için GWA çalışmaları ile belirlenen aday genler ve kromozomal yerleşimleri	27
<b>Çizelge 1.7:</b> GWA çalışmaları ile şizofreniyle ilişkisi belirlenen CNV'ler	29
<b>Çizelge 1.8:</b> GWA çalışmaları ile bipolar bozuklukta ilişkisi belirlenen CNV'ler	29
<b>Çizelge 1.9:</b> SNP seçiminde incelenen GWA çalışmaları	32
<b>Çizelge 1.10:</b> Şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümlene sonuçları, T allel frekansları	37
<b>Çizelge 1.11:</b> Şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümlene sonuçları, C allel frekansları	42
<b>Çizelge 1.12:</b> Şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümlene sonuçları, A allel frekansları	54
<b>Çizelge 3.1:</b> Polimorfizmlere göre kullanılan primer dizileri ve enzimler	59
<b>Çizelge 3.2:</b> Polimorfizmlere göre PCR için bağlanma koşulları, döngü miktarları	64
<b>Çizelge 3.3:</b> PCR ile çoğaltılan gen dizileri ve uzunlukları	65
<b>Çizelge 3.4:</b> Polimorfizmlere göre RFLP için kullanılan enzimler, kesimde kullanılan enzim, distile su ve PCR ürünü miktarları, kesim sıcaklığı	66
<b>Çizelge 3.5:</b> Her polimorfizm için poliakrilamid jel elektroforezi koşulları	67
<b>Çizelge 4.2:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre ZNF804A rs1344706 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	77
<b>Çizelge 4.3:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre AGAP1 rs13025591 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	78

<b>Çizelge 4.4:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre CSF2RA rs4129148 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	79
<b>Çizelge 4.5:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre TCF4 rs9960767 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	80
<b>Çizelge 4.6:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre TENM4 rs12576775 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	81
<b>Çizelge 4.7:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre CACNA1C rs4765913 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	82
<b>Çizelge 4.8:</b> Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre RELN rs7341475 genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri	83
<b>Çizelge 4.9:</b> Şizofreni ve kontrol gruplarına göre ZNF804A rs1344706 GG genotip dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri	84
<b>Çizelge 4.10:</b> Şizofreni ve kontrol gruplarına göre ZNF804A rs1344706 T allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri	84
<b>Çizelge 4.11:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlerine göre dağılımı	85
<b>Çizelge 4.12:</b> Şizofreni için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)	86
<b>Çizelge 4.13:</b> Şizofreni için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)	86
<b>Çizelge 4.14:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre erkeklerde ZNF804A rs1344706 TT ve G için genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri	87
<b>Çizelge 4.15:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre kadınlarda CSF2RA rs4129148 GC genotip dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri	87
<b>Çizelge 4.16:</b> Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre kadınlarda RELN rs7341475 GG, GA ve A için genotip ve allel dağılımları, $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri	88
<b>Çizelge 4.17:</b> Bipolar bozukluk hasta ve kontrol grubunun cinsiyetlerine göre dağılımı	89

<b>Çizelge 4.18:</b> Bipolar bozukluk için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)	89
<b>Çizelge 4.19:</b> Bipolar bozukluk için polimorfizmlere göre $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)	89
<b>Çizelge 5.1:</b> ZNF804A için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	92
<b>Çizelge 5.2:</b> AGAP1 için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	93
<b>Çizelge 5.3:</b> TCF4 için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	95
<b>Çizelge 5.4:</b> CACNA1C için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	97
<b>Çizelge 5.5:</b> TENM4 için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	99
<b>Çizelge 5.6:</b> RELN için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	103
<b>Çizelge 5.7:</b> CSF2RA için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları	106
<b>Çizelge 5.8:</b> Tez çalışmasında anlamlı çıkan bölgeler için Pearson uyum iyiliği ki kare testi p değerleri	107
<b>Çizelge 5.9:</b> RFLP ve GWA çalışmalarının istatistiksel güç ve örnek sayısı bakımından karşılaştırılması	110

# 1.GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

## 1.1 ŞİZOFRENİ

Şizofreni, genellikle iş ve sosyal yaşamdaki işlevselliğin premorbid düzeyin altında kalmasına yol açacak şekilde bir yıkıma yol açan kronik bir ruhsal hastalıktır. Başlıca belirtileri sanrılar, varsanılar, uygunsuz veya künt duygulanım, dağınık konuşma ve davranışlardır.

Şizofreni hastalığını ilk kez, 1893 yılında Alman psikiyatrist Emil Kraepelin (1856-1926), “*dementia praecox*” (*de*: ayrı, *mentia*: akıl, *praecox*: erken) terimiyle, katatonik, hebefrenik ve paranoid tabloları kuşatan, adölesansda başlayıp, demansla sonlanan bir hastalık şeklinde tanımlamıştır. İsviçre’li psikiyatrist Eugen Bleuler (1857-1926) ise; 1908 yılında ilk kez “*şizofreni*” kelimesini önererek hastalıktaki ana bozukluğun, psikolojik süreçler arasında bağlantı kopması olduğunu, adölesanda başlama ve yıkımla sonlanmanın her zaman şart olmadığını ileri sürmüştür. *Schizo*: bölünme, *Phrenia*: akıl anlamına gelmektedir (Adam ve ark. 1998).

### 1.1.1 Şizofreninin Epidemiyolojisi

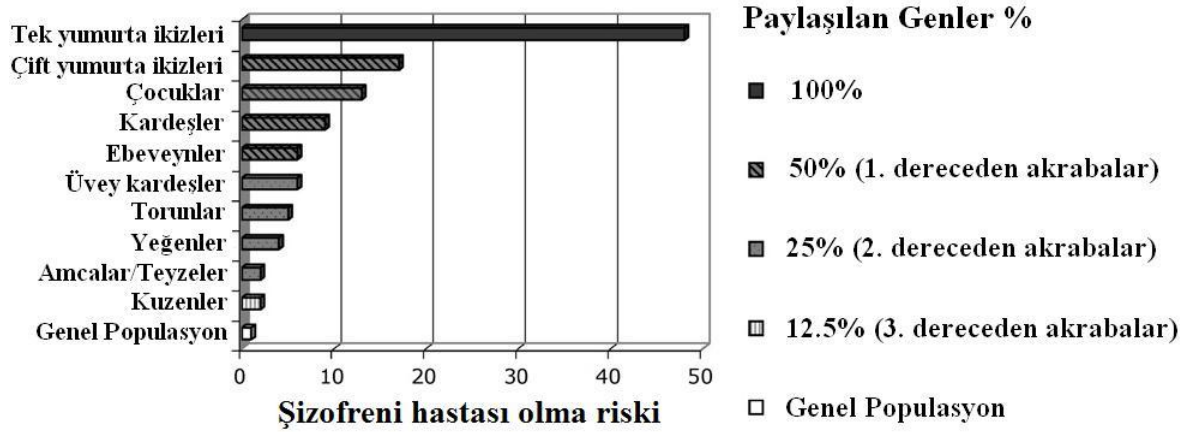
Şizofreni dünya çapında, popülasyonun yaklaşık %1’ini etkilemektedir. Dünya Sağlık Örgütü’ne göre dünya çapında 21 milyon şizofreni hastası bulunmakta, bunların 12 milyonunu erkek hastalar, 9 milyonunu da kadın hastalar oluşturmaktadır (WHO). Hastalık genellikle ergenlik veya erken yetişkinlik dönemlerinde (15-30 yaş) başlamakla beraber daha kadınlarda, erkeklere oranla daha geç yaşlarda başlayabilmektedir. Hastalık ne kadar erken başlarsa, kişi üzerindeki harabiyet o kadar fazla olmakta, normal bir yaşam sürme şansı da o kadar azalmaktadır.

Şizofrenin yıllık görülme sıklığı, 8-40/100.000 şeklinde olmakla beraber, bu oran kıtalar arasında benzerlik göstermektedir. Yaşamsal risk oranı %0.7’dir. Şehirsal bir yaşam şekli ve göç etme şizofreni görülme sıklığını arttırmaktadır. Düşük sosyoekonomik sınıflarda daha sık görülmektedir (Tandon et al. 2008b).

İsveç, İrlanda ve Hırvatistan'ın bazı bölgelerinde ve Kanada'lı Katolikler arasında yüksek, Tayvan ve Gana'daki bazı kabilelerde ise düşük yaygınlık oranları bildirilmiştir (Koroğlu ve Güleç, 2007).

### 1.1.2 Şizofreninin Genetik Epidemiyolojisi

Yapılan ayrıntılı genetik çalışmalar sonucu; şizofreninin yüksek derecede kalıtsal olduğu ve genetik faktörlerin hastalığın oluşumunda yaklaşık %80'lik bir katkı sağladığı belirlenmiştir (Tandon R., 2008b). Aile, ikiz ve evlat edinme araştırmaları göstermiştir ki, genel nüfusta %1 olan hastalanma riski, akrabalık derecesiyle yani paylaşılan gen yüzdesiyle ilişkili olarak artmaktadır (Şekil 1.1). Örneğin; tek yumurta ikizlerinden biri şizofreni hastası ise, diğer kardeşin hasta olma riski %48 oranında olmaktadır (Austin, 2005; Faraone et al. 2002; Mueser and McGurk, 2004; Owen, 2005).



Şekil 1.1 Genel popülasyona oranla akrabalarda şizofreni hastası olma riski (Austin, 2005)

Şizofrenide moleküler genetik çalışmalar ise kromozom anomalilerinin varlığı, genomda kopya sayısı varyasyonlarının (CNV) ve tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) çeşitli dağılımları, microRNA genleri içinde yer alan anormal SNP'lerin varlığı, mitokondriyal DNA mutasyonları ve epigenetik değişimler gibi olayların her birinin hastalığın oluşum mekanizmasında çeşitli roller oynadığını göstermiştir (Cacabelos and Martinez-Bouza, 2010).

### 1.1.3 Şizofreninin Klinik Özellikleri

Dünyada hastalıkları sınıflandırmak için kullanılmakta olan iki çeşit tanı dizgesi vardır. Bunlar; Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kullanılan ICD-10 (Tenth Revision of the International Classification of Diseases) (WHO, 1990) ve Amerikan Psikiyatri Birliği (APA) tarafından kullanılan DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fourth Edition)'dür (APA, 1994). Her iki sistemde, belirtileri 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. 2013 yılında DSM-V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition-2013) şeklinde yeni bir düzenleme yapılmıştır.

#### 1.1.3.1 Şizofreninin Belirtileri

Şizofreninin belirtileri, hastalarda süreleri ve şiddetinde değişkenlik gösterecek şekilde 3 alt sınıfta toplanabilir. Bunlar;

**Pozitif belirtiler:** Normal bir bireyde olmayan davranış bozukluklarının artması ile ilgili belirtilerdir. Psikotik belirtiler olarak adlandırılabilirler (Sanrılar, varsanılar, dağınık düşünce ve davranışlar gibi). Pozitif belirtiler genellikle tedaviye iyi yanıt verir.

**Negatif belirtiler:** Normal bireyde bulunan temel duygusal ve davranışsal süreçlerde değişik derecelerde kayıplar söz konusudur (Yüz ifadesinin değişmemesi, sosyal ilgilerin kaybı, duygusal yanıtsızlık, motivasyon eksikliği gibi). Bu belirtiler tedaviye daha az yanıt verir.

**Bilişsel belirtiler:** 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 şizofreni hastalarında, 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.

Ayrıca şizofreni hastalarında şişmanlık ve kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riski daha fazladır. Madde bağımlılığı daha yüksektir (Tandon et al. 2008a).

#### **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 (Poligenik kalıtım). Şizofreninin oluşumu için birçok nörobiyolojik hipotez ortaya atılmıştır. Bunlar Poligenik/Multifaktöriyel genomik kusurlar, perinatal ve anne karnındaki genom-çevre etkileşimleri, nörogelişimsel hasarlar, biyokimyasal hasarlar (dopaminerjik, kolinerjik ve glutamerjik), mevsimsel enfeksiyon, nöroimmun bozukluklar, epigenetik düzensizlikler şeklinde sıralanabilir (Cacabelos and Martinez-Bouza, 2010).

##### **1.1.4.1 Şizofrenide Rol Oynayan Nörobiyolojik ve Patofizyolojik Nedenler:**

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. Örneğin; şizofrenide hastalığın daha başlangıç aşamasında bile beyinde yapısal anomaliler görülür. Toplam beyin hacmi azalır, lateral ventriküler boşluklar daha büyüktür. Beynin temporal lob yapıları, prefrontal korteks ve talamus kısımlarında gri madde azalması görülür (Sadock and Sadock, 2007).



Prefrontal kortekste hem dinlenme hem de bilişsel işlemler esnasında azalmış aktivite (hipofrontalite) görülür. Görüntüleme yöntemleri ile farklı bilişsel görevler esnasında, anormal aktivasyon modelleri ortaya çıkmaktadır. Post mortem beyin bulguları gliyoz kaybını göstermektedir. Uyku yapısında bozukluklar ortaya çıkmakta ve birbirini takip eden anormal göz hareketleri görülmektedir (Keshavan et al. 2008).

#### **1.1.4.2 Erken Beyin Gelişimi**

Hafıza, dikkat gibi işlevler, 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 veya 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).

#### **1.1.4.3 Biyokimyasal Nedenler**

Şizofreninin biyokimyasal/nörokimyasal teorileri 3 temel alana ayrılmıştır. Bunlar; 1-Beyindeki monoamin mekanizmalarındaki anormal süreçler (Dopamin, serotonin, noradrenalin ve bunların yıkımından sorumlu enzim) Şu ana kadar yapılan araştırmalar arasında, en baskın biyokimyasal teori, dopamin teorisi. Dopamin beyinde mezolimbik yolda görev alan bir nörotransmitterdir. Beyin nöronları arasındaki iletişimi sağlar ve dopamin reseptörlerini aktive eder. Dopamin ayrıca hipotalamustan salgılanan bir nörotransmitterdir. Bu hormonun görevi hipofiz bezinin anterior lobundan prolaktin salgılanmasını inhibe etmektir.

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

a) Psikotik belirtileri ortadan kaldıran nöroleptik ilaçlar, dopaminerjik reseptörleri (özellikle Dopamin<sub>2</sub> reseptörlerini) bloke ederek, beyinde dopamin salgılanmasını azaltırlar.

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

2-Şizofrenik belirtilerden biri olan santral norepinefrin aktivite artışının, GABA (Gamma-aminobütirik asit) aktivite azalması nedeniyle, dopamin üzerindeki inhibitör etkisinin azalması sonucunda dopamin salgılanmasının artışının sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

3-Beynin aktivitesini etkileyen, nöronal iletişimde görevli nöropeptidlerin (Kolesitokinin vb.) salgılanmasında oluşan hasarların, şizofreniye sebep olan bir diğer faktör olabileceği düşünülmektedir (Noll R. 2007; Adam ve ark. 1998).

#### 1.1.4.4 Çevresel Nedenler

Şizofreni oluşumunda birçok çevresel faktör rol oynamaktadır. Örneğin; doğum öncesi ve sonrası komplikasyonlar, yetersiz beslenme, ilerlemiş baba yaşı, diyabet gibi biyolojik faktörlerin yanı sıra sosyoekonomik koşullar, etnik köken, meslek gibi sosyal nedenler de hastalığın oluşumunda rol oynayabilir. Şizofreni için çevresel risk faktörleri ve bunların genetik faktörlerle doğrudan ve dolaylı etkileşimleri çizelge 1.1’de gösterilmiştir. (Rethelyi et al. 2013).

#### Çizelge 1.1 Şizofreni için çevresel risk faktörleri ve bunların genetik faktörlerle doğrudan ve dolaylı etkileşimleri

Çevresel Faktörler/Etkiler	Psikolojik/Biyolojik Etki Mekanizmaları	Genetik Yatkınlıkla İlişki
Doğum öncesi enfeksiyonlar/yetersiz beslenme Kadın doğum komplikasyonları	Beyin gelişimine zararlı etki	Aile temelli yatkınlık ve genetik varyantlara dair orta seviyede kanıt
Şehir yaşamı	Sosyal uyumsuzluk/dışlanma ve yerleşim istikrarsızlığı	Aile temelli yatkınlık
Azınlık ve göçmenlik durumu	Kronik sosyal karşıtlıklar/dışlanma	Aile temelli yatkınlık
Uyuşturucu ve ilaç kullanımı	Artmış mezolimbik dopaminerjik iletim ve azalmış NMDA glutamerjik aktivite	Aile temelli yatkınlığa dair güçlü kanıtlar, genetik varyantlara dair karışık sonuçlar
Gelişimsel travmalar	Suistimal, kronik stres ve ihmal edilme	Henüz netleşmemiş genetik varyant ve aile çalışmaları
Ayrımcılık/ırkçılık	Sosyal dışlanma durumu	Çoğunlukla sadece şizofreni hastalarında çalışılmış

### 1.1.5 Şizofreni Alt Tipleri

DSM-IV kriterlerine göre; hastada teşhis aşamasında belirlenen baskın belirti özelliklerine göre 5 alt tipten bahsedilebilir. Hastalığın ilerleme durumuna bağlı olarak, kişiye farklı teşhisler konulabilir. DSM-IV 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 (Noll R. 2007).

2013 yılı itibariyle Amerikan Psikiyatri Birliği tarafından yayınlanan DSM-V'e göre bu alt tipler tamamen ortadan kaldırılmıştır (APA, 2013).

## 1.2. BİPOLAR BOZUKLUK

Şizofrenide olduğu gibi, bipolar bozukluğun 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 belirti göstermeden normal davranabildiğini belirtmiştir. Bipolar terimi ise ilk kez 1957'de Karl Leonhard tarafından kullanılmıştır. 1980 yılında da DSM-IV'e bipolar bozukluk şeklinde yerleşmiştir (Phillips and Kupfer, 2013).

Manik-depresif hastalık olarak da bilinen bipolar bozukluk; episodik olarak tekrarlayan uç seviyelere kadar varabilen mani veya depresyon gibi patolojik duygudurum değişimlerini içeren bir ruh hastalığıdır. Çoğunlukla düşünme ve davranış bozuklukları ile beraber görülür. Hatta kimi zaman psikotik özellikler (sanrı, varsanı vb.) eşlik edebilir (Craddock and Sklar, 2013). 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. Teşhise yönelik testler henüz olmasa da, hastalığın alt tipini belirlemede sadece klinik

özellikler kullanılır. Hastalığın etkili bir tedavisi vardır ve hastayı boşanma, iş kaybı, alkol ve madde kötü kullanımı ve intihar gibi sonuçlardan korur.

### **1.2.1 Bipolar Bozukluğun Epidemiyolojisi**

Bipolar bozukluğun, populasyonda görülme sıklığı %1'dir. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre dünya çapında 60 milyon bipolar bozukluk hastası bulunmaktadır (WHO). Majör duygudurum bozukluklarının %20'sinin bipolar bozukluk olduğu söylenebilir. Kadın ve erkeklerde genelde aynı oranda görülür (Craddock et al. 2005). Puberte öncesi seyrek görülür. Kadınlarda 20, erkeklerde ise ortalama 18 yaşlarında ortaya çıkar. Bipolar bozukluk genellikle 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 bozuklukta kalıtsaldır. Psikotik ve ya ciddi manik dönemlerde şiddet davranışları sorun yaratabilir. Hasta iş, okul, evlilik ve sosyal yaşamda ciddi kayıplar yaşayabilir. Aile fertleri genellikle ağır davranış bozukluklarıyla savaşmak zorunda kalırlar (Köroğlu ve Güleç, 2007).

### **1.2.2 Bipolar Bozukluğun Genetik Epidemiyolojisi**

Yapılan aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları bipolar bozukluğunda, aynı şizofreni gibi kalıtsal olduğunu göstermiştir. Bu hastalığı gösteren bireylerde genelde aile öyküsü mevcuttur. Paylaşılan gen miktarı ile hastalanma riski doğru orantılı olarak artmaktadır. Örneğin; genel populasyonda %0.5-1.5 arasında olan hastalanma riski, birinci dereceden akrabalarda %5-10'a tek yumurta ikizlerinde %40-70'e kadar artmaktadır. Ayrıca bipolar hastası olan bir bireyin yakınlarının, unipolar depresyon ve şizoafektif bozukluk gibi diğer psikiyatrik hastalıklara yakalanma riskleri yüksektir (Craddock and Sklar, 2013).

### **1.2.3 Bipolar Bozukluğun 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 nöbet 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).

2013 yılı itibariyle APA tarafından yayınlanan DSM-V’te bipolar bozukluk ile ilgili bazı değişiklikler yapılmıştır. Örneğin; DSM-V içerisinde bipolar bozukluk ve ilişkili hastalıkların kendilerine ait bir bölümü vardır. Tanı kriterlerine duygudurum değişikliklerinin yanı sıra aktivite ve enerji değişimleri de ilave edilmiştir. Tanı koymada daha boyutlu araştırmaların yapılması, hastaların manik veya depresif dönemdeki psikopatolojik ölçümlerin yapılması önerilmektedir (Phillips and Kupfer, 2013).

### **1.2.3.1 Bipolar Bozukluğun Belirtileri**

Ruh Sağlığı Ulusal Enstitüsü (NIMH)’ne göre bipolar bozukluğun belirtileri şu şekildedir:

#### **Manik nöbet belirtileri:**

Duygudurum Değişimleri: Uzun dönemli bir aşırı derecede iyi hissetme, sürekli yükselen duygudurumu, aşırı sinirlilik, asabiyet.

Davranışsal Değişimler: Çok hızlı konuşma, bir konudan bir konuya atlama, düşüncelerin uçuşması, Dikkat dağınıklığı, Sürekli yeni aktivite arayışı, huzursuzluk, uykuda azalma ve yorgunluk hissetmeme, gerçekdışı inanışlar, yüksek riskli davranışlar sergileme, fevri ataklar.

#### **Depresif nöbet belirtileri:**

Duygudurum Değişimleri: Uzun süreli üzgün hissetme ve umutsuzluk durumu, daha önce ilgisini çeken aktivitelerden uzaklaşma.

Davranışsal Değişimler: Yorgun hissetme, hareketlerde yavaşlama, konsantrasyon, hatırlama ve karar verme güçlüğü, huzursuz ve gergin hissetme, yeme, uyuma vb. alışkanlıklarda değişimler, intihar ve ölüm düşünceleri, intihar teşebbüsü (<http://www.nimh.nih.gov/health/topics/bipolar-disorder/index.shtml>).

### **1.2.3.2 Bipolar Bozuklukta Nörobiyolojik Nedenler: Beyin Yapısı ve İşlevi**

Beyin görüntüleme araçları (fMRI ve PET) ile beynin aktivite halindeki görüntüleri alınabilmektedir. Yapılan çalışmalarda bipolar hastalarının beyin yapılarının ve aktivitelerinin, sağlıklı bireylere göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Örneğin; bir çalışmada MRI görüntüleme yöntemi ile bipolar bozukluk hastası çocuklarda beyin gelişimi incelendiğinde, “çok boyutlu bozulma” gösteren çocuklarla benzer bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Bu sebeple bu hasarlar hem bipolar bozukluk, hem de şizofreni benzeri belirtilere sebep olabilmektedir. Yani; beyin gelişimindeki hasarların dengesiz duyguduruma da sebep olabileceğini göstermektedir. Farklı bir çalışmada ise yetişkin bipolar hastalarının beyinlerinin prefrontal korteksinin, sağlıklı bireylere oranla daha küçük olduğu ve daha az işlev yaptığı gösterilmiştir. Prefrontal korteks; özellikle problem çözme ve karar verme gibi yönetimsel görevlerden sorumludur. Beynin bu bölgesinin ergenlik döneminde olgunlaştığı düşünülürse, anormal bir gelişim sonunda bipolar bozukluğu oluşabilmektedir. Bu yüzden erken başlangıçlı bir hastalık olarak kabul edilir (<http://www.nimh.nih.gov/health/topics/bipolar-disorder/index.shtml>).

### **1.2.3.3 Bipolar Bozukluğun Alt Tipleri**

Kişide, teşhis aşamasında belirlenen baskın belirti özelliklerine göre 4 alt tipten bahsedilebilir. Hastalığın ilerleme durumuna bağlı olarak, kişiye farklı teşhisler konulabilir. DSM-IV ölçütlerine göre bipolar bozukluğun alt tipleri sırasıyla şu şekildedir;

1-Bipolar I: En azından bir tane uzun süreli manik dönem veya karışık (manik ve depresif) dönem görülür. Genelde bir tane depresif dönem de eşlik eder.

2-Bipolar II: Birçok uzamış depresif dönemlere, en az bir hipomanik dönem eşlik eder. Manik nöbet görülmez.

3-Siklotimik bozukluk (Hızlı döngü): Hipomanik ve depresif belirtilerin döngüsel şekilde birbirini takip etmesi söz konusudur.

4-Başka yerde sınıflandırılmayan bipolar bozukluk: Depresif ve hipomaniye benzer belirtiler görülür. Döngüler hızlı bir şekilde değişebilir ama yukarıdaki kriterleri tümü ile sağlamaz (Amerikan Psikiyatri Birliği, DSM-IV, 2000).

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

Psikiyatrik hastalıklarda moleküler çalışmalar, küçük ölçekli hastalığı taşıyan ailelerin genetik analizi ile başlamıştır. Bu ailelerde yüksek etkili allellerin saptanması ile fonksiyonel aday gen araştırmaları ön plana çıkmıştır. Bunu takiben yüksek ölçekli bağlantı analizleri, pozisyonel aday gen ve mikroskopik kromozom anomalileri taramaları geliştirilmiştir. Binlerce fonksiyonel aday gen belirlenmesine rağmen güçlü bağlantılar tespit edilememiştir. Bu sonuçlar ile bu hastalıkların patofizyolojisini anlamının henüz mümkün olmayacağını, yaygın allellerin küçük etkileri, nadir allellerin ise büyük etkileri olabileceği gerçeğinin farkına varılmıştır. Bu sonuçlar nörobilişsel, nöro-görüntüleme, gen ekspresyonu gibi birçok başka yöntemle de desteklenmiştir.

Genetik teknolojilerdeki son gelişmeler, şizofreni ve bipolar bozukluk gibi kompleks hastalıkların genetiğini çalışmayı mümkün hale getirmiştir. Öncelikle genom çapındaki haplotip haritalarının çıkarılması ile genoma dağılmış 3.1 milyon SNP'nin birlikte incelenmesi ve sonucunda da Genom bağlantı analizlerinin (GWAS) yapılması sağlanmıştır. Daha düşük maliyetlerle, daha fazla hasta ve kontrol çalışmak mümkün olmuştur. Bu çalışmaların follow-up (takip) analizleri ile çok daha fazla örneğin sonuçları birlikte değerlendirilebilmiştir (Owen et al.2009).

Çizelge 1.2'de şizofreni için kullanılan genel yaklaşımlar ve sonuçlar gösterilmektedir. Aynı yaklaşımlar bipolar bozukluk için de kullanılabilir. Bu çalışmada araştırılan genler "Genom Bağlantı Analizleri" ile psikiyatrik hastalıklarda rol oynadığı belirlenmiş genler arasından seçilmiştir.

**Çizelge 1.2 Şizofreni için genel yaklaşımlar ve genel sonuçlar (Kim et al. 2011)**

<b>Metod</b>	<b>Prensip</b>	<b>Sonuç</b>
Klinik Gözetim	Muayene esnasında aile öyküsü alınması. (DNA analizi yapılmaz.)	Son 100 yıldır, Mendel kalıtımı gösteren bir pedigrî dağılımı rapor edilmemiştir.
Genetik Epidemiyoloji	Şizofreni için farklı akraba derecelerinde (Aile, ikiz, evlatlık vb.) tanı konulması. (DNA analizi yapılmaz.)	Aile öyküsü önemli bir risk faktörü, Çoğunlukla (>90%) sporadik olmasına karşın, Kalıtsal: %81 (%73-90)
Segregasyon Analizi	Şizofreni pedigrîlerinde gözlemlenen tanılar, hangi kalıtım modelleri ile istatistiksel olarak uyumlu olduğunun belirlenmesi. (DNA analizi yapılmaz.)	Bilgi verici değildir, çünkü birçok kalıtım modeli ile uyumluluk göstermektedir.
Sitogenetik	Karyotipleme ile genomik değişiklikler saptanması. (>3Mb)	del22q11.2 nadir ve etkili bir delesyondur ama şizofreniye özgü değildir.
Genom Çapında Bağlantı	Pedigrîlerinde şizofreni ile ilişki saptanan bireylerde genom analizi yapılarak, ilişkili bölgelerin taranması.	Anlamli ve tekrarlanabilir sonuçlar saptanmamıştır.
Aday Gen Çalışmaları	Şizofreni etiyolojisinde rol oynadığı düşünülen genlerin seçilip, hasta ve kontrollerde genetik frekanslarının saptanması.	Önemli bir çalışma alanı olmasına rağmen, metodolojik sıkıntılar nedeni ile anlamli ve tekrarlanabilir sonuçlar bulunmamaktadır.
<b>Genom Bağlatı Analizleri</b>	<b>Şizofreni hastaları ve kontrollerde çeşitli lokuslar için tarafsız genom taraması</b>	<b>Birçok bölge anlamlılık ve tekrarlanabilirlik açısından modern kriterleri karşılamaktadır. Şizofreninin yüksek derecede poligenik olduğu belirlenmiştir.</b>
Kopya Sayısı Varyasyonları	Şizofreni hastaları ve kontrollerde genomik değişikliklerin taranması (Rezölüsyon<100Kb)	Şizofreni için nadir, göreceli olarak güçlü risk bölgeleri saptanmıştır. (15q13.3 vb.)
Tekrar Dizileme	Yeni nesil dizileme cihazları ile ekzom veya genom dizilemesi yapılır. Hasta ve kontrol gruplarında çeşitli frekanslarda bulunan tek nükleotid polimorfizmleri, kopya sayısı varyasyonları saptanır.	Çalışmalar halen devam etmektedir.



### 1.3.1 Genom Bağlantı Analizleri (GWAS)

Psikotik hastalıklar ile duygudurum bozuklukları arasındaki ilişkinin doğası her zaman psikiyatrinin ilgi alanı olmuştur. Her iki hastalık grubunun genetik temeli ikiz çalışmaları, evlat edinme vb. çalışmalarla saptanmıştır. Moleküler genetik çalışmalar ise bu hastalıklar arasındaki ilişkiyi daha ileri analiz ederek hem örtüşmeleri, hem de farklı yönlerini belirlemede önemli bir rol üstlenmektedir.

İnsan Genom Projesinin tamamlanması sonrasında onu destekleyen ve ileri analizleri amaçlayan HapMap projesi başladı. Amacı genetik varyasyon veritabanı oluşturmaktı ve “yaygın hastalık, yaygın varyant” temelini esas alan bu proje ile popülasyonda %1-5 arası görülen hastalıklara odaklanıldı. Belirlenen ortak SNP’lerin yaygın kompleks hastalıklarla ilişkisi taranmaya başlandı. Bu projenin en büyük getirilerinden biri “Genom Bağlantı Analizleri” oldu. Populasyonlar arası farklılıklar belirlenmek istendi. Yaygın SNP’ler belirlenip, aynı kromozom üzerinde yakın SNP’lerin birlikte bloklar şeklinde kalıtılmasından yola çıkarak TagSNP’ler ve Haplotip Blokları oluşturuldu (LD mapping ile). Toplamda yaklaşık 11 milyon olan SNP sayısını TagSNP’ler şeklinde azaltıp, ilişkili olanları ayırt etmek ve kısa sürede verimli sonuçlar elde etmek amaçlandı.

GWAS’larda çok kısa sürede çok önemli bir yol katedildi. 450’den fazla genom bağlantı analizi sonucu, hastalıklarla ilişkili 2000’den fazla tek nükleotid polimorfizmi (SNP) saptanmıştır. GWAS’lar genellikle çalışılan hastalıkla ilişkili kaç tane gen bulunduğuna göre değerlendirilir. Bu yöntemin önemli yönleri sırasıyla şu şekildedir:

- İlişkisi saptanan genler hastalığın patofizyolojik mekanizmasına ışık tutabilir.
- Hastalık fenotipi ile genotip bağlantısına göre ilaç tedavisi uygulanabilir.
- Hastalıkla ilişkili SNP’ler saptanıp, bunların birbirleriyle olan ilişkileri hastalığın büyük bir kısmını oluşturabilir. Örneğin; şizofreni nedenlerinin %32-36 kadarı bu şekilde SNP ve diğer varyantlardan oluşmaktadır.
- GWAS’larda kullanılan örnek sayısının yüksek olması istatistiksel gücü de arttırmaktadır (Bergen and Petryshen, 2012). 2005-6/2012 arası yayımlanan GWAS makale sayısı şekil 1.2’de görülmektedir ([www.genome.gov/gwastudies](http://www.genome.gov/gwastudies)).



**Şekil 1.2 2005-6/2012 arası yayınlanan GWAS makale sayısı**

Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu beş temel psikiyatrik hastalığı, geniş çaplı ve istatistiksel olarak daha güçlü bir şekilde araştırmak için kurulmuştur. Bu hastalıklar; Otizm, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, bipolar bozukluk, şizofreni ve majör depresyondur. Bu kolaborasyonun temel amacı mümkün olduğunca çok örneğe ulaşmaktır, çünkü tek bir çalışma grubu bu kadar örneğe ulaşamaz. Konsorsiyumun diğer amaçları ve önemli hususlar şu şekildedir:

- 1) Toplanan verilerin düzenlenmesi ve kalite kontrolü çok önemlidir. Her küçük grubun kullandığı genotipleme yöntemi, tanı kriterleri, hasta bilgileri farklı olabilir. Bu verilerde yanlışlığı önlemek için düzenlenmelidir.
- 2) Tüm verilerin mega analizi için hangi yöntemin kullanılacağına doğru karar vermek gereklidir.
- 3) Psikiyatrik hastalıklarda tanı, hasta ve doktor arasındaki ilişkiler içerisinde işaret ve belirtilere göre konulur. Testler mevcut olmasına rağmen, bunların geçerliliği tartışılmaktadır. Ayrıca hastalıklar arasında örtüşmeler de vardır. Bu yüzden hastalıkların birlikte çalışılması benzerlik ve farkları daha iyi yansıtabilecektir.
- 4) Ortaya çıkan verilerin paylaşımı gelecek çalışmalara çok önemli yararlar sağlayacaktır (Sullivan, 2010).

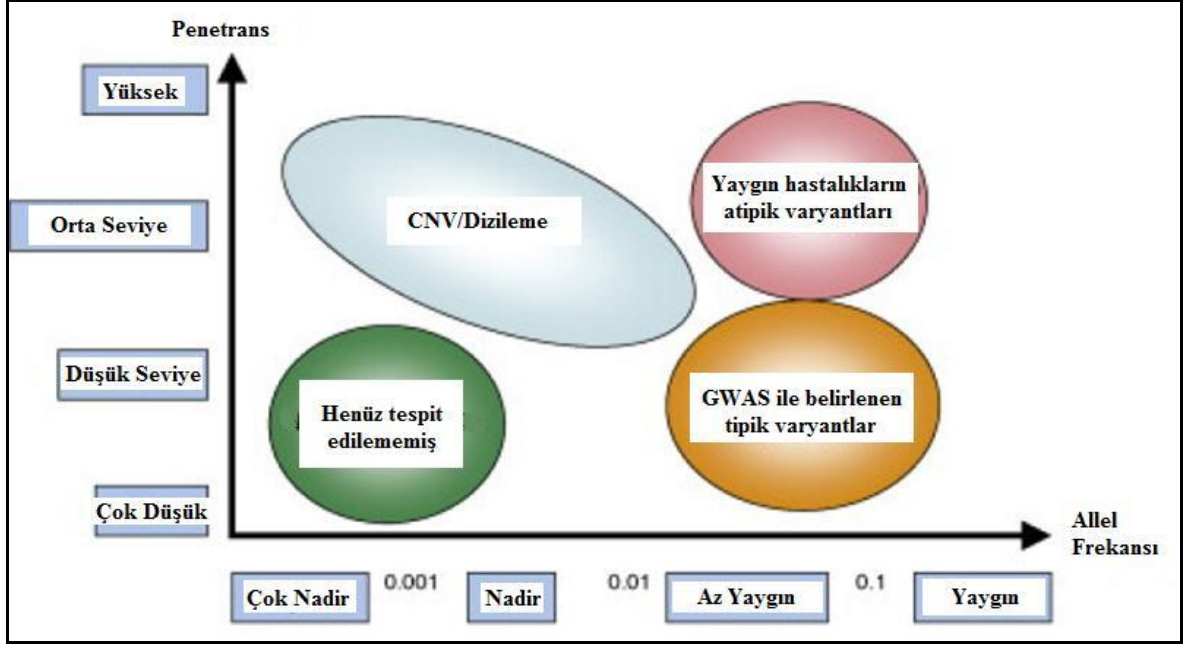
GWAS'lar tıp tarihindeki en üretici tekniklerden biridir. GWAS ile günümüze kadar 100 kompleks hastalık için aday lokuslar belirlenmiştir. Örneğin; yaşa bağlı maküler

dejenerasyonu ve inflamatuvar bağırsak hastalığı için oldukça başarılı ve yollarını aydınlatıcı sonuçlar elde edilmiştir ve hatta tedavilerini bile etkilemiştir. 12/2012 itibariyle yayınlanan, 17 kategoriye ait GWA çalışmaları şekil 1.3'te gösterilmektedir (www.genome.gov/gwastudies).



Şekil 1.3 12/2012 itibariyle yayınlanan, 17 kategoriye ait GWA çalışmaları

Kompleks genetik hastalıkların; yaygın allellerin küçük etkisi ve nadir allellerin büyük etkisinin kombinasyonu ile oluştuğu tahmin edilmektedir. GWA çalışmaları ile özellikle küçük etkili varyantları saptamak ve onların birlikte etkilerini değerlendirmek istenilmektedir. Lakin GWA çalışmalarının bazı varyantları saptamada sınırları olduğu görülmüştür. Şekil 1.4'de genetik yöntemlerin risk allellerini saptama özelliklerine dair genel bir şema bulunmaktadır.



**Şekil 1.4 Genetik çalışmalar ile risk allellerinin frekansının ve penetransının saptanabilirlik durumları (Owen et al. 2009)**

GWA çalışmalarının bazı limitleri de mevcuttur. GWA çalışmaları dizayn edilirken, genomun sadece tek bir bölgesine değil, tümüne odaklanılmıştır. Yani genomdaki herhangi bir bölgenin hastalıkla ilişkisi olabileceği göz önüne alınmıştır. Bu yönüyle GWAS'lar tek bir gen veya lokusa odaklanan "aday gen çalışmalarından" farklılık göstermektedir. Yüksek hasta ve kontrol sayısı ile birçok şüpheli gen, eş zamanlı olarak keşfedilebilmektedir. Bu genler bir yapbozun parçaları gibi bir hastalığın oluşum yollarını tamamlayabilmektedir. Yeni nesil dizileme teknolojileri her geçen gün gelişmekte, tüm genom dizilemeleri kolaylıkla yapılabilmekte ama diğer moleküler çalışmalara oranla halen maliyetli bir yöntem olarak görülmektedir. Her dizileme sonrasında milyonlarca SNP belirlenmektedir. GWA çalışmalarının başarısını sağlayan Linkage Disequilibrium (LD, Bağlantı Dengesizliği) ve TaqSNP kullanımı, diğer bir yandan da GWA çalışmalarının limitlerini belirlemektedir. Birbirine komşu olan allellerin, birlikte kalıtılacağı düşünülerek, ticari amaçlar da göz önünde bulundurularak Taq SNP'ler geliştirilmiştir. Bunlar GWA çalışmalarını yapmada kullanılan, yakın çevresindeki SNP'leri de temsil eden ticari SNP mikroarrayleridir. Bu sebeple yapılan GWAS'lar bize insan genomundaki tüm SNP'ler yerine, onların temsili belirteçleri hakkında bilgi vermektedir. Bu sebeple seçilen bu TaqSNP'ler, incelenen hastalık için önemli bir biyolojik varyant olmayabilir. Bu bilgi GWAS'ların analizinde mutlaka göz önünde

bulundurulmalıdır. Ayrıca popülasyonlara özgü SNP dağılımları farklı olduğundan, GWA çalışmalarında her popülasyon için ayrı TaqSNP mikroarrayleri geliştirilmeli, elde edilen sonuçlar, mutlaka vaka-kontrol çalışmaları ve diğer downstream moleküler çalışmalarla desteklenmelidir (Lee et al. 2012).

GWA çalışmaları için çok yüksek kapasiteli, yeni nesil dizileme cihazları kullanılmaktadır. Çok nitelikli ve verimli sonuçlar elde edilebilmesi için ciddi yatırımlar yapılması gerekmektedir ve geniş çaplı kolaborasyonlar yapılmalıdır. Çünkü analiz edilen örnek sayısı arttıkça, istatistiksel güç artacaktır. Yalnız kolaborasyonlarda dikkate alınacak önemli bir husus, popülasyonların harmonizasyonudur. Her popülasyon kendine özgü genetik yapıya sahiptir. Sayı arttırmak amaçlı popülasyonlar birleştirildiğinde, popülasyona özgü varyantlar maskelenebilir ve sonuçlar yanlışlık gösterebilir. Bu nedenle GWAS'lardan çıkan sonuçlar mutlaka her popülasyon için konfirme edilmeli, sonuçlar follow-up çalışmaları ile desteklenmelidir.

GWAS'ların şizofreni ve bipolar bozuklukla ilişkili olarak tespit ettiği genlerin, fenotipik yansımanın açıklanmasına dair verdiği bilgiler çok düşüktür. Bu duruma birkaç açıklama getirilmeye çalışılmıştır. Örneğin; Birincil çalışma sonuçlarının diğer popülasyonlarda replike edilmesi gerekmektedir. TaqSNP kullanılarak yapılan büyük ölçekli genetik çalışmalarda, üst çözümler (meta analizler) sadece birbirlerine yakın kökenli popülasyonlar arasında yapıldığında doğru ve net sonuçlar vermektedir. Yani istatistiksel analizler birçok açıdan tasarlanmalı, farklı popülasyonlara özgü varyantların, TaqSNP'lerin gölgesi altında gözden kaçırılmamasına dikkat edilmelidir. Ayrıca şizofreni ve bipolar bozukluğun kompleks doğası gereği, genler sadece tek başlarına değil, birbirleriyle etkileşerek görev yapmaktadırlar. Bu sebeple sadece tek bir belirteçten yola çıkmak ve onu tek başına incelemek yeterli olmayacaktır. Bir diğer faktör de, GWA çalışmalarının sonuçlarında anlamlılık eşiğini geçemeyen bazı genler de hastalığın etiyojisine katkıda bulunuyor olabilir. Çevresel faktörler ve epigenetik modifikasyonlar da her zaman göz önünde bulundurulmalıdır.

GWAS'lardan önce yapılan vaka-kontrol çalışmalarında ortaya çıkan risk oranları 1.5 ve üzeri şeklinde bulunmaktaydı. Ama GWAS'lar ile daha düşük risk oranları (1.10-1.20 vb.) saptanmıştır. Bu da şizofreni ve bipolar bozukluk gibi yaygın kompleks hastalıklarda, daha çok yaygın varyantın rol oynayabileceğini ve daha düşük risk oranları

ile etki edebileceğini göstermektedir. Daha kısa sürede, daha fazla sonuç elde etmek amaçlı TaqSNP'ler kullanıldığından, arada kaçırılabilir yeni mutasyonlar olmasına da dikkat edilmelidir. Bu sebeple GWA çalışmaları ile ilişkili olduğu düşünülen lokuslar belirlendikten sonra, her popülasyona özgü gen dizilemeleri yapılmalıdır. Ayrıca şizofreni ve bipolar bozuklukta tanı kriterleri ve hasta bilgileri çok önemlidir. Kullanılan popülasyonlarda bu bilgiler doğru şekilde dengelenmeli ve tarafsız bir sonuca ulaşılmalıdır.

Son olarak genotipleme yöntemlerinin de, birbirleriyle uyum sağlayacak kalite ve nitelikte olması çok önemlidir. Kullanılan genotipleme platformlarından elde edilen sonuçlar, uygun istatistiksel analizlerle değerlendirilmeli ve çok katmandan oluşan doğrulama ve dengeleme testlerinden geçirilmeli, analiz edilen büyük miktardaki datanın doğru bir şekilde kullanılması sağlanmalıdır (Sullivan, 2010). Yeni bilgisayar yöntemleri ile sistem biyolojisine yönelik, proteomiks, metabolomiks ve nörogörüntüleme yöntemlerini de içeren daha geniş çaplı istatistiksel analizler geliştirilmelidir. Hastalıkların oluşum mekanizmalarının ancak bu detaylı analizler sonucu aydınlanabileceği düşünülmektedir.

Şizofreni ve bipolar bozukluk için birçok lokus belirlenmiş olup, bu hastalıkların etiyolojileri hakkında yeni bilgileri açığa çıkarmıştır. Örneğin;  
-Şizofreni için; nöron gelişimi ile ilgili yollar ve hedefleri, miRNA'ların önemi,  
-Bipolar bozukluk için; Aksonal gelişimin kontrolünü sağlayan genlerin önemi gösterilmiştir (Sullivan, 2012).

Şizofreni ve bipolar bozukluğu hedef alan genetik çalışmalar son yıllarda çok büyük gelişmeler göstermiştir. Yeni geliştirilen genotipleme teknolojileri ile hem yaygın, hem de nadir varyantlar tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, birçok bağımsız çalışma ile de replike edilmiş, üst çözümler ile de değerlendirilmiştir.

SNP'ler popülasyonda en az %1 oranında görülebilen, risk oranı yaklaşık 1.1 oranında görülebilen yaygın varyantlardır. Düşük risk oranlarına bakılarak hastalık üzerindeki etkilerinin poligenik şekilde katkı sağladığı söylenebilir. Yüksek ölçekli yayınlanan GWA çalışmalarına baktığımızda, bazı replike SNP'ler ve bölgeler

bulunmuştur. Şizofreni ile ilgili GWA çalışmalarından bazı örnekler çizelge 1.3'de görülmektedir (Rethelyi et al. 2013).

**Çizelge 1.3 Şizofreni ile ilgili GWA çalışmalarından bazı örnekler (Rethelyi et al. 2013)**

Gen	Lokus	Biyolojik İşlev
Major Histocompatibility Complex (MHC) genes	6p21.3-22.1	MHC1 molekülleri hücrel immuniteye bağlı olarak antijenik peptid miktarını düzenler. MHC1 molekülleri merkezi sinir sisteminde eksprese olur. Sinaptik plastisite de rolü vardır.
Transkripsiyon Faktörü 4 (TCF4)	18q21.2	Heliks-loop-heliks transkripsiyon faktörü kodlar, E-box yükseltici bölgelerine bağlanır.
Neurogranin (NGRN)	15q26.1	Nöronal farklılaşma
CUB ve Sushi multiple domains 1(CSMD1)	8p23.2	Merkezi sinir sisteminde eksprese olur, görevi bilinmemektedir.
Matriks Metalopeptidaz (MMP16)	8p23.1	Ekstraselüler matriksin içeriklerini dege eden endopeptidaz
microRNA 137 (MIR137)	1p21.3	Gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde rol oynayan küçük kodlamayan RNA
Zinc Finger Protein 804A (ZNF804A)	2q32.1	Rolü net bilinmeyen, muhtemel oligodendrosit farklılaşmasında rol oynayan bir Zinc Finger protein sentezler.
Vaccina-ilişkili kinaz-2 (VRK2)	2p16.1	Mayotik, mitotik ve kanser hücrelerinde eksprese olan bir Serin/Treonin kinaz sentezler.

Psikiyatrik Genomik Konsorsiyumun yayınlanan son makalesindeki GWAS ile ilişkili 108 lokus belirlenmiştir (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Genom Analizi yapılan örneklerin sayısı şu şekildedir:

Toplamda 38.131 şizofreni hastası, 114.674 kontrol (152.805 örnek);

Avrupa kökenli: 12.078 şizofreni, 13.271 kontrol

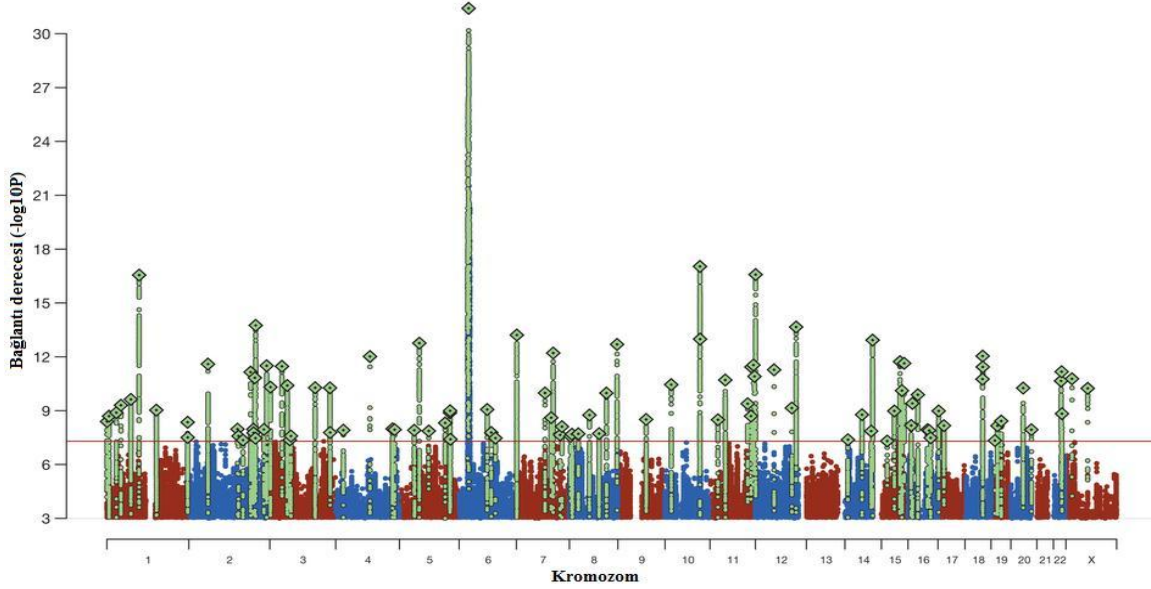
Yeni eklenen Avrupa kökenli: 21.278 şizofreni, 30.453 kontrol

3 Avrupa kökenli trio, 1396 pedigr

Doğu Asya kökenli 1866 şizofreni, 3418 kontrol

Tekrarlanan Avrupa kökenli örnekler, 1513 şizofreni, 66.236 kontrol.

Örneklerin kalite kontrolü ve standardizasyon analizleri yapıldıktan sonra, 9.5 milyon varyant incelemeye alınmıştır. Ortaya şekil 1.5’deki bağlantı dereceleri çıkmıştır.



**Şekil 1.5 Şizofreni ile kromozomlar arasındaki bağlantı dereceleri (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).**

Bu 108 lokus içerisinde, şizofreninin şimdiye kadar belirlenen etiyoloji ve tedavi hipotezlerine uygun olduğu düşünülen bazı genler ve bunların görevleri aşağıda gösterilmiştir. Lakin bu lokuslar içerisinde sadece bu genlerde yer alan varyantların değil, bu lokusta bulunan diğer genlerle olan ilişkileri, kodlanmayan bölgeler vb. kısımların da sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

**Terapötik Hedefler: (G protein bağlı reseptör sinyal yolağı):**

**DRD2 (11q23.2):** Dopaminerjik nörotransmisyon; kavrama, hafıza, motivasyon ve öğrenmede rol almaktadır. Dopamin reseptör tip 2’nin blokajı, antipsikotik aktivitenin sağlanması için çok etkili olduğu için psikiyatrinin ilgi alanı olmuştur.

**GRM3 (7q21.12):** Metabotropik glutamat reseptörü 3, en çok astrositlerde eksprese olmaktadır. Daha önce GRM2 (3p21.2)’de aynı şekilde şizofreni için potansiyel terapötik hedef olarak belirlenmiştir.



### **Glutamaterjik Nörotransmiyon:**

**GRIN2A (16p13.2):** NMDA reseptörü alt ünitesi olan GRIN2A, sinaptik plastisite için anahtar rol oynar. NMDA reseptör kanal bloklayıcıları (örn: ketamin) şizofrenide görülen belirtilerin semptomatik patolojilerine benzer etkiler yaratır. Bu gendeki mutasyonlar ayrıca fokal epilepsilerde, otizmde rapor edilmiştir.

**GRIA1 (5q33.2):** Glutamat reseptör 1, hızlı sinaptik transmiyonu sağlayan AMPA reseptörünün alt ünitesidir. Reseptörlerin dendritik organizasyonu ve hipokampal sinaptik transmiyonda ve plastisitede rol oynar.

**SRR (17p13.3):** Serin racemase enzimi, L-Serin'in D-Serin'e dönüşümünü katalizler. Ayrıca NMDA reseptörlerinin aktivatörüdür. Değişime uğramış D-Serin seviyeleri şizofreni ile ilişkilidir.

**CLCN3 (4q33):** CLC-3, hipokampusta glutamaterjik sinapslarda lokalize olan voltaj kapılı bir klorid kanalıdır. Bu kısımda plastisite düzenlenir. Bu geni susturulmuş (knockout) farelerde GABAerjik işlevde bozulmalar, hipokampusun postnatal dejenerasyonu görülmektedir.

### **Nöronal Kalsiyum Sinyal Yolağı:**

**CACNA1I (22q13.1):** CACNA1I, Cav3.3 T tip kalsiyum kanalının boşluğunu oluşturan kısmın alfa alt ünitesini oluşturur. Aktivasyonu ile sinaptik plastisite ve uzun süreli potansiyon tetiklenir. Bazı antipsikotik ilaçlar T-tipi kanalları bloke eder.

**RIMS1 (6q12-13):** RIM'ler çoklu bölgeye sahip proteinlerdir. Kalsiyum kanallarını aktif bölgelere bağlar, tutunmasını sağlar ve sinaptik veziküllerin salınımını başlatır. Presinaptik plastisiteyi başlatır ve nörotransmitter salınımını düzenler.

Kalsiyum sinyal yolağında yer alan genlerden diğer genlere örnek olarak: **CACNA1C**, **CACNB2**, **CAMKK2**, **NRGN**, **ATP2A2** genleri verilebilir.

### **Sinaptik İşlev ve Plastisite:**

**KCTD13 (16p11.2):** Polimeraz Delta-İlişkili protein 1, BCR(BTB-CUL3-RBX1) E3 ubiquitin-protein ligand kompleksinin substrata özgü adaptörüdür. 16p11.2 üzerinde yer alan bir CNV (kopya sayısı varyasyonu) nörogelişimsel hastalıklar ve beyin, vücut

büyükliğüne dair fenotiplerle ilişkilidir. Daha önceki bir GWA çalışmasında bu lokusun şizofreni ve bipolar bozuklukla ilişkisi gösterilmiştir.

**NLGN4X (Xp21.33-32):** Nöroliginler, aksonların fonksiyonel nörotransmitter salınımının bölgeselleşmesini sağlarlar. Nöroksinin toplanmasını, glutamaterjik ve GABAerjik presinapsların formasyonunu sağlar. Nöroksinlerle etkileşerek kalsiyum kanal popülasyonunun presinaptik oluşumunu düzenler. Mutasyonlarının otizm ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

**IGSF9B (11q25):** IgSF9b beyine özgü bir adhezyon molekülüdür. GABAerjik internöronlarda eksprese olur. Hipokampal ve kortikal inhibitör sinapslarda lokalize olur. Bu bölgede internöron gelişiminde gerçekleşir.

**CNTN4 (3p26.3):** Contactin akson ilişkili hücre adhezyon molekülüdür. Nöronal ağ oluşumu ve plastisiteden sorumludur. Beyinde yüksek miktarda eksprese olur ve delesyonları atriyal septal defektlerde görülmektedir.

**MEF2C (5q14.3):** Nörogenезisi, uyarılan sinaps sayısını, dendrit morfogenezisini ve post sinaptik yapıların farklılaşmasını sağlayan bir transkripsiyon faktörüdür. Geç embriyonik önbeyin delesyonları, uyarılan sinaps sayısını artırır ve hipokampus bağımlı öğrenme ve hafızada bozukluklar yaratır.

**PTN (7q33):** Pleiotrofin gelişimsel olarak düzenlenen nörit gelişim faktörüdür. Hipokampusta aktivite bağımlı olarak eksprese olur. Uzun süreli potansiyonu baskılar.

**CNKSR2 (Xp22.12):** CNK2 MAPK yolağının Ras'tan sonrasını düzenleyen scaffold/adaptör tipi bir proteindir. Postsinaptik membranda, sinaptik komplekslerin toplanmasını ve membran/sitoiskelet remodellemesinde sinyal transdüksiyonun iletimini sağlar.

**PAK6 (15q14):** Beyinde yüksek miktarda eksprese olan Serin/treonin protein kinaz'dır. Nörit gelişimi ve hücre sağkalımında rol oynar. PAK6 ve PAK7 birlikte fonksiyonel bütünlük gösterir ve farelerde her iki genin susturulduğunda öğrenme ve hafızada bozukluklar gösterir. PAK7'nin nadir görülen kalıtsal bir duplikasyonu ise şizofreni ve bipolar bozuklukla ilişkilidir.

**SNAP91 (6q14.2):** SNAP91 memeli nöronlarının presinaptik ucunda bulunur. Bu bölgede sinaptik vezikül endositozu, klathrin bağımlı bir şekilde gerçekleşir. embriyonik hipokampal nöronlarda akson ve dendrit gelişiminin kontrolünü sağlar.

## **Diğer Nöronal İyon Kanalları:**

**KCNB1 (20q13.13):** Korteks ve hipokampusta eksprese olan bu gen, nöronal uyarılabilirlik, aksiyon potansiyeli süresi gibi süreçleri kontrol eder.

**HCN1 (5p21):** Beyinde katyon değişimini aktive eden potasyum kanalının boşluk oluşturan kısmında temel rol oynar. Bu sayede nöronal uyarılabilirlik, ritmik aktivite ve sinaptik plastisiteyi kontrol eder. Ayrıca kardiyak dokuda pacemaker görevi yapar.

**CHRNA3, CHRNA5, and CHRNB4 (15q25.1):** Nikotik asetilkolin reseptörleri ligand kapılı iyon kanallarını oluştururlar. Ayrıca nöromuskular bağlantılarda presinaptik ve postsinaptik kısımlarda bulunurlar. Bu genlerin daha önce nikotin bağımlılığı ve akciğer kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

## **Nörogelişim:**

**FXR1 (3q26.33):** FXR1P, Frajil X sendromuna sebep olan FMRP'yi de içeren, RNA'ya bağlanan bir protein ailesine dahildir. FXR1P, fare hipokampusunda dendritik dikenler üzerinde bulunur ve miRNA9 ve miR-24 gibi beyine özgü microRNA'ları hedef alır.

**SATB2 (2q33.1):** Nükleer matriks bağlanma bölgelerine tutunarak transkripsiyonu ve kromatin remodellemeyi regüle eden, DNA'ya bağlanan proteindir. Neokortekste ekspresyonu sadece post-mitotik ve farklılaşan nöronlarla sınırlıdır. Kortikal gelişimde nöron kimliğinin yüzeysel korunmasında rol oynar.

Nörogelişimde rol oynayan genlere örnek olarak: **PODXL, BCL11B, TLE1, TLE3, FAM5B** genleri de verilebilir (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

## **1.4 ŞİZOFRENİ VE BİPOLAR HASTALIĞINDA ÖRTÜŞME**

### **1.4.1 Epidemiyolojik ve Klinik Benzerlikler**

2013 yılı ortalarında yayınlanan psikiyatrik hastalıkları sınıflandırmak için kullanılan DSM-V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition-2013), özellikle şizofreni, bipolar bozukluk ve şizoafektif bozuklukta örtüşmeleri tekrar

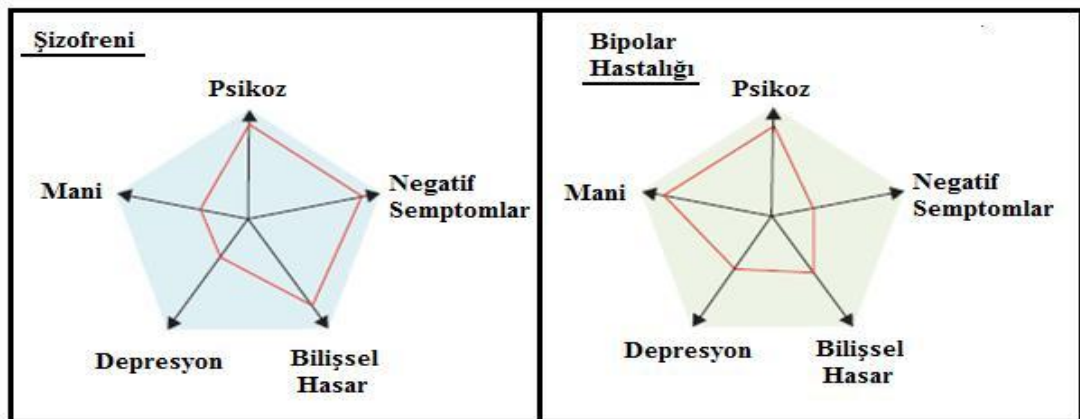
gözden geçirmektedir. Bu örtüşmelerin tartışılması, genetik alanında uzun yıllardır süregelmektedir ama hastalıkların tanısının konması adına özellikle psikoz belirtilerinin daha detaylı bir değerlendirilmesi yapılmıştır.

Şizofreni genel nüfusta %1 oranında görülür. Varsanı ve sanrı gibi negatif belirtilerle karakterize edilir. Hastalar, hayatlarını normal bir şekilde sürdürebilmek için yardıma ihtiyaç duyarlar.

Bipolar bozuklukta popülasyonda %1 oranında görülür. Periyodik mani ve depresyon nöbetleri ile karakterize edilir. Yaygın manik nöbetlerde azalmış uyku, artmış enerji seviyesi, duygudurum değişiklikleri ve karar verme güçlükleri görülür. Manik nöbetlerin %50'sinde paranoya, sanrı ve varsanı gibi psikotik elementler içerir.

Varsanı ve sanrılar özellikle şizofreni tanısında, duygudurum değişiklikleri de bipolar bozukluğun tanısında ön planda olmasına karşın her iki hastalıkta da psikotik belirtiler yer almaktadır. Bipolar bozuklukta bu belirtiler döngüler halinde tekrarlanmaktadır, şizofreni de bu durum kronik bir hal alabilmektedir. Şekil 1.6'da her iki hastalığın psikopatolojisi için çizilmiş kuramsal bir şema görülmektedir.

Şizofreni ve bipolar bozukluğun her ikisinde benzer epidemiyolojik dağılım görülmektedir. Ayrıca her iki hastalıkta erken yaşta başlamakta ve cinsiyete göre dağılımları benzerlik göstermektedir (Cosgrove and Suppes, 2013).



Şekil 1.6 Şizofreni ve bipolar bozukluk için tanısal kriterlerin 5 temel boyutta gösterilmesi (Van Os and Kapur, 2009)

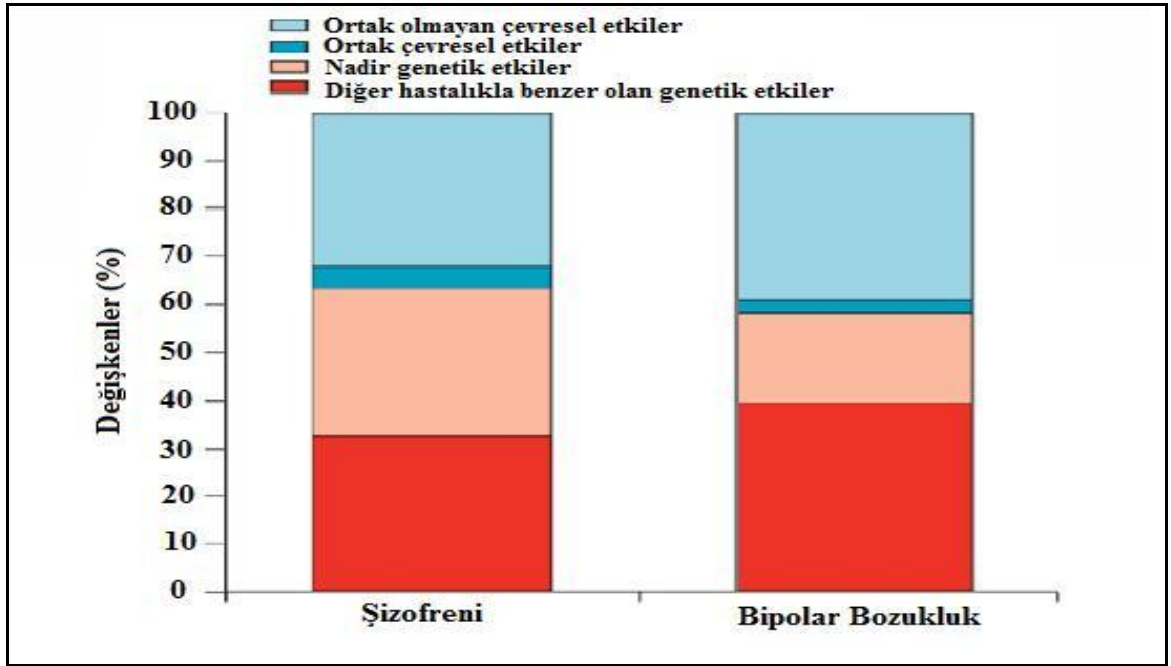
## 1.4.2 Genetik Örtüşme

Şizofreni ve bipolar bozukluk ile yapılan genetik çalışmalar sonucu bu iki hastalığın birbiriyle sadece epidemiyolojik ve patolojik değil, ayrıca genetik olarak örtüşüğünü göstermiştir. Bu iki hastalığın tanısını koymak ve sınıflandırmada sorunlar yaşanabilmektedir. Son zamanlarda artık geleneksel tanı koyma yöntemleri yerine, yeni yöntemlere geçilmektedir. Yüksek ölçekli moleküler genetik analizler ve geniş aile çalışmaları bulguları desteklemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca GWA çalışmaları yaygın DNA varyantlarının (SNP vb.) hem şizofreni, hem de bipolar bozuklukta etkili olduğunu göstermiştir. Binlerce birey üzerinde genomdaki binlerce DNA varyantı taranmakta ve bu sonuçlar bize direkt moleküler genetik destek sağlamaktadır. Bunlara örnek olarak; ZNF804A geninin özellikle şizofreni ile ilişkisi, CACNA1C geninin ise özellikle bipolar bozukluk ile ilişkisi verilebilir (Craddock and Owen, 2010).

Genom bağlantı analizleri ile hastalıklar arası ilişkiler genetik açıdan incelendiğinde; şaşırtıcı olarak şizofreni-bipolar bozukluk arasındaki benzerlik, unipolar bozukluk-bipolar bozukluk arasındaki benzerlikten çok daha yüksek görülmektedir. Yüksek ölçekli GWAS'lar ile ZNF804A, CACNA1C gibi bazı genlerde daha güçlü sinyaller alınmıştır. Bu sonuçlar güçlü genetik örtüşmenin belirteçidir. Daha eskiden kullanılan bağlantı ve aday gen çalışmalarında bu denli güçlü sonuçlar elde edilmemiştir (Craddock and Sklar, 2013).

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; hasta bireyin çocuklarında bu hastalıkların oluşma riski %10, tek ve çift yumurta ikizlerinde ise %60-80 oranında daha fazla görülmektedir.

İsveç'te yapılan 2 milyon çekirdek aileyi kapsayan yüksek ölçekli bir çalışmada şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynayan etmenlerin dağılımları belirlenmiştir (Şekil 1.7). Bu hastalıklardan herhangi birine sahip bir probandın 1. dereceden akrabalarında hastalığın görülme riski önemli miktarda artmaktadır (Lichtenstein et al. 2009).



**Şekil 1.7 Şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynayan etmenlerin dağılımı (Lichtenstein et al. 2009)**

Çizelge 1.4'te her iki hastalıkta rol oynayan bazı genler verilmektedir. Çizelge 1.5 ve 1.6'da ise bipolar bozukluk ve şizofreni için GWA çalışmaları ile belirlenen aday genler ve kromozomal yerleşimleri gösterilmektedir (Lee et al. 2012).

**Çizelge 1.4 Şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynayan genlerden bazıları (SZ:şizofreni, BB:bipolar bozukluk) (Doherty et al. 2012)**

Kromozom	Gen	Risk Oranı(OR)		İlişkili Hastalık
		Şizofreni (SZ)	Bipolar Bozukluk(BB)	
2	ZNF804A	1.08-1.38	1.14-1.17	SZ+BB
18	TCF4	1.20-1.30	-	SZ
11	NRGN	1.13-1.19	1.14	SZ+BB
6	MHC Bölgesi	1.13-1.36	1.09-1.14	SZ+BB
12	CACNA1C	1.13-1.15	1.18	SZ+BB
10	ANK3	-	1.40	BB
3	PBRM1	1.30	1.14	SZ+BB

**Çizelge 1.5 Bipolar bozukluk için GWA çalışmaları ile belirlenen aday genler ve kromozomal yerleşimleri gösterilmektedir (Lee et al. 2012).**

<b>Bipolar Bozukluk</b>		
<b>Kromozom/lokus</b>	<b>Belirlenen genler</b>	<b>p değeri</b>
1q32.2	<i>PLXNA2</i>	$7.5 \times 10^{-3}$
3p21	<i>PBRM1</i>	$1.7 \times 10^{-9}$
6p22.3	<i>MBOAT1</i>	$6.8 \times 10^{-5}$
10q21	<i>ANK3</i>	$9.1 \times 10^{-9}$
11q25	<i>JAM3</i>	$5 \times 10^{-6}$
12p13.3	<i>CACNA1C</i>	$7.0 \times 10^{-8}$
12q14.1–q21.1	<i>TSPAN8</i>	$6.11 \times 10^{-7}$
13q14.11	<i>DGKH</i>	$1.5 \times 10^{-8}$
13q14.3–13q14.3	<i>DLEU2/GUCY1B2</i>	$2.4 \times 10^{-5}/3.7 \times 10^{-5}$
16p12	<i>PALB2</i>	$6.3 \times 10^{-8}$
18q21	<i>MYO5B</i>	$1.66 \times 10^{-7}$
19p13.11	<i>NCAN</i>	$3.02 \times 10^{-8}$
19p13.3	<i>SLC39A3</i>	$9 \times 10^{-6}$
22q11.2	<i>MYO18B</i>	$3.4 \times 10^{-7}$

**Çizelge 1.6 Şizofreni için GWA çalışmaları ile belirlenen aday genler ve kromozomal yerleşimleri gösterilmektedir (Lee et al. 2012).**

<b>Şizofreni</b>		
<b>Kromozom/lokus</b>	<b>Belirlenen genler</b>	<b>p değeri</b>
1q32.2	<i>PLXNA2</i>	$1.3 \times 10^{-2}$
1q32.2	<i>PLXNA2</i>	$6.0 \times 10^{-3}$
2q32.1	<i>ZNF804A</i>	$1.61 \times 10^{-7}$
2q32.1	<i>ZNF804A</i>	$2.5 \times 10^{-11}$
6p21	<i>MHC region</i>	$<1.1 \times 10^{-9}$
6p22.1	<i>HIST1H2AG</i>	$2.4 \times 10^{-8}$
6p23	<i>JARID2</i>	$8.7 \times 10^{-3}$
7q22	<i>RELN</i>	$2.9 \times 10^{-5}$
8p12	<i>NRG1</i>	$9.1 \times 10^{-4}$
9p21	<i>PLAA</i>	$2.1 \times 10^{-6}$
10q21	<i>ANK3</i>	$7.7 \times 10^{-6}$
11q24	<i>NRGN</i>	$2.4 \times 10^{-9}$
12q24.23	<i>CCDC60</i>	$1.2 \times 10^{-6}$
15q25.2	<i>ADAMTSL3</i>	$1.34 \times 10^{-6}$
16p12	<i>ACSM1</i>	$3.3 \times 10^{-6}$
18q21	<i>TCF4</i>	$4.1 \times 10^{-9}$
22q11.2	<i>MYO18B</i>	$3.4 \times 10^{-7}$
Xp22.32/Yp11.3	<i>CSF2RA</i>	$3.7 \times 10^{-7}$

### 1.5 GENETİK POLİMORFİZMLER:

Genel popülasyonda, bir varyantın %1'den fazla görüldüğü durumlar genetik polimorfizm olarak adlandırılır. Bunların bir kısmının fenotip ile ilişkisi görülmezken, bazıları ciddi hastalıklara neden olabilir. Bu polimorfizmler DNA üzerinde, eksonlarda, intronlarda veya kodlanmayan, düzenleyici bölgelerde bulunabilir, gen işlevini etkileyebilecek (Transkripsiyon ve mRNA stabilitesi gibi) değişimlere yol açabilir.

Özellikle ekzonik bölgelerde bulunan değişimler, protein kodlamasını değiştirerek, farklı fenotipler oluşturabilir.

Polimorfizmler; insan genetiği çalışmalarında ve uygulamalarında anahtar elementlerdir. Örneğin; bağlantı analizleri veya allelik ilişkilendirme çalışmalarında bir geni, kromozomun belli bölgesine haritalamak için çok önemli genetik markırlardır. Ayrıca güncel olarak süregelen kişiselleştirilmiş tıp çalışmalarına temel oluştururlar. Adli tıp uygulamalarında da önemli rolü vardır.

İnsan genom projesinde elde edilen büyük miktarda DNA dizi bilgisi ile, dünya çapında bireyler arası varyasyonları karakterize etme ve bunları sınıflandırma imkanı elde edilmiştir (SNP, CNV, Indel vb.). Kataloglar oluşturularak, frekansları belirlenmeye başlanmıştır.

### **1.5.1 Kopya Sayısı Varyasyonları (CNV)**

İnsan genom projesinin tamamlanması ile bazı genlerin kopya sayısında farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Kopya sayısı varyasyonları (CNV) olarak adlandırılan bu değişimler, delesyon veya duplikasyon şeklinde görülebilmektedir. CNV'ler birkaç kilobazdan, 5 megabaza kadar farklı büyüklüklerde olabilirler. İnsan genomunun yaklaşık %13'ünü oluştururlar. Populasyonlar arası farklılıklar gösterirler. CNV'ler stabil bir yapıya sahiptirler ve kalıtsaldırlar ama ikiz çalışmaları de novo CNV'lerin de oluşabildiğini göstermiştir. CNV'ler genomdaki delesyon, inversiyon ve translokasyon gibi yapısal yeniden düzenlemeler sonucunda oluşabilirler. Diğer varyasyonlar gibi bazı hastalıklara yatkınlık sağlayabileceği veya koruyucu etki yapabileceği düşüncesi ile yeni nesil teknolojileri kullanarak CNV'ların hastalıklarla ilişkisi belirlenmeye başlanmıştır. GWA çalışmaları ile CNV belirlenmeye başlandıkça bu varyasyonların populasyonda SNP'lerden daha az görüldüğü ama risk oranlarının daha yüksek olduğu saptanmıştır (Schwab et al. 2013a).

GWA çalışmaları ile belirlenen, şizofreni ve bipolar bozukluk ile ilişkili olan CNV'lar çizelge 1.7 ve çizelge 1.8'de gösterilmektedir. Şizofreni hastalarında, bipolar bozukluğa oranla daha büyük delesyon ve duplikasyonlar görülmektedir. Bipolar bozuklukta daha az GWAS-CNV çalışması olmasına rağmen COMT, GRM7, CNTNAP2



ve GNB1L gibi şizofreni ile ilişkisi daha önce belirlenmiş olan bazı genlerin bipolar bozuklukta da rol oynadığının gösterilmesi bu iki hastalığın birbirleriyle olan genetik örtüşmelerini yansıtmaktadır. CNV duplikasyon veya delesyonları çeşitli genlerin regülatör veya kodlanan bölgeleri ile ilişkili olabilir ve dolayısıyla biyolojik işlevlere etki edebilir. Örneğin CNV varlığı nedeniyle dozaşa hassas olan genlerin amplifikasyonu veya downregüle olması gerçekleşebilir. CNV delesyonlarının büyüklüğü ile ara endofenotiplerin oluşumu arasında orantı olabilir.(Lee et al. 2012)

**Çizelge 1.7 GWA çalışmaları ile şizofreniyle ilişkisi belirlenen CNV'ler**

Kromozom/lokus	Etkilenen Gen	CNV Tipi	Yaklaşık Büyüklük (kb)
1p13.3	<i>GSTM1</i>	Deletion	<b>B.D.</b>
1p34.3	<i>GLUR7</i>	Duplication	<b>B.D.</b>
1q21.1	<i>GJA8</i>	Deletion	1350-1440
2p16.3	<i>NRXN1</i>	Deletion/duplication	115-273
2p25.3	<i>MYT1L</i>	Duplication	967
2q33.3-q34	<i>ERBB4</i>	Deletion	399
3p26.1-p25.1	<i>GRM7</i>	Deletion	1350
3q29	<i>PAK2/GLG</i>	Deletion	836; 1600
5p13	<i>SLC1A3</i>	Deletion	503
5p15.1	<i>ANKH</i>	Duplication	3.4
5q31.1	<i>RAPGEF6</i>	Deletion	114
5p15.2	<i>CTNND2</i>	Duplication	930
7q35-7q36.1	<i>CNTNAP2</i>	Deletion	1500
7q36.3	<i>VPR2</i>	Duplication	362
8p22	<i>SLC7A2</i>	Deletion	>2000
9q33	<i>ASTN2</i>	Deletion	98
10q22-q23	<i>NRG3</i>	Duplication	73.6
11q14.1	<i>DLG2</i>	Deletion	270
14q23.3	<i>AKAP5</i>	Duplication	<b>B.D.</b>
15q11.2	<i>CYFIP1</i>	Deletion	470
15q13.1	<i>APBA2</i>	de novo duplication	1400
15q13.3	<i>CHRFAM7</i>	Duplication	488
15q13.3	<i>CHRNA7</i>	Deletion/duplication	220-1500
16p11.2	<i>MYO38</i>	Duplication	500-600
16p11.2	<i>AUTS14</i>	Duplication	500-600
16p13.1	<i>GST1</i>	Deletion/duplication	>2000
16p13.1	<i>NTAN1</i>	Duplication	1010-2590
16p13.1	<i>NDE1</i>	Duplication	1010-2590
16p13.3	<i>SSTR5</i>	Duplication	5
22q11.2	<i>DCGR6</i>	Deletion	350
22q11.2	<i>PRODH</i>	Deletion	350
22q11.23	<i>GSTT2</i>	Duplication	1390
22q12.3	<i>CACNG2</i>	Deletion	<b>B.D.</b>

(B.D: Belli Değil)

**Çizelge 1.8 GWA çalışmaları ile bipolar bozuklukta ilişkisi belirlenen CNV'ler**

Kromozom/lokus	Etkilenen Gen	CNV Tipi	Yaklaşık Büyüklük (kb)
1p34.3	<i>GLUR7</i>	Duplication	<b>B.D.</b>
3p26.1-p25.1	<i>GRM7</i>	Deletion	110-570
3q13.3	<i>GSK3β</i>	Deletion/duplication	121
6q27	<i>KIF25, FRMD1, MILT4</i>	Duplication	248
7q35-7q36.1	<i>CNTNAP2</i>	Deletion	100-490
10q11	<i>ANTXR1</i>	Duplication	160
12p12.1	<i>SOX5</i>	Duplication	120-780
14q23.3	<i>AKAP5</i>	Duplication	<b>B.D.</b>
22q11.21	<i>COMT</i>	Deletion	200-1310
22q12.3	<i>CACNG2</i>	Deletion	<b>B.D.</b>

(B.D: Belli Değil)

### 1.5.2 Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP)

DNA değişimleri içerisinde en sık görülenler *tek nükleotid polimorfizmleridir* (SNP: Single Nucleotide Polymorphism). Her 100-300 baz çiftinde bir görülür. İki bireyin genomu arasında ortalama 3 milyon farklı SNP görülebilir. NCBI(National Center for Biotechnology Information) tarafından oluşturulan veri bankasında (dbSNP) tüm veriler toplanmaktadır. Şimdiye kadar 10 milyonun üzerinde SNP belirlenmiştir. Bu değişimler etnik gruplara göre farklılık gösterebildiği için, halen veri bankası güncellenmeye devam etmektedir.

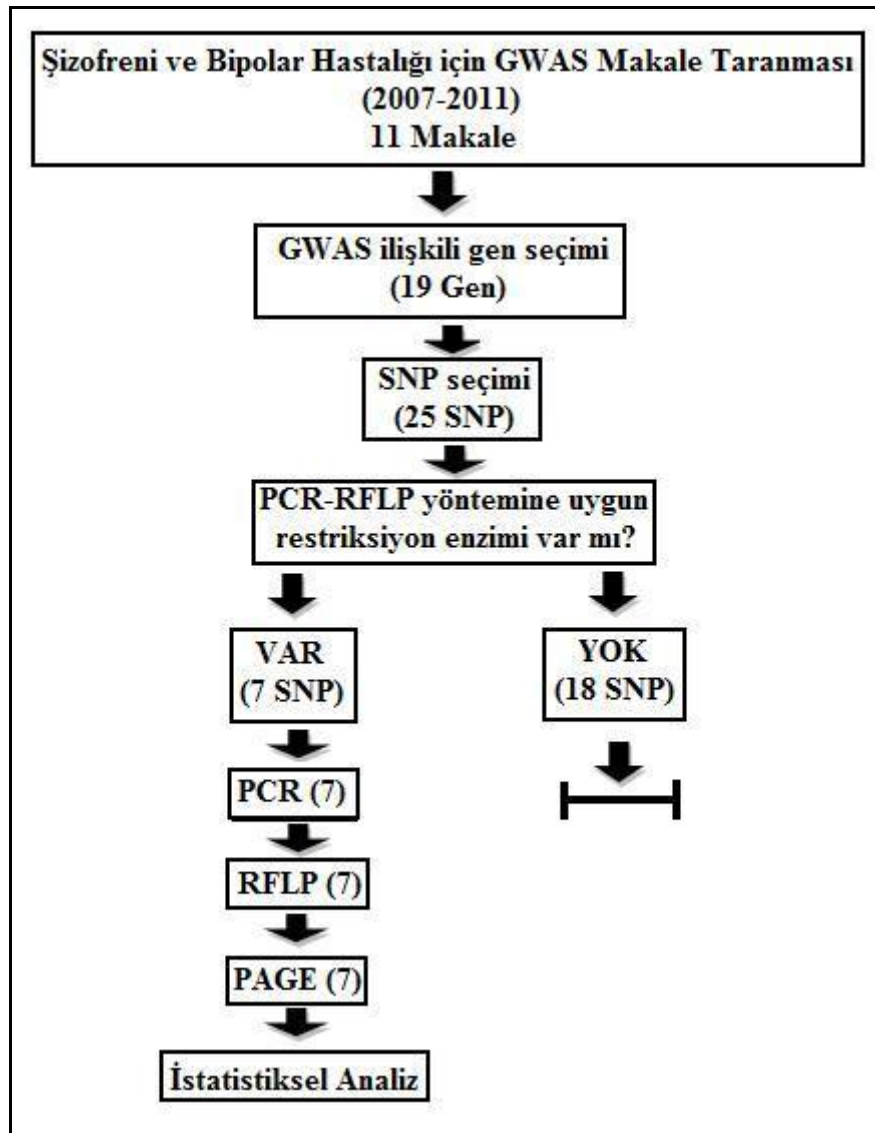
Bu SNP'lerin en sık görülen %10'luk kısmı, insan genomunun yüksek çözünürlüklü haritalanması için belirteç görevi yapmak üzere seçilmiştir. HapMap projesinde bu belirteçler kullanılmaktadır (Nussbaum et al. 2007).

Tek nükleotid polimorfizmleri evrimde iyi korunmuşlardır. Nesilden nesile çok fazla değişim göstermezler. Bu sebeple popülasyon 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 yılında ilk kez DNA probleminin polimorfik dizileri belirlemede kullanılabileceği gösterilmiştir. Restriksiyon enzimleri kullanılarak, restriksiyon fragman uzunluğu polimorfizmi (RFLP) adı verilen yöntem geliştirilmiştir. Öncelikle varyantı içeren DNA dizisi PCR ile çoğaltılır. Bu değişim, uygun yani varyasyonu tanıyan bir restriksiyon enzimi ile kesimi gerçekleştirilir. Oluşan fragmanlar, poliakrilamid veya agaroz jel üzerinde görüntülenir. Bu enzimin varyasyonu tanıma veya tanıyama durumuna göre oluşan fragmanlar farklılık gösterir. SNP bölgesindeki bir baz değişimi (Örn: Sitozin>Timin gibi.) enzim için uygun bir tanıma bölgesini yaratabilir. Böylece fragman iki bant halinde gözlenir. Enzimin tanıma bölge sayısı ile bant sayıları orantılıdır. RFLP yöntemi, SNP'leri belirlemek için kullanılabilen en uygun ve ekonomik yöntemlerden biridir (Klug and Cummings, 2000).

## TEZ ÇALIŞMASI İÇİN UYGUN SNP SEÇİMİ:

Tez çalışması planlanırken, şizofeni ve bipolar bozukluk için 2007-2011 yılları arasında yayınlanan GWAS makaleleri tarandı. Bu makalelerde yer alan hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen genler ve SNP'ler seçildi. GWA çalışmaları her zaman popülasyona özgü konfirmasyon gerektirdiği için, 19 gen ve 25 SNP arasından, PCR-RFLP yöntemi ile çalışılmaya uygun olduğu belirlenen 7 SNP'nin Türk popülasyonunda çalışılması amaçlandı. Tez çalışmasının akış şeması şekil 1.8'de gösterilmektedir. Çizelge 1.9'da ise SNP seçiminde incelenen GWA çalışmaları referansları ile birlikte gösterilmektedir.



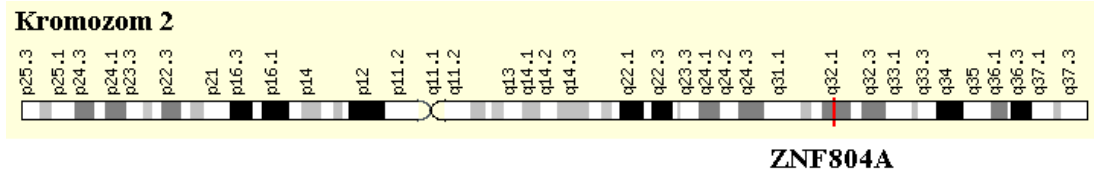
Şekil 1.8 Tez çalışması akış şeması

**Çizelge 1.9 SNP seçiminde incelenen GWA çalışmaları (PCR-RFLP yöntemi ile çalışmaya uygun olan SNP'ler renkli gösterilmiştir.)**

GEN	SNP no	Pop.	OR	p	%95 GA	Yıl	Referans	Köken	RFLP
<b>CSF2RA</b>	rs4129148	Şiz	3.23	$3.7 \times 10^{-7}$	2.04-5.15	2007	Lencz et al.	Kafkas	+
<b>ZNF804A</b>	rs1344706	Şiz, Bip	1.12	$9.96 \times 10^{-9}$	-	2008	O'Donovan et al.	Mix	+
<b>RELN</b>	rs7341475	Şiz Kadın	2.0	$2.92 \times 10^{-5}$	-	2008	Shifman et al.	Aşkenazi Yahudi	+
CACNA1C	rs1006737	Bip	1.18	$7.0 \times 10^{-8}$	-	2008	Ferreira et al.	Avrupa	-
ANK3	rs100994336	Bip	1.45	$9.1 \times 10^{-9}$	-	2008	Ferreira et al.	Avrupa	-
<b>TCF4</b>	rs9960767	Şiz	1.23	$4.1 \times 10^{-9}$	1.15-1.32	2009	Stefansson et al.	Kafkas	+
MHC/HIST1H2BJ	rs6913660	Şiz	1.15	$1.1 \times 10^{-9}$	1.10-1.21	2009	Stefansson et al.	Kafkas	-
MHC/PRSS16	rs13219354	Şiz	1.20	$1.3 \times 10^{-10}$	1.14-1.27	2009	Stefansson et al.	Kafkas	-
MHC/PRSS16	rs6932590	Şiz	1.16	$1.4 \times 10^{-12}$	1.11-1.21	2009	Stefansson et al.	Kafkas	-
MHC/PGBD1	rs13211507	Şiz	1.24	$8.3 \times 10^{-11}$	1.16-1.32	2009	Stefansson et al.	Kafkas	-
MHC/NOTCH4	rs3131296	Şiz	1.19	$2.3 \times 10^{-10}$	1.13-1.25	2009	Stefansson et al.	Kafkas	-
NRGN	rs12807809	Şiz	1.15	$2.4 \times 10^{-9}$	1.10-1.20	2009	Stefansson et al.	Kafkas	-
<b>AGAP1</b>	rs13025591	Şiz	1.22	$4.59 \times 10^{-7}$	-	2009	Shi et al.	Avrupa	+
ERBB4	rs1851196	Şiz	0.73	$2.14 \times 10^{-6}$	-	2009	Shi et al.	African-American	-
ADAMTSL3	rs2135551	Şiz	0.68	$1.35 \times 10^{-7}$	-	2009	Need et al.	Avrupa	-
ADAMTSL3	rs950169	Şiz	0.68	$3.14 \times 10^{-7}$	-	2009	Need et al.	Avrupa	-
ADAMTSL3	rs1911155	Şiz	0.69	$4.18 \times 10^{-6}$	-	2009	Need et al.	Avrupa	-
GABRR1	rs9451173	Bip	0.51	$2.2 \times 10^{-4}$	0.35-0.74	2010	Green et al.	Avrupa	-
CACNA1C	rs4765905	Şiz, Bip	-	$7.0 \times 10^{-9}$	-	2011	S-PGWAS Consortium	Avrupa	-
ANK3	rs10994359	Şiz, Bip	-	$2.5 \times 10^{-8}$	-	2011	S-PGWAS Consortium	Avrupa	-
MIR137	rs1625579	Şiz	1.12	$1.6 \times 10^{-11}$	1.09-1.16	2011	S-PGWAS Consortium	Avrupa	-
<b>CACNA1C</b>	rs4765913	Bip	1.14	$1.52 \times 10^{-8}$	-	2011	B-PGWAS Consortium	Avrupa	+
<b>TENM4</b>	rs12576775	Bip	1.18	$2.1 \times 10^{-7}$	1.11-1.25	2011	B-PGWAS Consortium	Avrupa	+
VRK2	rs2312147	Şiz	1.09	$1.9 \times 10^{-9}$	-	2011	Steinberg et al.	Avrupa-Amerika	-
CCDC68/TCF4	rs4309482	Şiz	1.09	$7.8 \times 10^{-9}$	-	2011	Steinberg et al.	Avrupa-Amerika	-

### 1.5.2.1 ÇİNKO PARMAKÇIK PROTEİNİ 804A (ZINC FINGER PROTEIN 804A, ZNF804A)

ZNF804A kromozom 2q32.1 üzerinde (Şekil 1.9) bulunur. 4 ekzondan oluşmaktadır. 1209 amino asitten oluşan, 136888Da ağırlığında, beyinde eksprese olan bir protein kodlamaktadır. C2H2 tip domain içeren bir çinko parmak protein ailesine dâhildir. 2 transkripti (kesim varyantı) bulunmaktadır. Bu proteinin işlevi henüz tam netlik kazanmamıştır (www.ensembl.org).



Şekil 1.9 ZNF804A geninin kromozom 2 üzerindeki yerleşimi

#### rs1344706:

Bu SNP herhangi bir amino asit değişimi gerçekleştirmez. Yerleşim tipi; intronik varyanttır. ZNF804A geninin 3. intronunda bulunur. Kromozom 2 üzerindeki pozisyonu: 185778428 (-)'dir. T>G değişimi görülür. T alleli, atasal alleldir. Minor allel frekansı G:0.31'dir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

ZNF804A geninin rs1344706 varyantının ileri analizleri sonucunda, downstream bölgesinde 3 kb'lik korunmuş memeli bölgesi saptanmıştır. Bu korunmuş bölge, Myt1L çinko parmakçık proteini ve POU3F1 gibi transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için potansiyel bir alan oluşturur. Bu transkripsiyon faktörleri özellikle oligodendrosit farklılaşması ve çoğalmasında rol oynadığından, bu korunmuş bölge ZNF804A geni için cis-acting element olarak görev yapabilir ve böylece şizofreni etiyolojisinde kritik bir rol oynayabilir (Lett et al. 2011; Zhang et al. 2011a).

Bu genin fare homologu olan zpf804a; HOXC8 için hedef olarak belirlenmiş ve bu da erken nörogelişim ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca ZNF804A knockdown ile hücre adezyonunda rol alan genlerin ekspresyon seviyelerinde değişimler görülmüştür. Özellikle STMN3 geninde (neurite gelişimi ile aksonal ve dentritik

dallanmada görevli) önemli ekspresyon değişimleri belirlenmiştir. ZNF804A risk alleli taşıyanların beyinde ZNF804A ekspresyonu daha yüksektir (Zhang et al. 2012).

Bu SNP'nin şizofreni ile ilişkisinin yanı sıra bipolar bozuklukla da ilişkisi gösterilmiştir. Askeri eğitim gören 1507 sağlıklı genç erkekte yapılan bir çalışmada pozitif şizotipal fenotip ile ilişkilendirilmiştir (Schwab et al. 2013b).

ZNF804A geni; 2008'de UK (İngiliz) populasyonunda 642 şizofreni, 2937 kontrol ile çalışılan ilk GWAS'ı takiben yürütölen yüksek ölçekli bir follow-up genom bağlantı çalışmasında, hem şizofreni hem de bipolar bozuklukla ilişkili gösterilen ilk anlamlı ( $p=9.96 \times 10^{-9}$ , OR=1.12) gen olmuştur. 9.173 hasta (şizofreni ve bipolar bozukluk), 12.834 kontrol kullanılmış ve ZNF804A rs1344706 T alleli, hem şizofreni hastalarında, hem de bipolar hastalarında risk olarak saptanmıştır (O'Donovan et al. 2008).

ZNF804A geni; N terminal ucunda bir çinko parmakçık bölgesi içerir ve DNA'ya bağlanarak birçok genin ekspresyonunu düzenler. Ayrıca risk allelinin düşük bilişsel işlevlerle ve değişken kortikal aktivite ile ilişkisi (fMRI çalışmaları ile) belirlenmiştir. Homozigot risk alleli taşıyan yüksek IQ'ya sahip kişilerde, düşük bilişsel işlev saptanmıştır (Chen et al. 2012).

ZNF804A rs1344706 risk alleli değişken fonksiyonel bağlantı, nispeten azalmış nöropsikolojik performans ve sosyal bilişsel durumlarda azalan aktivite ile ilişkilidir (Donohoe et al. 2010).

Yeni bir çalışmada ise ZNF804A geninin yeni bir transkripti keşfedilmiştir. Bu transkriptte 1. ve 2. eksonlar bulunmamaktadır, sadece insan fetal beyinde regüle olduğu belirlenmiştir. Bu özellik sebebiyle bu transkriptin fetal beyin gelişimi ve psikiyatrik hastalıkların oluşumundaki nörogelişimsel süreçlerin önemine dikkat çekmektedir (Tao et al. 2014).

ZNF804A'nın moleküler işlevi henüz net olmasa da, amino asit dizisinin C2H2-tipi çinko parmakçık bölgesi içerdiği düşünölmekte ve bu sebeple DNA bağlama ve transkripsiyonda rol oynadığı düşünölmektedir. Transkripsiyonda rol oynadığı göz önünde bulundurularak, regüle ettiği genleri saptamaya yönelik bir çalışmada şizofreni ile ilişkili

olan 4 geni (PRSS16, COMT, DRD2 ve PDE4B) regüle ettiği görülmüştür. Bunlardan PRSS16 ve COMT genlerinin doğrudan promotor bölgeleri ile etkileşime geçerek upregüle ettiğini, transkript miktarını arttırdığı görülmüştür. Diğer genler DRD2 ve PDE4B'i ise downregüle ettiği ve transkripsiyonu azalttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar ZNF804A'nın şizofreni ilişkili genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynadığını göstermektedir (Girgenti et al. 2012).

Örneğin; yukarıda ZNF804A'nın upregüle ettiği genlerden biri olan, dopaminerjik regülasyonda rol oynayan COMT (Katekol-O-Metil Transfereaz) geninin Val108/158Met polimorfizmi, Türk popülasyonunda 297 şizofreni hastası ve 341 kontrol ile çalışılmıştır. Genel anlamda COMT-LL genotipinin risk oluşturduğu ( $p=0.001$ , OR=2.085, %95 güven aralığı=1.350-3.219), bu analizler cinsiyete göre yapıldığında kadınlarda bu polimorfizmin, erkeklere oranla daha yüksek bir risk oluşturduğu ( $p=0.005$ , OR=2.456, %95 güven aralığı=1.287-4.687) belirlenmiştir. Bu da şizofreninin patofizyolojisinde cinsiyet farklılığının önemini de yansıtmaktadır (Sazcı et al. 2004).

Ayrıca yapılan kognitif çalışmalarda; bu varyantın prefrontal korteksin fonksiyonel bağlantılarında rol oynadığı, hem yarı küreler boyunca, hem de hipokampusta amygdalanın fonksiyonel bağlantılarını arttırabildiği görülmüştür. Bu bölgeler özellikle nörofizyolojik süreçlerle (görsel hafıza ve dikkat gibi) ilişkili olduğundan, hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta çok önemli bir görev oynayabileceği düşünülmektedir (Zaharie et al. 2012).

Son yıllarda yapılan üst çözümlene çalışmalarından birinde, Avrupa kökenli hastalarda rs1344706 varyantının, hem şizofreni ( $p=2.5 \times 10^{-11}$ , OR=1.10, %95 güven aralığı=1.07-1.14), hem de şizofreni ve bipolar bozukluk birlikte kombine olduğunda ( $p=4.1 \times 10^{-13}$ , OR=1.11, %95 güven aralığı:1.07-1.14) önemli bir anlamlılık gösterdiği belirlenmiştir (Williams et al. 2011).

Bir diğer üst çözümlene çalışmasında da, Avrupa ve ABD kökenli şizofreni hastalarında ( $p=0.004$ , OR=0.89, %95 güven aralığı=0.82-0.96) bu varyantın ilişkisi saptanmıştır (Zhang et al.2011b).

Pozitif çıkan bir diğer üst çözümlene de ise Avrupa ve Çin kökenli şizofreni hastalarının birlikte analiz edilmesiyle ( $p<1 \times 10^{-5}$ , OR=1.12, %95 güven aralığı=1.06-1.17) yine anlamlı bir sonuç çıkmıştır. Bu iki popülasyon ayrı analiz edildiğinde ise bu varyant

yine ilişkili olarak saptanmış, sonuçlar Avrupa kökenli hastalarda; ( $p < 1 \times 10^{-4}$ , OR=1.12, %95 güven aralığı=1.06-1.18), Çin kökenli hastalarda; ( $p=0.03$ , OR=1.17, %95 güven aralığı=1.01-1.34) şeklinde çıkmıştır (Zhang et al. 2012).

Türk popülasyonu için yapılan bağımsız bir çalışmada, bu varyantın şizofreni hastalarında, hem genel anlamda T allelinin,  $p=0.037$ , OR=2.53, %95 güven aralığı=1.03-6.21 şeklinde risk oluşturduğu, hem de cinsiyetlere göre analiz edildiğinde, erkeklerde bu varyantın genel olarak  $p=0.043$  ile bağlantılı görüldüğü ve TT genotipinin ise  $p=0.026$ , OR=2.22, %95 güven aralığı=1.09-4.53 olacak şekilde risk oluşturduğu belirlenmiştir (Sazcı et al. 2012).

ZNF804A rs1344706 polimorfizmi, İrlanda kökenli 1.021 şizofreni hastası, 626 kontrolde incelenmiştir. Risk alleli  $p=0.011$ , OR=1.20 ve %95 güven aralığı=1.03-1.40 olacak şekilde ilişkili bulunmuştur (Riley et al. 2010).

Diğer yandan negatif sonuç veren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin; Alman kökenli şizofreni hastalarında yapılan bir GWA çalışmasında rs1344706 varyantının şizofreni ile ilişkisi ( $p=0.31$ , OR=1.08, %95 güven aralığı=0.93-1.26) saptanamamıştır (Schanze et al. 2011).

Bir diğer çalışma ise; Romanya-Cluj, Napoca kökenli 231 şizofreni hastası ve 222 kontrol ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçta, genel olarak bakıldığında;  $p=0.693$ ,  $\chi^2=0.734$  olacak şekilde, risk alleli açısından bakıldığında ise; TT genotipi için  $p=0.946$ , OR=0.987, %95 güven aralığı=0.679-1.435 ve T alleli için de  $p=0.406$ , OR=0.789, %95 güven aralığı=0.451-1.380 şeklinde anlamlı bir bağlantı görülmemiştir (Zaharie et al. 2012).

Genelde Avrupa kökenli şizofren hastalarında ilişkisi daha net belirlenen bu varyant için, Han-Çin kökenli çalışmalar birbirinden tutarsız sonuçlar vermektedir. Bunu dengelemek amacı ile yakın zamanda yapılan bir üst çözümleme çalışmasında, sonuçlar negatif çıkmış ( $p=0.10$ , OR=1.06, %95 güven aralığı=0.99-1.13), böylelikle birçok bağımsız çalışmanın değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçta Han Çin kökenli şizofren hastalarında rs1344706 varyantı bir risk teşkil etmemektedir (Li et al. 2013).



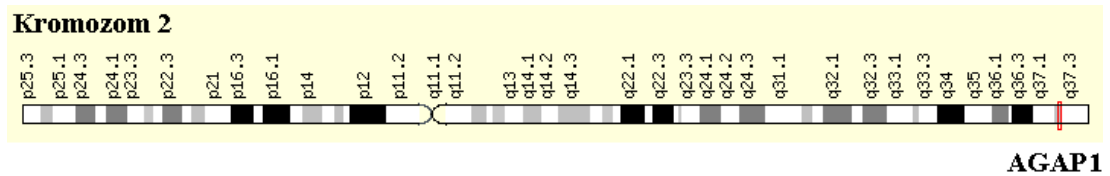
Şizofreni için online bir veri tabanı olan [www.szgene.org](http://www.szgene.org) sitesinden alınan üst çözümlene sonuçlarına göre ZNF804A rs1344706 polimorfizmi için OR=0.90 ve %95 güven aralığı=0.84-0.96 şeklindedir. Çizelge 1.10'da bu siteden alınan şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümlene sonuçlarının T allel frekansları gösterilmektedir. ([www.szgene.org](http://www.szgene.org))

**Çizelge 1.10 Şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümlene sonuçları, T allel frekansları**

Köken	Çalışma sayısı	Hasta/Kontrol	rs1344706 T Allel Frekansı
Kafkas	8	Şizofreni	0.64
		Kontrol	0.60
Asya	3	Şizofreni	0.49
		Kontrol	0.47
Toplam	11	Şizofreni	0.60
		Kontrol	0.58

### 1.5.2.2 GTPase BÖLGESİ, ANKYRIN TEKRARI ve PLECKSTRİN HOMOLOJİ BÖLGESİNE SAHİP ADP-RİBOZİLASYON FAKTÖRÜ 1 (ArfGAP WITH GTPase DOMAIN, ANKYRIN REPEAT and PH DOMAIN 1, AGAP1)

AGAP1, kromozom 2q37.2 üzerinde (Şekil 1.10) bulunur. 857 amino asitten oluşan, 94470 Da ağırlığında, homodimer yapıda bir protein kodlar. Bu genin 25 tane ekzonunun ve 13 tane transkript varyantının olduğu belirlenmiştir ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)).



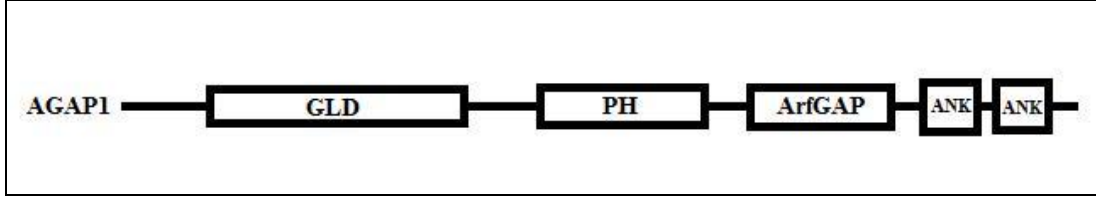
**Şekil 1.10 AGAP1 geninin kromozom 2 üzerindeki yerleşimi**

Bu gen, membran trafiğinde ve hücre iskeletinin dinamiğinde rol oynayan ADP-ribozilasyon faktör GTPaz-aktive edici protein ailesine dâhil bir protein kodlamaktadır. İşlevi ise; PH bölgesi aracılığıyla endozomlardaki klatrin adaptör-ilişkili protein kompleksi 3'e (AP-3) bağlanarak, doğrudan regülasyonu sağlamaktır.

ArfGAP protein ailesi; Arf'ye bağlı GTP'lerin hidrolizini tetikleyen, yaygın katalitik bölgeye sahip bir protein ailesine dahildir. Aktin sitoskeletonunu ve hücre göçü, hareketi gibi hücresel aktiviteleri etkiler. ArfGAP'ların bir diğer rolü de aktin polimerizasyonu ile membranın yeniden şekillendirilmesidir. Bu görevleri sayesinde, ArfGAP'lar sinyaller doğrultusunda, biyokimyasal aktivitelerin sorunsuz işlemesi için aktin ve membran değişimlerini koordine eder (Randazzo et al. 2007).

ABD'de yapılan bir çalışmada; otizmlili 3 hastada kromozom 2q37.3 üzerinde terminal delesyonlar saptanmıştır. Bu sebeple, kromozom 2q37 otizm genetiğinin ilgi alanına girdiğinden araştırmalar bu bölge içerisindeki genlere odaklanmıştır. Sonrasında daha çok hasta ile yapılan polimorfik haritalama ve FISH analizleri sonucu AGAP1 geninin otizm için aday gen olduğu belirlenmiştir. AGAP1'in ekspresyon analizlerine bakıldığında da, özellikle fetal ve yetişkin beyin dokusunda, gelişmekte veya olgun nöronların sinapslarında yoğunlaştığından otizm için fonksiyonel olarak uygun bir gen olabileceği düşünülmektedir (Wassink et al. 2005).

Genin işlevine yönelik araştırmalara bakıldığında, AGAP'lar, Arf GTPaz-aktive proteinlerinin (GAP) bir alt tipidir. Arf GAP bölgesine ek olarak, proteinler G-protein benzeri bölge (GLD) de içerirler. Bu bölge Ras super ailesi ile homoloji gösterir. AGAP'ler klatrin adaptörlerine bağlanarak, Golgi membran trafiğinde görev yaparlar. AGAP'ların regülasyonuna dair henüz net bilgiler mevcut değildir. GTP bağlanma bölgesi içeren diğer enzimler, nükleotid bağlanması ile kontrol edilirler. Lakin AGAP'lara nükleotid bağlanması ile ilgili bir bilgi henüz tespit edilmemiştir. Japonya'da bu bilgiler doğrultusunda yapılan bir çalışmada, AGAP1 üzerinde bulunan GLD bölgesine bağlanan proteinlerin allosterik şekilde katalitik aktiviteyi düzenlediği belirlenmiştir. Şekil 1.11'de AGAP1'in yapısal bölgelerinin şematik görüntüsü bulunmaktadır (Luo et al. 2012).



**Şekil 1.11 AGAP1'in yapısal bölgelerinin şematik görüntüsü (Luo et al. 2012)**

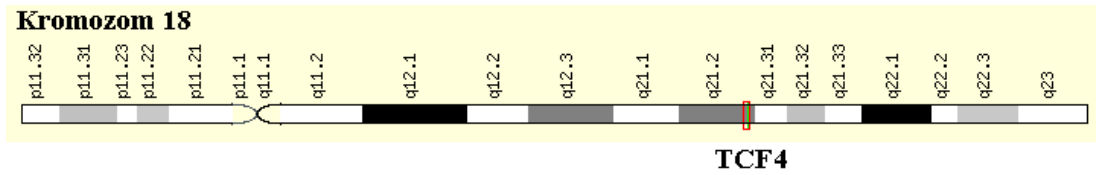
#### **rs13025591:**

Bu SNP herhangi bir amino asit değişimi gerçekleştirmez. Yerleşim tipi: intronik varyanttır. Kromozom 2 üzerindeki pozisyonu: 236795343 (+)'dür. AGAP1'in 10. intronu üzerinde A>C değişimi görülür. A atasal alleldir. Minor allel frekansı: C=0.40'dır (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

ABD'de yapılan bir GWA çalışmasında; Avrupa kökenli 2681 şizofreni hastası, 2653 kontrol ve Afrika-Amerika kökenli 1286 şizofreni hastası, 973 kontrol ile bunların kombine analizleri yapılmıştır. Avrupa kökenli örneklerde, en güçlü ilişki AGAP1 geninde bulunan SNP rs13025591'de saptanmıştır ( $p=4.59 \times 10^{-7}$ , OR=1.225). Bu gen açısından benzer bir ilişki Afrika-Amerika kökenli örneklerde bulunmamıştır (Shi et al. 2009).

#### **1.5.2.3 TRANSKRİPSİYON FAKTOR 4 (TRANSCRIPTION FACTOR 4, TCF4)**

TCF4 geni kromozom 18q21.2 üzerinde (Şekil 1.12) bulunur. 33 ekzondan oluşmaktadır. 667 amino asitten oluşan, 71308 Da ağırlığında, özellikle beyin olacak şekilde, kalp, plasenta ve gelişmekte olan embriyonik dokularda eksprese olan, heliks-döngü-heliks transkripsiyon faktörü ailesine dahil bir protein kodlar. 48 tane transkript varyantının olduğu belirlenmiştir ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)).



**Şekil 1.12 TCF4 geninin kromozom 18 üzerindeki yerleşimi**

TCF4'ün kodladığı heliks-döngü-heliks transkripsiyon faktörü, immunoglobulin yükselticilerinde yer alan, Ephrussi-box (E-box) bağlanma bölgesi içindeki 5'-CANNTG-3' motifini tanıır. Buraya bağlandığında transkripsiyonu aktive eder. Özellikle sinir sistemi gelişiminde yer alan dokularda eksprese olur. Nöronal farklılaşmanın başlatılmasını sağlar.

Bu gendeki hasarların Pitt-Hopkins sendromuna yol açtığı görülmüştür. Pitt-Hopkins Sendromu; otozomal dominant kalıtım gösteren, ileri seviyede motor ve mental gerilik, mikrosefali, epilepsi ve yüz dismorfizmleri ile belirgin nörogelişimsel bir hastalıktır. Fenotip Pitt-Hopkins'teki kadar ileri seviyede olmasa bile, TCF4 geninin ekzon 4'ünü içeren translokasyonlarda da mental gerilik görülmektedir (Stefansson et al. 2009).

### **rs9960767**

Bu SNP herhangi bir amino asit değişimi gerçekleştirmez. Yerleşim tipi; intronik varyanttır. TCF4 geninin 3. intronunda bulunur. Kromozom 18 üzerindeki pozisyonu 53155002 (+)'dir. A>C değişimi görülür. A alleli atasal alleldir. Minor allel frekansı, C:0.18'dir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

Bu varyantın dikkat çektiği ilk çalışma bir GWA çalışmasıdır. Örnekler şu şekildedir;

- SGENE-plus örnekleri: Avrupa kökenli 2.663 şizofreni, 13.498 kontrol

-Yine Avrupa kökenli bu örneklerin devamı olan: 4.999 şizofreni, 15.555 kontrol

-ISC (Uluslararası Şizofreni Konsorsiyumu) ve MGS (Şizofreninin Moleküler Genetiği) çalışmalarının örnekleri birlikte; 5.283 şizofreni ve 5.088 kontrol olacak şekilde;

Toplamda; 12.945 şizofreni ve 34.591 kontrol çalışılmıştır.

Özellikle kromozom 6, 11 ve 18. Kromozomlarda bağlantılar tespit edilmiş, kromozom 18'de bulunan TCF4 geni rs9960767 polimorfizminin  $p=4.1 \times 10^{-9}$ , OR=1.23, %95 güven aralığı=1.15-1.32 ile bir risk oluşturduğu saptanmıştır (Stefansson et al. 2009).

Stefansson ve ark.'nın yaptığı çalışmadan yola çıkarak Han kökenli Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada TCF4 üzerinde bulunan 9 SNP incelenmiştir. Bunlardan rs9960767'de dahil olmak üzere 4 tanesi Çin popülasyonunda polimorfik yapı

göstermediği tespit edilmiştir. 2496 şizofreni hastası ve 5184 kontrol incelenmesine rağmen, A>C değişimi gözlenmemiştir (Li et al. 2010).

TCF4'ün şizofreni oluşum mekanizmasında yer alan elektrofizyolojik ve bilişsel süreçlerin incelenmesi amacıyla 401 şizofreni hastası ile yapılan bir çalışmada öncelikle her bir hastanın TCF4 rs9960767 açısından genotiplenmesi yapılmış ve her birine nörofizyolojik sözlü hafıza testi (RAVLT) uygulanmıştır. TCF4 risk alleli C taşıyan hastalar, AA genotipine sahip hastalar ile karşılaştırıldığında sözlü hafıza bakımından önemli bir fark görülmemiştir. Lakin en az bir C risk alleli taşıyan hastalar, taşımayanlara oranla belirgin bir şekilde daha fazla kelime tanımış ve hatırlamışlardır (Lennertz et al. 2011).

Bir diğer çalışmada, 113 şizofreni hastası ve 107 kontrolde, duyu-motor analizleri yapılmış, C risk alleli taşıyıcılarında azalmış sensorimotor geçişi görülmüştür (Quednow et al. 2011).

İlk psikoz atak geçiren hastalarda ise bu polimorfizm, kognitif testlerle karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. 173 hastanın incelendiği bu çalışmada, C allel taşıyıcıları (CC/CA), taşımayanlara (AA) oranla muhakeme ve problem çözme ile ilişkili kognitif testlerde daha düşük performans göstermişlerdir (p=0.038) (Albanna et al. 2014).

Ayrıca TCF4'ün MIR137 tarafından kodlanan, miRNA-137'nin hedefi olduğu ve bu genin şizofreni ve ileri seviye kognitif hasarlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir. MIR137; yetişkin nörogeneziste ve nöronal farklılaşmada rol oynamaktadır. Bu genin bulunduğu lokus üzerindeki varyasyonlar, beyin gelişim anomalilerine sebep olmaktadır. 2 ayrı görüntüleme çalışması ile bu microRNA'nın şizofreni ile ilişkisi güçlendirilmiştir. MIR137'nin hedeflerini belirlemek için farklı programlar kullanılarak (Örn: TargetScan, PicTar gibi.) 4 tane genin; TCF4, CACNA1C, CSMD1 ve C10orf26'nın hedef genler olduğu belirlenmiştir. Nöronal hücre hattında MIR137'nin susturulması veya fazla ekspresyonu özellikle TCF4 proteinin ekspresyon seviyelerini etkilemiş, MIR137 ile TCF4 arasında güçlü bir bağlantı saptanmıştır (Ripke et al. 2011; Ripke et al. 2013).

Şizofreni için online bir veri tabanı olan [www.szgene.org](http://www.szgene.org) sitesinden alınan sonuçlara göre TCF4 geni rs9960767 polimorfizmi için; OR=1.23 ve %95 güven

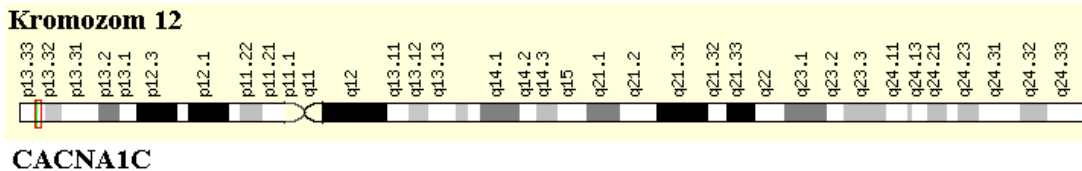
aralığı=1.12-1.36 şeklindedir. Çizelge 1.11’de bu siteden alınan, şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümleme sonuçlarının C allel frekansları gösterilmektedir (www.szgene.org).

**Çizelge 1.11 Şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümleme sonuçları, C allel frekansları**

Köken	Çalışma sayısı	Hasta/Kontrol	rs9960767 C Allel Frekansı
Kafkas	21	Şizofreni	0.07
		Kontrol	0.06
Asya	1	Şizofreni	0.00
		Kontrol	0.00
Toplam	22	Şizofreni	0.05
		Kontrol	0.05

#### 1.5.2.4 VOLTAJ-BAĞIMLI, L TİPİ KALSİYUM KANALI, 1C ALT ÜNİTESİ (CALCIUM CHANNEL, VOLTAGE-DEPENDENT, L TYPE, ALPHA 1C SUBUNIT, CACNA1C)

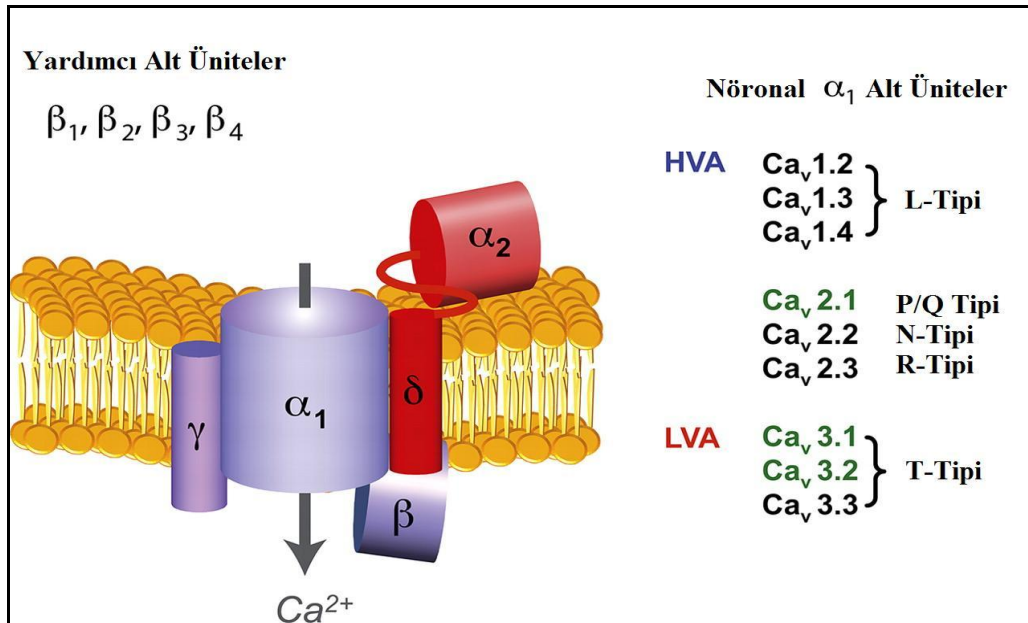
CACNA1C geni kromozom 12p13.33 üzerinde bulunur (Şekil 1.13). 55 ekzondan oluşmaktadır. 2221 amino asitten oluşan, 248977 Da ağırlığında, özellikle beyin, kalp, ovaryum, beta hücreleri ve vasküler düz kaslarda eksprese olan, voltaj bağımlı kalsiyum kanalının, alfa-1 alt ünitesini oluşturan proteini kodlar. 36 tane transkriptinin (kesim varyantının) olduğu belirlenmiştir (www.ensembl.org).



**Şekil 1.13 CACNA1C geninin kromozom 12 üzerindeki yerleşimi**

Kalsiyum kanalları; 1:1:1:1 oranları ile alfa-1, alfa-2/delta, beta ve gama alt ünitelerini içerirler. Bu proteinlerin her biri için birden çok isoform mevcuttur. CACNA1C geninin alfa-1 alt ünitesini kodladığı voltaj bağımlı kalsiyum kanalları; membran polarizasyonunda kalsiyum iyon geçişini gerçekleştirirler. Alfa-1 alt ünitesi 24 adet transmembran segmentin birleşimi ile kalsiyum iyonlarının hücreye girişini sağlayan boşluğu oluştururlar. Alfa 1-C izoformu, L-tipi (uzun süreli) kalsiyum akışını sağlar. CACNA1C tarafından kodlanan protein; Dihidropiridine bağlanır ve bu şekilde inhibe olur (www.ncbi.nlm.nih.gov/gene).

Farmakolojik ve elektrofizyolojik teknikler kullanılarak, voltaj bağımlı kanalların 6 tipi belirlenmiştir. Bunlar sırasıyla;  
 Yüksek voltaj bağımlı, dihidropiridine duyarlı: L tipi  
 Yüksek voltaj bağımlı, dihidropiridine duyarsız: N, P, Q, R tipleri  
 Düşük voltaj bağımlı: T tipi şeklindedir (Şekil 1.14).



**Şekil 1.14 Voltaj-bağımlı kanal tipleri (Khosravani and Zamponi, 2006).**

Voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının hücrelerdeki görevleri; kas kasılması, hormon ve nörotransmitter salınımı, gen ekspresyonu, hücre hareketi, bölünmesi ve hücre ölümü şeklinde belirtilebilir. Bunun yanında kalpte uyarılma/kasılma esnasında da rol oynarlar.

CACNA1C geninin mutasyonları, Brugada sendrom-3 ve Timothy sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Brugada sendromu; Kısalmış QT aralığı ile karakterize bir kalp hastalığıdır. Ventriküllerin çok hızlı atımını sağladığından, kanın vücutta verimli dolaşımı sağlanamaz. Bu nedenle hasta baygınlık geçirebilir ve eğer kalp kendisini yeniden düzene sokamaz ise, kısa bir süre içinde kişinin ölümü ile sonuçlanır. Timothy sendromu ise ölümcül aritmiler, el ve ayak parmaklarının anomalileri, konjenital kalp hastalığı, bağışıklık sistemi bozuklukları, otizm ve kognitif anomalilerle karakterize edilen bir hastalıktır.

Psikiyatrik Genomik Konsorsiyumun Çaprazlama Hastalık (Cross-Disorder) Grubu'nun yaptığı çalışmada beş ayrı psikiyatrik hastalık incelenmiştir. Bunlar;

- Otizm ve ilişkili hastalıklar için; 4.788 trio vaka, 161 otizm vakası ve 526 kontrol,
- ADHD için; 1.947 trio vaka, 840 vaka ve 688 kontrol,
- Bipolar bozukluk için; 6.990 vaka ve 4.820 kontrol,
- Majör depresif bozukluk için; 9.227 vaka ve 7.383 kontrol,
- Şizofreni için; 9.379 vaka ve 7.736 kontrol şeklindedir.

Bu çalışmayı planlarken 2 soruya cevap aramışlardır: Bu sorular: “5 hastalığın birlikte incelenmesi ile ortaya çıkacak olan bilgi ne ifade edecek? ve ortaya çıkan risk oranları, tek hastalık çalışmalarına göre daha güçlü bir sonuç verecek mi?” şeklindedir. Çalışmada yer alan hastalıkların dağılımı, çocukluktan yetişkinlik dönemine kadar olan süreci kapsamaktadır. Ortaya çıkan sonuçlar; CACNA1C geninin şizofreni ve bipolar bozukluk ile ilişkisini ( $p=1.87 \times 10^{-8}$ , OR=1.07, %95 güven aralığı=1.05-1.10) ve CACNB2 geninin ise tüm hastalıklarla ilişkisini ( $p=4.29 \times 10^{-8}$ , OR=1.08, %95 güven aralığı=1.05-1.12) göstermektedir. Ayrıca CACNA1C geni üzerindeki mutasyonların otizm gibi fenotipik etkiler gösteren Timothy sendromuna da yol açtığı bilinmektedir (Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium et al. 2013).

### **rs4765913**

Bu SNP herhangi bir amino asit değişimi gerçekleştirmez. Yerleşim tipi; intronik varyanttır. Kromozom 12 üzerindeki pozisyonu 2419896 (+)'dir. T>A değişimi görülür. T alleli atasal alleldir. Minor allel frekansı, A:0.10'dur (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP).



Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu-Bipolar Bozukluk grubunun 2011 yılında yaptığı yüksek ölçekli bir GWA çalışması iki aşamada gerçekleşmiştir. İlk aşamada 7.481 bipolar bozukluk hastası, 9.250 kontrol incelenmiştir. Sonrasında bağımsız araştırmacıların örnekleri de eklenerek; 11.974 bipolar bozukluk hastasına ve 51.792 kontrole ulaşılmıştır. CACNA1C rs4765913 polimorfizmi; hem bağımsız araştırmacıların örneklerinde ( $p=1.6 \times 10^{-4}$ , OR=1.13), hem de tüm örneklerin kombinasyonunda ( $p=1.52 \times 10^{-8}$ , OR=1.14) bipolar bozukluk ile ilişkili bulunmuştur. Şizofreni ve bipolar bozukluğun genetik örtüşmesinden ötürü, paralel bir analiz ise Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu-Şizofreni grubu tarafından yürütülmüştür. Her iki hastalığa dair bilgiler kombine edildiğinde CACNA1C rs4765913'ün, daha önceki sonuçlardan çok daha yüksek ilişkili olduğu ( $p=7.7 \times 10^{-8}$ , OR=1.1) belirlenmiştir (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group, 2011).

Han-Çin kökenli 1.430 şizofreni hastası ve 1.570 kontrol kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, CACNA1C üzerinde yer alan 21 adet SNP incelenmiştir. CACNA1C rs4765913 polimorfizmi için ( $p=0.19$ ) bir bağlantı bulunamamıştır (Guan et al. 2014).

Şizofreni ve bipolar bozukluk için yapılan GWAS'lardan yola çıkarak, risk olduğu düşünülen SNP'lerin nörofizyolojik incelemelerini yapan bir çalışmada; 199 şizofreni/bipolar hastası ile 74 kontrol incelenmiştir. Araştırmada yer alan birçok SNP (Örn; ZNF804A-rs1344706, TCF4-rs9960767 ve CACNA1C-rs4765913 gibi) içerisinde, sadece CACNA1C rs4765913'ün duyuşal geçiş fenotipi ile ilişkisi gösterilmiştir. Risk alleli olan A alleleline sahip hastalarda daha iyi duyuşal geçiş performansı görülürken ( $p=0.0012$ ), kontrollerde görülmemektedir (Hall et al. 2014).

Duygudurum stabilizasyonu için kullanılan ilaçların bir kısmı iyon kanallarına etki ederler. Özellikle bipolar bozukluk tedavisinde L tipi kalsiyum kanal bloklayıcıları kullanılmaktadır. L tipi kalsiyum kanallarının nöronal plastisite üzerine etkisi de CACNA1C geninin psikiyatrik hastalıklar için önemli bir gen olduğunu göstermektedir (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group, 2011).

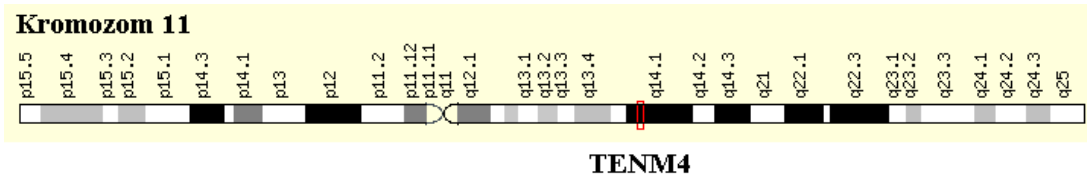
2008 yılında yapılan bir GWA çalışmasında, CACNA1C ve ANK3 (Ankyrin G) genleri üzerinde yer alan SNP'ler ile bipolar bozukluk arasında güçlü bir bağlantı göstermiştir. ANK3 geninin kodladığı protein, voltaj kapılı sodyum kanallarının

oluşumunu kontrol eder. Ayrıca fare üzerinde yapılan çalışmalar ile lityum tedavisine yanıt olarak beyinde ANK3 ve kalsiyum kanal alt ünitelerinin ekspresyonunun downregüle olduğu gösterilmiştir. Lityum, bipolar bozukluk için en etkili farmakoterapi olduğundan, hastalığın oluşum mekanizmasında iyon kanallarının önemine dikkat çekmektedir (Ferreira et al. 2008).

Daha önce de bahsedildiği gibi, miRNA'lar; mRNA'ların stabilite ve kontrolünü sağlayan küçük kodlamayan RNA'lardır. Tek bir miRNA'daki bozukluk, gen ekspresyon profillerini ve hücre gelişimin etkileyebilir. Özellikle sinir sistemi üzerine etkilerinden dolayı (nöronal göç, farklılaşma gibi) psikiyatrik hastalıklar için önem arz etmektedirler. Bunlardan MIR137 geninin kodladığı miR-137 özellikle şizofreni için önemli bir risk oluşturmaktadır (Ripke et al.2011). Bu belirlendikten sonra bu miRNA'nın hedeflerinin belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır. Bu miRNA'nın hedeflerinden birinin de CACNA1C geni olduğu belirlenmiştir (Wright et al. 2013).

#### 1.5.2.5 TENEURİN TRANSMEMBRAN PROTEİNİ 4 (TENEURIN TRANSMEMBRANE PROTEIN 4, TENM4)

TENM4 geni kromozom 11q14.1 üzerinde (Şekil 1.15) bulunur. 36 ekzondan oluşmaktadır. 2769 amino asitten oluşan, 307957 Da ağırlığında nöronal gelişim ve hücre yüzeyi sinyal mekanizmasında rol oynayan transmembran bir proteini kodlar. 12 tane transkriptinin (kesim varyantının) olduğu belirlenmiştir. Özellikle merkezi sinir sistemi gelişimi ve organ oluşumu esnasında eksprese olurlar (www.ensembl.org).



Şekil 1.15 TENM4 geninin kromozom 11 üzerindeki yerleşimi

TENM4 geninin kodladığı protein, sinir sistemi içerisinde düzenli bir iletim sisteminin sağlanmasında, nöronal gelişimde, gastrulasyon esnasında anterior/posterior aksisin oluşumunda, oligodendrosit farklılaşmasında ve küçük çaplı aksonların

miyelinizasyonunda rol oynarlar. Ayrıca hücrel sinyal dönüştürücü olarak görev yaparlar.

TENM4'ün *Drosophila Melanogaster*'de bulunan homoloğu Odz4, segmentasyonu düzenler. Ayrıca embriyonik merkezi sinir sisteminin, kalp ve trakenin gelişiminde ve farklılaşmasında rol oynar. Protein yapısal olarak; EGF-benzeri tekrarlar, bu tekrarların sonrasında hidrofobik bir dizi ve birkaç adet tirozin kinaz fosforilasyon bölgelerinden oluşur. EGF-benzeri tekrarların hücre dışında protein-protein etkileşimini sağladığı, hidrofobik dizinin potansiyel transmembran bölgesi olduğu ve tirozin kinaz fosforilasyon bölgesinin ise hücre içinde görev yaptığı belirlenmiştir. Bu proteinin farede (Tenm4) ve insanda da homologları (Teneurin 4) belirlenmiştir. *Drosophila*'dan insana kadar filogenetik açıdan oldukça iyi korunmuştur (Ben-Zur et al. 2000).

Hücre kültürü çalışmaları ile teneurinlerin hücre içi bölgelerinin, membrandan ayrılma sonrasında proteolitik bir süreçten geçerek, nukleusa geçtiği belirlenmiştir. Bu da teneurinlerin transkripsiyon faktörü olarak görev yapabileceğini göstermektedir (Tucker et al. 2007).

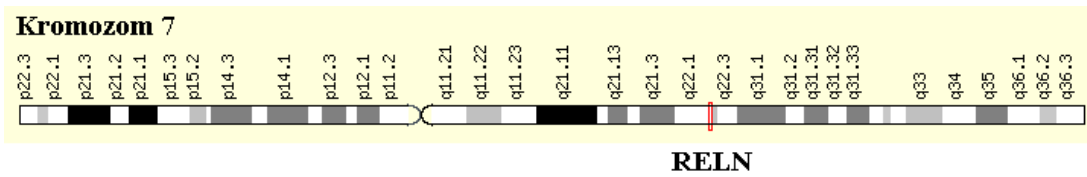
### **rs12576775**

Bu SNP herhangi bir amino asit değişimi gerçekleştirmez. Yerleşim tipi; intronik varyanttır. Kromozom 11 üzerindeki pozisyonu 79077193 (+)'dür. A>G değişimi görülür. A alleli atasal alleldir. Minor allel frekansı, G:0.09'dur (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP).

Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu-Bipolar Bozukluk grubunun 2011 yılında yaptığı yüksek ölçekli bir GWA çalışması iki aşamada gerçekleşmiştir. İlk aşamada 7.481 bipolar bozukluk hastası, 9.250 kontrol incelenmiştir. Sonrasında bağımsız araştırmacıların örnekleri de eklenerek; 11.974 bipolar bozukluk hastasına ve 51.792 kontrole ulaşılmıştır. TENM4, rs12576775 polimorfizmi; hem ilk aşama örneklerinde ( $p=2.1 \times 10^{-7}$ , OR=1.18, %95 güven aralığı: 1.11-1.25), hem de tüm örneklerin kombinasyonunda ( $p=4.4 \times 10^{-8}$ , OR=0.88) bipolar bozukluk ile ilişkili bulunmuştur (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group, 2011).

### 1.5.2.6 REELIN (RELN)

RELN geni kromozom 7q22.1 üzerinde (Şekil 1.16) bulunur. 65 ekzondan oluşmaktadır. 3460 amino asitten oluşan, 388388 Da ağırlığında beyin gelişiminde nöronal göç ve hücre konumlanmasında kritik rol oynayan, hücre-hücre etkileşimlerini kontrol eden, büyük ekstraselüler bir matriks proteinini kodlar. 7 tane transkriptinin (kesim varyantının) olduğu belirlenmiştir. Yetişkin beyinde, GABAerjik ara nöronlarda, temporal kortekste, hipokampusta, serebellumda yer alan glutamaterjik granül hücrelerinde, fetal ve yetişkin karaciğerinde eksprese olurlar (www.ensembl.org).



**Şekil 1.16 RELN geninin kromozom 7 üzerindeki yerleşimi**

Reelin ekspresyonu erken-gelişim döneminde başlamasına rağmen, yetişkin beyinde aktivitesini sürdürmeye devam eder. Sinaptik plastisiteyi düzenleyerek, uzun süreli potansiyonun başlatılmasını ve devamlılığını sağlar. Ayrıca dendrit ve dendritik omurga gelişimini uyarır ve yetişkin nörogenezinde oluşturulan nöroblastların göçünü düzenler. Sadece beyinde değil, aynı zamanda omurilik, kan ve diğer organlarda bulunur.

RELN geninin kodladığı ekstraselüler matriks serin proteazı, serebral korteks ve serebellumda nöronların katmanlaşmasını sağlar. Nöronlarda mikrotübül işlevini ve nöronal göçü düzenler. Enzimatik aktivite hücre adezyonun modülasyonu için önemlidir. Lipoprotein reseptörlerinin (VLDLR ve LRP8/APOER2) hücre dışı bölgelerine bağlanarak, DAB1'in ve TAU'nun fosforilasyonunu tetikler.

Reelin proteini, 27 amino asitten oluşan bir sinyal peptidi ile başlar, ardından F-spondin benzeri reeler bölgesi takip eder. Sonrasında ise reelin'e özgü H bölgesi gelir. Sonra 300-380 amino asitten oluşan "reelin tekrarları" gelir. Bu tekrarların merkezinde epidermal büyüme faktörü motifi bulunur, her tekrarı A (BNR/ASP-box tekrarı) ve B (EGF-benzeri bölge) olacak şekilde ikiye böler. Bu bölünmeye rağmen A ve B bölgesi

doğrudan temas ederek, kompakt bir yapı oluştururlar. En son reelin bölgesi bazik bir yapıda olan kısa bir C-terminal bölgesi (CTR) içeren, 32 amino asitten oluşan bir bölgedir. Bu bölge evrimde çok iyi korunmuştur, araştırılan tüm memelilerde %100 aynıdır. Önceleri bu bölgenin esansiyel olduğu düşünülmekte iken, sonraki çalışmalar sekresyon için esansiyel olmadığını, sadece CTR içermeyen mutantlarda sinyal akışında verimsizlik olduğu görülmüştür (Nogi et al. 2006).

Reelin'in ismi RELN geni üzerindeki mutasyon bakımından homozigot olan *reeler* farelerinden gelmektedir. Bu farelerde Reelin proteini eksikliği vardır. Merkezi sinir sisteminde nöronal konumlanmada ve serebral kortekste bozukluklar görülür. Heterozigot olan farede ise daha az nöroanatomik hasar bulunmakla beraber, psikotik hastalıklarda görülen özellikler gösterirler. 1998 ve 2000 yıllarında yapılan çalışmalar ile şizofreni ve bipolar bozuklukta serebellum, bazal ganglia, hipokampus ve kortekste postmortem incelemeler yaparak, reelin ekspresyonunda azalma olduğunu belirlemiştir. Bazı bölgelerinde bu azalma %50'ye kadar olabilmekte, ayrıca GAD-67 enziminin ekspresyonunda da eş zamanlı olarak yaklaşık %70 oranında bir azalma görülmektedir. Bu enzim glutamat'ın GABA'ya dönüşümünü katalizler. Şizofreni ve duygudurum bozukluklarında reelinin kandaki seviyeleri de azalmaktadır (Impagnatiello et al. 1998; Guidotti et al. 2000).

Daha önceki bulgulardan farklı olarak; şizofreni, bipolar hastaları ve kontrollerin postmortem prefrontal korteksinde, RELN mRNA ekspresyonunu ölçülmüştür ama hasta ve kontrollerin arasında genel mRNA seviyelerinde farklılık bulunamamıştır. Bu yüzden çalışmayı daha farklı bir boyutta incelemişlerdir. RELN geninin 2 alternatif izoformunun türleri arasında iyi korunmuş olduğu bilinmektedir. İzofomlardan biri; 6 nükleotid'lik bir mikroekzon içeren alternatif kesim sonucu oluşur. Bu mikroekzon bölgesi beyine özgüdür. Diğer izoform ise; alternatif bir poliadenozilasyon sonucu, reelin proteininin 3' ucunda (C-terminal) kayıp yaratmaktadır. Her iki izoformda RELN geninin 3' ucunu etkilediğinden, sinyal yolağının ilerlemesinde düzenleyici görev yaptıkları düşünülmektedir. Bu çalışmada bu izoform tiplerini şizofreni ve bipolar bozukluk için incelemiş, bipolar hastalarında C terminal kısmında kayıp olan izoformun ekspresyonunda önemli miktarda bir azalma bulunmuştur. Bu azalma şizofreni hastaları ve kontrollerde görülmemiştir (Ovadia and Shifman, 2011).

RELN genindeki hasarlar, otozomal resesif kalıtım gösteren serebral hipoplazili lizensefali hastalığına sebep olmaktadır. RELN transkripsiyonunda splicing'i etkileyen mutasyonlar çok az miktarda protein üretimine sebep olur. Bu hastalarda fenotipik olarak hipotoni, ataksi, gelişim geriliği, desteksiz oturamama, mental gerilik ve konuşma bozukluğu gösterirler. Akrafa evliliklerinde daha çok görülür. Reelin ayrıca, Alzheimer hastalığı, temporal lob epilepsisi ve otizmde de rol oynamaktadır.

Reelin reseptörleri ApoER2 ve VLDLR, LDL reseptör gen ailesine aittir. Bu ailenin tüm üyeleri Apolipoprotein E (ApoE) için reseptör görevi yaparlar. ApoE insan popülasyonunda 3 yaygın izoformda (E2, E3, E4) bulunur. ApoE4 formu geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı için birincil genetik risk faktörüdür. Alzheimer hastalığında ApoE reseptörlerinin merkezi bir rol oynadığı belirlenmiştir. Bir çalışma, Alzheimer hastalarında reelin ekspresyonu ve glikolizasyon süreçlerindeki bozuklukları saptamıştır. Hastaların korteksinde reelin seviyesinin kontrollere oranla %40 daha yüksek olduğu görülmüştür, aynı hastalarda serebellar reelin seviyesi ise normal düzeydedir (Folsom and Fatemi, 2013).

Başka bir çalışmada; şizofreni hastalarında, periferal lenfositlerde reelin reseptörlerinden biri olan VLDLR'nin seviyesinin azalmış olduğu belirlenmiştir. 6 ay süren psikoterapik tedavi sonrasında bu miktar yükselmiştir. Hatta bu çalışmada periferal VLDLR seviyesinin, şizofreni için bir biyo belirteç olabileceğini savunmaktadırlar (Suzuki et al. 2008).

Finlandiya'da yapılan bir aile-temelli bir çalışmada 352 çekirdek aile incelenerek, kromozom 7q21-32 üzerine odaklanılmıştır. Bu bölge içerisinde bulunan genler içerisinde RELN'in allelik varyasyonlarının hafıza, görsel ve sözlü çalışma belleği gibi işlevlerle de ilişkili olduğu saptanmıştır (Wedenoja et al. 2008).

## **RELN ve Epigenetik**

Epigenetik, DNA dizisinin kendisini değiştirmeden, gen ekspresyonunu etkileyebilen kalıtsal değişimler olarak adlandırılır. DNA metilasyonu ve histon proteinlerinin post-translasyonel değişimleri epigenetik değişimlere örnek olarak

verilebilir. DNA metilasyonu, 5'-CG-3' dizisi (CpG) üzerindeki, sitozin halkasının 5' ucuna bir metil grubunun kovalent bağlanması şeklinde belirtilebilir. Bu metilasyon dokuya veya hücre tipine özgü olabilir. CpG adacıkları bazen gen promotor bölgesinde olabilir. Metilasyon seviyesi ile gen transkripsiyon seviyesi birbiriyle ilişkilidir. Metilasyon çevresel koşullara bağlı olarak gerçekleşebilir. Çevresel koşullardan bir tanesinin embriyonik dönemde erken gelişimsel stres olduğu göz önüne alınırsa, nörogelişimsel hastalıkların oluşumunda epigenetiğin rolü çok önemlidir. Örneğin sipina bifida folat eksikliğinde görülür ki folat DNA metilasyon sürecinde, DNA'ya metil grubu transfer edecek olan S-adenozilmetiyonini (SAM) oluşturan bileşiklerden biridir. Ayrıca bazı çalışmalar şizofreni hastalarında serum folat seviyesinin azaldığı belirlenmiştir. Hayvan modelleri ile epigenetik ve nörogelişimsel hastalıklar arasındaki bağlantılar araştırılmaktadır. Reeler fareye, SAM biyosentezinin öncülü olan L-metiyonine bağlı bir diyet uygulandığında RELN geninin promotorunda metilasyonun arttığı görülmüştür (Van Loo and Martens, 2007).

RELN geninin transkripsiyon başlangıç bölgesi ve ilk ekzonu GC bakımından zengin olduğundan, geniş bir CpG adacığı bölgesi oluşturur. Psikiyatrik hastalıklarda RELN ekspresyonunun azalma sebebinin bu CpG adacıklarının hipermetilasyonu olduğu düşünülmektedir. Şizofreni ve bipolar bozuklukta birçok belirteç test edilmiş ama bunlardan en çok reelin ve Glutamik asit dekarboksilaz GAD-67'de anomaliler saptanmıştır. Bu iki proteinin mRNA'ları eş zamanlı olarak memeli korteksinin GABAerjik nöronlarında eksprese olurlar. Özellikle şizofreni de yapılan postmortem çalışmalar ile reelin ve GAD-67'nin down-regüle olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda DNA metilasyon enzimi Dnmt1'in de seviyesinin arttığı bulunmuştur. Bu iki süreç arasındaki ilişkiyi test etmek amacı ile yapılan bir çalışmada, şizofreni ve kontrol gruplarında RELN geni promotorundaki CpG adacıklarının metilasyon seviyelerine bakılmış, özellikle promotorun daha önceden tanımlanmış cis-acting bölgesinde yüksek seviyede metilasyon ( $p < 0.001$ ) belirlenmiştir. Ayrıca hastalarda RELN ekspresyon seviyesinin de azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada fare modelleri ile DNMT1 inhibitörlerinin reelin ve GAD67 ekspresyon seviyesini arttırdığı belirlenmiştir. Örneğin; valproik asit gibi, metilasyon inhibitörleri ve histon deasetilazları reelin mRNA seviyesini arttırmırlar (Grayson et al. 2005).

Reelin yolağının psikiyatrik hastalıklarda diğer genlerle de etkileşim içerisinde olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur. Örneğin; MTHFR (Metilentetrahidrofolat redüktaz) geni susturulmuş farelerde serebellumda reelin seviyesi de azalmakta ve lateral ventriküllerde genişleme görülmektedir (Chen et al. 2005).

MTHFR folat metabolizmasında kritik rol oynayan genlerden biridir. Homosistein nörotoksik etkiye sahip bir sülfür amino asittir. Homosisteinin metiyonine dönüşümünde ve SAM üretiminde MTHFR zorunlu bir enzimdir ve 5,10-metilentetrahidrofolatı 5-metilentetrahidrofolata dönüştürür. Sonrasında 5-metilentetrahidrofolat homosisteinin metilasyonunda kullanılır. MTHFR geninde işlev kaybına sebep olan polimorfizmler, plazma homosistein seviyesinin artışına sebep olmaktadır. Bunlara örnek olarak rs1801133 (C677T) ve rs1801131 (A1298C) polimorfizmleri verilebilir. Türk kökenli şizofreni hastası ve kontrollerin incelendiği bir çalışmada C677T polimorfizmi şizofreni ile ilişkili ( $p=0.019$  ve  $\chi^2=7.9$ ) ve TT genotipinin ise şizofreni hastalarında 2.5 kat risk oluşturduğu ( $p=0.006$ ,  $OR=2.504$  ve %95 güven aralığı=1.276-4.915) belirlenmiştir. İki polimorfizm birlikte değerlendirildiğinde ise T677T/A1298A bileşik genotipinin şizofreni için risk oluşturduğu ( $p=0.001$ ,  $OR=3.157$ ), C677T/A1298A bileşik genotipinin ise koruyucu faktör olduğu ( $p=0.016$ ,  $OR=0.521$ ) belirlenmiştir (Sazci et al. 2003). MTHFR T677 alleli, folat seviyesinde azalmaya ve plazma homosistein seviyesinde artışa neden olmaktadır.

### **rs7341475**

Bu SNP herhangi bir amino asit değişimi gerçekleştirmez. Yerleşim tipi; intronik varyanttır. RELN geni 4. intronunun içinde bulunmaktadır. Kromozom 7 üzerindeki pozisyonu 103404815 (+)'dir. A>G değişimi görülür. G alleli atasal alleldir. Minor allel frekansı, A:0.15'dir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

Shifman ve ark.'nın, Aşkenazi Yahudi kökenli 745 şizofreni hastası ve 759 kontrol kullanarak yaptığı bir GWA çalışmasında RELN geni rs7341475 polimorfizminde sadece kadınlara özgü bağlantı saptanmıştır. GG genotipi için  $p=9.8 \times 10^{-5}$  ve  $OR=2.1$  şeklinde, G alleli için  $p=1.9 \times 10^{-5}$  ve  $OR=2.0$  şeklinde bulunmuştur. Bu sonuçları daha güçlendirmek amaçlı Aşkenazi Yahudi kökenli kontrol sayısını arttırmışlardır. 656 kadın ve 1988 tane erkek kontrol eklenmiştir. Çıkan sonuçlar kadınlara özgü ilişkiyi tekrar göstermiştir (GG



genotipi için  $p=2.92 \times 10^{-5}$ ,  $OR=2.0$ ). Bunun sadece Aşkenazi Yahudilerine özgü bir risk olup olmadığını anlamak için, 4 ayrı popülasyonda daha bu SNP analiz edilmiştir. İngiliz, Çin, İrlanda ve ABD kökenli örnekler arasından sadece İngiliz popülasyonunda kadınlarda GG genotipi,  $p=1.8 \times 10^{-3}$  ve  $OR=1.85$  değerleri ile ilişkili bulunmuştur. Bu gruba Aşkenazi Yahudileri de dahil edilerek analizler yapıldığında  $p=8.8 \times 10^{-7}$ ,  $OR=1.58$ , %95 güven aralığı=1.31-1.89 olacak şekilde yine kadınlarda güçlü bir ilişki bulunmuştur. Bu sonuçlar, şizofreninin nörogelişimsel temeli için önem arz etmektedir. RELN geni, nöronların reseptör ilişkili yollarında ve kortikogenezde rol oynayan bir serin-proteaz enzimini kodlar. Şizofreni için cinsiyet farklılıklarına dair çalışmalar olmasına rağmen, bunun altında yatan temeller henüz net değildir. Katman I nöronlarında, kadınlarda RELN ekspresyonunun erkeklere oranla daha yüksek olduğunu ve şizofreni hastası erkeklerde RELN ekspresyon seviyesinin azaldığını gösteren çalışmalar vardır. Bu sonuçlar cinsiyete-bağlı ilişkiyi desteklemektedir. Bir diğer örnek ise, Avrupa sığırcığına testosteron uygulaması sonrası, erkek sığırcıkların beyin reelin ekspresyon seviyesi azalmaktadır. Tüm bu veriler şizofreni için kortikal yapıları etkileyebilecek cinsiyet-ilişkili bir yolağa işaret etmektedir (Shifman et al. 2008).

Han-Çin kökenli 400 şizofreni hastası ve 400 kontrol ile yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında, RELN rs7341475 polimorfizminin  $p=0.927$ ,  $OR=1.02$ , %95 güven aralığı=0.71-1.45 değerleri ile şizofreni için bir risk oluşturmadığı bulunmuştur. Analizler cinsiyetlere göre tekrar yapılmış ama herhangi bir bağlantı saptanamamıştır (Liu et al. 2011).

Çin kökenli 84 şizofreni hastası ve 300 kontrol kullanılarak, PCR-RFLP yöntemi ile yapılan bir diğer vaka-kontrol çalışmasında RELN rs7341475 polimorfizmi ilişkili bulunamamıştır (Yang et al. 2013).

Şizofreni için online bir veri tabanı olan [www.szgene.org](http://www.szgene.org) sitesinden alınan sonuçlara göre RELN geni rs7341475 polimorfizmi için;  $OR=0.89$  ve %95 güven aralığı=0.83-0.97 şeklindedir. Çizelge 1.12'de bu siteden alınan etnik kökenlere göre üst çözümlene sonuçlarının A allel frekansları gösterilmektedir ([www.szgene.org](http://www.szgene.org)).

**Çizelge 1.12 Şizofreni için etnik kökenlere göre üst çözümleme sonuçları, A allel frekansları**

<b>Köken</b>	<b>Çalışma sayısı</b>	<b>Hasta/Kontrol</b>	<b>rs7341475 A Allel Frekansı</b>
Kafkas	5	Şizofreni	0.17
		Kontrol	0.19
Asya	1	Şizofreni	0.09
		Kontrol	0.09
Diğer/karışık	1	Şizofreni	0.17
		Kontrol	0.11
Toplam	7	Şizofreni	0.16
		Kontrol	0.18

**1.5.2.7 KOLONİ UYARICI FAKTÖR 2 RESEPTÖRÜ, ALFA, DÜŞÜK AFİNİTE, GRANÜLOSİT-MAKROFAJ (COLONY STIMULATING FACTOR 2 RECEPTOR, ALPHA, LOW AFFINITY, GRANULOCYTE-MACROPHAGE, CSF2RA)**

Bu gen X ve Y kromozomları üzerindeki psödootozomal bölge üzerinde bulunur (Xp22.32, Yp11.3). 18 ekzondan oluşmaktadır. 20 tane transkripte sahip, bunların bazıları membrana bağlı, bazıları ise çözünür formda bulunmaktadır. Sitokin ailesine dahil, koloni uyarıcı faktör 2, heterodimerik reseptörünün alfa alt ünitesini oluşturan reseptör proteinini kodlamaktadır. 46207 Da ağırlığında ve 400 amino asitten oluşmaktadır. Alfa ve Beta alt ünitelerinin birleşimi ile heterodimer bir yapı gösterir. Hematopoetik hücrelerin (Granülosit, makrofaj gibi) fonksiyonel aktivasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını uyaran sinyalleri iletir. Alfa alt ünitesi, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör için bağlanma bölgesi içerir. Beta alt ünitesi ise sinyal iletiminde görevlidir. Bu iki alt ünitenin birleşimi ile reseptör aktive olur ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)).

Bu genin, pulmoner 4 - sürfaktan metabolizma bozukluğu (PAP) ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. PAP, yüzey aktif lipoproteinlerin akciğer alveollerinde yüksek miktarda birikimi ile karakterize edilen nadir bir akciğer bozukluğudur. Bu durum ileri seviye

solunum bozukluğu yaratır. 3 tipi vardır. Bunlar: Kalıtsal, ikincil ve kazanılmış tip PAP'dir. Kalıtsal tip, CSF2RA genindeki mutasyonlar ile gerçekleşir.

### **Sinyal mekanizması:**

Alfa ve beta alt ünitelerinin dimerizasyonu sonrası, Beta alt ünitesinde yer alan tirozin kinazlar, JAK kinaz ailesinin üyeleri tarafından fosforile olur. Bu da Shc adaptör proteini ile bağlantı kurulmasını sağlar. Shc proteini de, GRB2/SoS kompleksi ile etkileşime geçerek yolağın aktivasyonunu gerçekleştirir.

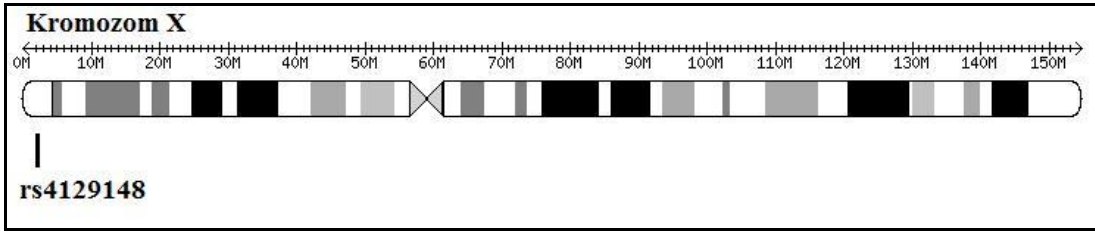
Sitokin ilişkili bir gen olan CSF2RA'nın şizofreni ve bipolar bozuklukta incelenmesi, epidemiyolojik ve biyolojik yeni bilgilerin edinilmesini sağlayabilir. Öncelikle her iki hastalık için yapılan monozigot ikiz çalışmaları sonucunda güçlü bir genetik geçişin varlığı bilinmektedir. Çevresel faktörlerin de (Örn: hamilelik döneminde prenatal enfeksiyon geçirilmesi, kış mevsiminde doğmuş olmak gibi) önemi bilinmektedir. Yani hastalık oluşumunda genetik-çevre etkileşimleri çok önemlidir. Birden çok yolak yer almakta ve etkileri farklı seviyelerde olmaktadır. Örneğin; bu yolaklardan biri de sitokin-ilişkili inflamatuvar yanıttır. Şizofren hastalarında periferik kanda ve serebrospinal sıvıda pro-inflamatuvar sitokinlerin seviyesinin arttığı görülmüştür. Bu yolağın yetişkinlikte aktivasyonunun şizofreni patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca aile temelli bir çalışmada şizofreni hastası bir akrabası olan kişilerin, psikolojik ve nöroanatomik olarak teratojenik maruziyete negatif yanıt vermeye daha yatkın olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple psikiyatrik hastalıklarda, enfeksiyöz ajanlara yanıtın, otoimmün ve inflamatuvar süreçlerde rol oynayabileceği, özellikle CSF2RA geninin hemopoetik hücrelerin çoğalması ve farklılaşması rolü nedeniyle önemli olduğu düşünülmektedir (Lencz et al. 2007).

Sitokinler çözünür polipeptid sinyal proteinleridir, immun yanıtın başlangıcını ve devamlılığını sağlarlar. Beyin ve bağışıklık sistemi arasında aracı olarak görev yaparlar. Şizofreni de sitokin seviyesinde yükselme birçok çalışma ile belirlenmiştir. Ama bu artışın, şizofreninin yarattığı bir sonuç mu, yoksa şizofreni ile ilişkili diğer çevresel faktörlere (stres, yetersiz beslenme gibi) bir yanıt olarak mı gerçekleştiği henüz net değildir. Ayrıca şizofreni ve bipolar bozuklukta öz bakımın azalmasından dolayı enfeksiyonlara çok daha açık ve korunmasız hale gelirler. Bu bilgiler doğrultusunda bazı inflamasyon tedavisi gören

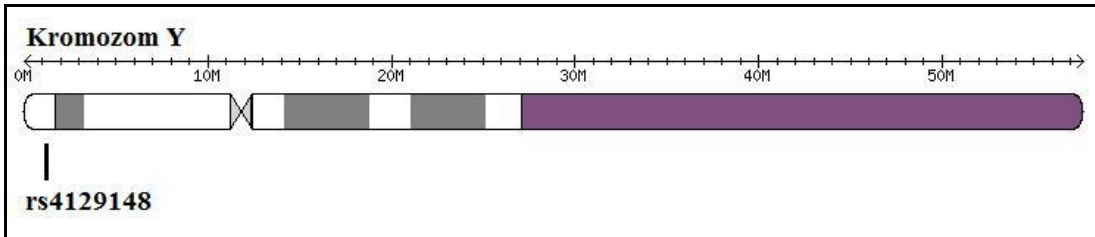
şizofreni hastalarında bilişsel durumda iyileşme, pozitif/negatif belirtilerde azalma görülmektedir (Fineberg and Ellman, 2013).

### rs4129148

Kromozom Xp22.33 ve Yp11.32 üzerinde bulunan rs4129148 polimorfizmi, intergenik bir bölgede bulunmaktadır. X üzerindeki pozisyonu: 990180 (+), Y üzerindeki pozisyonu ise: 940180 (+)'dir. X/Y psödootozomal bölgede (PAR) lokalize olmuştur. Şekil 1.17 ve 1.18'de kromozomal yerleşimleri görülmektedir. C>G değişimi görülmektedir. C alleli atasal alleldir. Minor allel frekansı: G:0.46'dır. Bu polimorfizm intergenik bir bölgede bulunduğundan, en yakın gen olan "CSF2RA" ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).



Şekil 1.17 Kromozom X üzerinde rs4129148'in lokalizasyonu (Xp22.33)



Şekil 1.18 Kromozom Y üzerinde rs4129148'in lokalizasyonu (Yp11.32)

178 şizofreni hastası ile 144 kontrol kullanılan bir GWA çalışmasında rs4129148 polimorfizmi G allelinin,  $p=3.7 \times 10^{-7}$ , OR=3.23, %95 güven aralığı=2.04-5.15 değerleri ile şizofreni için risk oluşturduğu belirlenmiştir. Bu SNP'nin X/Y kromozomları üzerinde bulunmasından dolayı aynı analizler, cinsiyetlere göre de yapılmış, lakin her iki cinsiyet

için ilişki yine anlamlı ( $p \leq 0.001$ ) saptanmıştır. Böylelikle bu polimorfizmin bağlantısının cinsiyetten bağımsız olduğu belirlenmiştir (Lencz et al. 2007).

Bu çalışmayı takiben yapılan bir diğer GWA çalışmasında, 738 şizofreni hastası ve 733 kontrol kullanılmıştır. Özellikle daha önce risk olarak belirlenen genlere odaklanılmıştır. CSF2RA geni de bunlardan biridir. Lencz ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre, örnek sayısı çok daha arttırılmış olmasına rağmen, CSF2RA geninin yakınındaki rs4129148 polimorfizmi ile şizofreni arasında ilişki bulunamamıştır ( $p=0.41$ ) (Sullivan et al. 2008).

Avrupa kökenli 871 şizofreni hastası ve 863 kontrol kullanılarak yapılan GWA çalışmasında ise CSF2RA'nın yakınındaki rs4129148 polimorfizmi, Lencz ve ark.'nın çalışmasında olduğu gibi, hem genel, hem de cinsiyetlere göre analiz edilmiş, ama herhangi bir ilişki saptanamamıştır (Need et al. 2009).

## 2. AMAÇ VE KAPSAM

Şizofreni ve bipolar bozukluk, dünya populusyounda %1 oranında görülen, kronik psikiyatrik hastalıklardır. Bu hastalıkların klasik tanımlarının birbirinden farklı olmasına rağmen, hem semptomatik hem de genetik bakımdan örtüşmektedirler. Her iki hastalıkta poligenik ve kompleks bir yapı göstermekte, Mendel tek gen kalıtım modeline uymamaktadırlar.

Genom Bağlantı Analizleri (GWAS); 1 milyondan fazla SNP'nin genotiplendiği, güçlü, sistematik ve tarafsız olan, yaygın hastalık-yaygın varyant hipotezinin çalışılmasına olanak veren genetik yöntemlerdir.

Bu çalışmada; Şizofreni ve bipolar bozuklukta GWAS ilişkili olduğu belirlenen 7 ayrı gen üzerinde yer alan SNP'ler Türk populusyonu açısından konfirmasyonu yapılmak üzere, PCR-RFLP yöntemi ile incelenecektir. Bunlar; ZNF804A rs1344706, AGAP1 rs13025591, TCF4 rs9960767, CACNA1C rs4765913, TENM4 rs12576775, RELN rs7341475 ve CSF2RA rs4129148'dir.

Bu SNP'lerin Türk populusyonunda şizofreni, bipolar bozukluk ve kontrol gruplarında karşılaştırılması sonucu ortaya çıkan veriler istatistiksel olarak karşılaştırılacak, hastalıklar ile ilişkileri belirlenecektir.

### 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
ZNF804A	rs1344706	F: 5'-AGTGACCTTGGTGGAAATGG-3' R: 5'-TTTTCCAGGTAGGGGATTGG-3'	<i>Bsa</i> BI
AGAP1	rs13025591	F: 5'-AGCAAGCAAGAGCCAATGTC-3' R: 5'-GGTCATGCCATCTCTTCAGG-3'	<i>Apo</i> I
CSF2RA	rs4129148	F: 5'-CCGGGCACATTTATTAAGCA-3' R: 5'-GTGCTTTGCGTTTTGGAAGT-3'	<i>Bsr</i> I
TCF4	rs9960767	F: 5'-AACACTGAGTGAGGGGATCG-3' R: 5'-GGCTTTTGAAGGGCACTGTA-3'	<i>Apo</i> I
TENM4	rs12576775	F: 5'-TCTGCAAAACAGGCACTCTG-3' R: 5'-GGTGACACAAAGAGGGCATT-3'	<i>Bsa</i> I
CACNA1C	rs4765913	F: 5'-AGGGGGATGGACTAGAGGAA-3' R: 5'-CTCCGGGATTCACAGAAAA-3'	<i>Bae</i> GI
RELN	rs7341475	F: 5'-AGGCTCTTGGGAATGGTATGCAGT-3' R: 5'-TAGCTCTCCACTTCCTTGGTGCTT-3'	<i>Apo</i> I

##### 3.1.2 Kimyasallar

Agaroz	Sigma	A 5093
Akrilamid	Fluka	01699
Amonyum asetat	Sigma	A 1542
Amonyum persülfat	Fluka	09913
Asetik asit	Riedel-de Haen	50480
Bisakrilamid	Sigma	M 7256

Borik asit	Merck	1.00165.1000
Brom fenol mavisi	Sigma	B 5525
Etanol	Sigma	32221
Etidium bromid	Sigma	E 8751
EDTA	Sigma	E 5134
Formaldehit	Riedel-de Haen	93410
Gümüş nitrat	Carlo Erba	423955
Ksilen siyanol	Sigma	X4126
Sodyum hidroksit	Merck	1.06498.1000
Sodyum klorid	Riedel-de Haen	13450
Sodyum karbonat	Sigma	S 7277
TEMED	Sigma	T 7024
Tris baz	Sigma	T 6066
Sodyum Dodesil Sülfat	Sigma	L 5750

### **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)

#### **% 30'luk non-denatüre poliakrilamid jel solüsyonu (100 ml için)**

29 g Akrilamid

1 g Bisakrilamid

100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

120°C'de 15 dk. otoklavlanır.

#### **% 7'lik non-denatüre poliakrilamid jel solüsyonu (100 ml için)**

23,3 ml %30'luk Poliakrilamid

20 ml 5X TBE

56.67 ml dd H<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.

#### **% 8'lik non-denatüre poliakrilamid jel solüsyonu**

26,67 ml %30'luk Poliakrilamid

20 ml 5X TBE

53.33 ml ddH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.

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

33,33 ml %30'luk Poliakrilamid

20 ml 5X TBE

46.67 ml ddH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.

### **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)

ThermalCycler T100 (BIORAD)

Dikey elektroforez (BIORAD)

Yatay elektroforez (BIORAD)

Santrifüj (Eppendorf 5415R ve 5804R)

Güç kaynağı (BIORAD Power Pac 3000)

UV transilimünatör (BIORAD)

Spektrofotometre (SHIMADZU)

CanoScan N670U (Canon)

Bilgisayar

### **3.1.5 Etik Kurul Onayı ve Destek**

Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurul'una yapılan başvuru sonucu, çalışma için etik kurul onayı alındı (Etik kurul karar no: KAEK 3/5). Hasta ve gönüllüler için uygun onam formları hazırlandı. Ayrıca bu çalışma; Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (KOU-BAP proje no: 2011/68).

### **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 aktararak 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'lerden Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment 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 bağlanma 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 bağlanma derecesinde 30 sn. ve 72 °C'de 1 dk. 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 bağlanma koşulları, döngü miktarları**

Gen adı	SNP nosu	Bağlanma (°C) 30 sn.	Döngü ( 2 <sup>n</sup> )
<b>ZNF804A</b>	rs1344706	56°C	35
<b>AGAP1</b>	rs13025591	56°C	35
<b>CSF2RA</b>	rs4129148	55°C	35
<b>TCF4</b>	rs9960767	57°C	35
<b>TENM4</b>	rs12576775	56°C	35
<b>CACNA1C</b>	rs4765913	56°C	30
<b>RELN</b>	rs7341475	61°C	30

### 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, 80 V ile 30 dk yürütüldü. PCR ürünleri markır ile kıyaslandı ve doğru bantlar elde edildiğinde, restriksiyon enzimleri ile kesime geçildi. Çizelge 3.3'de PCR ile çoğaltılan gen dizileri ve uzunlukları bulunmaktadır.

**Çizelge 3.3 PCR ile çoğaltılan gen dizileri ve uzunlukları**

Gen	SNP	Uzunluk (bç)	Dizi
ZNF804A	rs1344706	220bç	<u>AGTGACCTTGGTGGAAATGG</u> AAGAGTAGGAAATTTCAAAGC CTTATCTCTTCACAGAAACACTGAAACAAAGAATCAAAAAC( <u>T/G</u> )ATCAGAATCAACTTCTTGGATATCTATCTGGAAAGTAATCAA AGGTTTACAGGAACTGAATGATCACTGAATCGAGGAAAAGATA ACAAGCATGTGAGACTTTATTTTCTCCTCGTCC <u>CAATCCCCTA</u> <u>CCTGGAAA</u>
AGAP1	rs13025591	154bç	<u>AGCAAGCAAGAGCCAATGTC</u> ATTTTCAAATGCAATCCTTTTA ATGCCAGTCTCCTTGGAACTGA( <u>A/C</u> )ATTTTGTATGCAGGTACG TAGTTCCCTATGGAAGGGGCTTAATCCAGGAATGGATTTGAAT CACTAGAG <u>CCTGAAGAGATGGCATGACC</u>
CSF2RA	rs4129148	209bç	<u>CCGGGCACATTTATTAAGCA</u> GCCGTTTGGCTGGAAAAAATGG CCAATGCAACT( <u>C/G</u> )GGTCTGAATTTCTCTCCTGGGTGTCCAAG GATCAAGGCAGGTAATGAGGTTGGCAGAATTATGAATCGCAAT CAAATTTTTTCTATGACCTGATAGAAACGCCAACTCACTGTATG AGTCTGTTGTCAAAGTCTAA <u>CTTCCAAAACGCAAAGCAC</u>
TCF4	rs9960767	264bç	<u>AACACTGAGTGAGGGGATCG</u> ATAAAAAAAAAAATAGACAAGG ATGGGATAACAACCTGATTTGAAGCATAAAAATTTCTATGAGA TGAA( <u>A/C</u> )TTCACAAATTATTACCCCTTTAAAATGTAAAACAGA TTTGAATGGCATGACTTGACTACCTGATATATAGTTTATTACT GGTTTACCCAAGGGATTGTATACAAAGCTCTCCATTTTCTTAAA AAAAAAAAAGTAGAACCAGCTGGTAGATATA <u>TACAGTGCCT</u> <u>TCAAAGCC</u>
TENM4	rs12576775	193bç	<u>TCTGCAAAACAGGCACTCTG</u> TGGCCATTTTATAGGTTGTATTC TTCCACGAG( <u>A/G</u> )CCTCCCCACAACCTGTTTTATCCCCAGCTCTG ATGCTGTGAAAAGGTTTCCACCGATGACTCAGGGCAGCATTAG CGGAGGTGCAGAGCCTTCCAGTCCTTCCAAGACTCTTCTCAG <u>GAATGCCCTCTTTGTGTACC</u>
CACNA1C	rs4765913	204bç	<u>AGGGGGATGGACTAGAGGAA</u> ACCTGCAAGGGCTTTCGACTCA CAGGGTTCTTTCATTCTGTGGGC( <u>T/A</u> )CCAGTTCTCTGGGCATGA GAGATGCCAAGGAGCTGGTGTGTTTTGGAGAGCTCATGCTCTG AAGCACATCAGAAGAACCAATGGTTGCCGCAAGACCCCTTCC TAATGCAGATGGAGTTTCTGTGAAT <u>CCCGGAAG</u>
RELN	rs7341475	211bç	<u>AGGCTCTTGGGAATGGTATGCAGT</u> GGCCAAAAGGTTGATA CTATCCCTTTCCCTATTTTACAGATGAGAGAATTGAGACTCAA ( <u>G/A</u> )ATTTTCATGGCTAGAAAGTGCCAGAGCAGAAATTCTAACTC AGAGTATAGGTAACCTGCAAACCTTCATGCTCACAATCATTTTACC TTCTTGACTCTTTGTATA <u>AAGCACCAAGGAAGTGGAGAGCTA</u>

### 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 uygun sıcaklıkta bekletilerek yapıldı. Her polimorfizm için koşullar Çizelge 3.4'te yer almaktadır. Kesim ürünleri poliakrilamid jelde yürütülüp, gümüş nitrat metodu ile boyanarak görüntülendi. Tarayıcı yardımı ile tüm görüntüler bilgisayara kaydedildi.

**Çizelge 3.4 Polimorfizmlere göre RFLP için kullanılan enzimler, kesimde kullanılan enzim, distile su ve PCR ürünü miktarları, kesim sıcaklığı**

Gen Adı	SNP nosu	Enzim	Enzim miktarı	Steril distile su (µl)	PCR ürünü (µl)	Kesim Sıcaklığı (°C)
ZNF804A	rs1344706	<i>Bsa</i> BI	2 U	11.3	2	65
AGAP1	rs13025591	<i>Apo</i> I	2 U	11.3	2	37
CSF2RA	rs4129148	<i>Bsr</i> I	2 U	11.3	2	65
TCF4	rs9960767	<i>Apo</i> I	3 U	11.7	1.5	37
TENM4	rs12576775	<i>Bsa</i> I	2 U	11.3	2	37
CACNA1C	rs4765913	<i>Bae</i> GI	2 U	11.3	2	37
RELN	rs7341475	<i>Apo</i> I	2 U	11.3	2	37

#### 3.2.3.2.1 Kesim Ürünlerinin Poliakrilamid Jel Elektrofrez

35 cm x 10 cm ebatlarında hazırlanan jelin elektrofrez için dikey elektrofrez cihazı kullanıldı. Jelin kalınlığı 0,5 mm olarak ayarlandı. Yüzde yedilik, sekizlik ve onluk 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 45 dk bekletildi.

Polimerizasyon sonrası camlar elektroforez cihazına yerleştirildi, 1X TBE içeren yürütme tamponu ilave edildi. Örnekler jel kuyucuklarına yüklendi. Yükleme tamponu içinde bulunan ve elektrik alanda hareket eden brom fenol mavisi ve ksilen siyanol boyaalarının yürüdükleri mesafe takip edilerek akım çizelge 3.5'de verildiği gibi ayarlandı ve çizelge 3.5'de verilen süreler sonunda jel çıkartılarak gümüş boyama işlemine geçildi.

**Çizelge 3.5 Her polimorfizm için poliakrilamid jel elektroforezi koşulları**

SNP no	Akım			PAGE (%)	Yürüme zamanı (dk)
	mA	V	W		
rs1344706	~50	~180	20	7	42
rs13025591	~50	~180	20	8	20
rs4129148	~50	~180	20	8	30
rs9960767	~50	~180	20	8	42
rs12576775	~50	~180	20	10	43
rs4765913	~50	~180	20	8	35
rs7341475	~50	~180	20	8	40

### 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:**

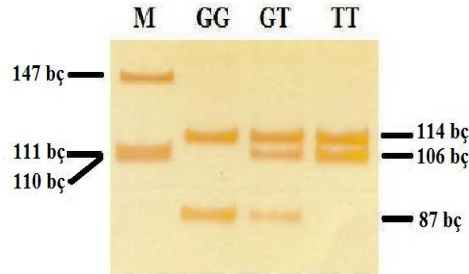
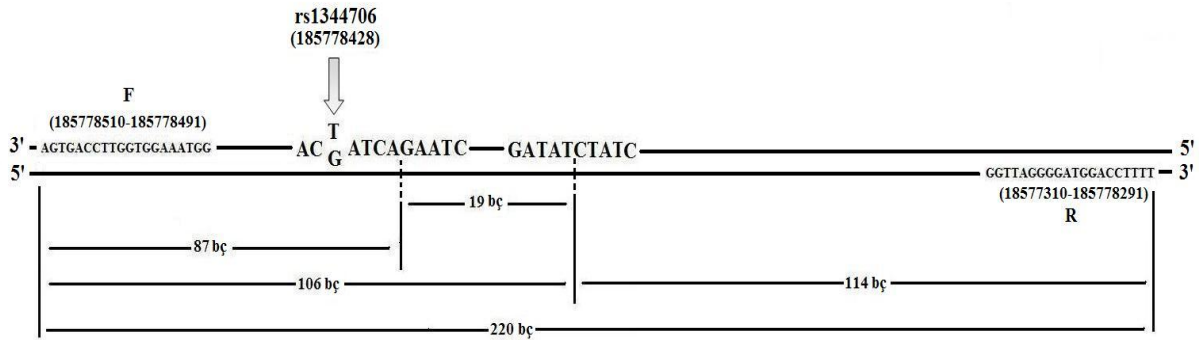
Odds ratio, %95 güven aralığı ve  $\chi^2$  analizi, conditional logistic regression analizi kullanarak yapıldı. Hücre frekansları 5'ten az olduğunda gerçek metodlar kullanılarak risk oranları hesaplandı. Tüm analizler PC için SPSS 13,0 versiyonu kullanılarak yapıldı. İstatistiksel güç hesaplamaları ise; <http://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/b2.html> kaynağı kullanılarak yapıldı.



## 4.BULGULAR

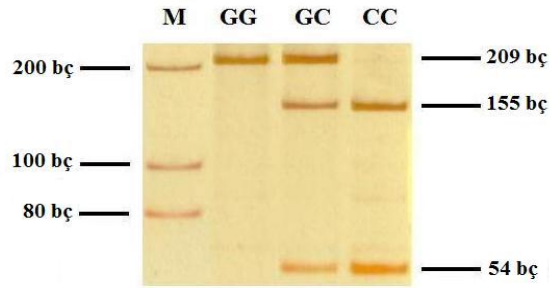
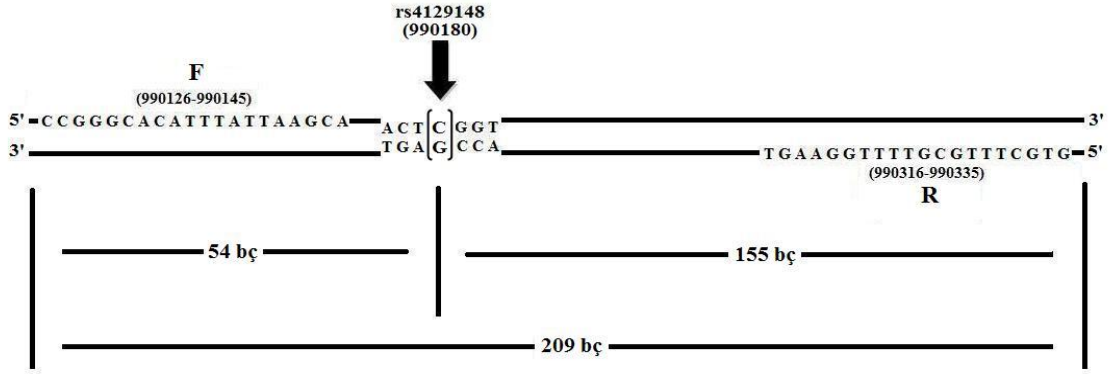
### 4.1 JEL GÖRÜNTÜLERİ VE ŞEMATİK ÇİZİMLER:

Şekiller 4.1-4.7'de her bir SNP için jel görüntüleri ve restriksiyon enzimleri ile kesimlerinin şematik çizimleri bulunmaktadır.

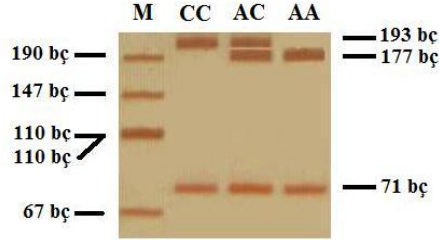
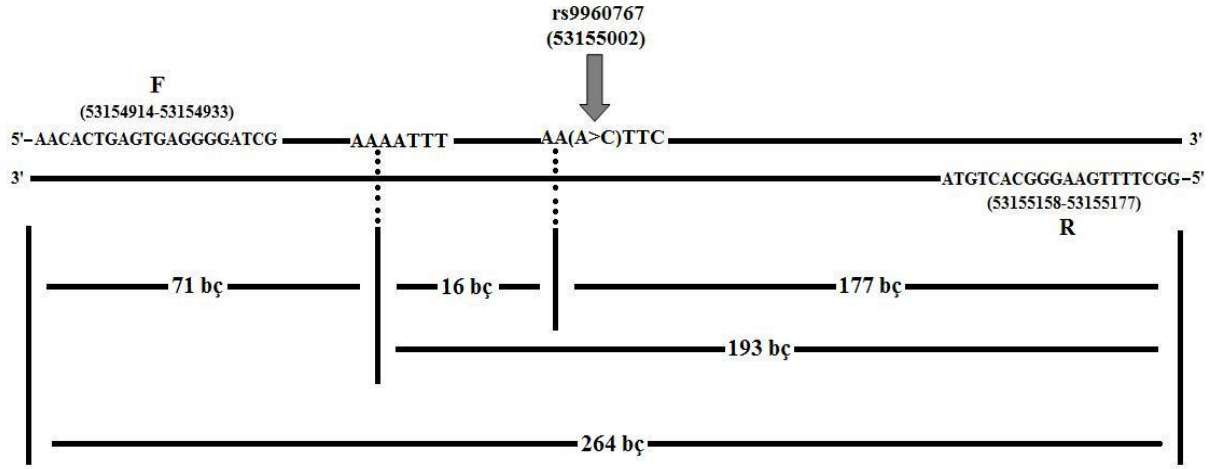


Şekil 4.1 ZNF804A geni rs1344706 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi (*Bsa*BI restriksiyon enzimi tanıma bölgesinin gösterilmesi (GRCh37.p13) ve poliakrilamid jel görüntüsü (M:pUC mix 8, GG-114, 87, 19 bç, GT-114, 106, 87, 19 bç, TT-114, 106 bç. 19bç'lik bant jelden dışarı çıktığı için şekilde görülmemektedir.)

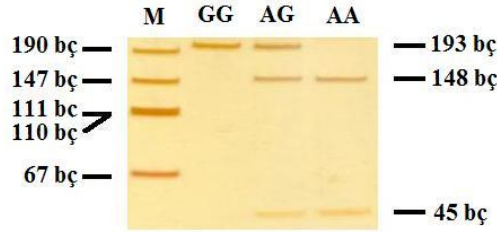
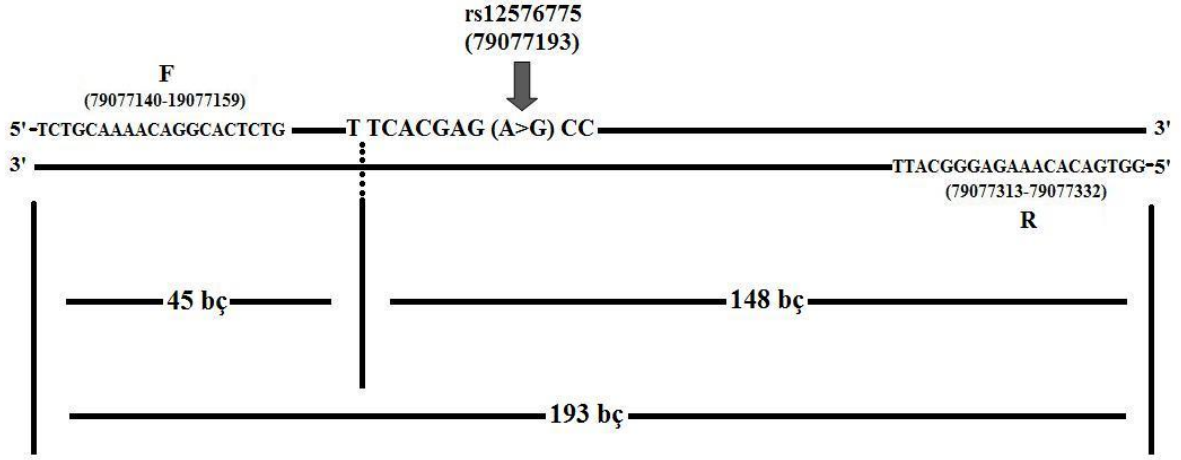




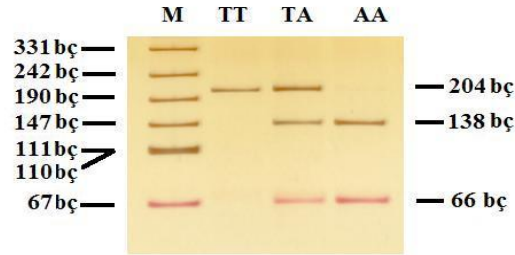
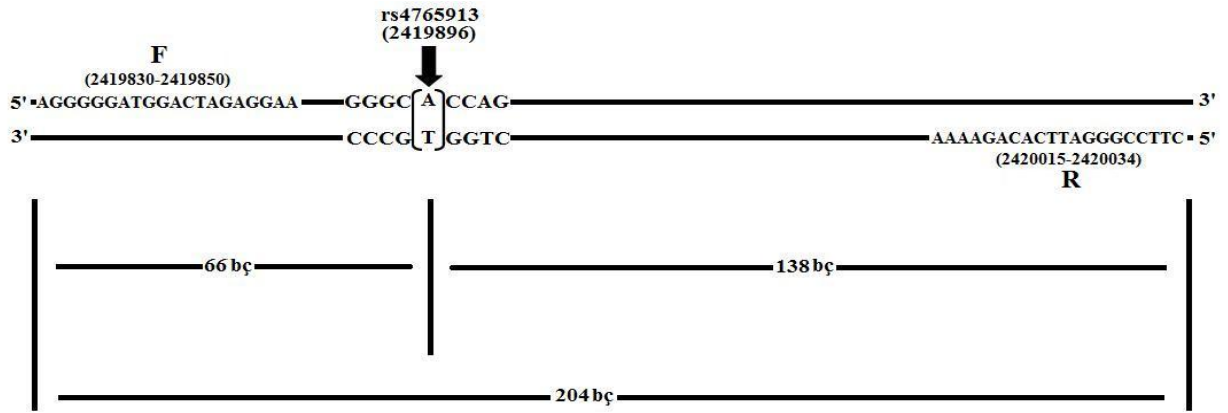
**Şekil 4.3 CSF2RA geni rs4129148 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi (*Bsr*I restriksiyon enzimi tanıma bölgesinin gösterilmesi- GRCh37.p13) ve poliakrilamid jel görüntüsü (M:pUC mix 8, GG-209 bç, GC-209, 155, 54 bç, CC-155, 54 bç)**



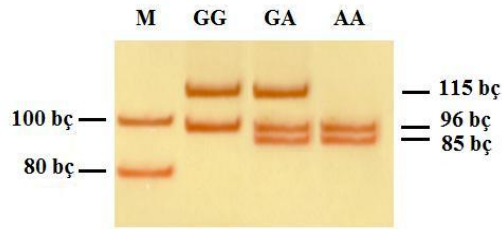
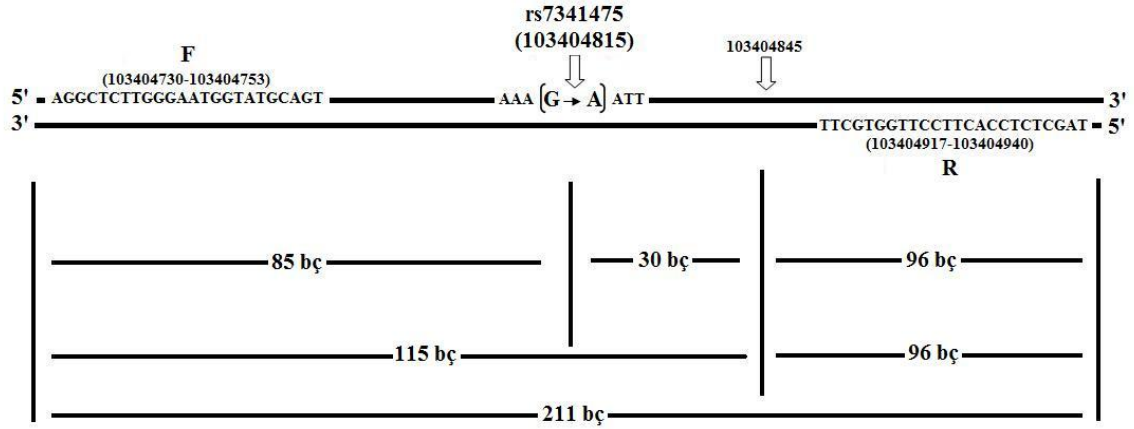
Şekil 4.4 TCF4 geni rs9960767 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi (*ApoI* restriksiyon enzimi tanıma bölgesinin gösterilmesi- GRCh37.p13) ve poliakrilamid jel görüntüsü (M:pUC mix 8, CC-193, 71 bç, AC-193, 177, 71, 16 bç, AA-177, 71, 16 bç. 16 bç'lik bant jelden dışarı çıktığı için şekilde görülmemektedir.)



Şekil 4.5 TENM4 geni rs12576775 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi (*BsaI* restriksiyon enzimi tanıma bölgesinin gösterilmesi- GRCh37.p13) ve poliakrilamid jel görüntüsü (M:pUC mix 8, GG-193 bç, AG-193, 148, 45 bç, AA-148, 45 bç)



Şekil 4.6 CACNA1C geni rs4765913 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi (*Bae*GI restriksiyon enzimi tanıma bölgesinin gösterilmesi-GRCh37.p13) ve poliakrilamid jel görüntüsü (M:pUC mix 8, TT-204 bç, TA-204, 138, 66 bç, AA-138, 66 bç)



Şekil 4.7 RELN geni rs7341475 polimorfizmini içeren gen bölgesinin şematik RFLP çizimi (*ApoI* restriksiyon enzimi tanıma bölgesinin gösterilmesi - GRCh37.p13) ve poliakrilamid jel görüntüsü (M:pUC mix, GG-115, 96 bç, GA-115, 96, 85, 30bç, AA-96, 85, 30 bç. 30 bç'lik bant jelden dışarı çıktığı için şekilde görülmemektedir.)

## 4.2 GENEL SONUÇLAR

Bu çalışmada, şizofreni ve bipolar bozuklukta, genom bağlantı analizi (GWAS) ile ilişkili olarak seçilen 7 adet genin (ZNF804A, AGAP1, CSF2RA, TCF4, TENM4, CACNA1C VE RELN) ilişkisi PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiştir. 105 şizofreni hastasına karşılık 137 kontrolün, 95 bipolar bozukluk hastasına karşılık 108 kontrolün genotiplenmesi yapılmıştır.

Şizofreni için allel ve genotip dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) ile Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri çizelgeler 4.2-4.8'de verilmiştir (İstatistiksel olarak anlamlılık  $p < 0.05$  için geçerlidir). Şizofreni için genotiplenmesi yapılan 7 polimorfizm içerisinde, sadece ZNF804A geninin rs1344706 polimorfizmi ile ilişki tespit edilmiştir. ZNF804A rs1344706 GG genotipinin, şizofreni için 2,5 kat koruyucu olduğu ( $p=0.037$ , OR=0,395, %95 Güven aralığı=0.161-0,967) ve T allelinin ise şizofreni için 2,5 kat risk oluşturduğu ( $p=0.037$ , OR=2,534, %95 Güven aralığı=1,034-6,213) belirlenmiştir. Çizelge 4.9 ve 4.10 'da şizofreni için ZNF804A GG genotipinin ve T allelinin dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) verilmektedir.

Genotiplenmesi yapılan diğer polimorfizmlerin şizofreni oluşumunda bağımsız olarak risk oluşturmadığı bulunmuştur.

Bipolar bozukluk için allel ve genotip dağılımları,  $\chi^2$ , df, p ve %95 güven aralığı içinde Odds Ratio (Risk oranları) ile Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri çizelgeler 4.2-4.8'de verilmiştir (İstatistiksel olarak anlamlılık  $p < 0.05$  için geçerlidir). Bu çalışmada genotiplenmesi yapılan polimorfizmlerin, bipolar bozukluk oluşumunda bağımsız olarak herhangi bir risk oluşturmadıkları belirlenmiştir.



**Çizelge 4.2 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre ZNF804A rs1344706 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	TT	GG	TG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE					
											T	G	Exact test					
Z N F 8 0 4 A	rs1344706	Kontrol	Gözlenen	44	21	72	137	5,435	2	0,066	58,3	41,6	0,383					
			Beklenen	49,8	15,9	71,3	137				62,4	37,6						
			Oran(%)	32,1	15,3	52,6	100											
		Şizofreni	Gözlenen	44	7	54	105				67,6	32,4	0,116					
			Beklenen	38,2	12,1	54,7	105				62,4	37,6						
			Oran(%)	41,9	6,7	51,4	100											
		OR (%95 güven aralığı)				1,525 (0,899-2,585)	0,395 (0,161-0,967)				0,956 (0,575-1,590)							
						TT	GG				TG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
																T	G	Exact test
Z N F 8 0 4 A	rs1344706	Kontrol	Gözlenen	43	16	49	108	0,204	2	0,903	62,5	37,5	0,837					
			Beklenen	43,6	14,9	49,5	108				63,3	36,7						
			Oran(%)	39,8	14,8	45,4	100											
		Bipolar	Gözlenen	39	12	44	95				64,2	35,8	1,000					
			Beklenen	38,4	13,1	43,5	95				63,3	36,7						
			Oran(%)	41,1	12,6	46,3	100											
		OR (%95 Güven aralığı)				1,053 (0,600-1,846)	0,831 (0,372-1,860)				1,039 (0,597-1,806)							

**Çizelge 4.3 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre AGAP1 rs13025591 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	AA	CC	AC	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											A	C	Exact test
A G A P 1	rs13025591	Kontrol	Gözlenen	42	27	68	137	1,256	2	0,534	55,4	44,6	1,000
			Beklenen	40,2	30,6	66,2	137				53,5	46,5	
			Oran(%)	30,7	19,7	49,6	100						
		Şizofreni	Gözlenen	29	27	49	105				50,9	49,1	0,557
			Beklenen	30,8	23,4	50,8	105				53,5	46,5	
			Oran(%)	27,6	25,7	46,7	100						
		OR (%95 güven aralığı)				0,863 (0,492-1,513)	1,410 (0,768-2,588)				0,805 (0,534-1,477)		
				AA	CC	AC	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											A	C	Exact test
A G A P 1	rs13025591	Kontrol	Gözlenen	34	19	55	108	0,474	2	0,789	56,9	43,1	0,844
			Beklenen	31,9	20,2	55,9	108				55,4	44,6	
			Oran(%)	31,5	17,6	50,9	100						
		Bipolar	Gözlenen	26	19	50	95				53,7	46,3	0,680
			Beklenen	28,1	17,8	49,1	95				55,4	44,6	
			Oran(%)	27,4	20	52,6	100						
		OR (%95 Güven aralığı)				0,820 (0,447-1,505)	1,171 (0,578-2,372)				1,071 (0,617-1,859)		

**Çizelge 4.4 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre CSF2RA rs4129148 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	GG	CC	GC	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											G	C	Exact test
CSF2RA	rs4129148	Kontrol	Gözlenen	57	18	62	137	1,668	2	0,434	64,2	35,8	0,853
			Beklenen	60	19,8	57,2	137				64,6	35,4	
			Oran(%)	41,6	13,1	45,3	100						
		Şizofreni	Gözlenen	49	17	39	105				65,2	34,8	0,833
			Beklenen	46	15,2	43,8	105				64,6	35,4	
			Oran(%)	46,7	16,2	37,1	100						
		OR (%95 güven aralığı)				1,228 (0,736-2,050)	1,227 (0,623-2,618)				0,715 (0,425-1,202)		
				GG	CC	GC	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
												Exact test	
CSF2RA	rs4129148	Kontrol	Gözlenen	44	17	47	108	0,746	2	0,689	62,5	37,5	0,537
			Beklenen	44,7	14,9	48,4	108				63,8	36,2	
			Oran(%)	40,7	15,7	43,5	100						
		Bipolar	Gözlenen	40	11	44	95				65,3	34,7	1,000
			Beklenen	39,3	13,1	42,6	95				63,8	36,2	
			Oran(%)	42,1	11,6	46,3	100						
		OR (%95 Güven aralığı)				1,058 (0,604-1,851)	0,701 (0,310-1,583)				1,120 (0,643-1,949)		

**Çizelge 4.5 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre TCF4 rs9960767 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	AA	CC	AC	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											A	C	Exact test
TCF4	rs9960767	Kontrol	Gözlenen	116	1	20	137	1,716	2	0,424	91,9	8,1	0,599
			Beklenen	118,9	0,6	17,5	137				93,2	6,8	
			Oran(%)	84,7	0,7	14,6	100						
		Şizofreni	Gözlenen	94	0	11	105				94,7	5,3	1,000
			Beklenen	91,1	0,4	13,5	105				93,2	6,8	
			Oran(%)	89,5	0	10,5	100						
		OR (%95 güven aralığı)				1,547 (0,710-3,370)	0,993 (0,979-1,007)				0,685 (0,312-1,500)		
				AA	CC	AC	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
												Exact test	
TCF4	rs9960767	Kontrol	Gözlenen	97	1	10	108	0,937	2	0,626	94,4	5,6	0,275
			Beklenen	97,9	0,5	9,6	108				95,1	4,9	
			Oran(%)	89,8	0,9	9,3	100						
		Bipolar	Gözlenen	87	0	8	95				95,8	4,2	1,000
			Beklenen	86,1	0,5	8,4	95				95,1	4,9	
			Oran(%)	91,6	0	8,4	100						
		OR (%95 Güven aralığı)				1,233 (0,474-3,207)	--				0,901 (0,340-2,385)		

**Çizelge 4.6 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre TENM4 rs12576775 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	AA	GG	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											A	G	Exact test
T E N M 4	rs12576775	Kontrol	Gözlenen	105	3	29	137	1,168	2	0,558	87,2	12,8	0,458
			Beklenen	103	2,3	31,7	137				86,8	13,2	
			Oran(%)	76,6	2,2	21,2	100						
		Şizofreni	Gözlenen	77	1	27	105				86,2	13,8	0,686
			Beklenen	79	1,7	24,3	105				86,8	13,2	
			Oran(%)	73,3	1	25,7	100						
		OR (%95 güven aralığı)				0,838 (0,466-1,506)	0,429 (0,044-4,189)				1,289 (0,708-2,348)		
				AA	GG	AG	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											A	G	Exact test
T E N M 4	rs12576775	Kontrol	Gözlenen	82	3	23	108	0,962	2	0,618	86,5	13,5	0,398
			Beklenen	81,4	2,1	24,5	108				86,7	13,3	
			Oran(%)	75,9	2,8	21,3	100						
		Bipolar	Gözlenen	71	1	23	95				86,8	13,2	1,000
			Beklenen	71,6	1,9	21,5	95				86,7	13,3	
			Oran(%)	74,7	1,1	24,2	100						
		OR (%95 Güven aralığı)				0,938 (0,495-1,778)	0,372 (0,038-3,641)				1,181 (0,612-2,279)		

**Çizelge 4.7 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre CACNA1C rs4765913 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	TT	AA	TA	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											T	A	Exact test
CACNA1C	rs4765913	Kontrol	Gözlenen	90	4	43	137	2,211	2	0,331	81,4	18,6	1,000
			Beklenen	86,6	6,2	44,2	137				79,3	20,7	
			Oran(%)	65,7	2,9	31,4	100						
		Şizofreni	Gözlenen	63	7	35	105				76,6	23,4	0,583
			Beklenen	66,4	4,8	33,8	105				79,3	20,7	
			Oran(%)	60	6,7	33,3	100						
		OR (%95 güven aralığı)				0,783 (0,463-1,326)	2,375 (0,676-8,338)				1,093 (0,635-1,881)		
				TT	AA	TA	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											T	A	Exact test
CACNA1C	rs4765913	Kontrol	Gözlenen	73	2	33	108	3,703	2	0,157	82,8	17,2	0,732
			Beklenen	70,2	4,8	33	108				80,3	19,7	
			Oran(%)	67,6	1,9	30,6	100						
		Bipolar	Gözlenen	59	7	29	95				77,4	22,6	0,238
			Beklenen	61,8	4,2	29	95				80,3	19,7	
			Oran(%)	62,1	7,4	30,5	100						
		OR (%95 Güven aralığı)				0,786 (0,441-1,01)	4,216 (0,854-20,812)				0,999 (0,549-1,817)		

**Çizelge 4.8 Şizofreni ve bipolar bozukluk hasta ve kontrol gruplarına göre RELN rs7341475 genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p, %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri ve Hardy-Weinberg dengesi-exact test değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	GG	AA	GA	Toplam	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											G	A	Exact test
RELN	rs7341475	Kontrol	Gözlenen	87	2	48	137	2,473	2	0,290	81,0	19,0	0,161
			Beklenen	87,2	4	45,9	137				80,4	19,6	
			Oran(%)	63,5	1,5	35	100						
		Şizofreni	Gözlenen	67	5	33	105				79,5	20,5	0,763
			Beklenen	66,8	3	35,1	105				80,4	19,6	
			Oran(%)	63,8	4,8	31,4	100						
		OR (%95 güven aralığı)				1,013 (0,597-1,719)	3,375 (0,642-17,752)				0,850 (0,495-1,460)		
				<b>GG</b>	<b>AA</b>	<b>GA</b>	<b>Toplam</b>	$\chi^2$	df	p	Allel (%)		HWE
											<b>G</b>	<b>A</b>	<b>Exact test</b>
RELN	rs7341475	Kontrol	Gözlenen	66	4	38	108	1,523	2	0,467	78,7	21,3	0,777
			Beklenen	67,6	2,7	37,8	108				80	20	
			Oran(%)	61,1	3,7	35,2	100						
		Bipolar	Gözlenen	61	1	33	95				81,6	18,4	0,182
			Beklenen	59,4	2,3	33,2	95				80	20	
			Oran(%)	64,2	1,1	34,7	100						
		OR (%95 Güven aralığı)				1,142 (0,645-2,020)	0,277 (0,030-2,519)				0,980 (0,550-1,748)		

**Çizelge 4.9 Şizofreni ve kontrol gruplarına göre; ZNF804A rs1344706 (GG) genotip dağılımları,  $\chi^2$ , df, p değerleri ile %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri**

Gen	SNP no	Grup	Dağılım	GG --	GG +	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE Exact test
										%95 Güven Aralığı	
ZNF804A	rs1344706	Kontrol	Gözlenen	116	21	137	4,359	1	0,037	0,395 (0,161-0,967)	0,383
			Beklenen	121,1	15,9	137					
			Oran(%)	84,7	15,3	100					
		Şizofreni	Gözlenen	98	7	105					0,116
			Beklenen	92,9	12,1	105					
			Oran(%)	93,3	6,7	100					

**Çizelge 4.10 Şizofreni ve kontrol gruplarına göre; ZNF804A rs1344706 (T) allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p değerleri ile %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri**

Gen	SNP no	Grup	Dağılım	T--	T+	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE Exact test
										%95 Güven Aralığı	
ZNF804A	rs1344706	Kontrol	Gözlenen	21	116	137	4,359	1	0,037	2,534 (1,034-6,213)	0,383
			Beklenen	15,9	121,1	137					
			Oran(%)	15,3	84,7	100					
		Şizofreni	Gözlenen	7	98	105					0,116
			Beklenen	12,1	92,9	105					
			Oran(%)	6,7	93,3	100					



## 4.3 CİNSİYETE DAYALI BULGULAR

### 4.3.1 Şizofreni için Cinsiyete Bağlı Bulgular

Şizofreni hastaları ve kontrol grupları için cinsiyetlere göre dağılımlar Çizelge 4.11’de verilmektedir. Ayrıca cinsiyetlerine göre ayrılıp istatistiksel analiz yapıldığında ortaya çıkan sonuçlar ise Çizelge 4.12 ve 4.13’de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.11 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetlere göre dağılımı**

Grup	Şizofreni	Kontrol
Kadın	40	65
Erkek	65	72
Toplam	105	137

Şizofreni grubu için erkeklerde sadece ZNF804A geni rs1344706 polimorfizmi açısından, genotipik ve allelik ilişki bulunmuştur ( $p=0.043$ ). Şizofreni erkek grubunda ZNF804A rs1344706 polimorfizmi TT genotipi 2,2 kat risk oluşturmakta ( $p=0.026$ ,  $OR=2,229$ , %95 güven aralığı=1,096-4,532), G alleli ise 2,2 kat koruyucu etki göstermektedir ( $p=0.026$ ,  $OR=0,449$ , %95 güven aralığı=0,221-0,912). Bu polimorfizm için genotip ve allel dağılımları ile %95 güven aralığı içerisinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri çizelge 4.14’de verilmektedir.

Şizofreni grubu için kadınlarda ise; 2 gen (CSF2RA ve RELN) açısından genotipik ve allelik ilişki bulunmuştur. İlk olarak; Şizofreni kadın grubunda, CSF2RA rs4129148 polimorfizmi için anlamlı bir ilişki görülmektedir ( $p=0.008$ ). CSF2RA rs4129148 polimorfizmi, GC genotipinin kadınlarda 4,3 kat koruyucu olduğu tespit edilmiştir ( $p=0.002$ ,  $OR=0,233$ , %95 Güven aralığı=0,090-0,601). Bu polimorfizm için genotip ve allel dağılımları ile %95 güven aralığı içerisinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri çizelge 4.15’de verilmektedir.

Şizofreni kadın grubunda ilişkisi saptanan ikinci gen ise; RELN genidir. Şizofreni kadın grubunda RELN rs7341475 polimorfizmi GG genotipi 2,7 kat risk oluşturmakta ( $p=0.034$ ,  $OR=2,760$ , %95 Güven aralığı=1,058-7,197), GA genotipi 3,1 kat koruyucu etki göstermekte ( $p=0.023$ ,  $OR=0,322$ , %95 Güven aralığı=0.118-0.881) ve son olarak A alleli

de 2,7 kat koruyucu etki göstermektedir ( $p=0.034$ ,  $OR=0,362$ , %95 Güven aralığı= $0,139-0,945$ ). Bu polimorfizm için genotip ve allel dağılımları ile %95 güven aralığı içerisinde Odds Ratio (Risk oranları) değerleri çizelge 4.16'da verilmektedir.

Şizofreni için diğer polimorfizmler açısından, cinsiyetlere dayalı olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

**Çizelge 4.12 Şizofreni için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
ZNF804A	rs1344706	1,732	2	0,421
AGAP1	rs13025591	2,725	2	0,256
CSF2RA	rs4129148	9,782	2	0,008
TCF4	rs9960767	0,001	1	0,977
TENM4	rs12576775	2,103	2	0,349
CACNA1C	rs4765913	3,963	2	0,138
RELN	rs7341475	5,171	2	0,075

**Çizelge 4.13 Şizofreni için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
ZNF804A	rs1344706	6,314	2	0,043
AGAP1	rs13025591	0,955	2	0,620
CSF2RA	rs4129148	0,540	2	0,763
TCF4	rs9960767	2,649	2	0,266
TENM4	rs12576775	3,828	2	0,147
CACNA1C	rs4765913	1,332	2	0,514
RELN	rs7341475	3,328	2	0,189

**Çizelge 4.14 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre erkeklerde; ZNF804A rs1344706 (TT ve G) için genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p değerleri ile %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	TT --	TT +	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE
										%95 Güven Aralığı	Exact test
Z N F 8 0 4 A	rs1344706	Kontrol	Gözlenen	52	20	72	4,977	1	0,026	2,229 (1,096- 4,532)	0,235
			Beklenen	45,7	26,3	72					
			Oran(%)	72,2	27,8	100					
		Şizofreni ( <u>Erkek</u> )	Gözlenen	35	30	65					0,380
			Beklenen	41,3	23,7	65					
			Oran(%)	53,8	46,2	100					
				G--	G+	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE
										%95 Güven Aralığı	Exact test
Z N F 8 0 4 A	rs1344706	Kontrol	Gözlenen	20	52	72	4,977	1	0,026	0,449 (0,221- 0,912)	0,235
			Beklenen	26,3	45,7	72					
			Oran(%)	27,8	72,2	100					
		Şizofreni ( <u>Erkek</u> )	Gözlenen	30	35	65					0,380
			Beklenen	23,7	41,3	65					
			Oran(%)	46,2	53,8	100					

**Çizelge 4.15 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre kadınlarda; CSF2RA rs4129148 (GC) genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p değerleri ile %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	GC --	GC +	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE
										%95 Güven Aralığı	Exact Test
C S F 2 R A	rs4129148	Kontrol	Gözlenen	34	31	65	9,775	1	0,002	0,233 (0,090- 0,601)	1,000
			Beklenen	41,5	23,5	65					
			Oran(%)	52,3	47,7	100					
		Şizofreni ( <u>Kadın</u> )	Gözlenen	33	7	40					0,000092
			Beklenen	25,5	14,5	40					
			Oran(%)	82,5	17,5	100					

**Çizelge 4.16 Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına göre kadınlarda; RELN rs7341475 (GG, GA ve A) için genotip ve allel dağılımları,  $\chi^2$ , df, p değerleri ile %95 güven aralığı içinde Odds Ratio değerleri, HWE değerleri**

Gen	SNP no	Gruplar	Dağılım	GG-	GG+	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE
										%95 Güven Aralığı	Exact test
R E L N	rs7341475	Kontrol	Gözlenen	24	41	65	4,490	1	0,034	2,760 (1,058-7,197)	0,433
			Beklenen	19,2	45,8	65					
			Oran(%)	36,9	63,1	100					
		Şizofreni (Kadın)	Gözlenen	7	33	40					
			Beklenen	11,8	28,2	40					
			Oran(%)	17,5	82,5	100					
				GA--	GA+	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE
										%95 Güven Aralığı	Exact test
R E L N	rs4734145	Kontrol	Gözlenen	42	23	65	5,147	1	0,023	0,322 (0,118-0,881)	0,433
			Beklenen	47	18	65					
			Oran(%)	64,6	35,4	100					
		Şizofreni (Kadın)	Gözlenen	34	6	40					
			Beklenen	29	11	40					
			Oran(%)	85	15	100					
				A--	A+	Toplam	$\chi^2$	df	p	O.R.	HWE
										%95 Güven Aralığı	Exact test
R E L N	rs7341475	Kontrol	Gözlenen	41	24	65	4,490	1	0,034	0,362 (0,139-0,945)	0,433
			Beklenen	45,8	19,2	65					
			Oran(%)	63,1	36,9	100					
		Şizofreni (Kadın)	Gözlenen	33	7	40					
			Beklenen	28,2	11,8	40					
			Oran(%)	82,5	17,5	100					

#### 4.3.2 Bipolar Bozukluk için Cinsiyete Bağlı Bulgular

Bipolar hastaları ve kontrol grupları için cinsiyetlere göre dağılımlar çizelge 4.17'de verilmektedir. Ayrıca cinsiyetlerine göre ayrılıp istatistiksel analiz yapıldığında

ortaya çıkan sonuçlar ise çizelge 4.18 ve 4.19’da gösterilmektedir. Cinsiyetlere göre yapılan analizlerde, bu çalışmada genotipleme yapılan polimorfizmlerin, bipolar bozukluk oluşumunda bağımsız olarak herhangi bir risk oluşturmadıkları belirlenmiştir.

**Çizelge 4.17 Bipolar bozukluk-hasta ve kontrol grubunun cinsiyetlerine göre dağılımı**

Grup	Bipolar	Kontrol
Kadın	55	62
Erkek	40	46
Toplam	95	108

**Çizelge 4.18 Bipolar bozukluk için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Kadın)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
ZNF804A	rs1344706	0,785	2	0,676
AGAP1	rs13025591	0,147	2	0,929
CSF2RA	rs4129148	1,933	2	0,380
TCF4	rs9960767	0,153	1	0,696
TENM4	rs12576775	0,158	2	0,924
CACNA1C	rs4765913	1,612	2	0,447
RELN	rs7341475	0,015	2	0,993

**Çizelge 4.19 Bipolar bozukluk için polimorfizmlere göre  $\chi^2$ , df ve p değerleri (Cinsiyet=Erkek)**

Gen adı	SNP no	$\chi^2$	df	p
ZNF804A	rs1344706	2,811	2	0,245
AGAP1	rs13025591	1,087	2	0,581
CSF2RA	rs4129148	0,285	2	0,867
TCF4	rs9960767	0,902	2	0,637
TENM4	rs12576775	1,826	2	0,401
CACNA1C	rs4765913	2,436	2	0,296
RELN	rs7341475	2,886	2	0,236

## 5. TARTIŞMA

GWA çalışmaları tıp tarihindeki en verimli tekniklerden biridir. Öncelikle analiz edilen örnek sayısı çok yüksektir. Bu sebeple bize istatistiksel olarak daha güçlü ve net sonuçlar verebilir. Bir hastalıkla ilgili spesifik lokus belirleme ve follow-up çalışmaları için ön hazırlık yapmaya olanak sağlar. Yaygın hastalık, yaygın varyant hipotezinden yola çıkarak, hastalığın oluşumunda yer alan birden çok varyantın birlikte analiz edilmesini sağlar.

Şizofreni ve bipolar bozukluk, genel popülasyonda %1 oranında görülen, poligenik, yaygın ve multifaktöriyel özellik gösteren kronik hastalıklardır. Hastalıkların klasik tanımları farklılık gösterse de, hem semptomatik hem de genetik olarak birçok özelliği paylaşır. Örneğin; her iki hastalık için prevalans %1 olmakla beraber, erken yetişkinlik döneminde görülmeye başlarlar. Akrabalarda görülme oranı yüksek genetik aktarıma işaret eder ve semptomatik olarak ortak özelliklere (psikoz, kognitif bozukluklar vb.) sahiptirler.

Bu çalışmada şizofreni ve bipolar bozukluk için yapılmış olan GWA çalışmalarından yola çıkılarak, seçilen 25 adet polimorfizm içerisinde, 7 ayrı SNP'nin PCR-RFLP yöntemi ile analize uygun olduğu belirlendi. Bu SNP'ler; ZNF804A rs1344706, AGAP1 rs13025591, TCF4 rs9960767, CACNA1C rs4765913, TENM4 rs12576775, RELN rs7341475 ve CSF2RA rs4129148'dir. Bir vaka-kontrol çalışması olarak, 188 şizofreni hastasına karşılık 210 kontrolün, 95 bipolar hastasına karşılık ise 108 kontrolün genotiplemesi yapıldı. Seçilen SNP'lerin Türk popülasyonunda incelemeleri ilk kez yapılmış oldu.

### **ZNF804A rs1344706:**

Kromozom 2q32.1 üzerinde bulunan ZNF804A geni, çinko parmakçık tipi bir transkripsiyon faktör proteini kodlamaktadır. Transkripsiyon faktörü olması nedeniyle, DNA'ya bağlanarak birçok genin (COMT, DRD2 vb.) ekspresyonunu düzenlemekte ve birçok yolakta rol oynamaktadır (Girgenti et al. 2012). Örneğin; yapılan moleküler ve görüntüleme çalışmaları bu genin bilişsel işlevler, IQ, fetal beyin gelişimi, oligodendrosit farklılaşması ile ilişkisi olduğunu göstermektedir (Zhang et al.2011a, Lett et al. 2011, Chen et al. 2012, Donohoe et al, Tao et al.2014).

ZNF804A rs1344706 polimorfizmi ise, intronik bir varyanttır ve T>G değişimi görölür. O'Donovan ve ark.'nın yaptığı yüksek ölçekli GWA çalışması ile bu polimorfizmin T allelinin hem şizofreni, hem de bipolar bozukluk için risk oluşturduğu saptanmıştır( $p=9.96 \times 10^{-9}$ , OR=1.12) (O'Donovan et al. 2008). Sonrasında Williams ve ark.'nın yaptığı üst çözümlene çalışmasında, Avrupa kökenli hastalarda, hem şizofreni ( $p=2.5 \times 10^{-11}$ , OR=1.10, %95 güven aralığı=1.07-1.14), hem de şizofreni ve bipolar bozukluk birlikte kombine olarak ( $p=4.1 \times 10^{-13}$ , OR=1.11, %95 güven aralığı:1.07-1.14) önemli bir anlamlılık gösterdiği belirlenmiştir (Williams et al. 2011).

Türk popülasyonu açısından bu polimorfizmin ilişkisini saptamaya yönelik yapılan bağımsız bir vaka-kontrol çalışması ile bu varyantın şizofren hastalarında, hem genel anlamda T allelinin,  $p=0.037$ , OR=2.53, %95 güven aralığı=1.03-6.21 şeklinde risk oluşturduğunu, hem de cinsiyetlere göre analiz edildiğinde, erkeklerde bu varyantın genel olarak  $p=0.043$  ile bağlantılı görüldüğünü ve TT genotipinin  $p=0.026$ , OR=2.22, %95 güven aralığı=1.09-4.53 olacak şekilde risk oluşturduğunu belirledik (Sazcı et al. 2012).

Popülasyonlar arası farklılıklar göz önüne alınarak yapılan diğer bir bağımsız vaka-kontrol çalışmasında ise, Romanya-Cluj, Napoca kökenli 231 şizofreni hastası ve 222 kontrol kullanılmıştır. Genel olarak bakıldığında;  $p=0.693$ ,  $\chi^2=0.734$  olacak şekilde, risk alleli açısından bakıldığında ise; TT genotipi için  $p=0.946$ , OR=0.987, %95 güven aralığı=0.679-1.435 ve T alleli için de  $p=0.406$ , OR=0.789, %95 güven aralığı=0.451-1.380 şeklinde anlamlı bir bağlantı saptanamamıştır (Zaharie et al. 2012).

İlişki saptanamayan çalışmalara başka örnekler olarak Alman popülasyonudaki şizofreni hastalarını inceleyen Schanze et al. (2011) ( $p=0.31$ ) ve Han Çin kökenli şizofreni hastalarını inceleyen Li et al. (2013) ( $p=0.10$ )'ın çalışmaları verilebilir.

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları çizelge 5.1'de verilmektedir (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>) . Ayrıca çizelge 1.10'da [www.szgene.org](http://www.szgene.org) sitesinden alınan şizofreni hastalığına dair üst çözümlene verileri bulunmaktadır. Türk popülasyonu için allelik dağılımlar, Kafkas ve Avrupa kökenli örneklerin dağılımları ile benzerlik göstermektedir.

**Çizelge 5.1 ZNF804A için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

Populasyon	ZNF804A rs1344706 T Allel Frekansı	ZNF804A rs1344706 G Allel Frekansı
HapMap-CEU (Avrupa)	0.60	0.40
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.55	0.45
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	0.37	0.63
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.98	0.02
HapMap-LWK (Webuye, Luhya, Kenya)	0.96	0.04
<b>Türk</b>	<b>Şizofreni:0.68</b>	<b>Şizofreni:0.32</b>
<b>(Tez çalışması)</b>	<b>Kontrol:0.59</b>	<b>Kontrol:0.41</b>
<b>Türk</b>	<b>Bipolar:0.64</b>	<b>Bipolar:0.36</b>
<b>(Tez çalışması)</b>	<b>Kontrol:0.63</b>	<b>Kontrol:0.37</b>

Bu çalışmada; ZNF804A rs1344706 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.066$ ,  $\chi^2=5.435$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.903$ ,  $\chi^2=0.204$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.2). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19'de gösterilmektedir.

Çalışmamızda şizofreni hastalarında, ZNF804A geni rs1344706 polimorfizmi için elde edilen bulgular; O'Donovan et al. (2008), Sazcı et al. (2012) ve Riley et al. (2010) yaptığı çalışmalar ile uyum göstermektedir. Sonuçta bu polimorfizmin, T allelinin şizofreni hastalığı için 2.5 kat risk oluşturduğu, GG genotipinin ise 2.5 kat koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde ise şizofreni erkek grubunda, TT genotipi 2.2 kat risk oluştururken, G alleli ise 2.2 kat koruyucu etki göstermektedir.

Bipolar bozukluk için hem genel, hem de cinsiyetlere göre yapılan analizlerde ZNF804A geni rs1344706 polimorfizminin hastalığa yatkınlık sağlayan bağımsız bir risk faktörü olmadığı söbelirlenmiştir. Bipolar bozukluk için elde ettiğimiz sonuçlar; Schanze



et al. (2011), Zaharie et al. (2012) ve Li et al. (2013)'ın yaptığı çalışmalar ile uyum göstermektedir.

### **AGAP1 rs13025591:**

Kromozom 2q37.2 üzerinde bulunan AGAP1 geni, membran trafiğinde ve hücre iskeletinin dinamiğinde rol oynayan ADP-ribozilasyon faktör GTPaz-aktive edici protein ailesine dâhil bir proteini kodlamaktadır. Bu protein aktin polimerizasyonu, membranın yeniden şekillendirilmesi ve hücre göçünde rol oynamaktadır. Özellikle fetal ve yetişkin beyin dokusunda, gelişmekte veya olgun nöronların sinapslarında eksprese olur (Wassink et al. 2005, Randazzo et al 2007).

AGAP1 rs13025591 polimorfizmi ise, intronik bir varyanttır ve A>C değişimi görülür. Avrupa kökenli ve Afrika-Amerika kökenli şizofreni hastalarını inceleyen Bir GWA çalışmasında Avrupa kökenli örneklerde AGAP1 rs13025591 ile güçlü bir ilişki saptanmıştır ( $p=4.59 \times 10^{-7}$ , OR=1.225). Afrika-Amerika kökenli örnekler için benzer bir ilişki saptanamamıştır (Shi et al. 2009).

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları çizelge 5.2'de verilmektedir (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Türk popülasyonu için allelik dağılımlar Avrupa ile Asya kökenli örneklerin arasında bir dağılım göstermektedir.

**Çizelge 5.2 AGAP1 için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

<b>Populasyon</b>	<b>AGAP1 rs13025591 A Allel Frekansı</b>	<b>AGAP1 rs13025591 C Allel Frekansı</b>
HapMap-CEU (Avrupa)	0.66	0.34
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.47	0.53
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	0.43	0.57
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.71	0.29

HapMap-LWK (Webuye, Luhya, Kenya)	0.76	0.24
HapMap-MEX (Meksika)	0.69	0.31
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Şizofreni:0.51</b>	<b>Şizofreni:0.49</b>
	<b>Kontrol:0.55</b>	<b>Kontrol:0.45</b>
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Bipolar:0.54</b>	<b>Bipolar:0.46</b>
	<b>Kontrol:0.57</b>	<b>Kontrol:0.43</b>

Bu çalışmada; AGAP1 rs13025591 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.534$ ,  $x^2=1.256$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.789$ ,  $x^2=0.474$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.3). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19’da gösterilmektedir.

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta, AGAP1 geni rs13025591 polimorfizmi için elde edilen bulgular, bu SNP’nin bu hastalıklara özgü bağımsız bir risk faktörü olmadığını düşündürmektedir.

#### **TCF4 rs9960767:**

Kromozom 18q21.2 üzerinde bulunan TCF4 geni, heliks döngü heliks tipi bir transkripsiyon faktör proteini kodlamaktadır. Beyin, kalp, plasenta ve gelişmekte olan embriyonik dokularda eksprese olur. Özellikle sinir sistemi gelişiminde yer alan dokularda nöronal farklılaşmanın başlatılmasını sağlar. Bu gendeki hasarların ileri seviye mental gerilik, mikrosefali, epilepsi ve yüz dismorfizmleri ile eşlik eden Pitt-Hopkins sendromuna yol açtığı bilinmektedir (Stefansson et al. 2009). Ayrıca TCF4’ün MIR137 tarafından kodlanan, miRNA-137’nin hedefi olduğu ve bu genin şizofreni ve ileri seviye kognitif bozukluğu olan hastalarla ilişkili olduğu belirlenmiştir. MIR137; yetişkin nörogenезде ve nöronal farklılaşmada rol oynamaktadır. Bu genin bulunduğu lokus üzerindeki varyasyonlar, beyin gelişim anomalilerine sebep olmaktadır. Nöronal hücre hattında MIR137’nin susturulması veya fazla ekspresyonu özellikle TCF4 proteinin ekspresyon seviyelerini etkilemiş, MIR137 ile TCF4 arasında güçlü bir bağlantı saptanmıştır (Ripke et al. 2011; Ripke et al. 2013).

TCF4 rs9960767 polimorfizmi ise, intronik bir varyanttır ve A>C değişimi görülür. İlk olarak Stefansson ve ark.'nın yaptığı yüksek lekli GWA alışması ile bu polimorfizmin şizofreni için risk oluşturduğu saptanmıştır ( $p=4.1 \times 10^{-9}$ , OR=1.23, %95 güven aralığı=1.15-1.32) (Stefansson et al. 2009). Yapılan fizyolojik çalışmalar ile C risk alleli taşıyanlarda azalmış sensorimotor geçişi görülürken, hafıza testlerinde daha iyi sonuç verdikleri görülmüştür (Lennertz et al. 2011, Quednow et al. 2011). Kognitif performanslarına bakıldığında ise C alleli taşıyanlar daha düşük sonuçlar vermektedirler (Albanna et al 2014). Han Çin kökenli şizofren hastalarında yapılan incelemelerde rs9960767'nin polimorfik bir yapı göstermediği tespit edilmiştir. 2496 şizofreni ve 5184 kontrol incelenmesine rağmen, A>C değişimi gözlenmemiştir (Li et al. 2010).

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları izelge 5.3'de verilmektedir (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ayrıca izelge 1.11'de [www.szgene.org](http://www.szgene.org) sitesinden alınan şizofreni hastalığına dair üst çözümleme verileri bulunmaktadır. Türk populasyonu için allelik dağılımlar, Kafkas ve Avrupa kökenli örneklerin dağılımları ile benzerlik göstermektedir.

**Çizelge 5.3 TCF4 için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

Populasyon	TCF4 rs9960767 A Allel Frekansı	TCF4 rs9960767 C Allel Frekansı
HapMap-CEU (Avrupa)	0.93	0.07
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.99	0.01
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	1.00	-
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.73	0.27
HapMap-LWK (Webuye, Luhya, Kenya)	0.70	0.30
HapMap-MEX (Meksika)	0.96	0.04

<b>Türk</b>	<b>Şizofreni:0.95</b>	<b>Şizofreni:0.05</b>
<b>(Tez çalışması)</b>	<b>Kontrol:0.92</b>	<b>Kontrol:0.08</b>
<b>Türk</b>	<b>Bipolar:0.96</b>	<b>Bipolar:0.04</b>
<b>(Tez çalışması)</b>	<b>Kontrol:0.94</b>	<b>Kontrol:0.06</b>

Bu çalışmada; TCF4 rs9960767 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.424$ ,  $\chi^2=1.716$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.626$ ,  $\chi^2=0.937$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.5). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19'da gösterilmektedir.

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta, TCF4 geni rs9960767 polimorfizmi için elde edilen bulgular, bu SNP'nin bu hastalıklara özgü bağımsız bir risk faktörü olmadığını göstermiştir.

#### **CACNA1C rs4765913:**

Voltaj kanalları hücrede; kas kasılması, hormon ve nörotransmitter salınımı, gen ekspresyonu, hücre hareketi, bölünmesi ve hücre ölümü gibi görevlerde rol oynarlar. Kromozom 12p13.33 üzerinde bulunan CACNA1C geni ise; voltaj bağımlı kalsiyum kanalının, alfa-1 alt ünitesini oluşturan proteini kodlamaktadır. Özellikle beyin, kalp, ovaryum, beta hücreleri ve vasküler düz kaslarda eksprese olur. Bipolar bozukluğun tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar L tipi kalsiyum kanallarını hedef alırlar ve bloklayıcı olarak görev yaparlar. Bu sebeple CACNA1C geninin özellikle tedavide önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group, 2011).

İntronik bir varyant olan CACNA1C rs4765913 polimorfizminde ise T>A değişimi görülür. Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu-Bipolar Bozukluk grubunun 2011 yılında yaptığı yüksek ölçekli bir GWA çalışması ile hem bağımsız araştırmacıların örneklerinde ( $p=1.6 \times 10^{-4}$ ,  $OR=1.13$ ), hem de tüm örneklerin kombinasyonunda ( $p=1.52 \times 10^{-8}$ ,  $OR=1.14$ ), bu SNP'nin bipolar bozukluk ile ilişkili bulunmuştur. Sonrasında şizofreni ile örtüşüp örtüşmediğini tespit etmek için Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu-Şizofreni grubu tarafından yürütülen çalışmada CACNA1C rs4765913'ün şizofreni ile güçlü bir ilişkisi

olduğu ( $p=7.7 \times 10^{-8}$ ,  $OR=1.1$ ) belirlenmiştir (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group, 2011).

Hall ve ark.'nın yaptığı nörofizyolojik bir çalışmada CACNA1C rs4765913'ün duyuşal geçiş fenotipi ile ilişkisi gösterilmiştir. Risk alleli olan A alleleline sahip hastalarda daha iyi duyuşal geçiş performansı görülürken ( $p=0.0012$ ), kontrollerde görülmemektedir (Hall et al. 2014). Han-Çin kökenli 1.430 şizofreni ve 1.570 kontrol kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, CACNA1C üzerinde yer alan 21 adet SNP incelenmiştir. CACNA1C rs4765913 polimorfizmi için ( $p=0.19$ ) bir bağlantı bulunamamıştır (Guan et al. 2014).

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları çizelge 5.4'te verilmektedir (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Türk popülasyonu için allelik dağılımlar Avrupa kökenli örneklere benzer bir dağılım göstermektedir.

**Çizelge 5.4 CACNA1C için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

Popülasyon	CACNA1C rs4765913 A Alleli Frekansı	CACNA1C rs4765913 T Allel Frekansı
HapMap-CEU (Avrupa)	0.18	0.82
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.04	0.96
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	0.04	0.96
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.05	0.95
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Şizofreni:0.23</b>	<b>Şizofreni:0.77</b>
	<b>Kontrol:0.19</b>	<b>Kontrol:0.81</b>
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Bipolar:0.23</b>	<b>Bipolar:0.77</b>
	<b>Kontrol:0.17</b>	<b>Kontrol:0.83</b>

Bu çalışmada; CACNA1C geni rs4765913 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.331$ ,  $x^2=2.211$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.157$ ,  $x^2=3.703$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.7). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19'da gösterilmektedir.

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta, CACNA1C geni rs4765913 polimorfizmi için elde edilen bulgular, Guan et al. (2014)'ın yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir. Sonuçta bu SNP'nin bu hastalıklara özgü bağımsız bir risk faktörü olmadığı söylenebilir.

#### **TENM4 rs12576775:**

Kromozom 11q14.1 üzerinde bulunan TENM4 geni, transmembran tipi bir proteini kodlamaktadır. Özellikle merkezi sinir sistemi gelişimi ve organ oluşumu esnasında eksprese olur. Nöronal gelişimde, gastrulasyon esnasında anterior/posterior aksisin oluşumunda, oligodendrosit farklılaşmasında ve küçük çaplı aksonların miyelinizasyonunda rol oynarlar. Ayrıca hücre sel sinyal dönüştürücü olarak görev yaparlar. Hücre kültürü çalışmaları ile teneurinlerin hücre içi bölgelerinin, membrandan ayrılma sonrasında proteolitik bir süreçten geçerek, nukleusa geçmesi nedeniyle transkripsiyon faktörü olarak da görev yapabileceği düşünülmektedir (Tucker et al. 2007).

TENM4 rs12576775 polimorfizmi ise, intronik bir varyanttır ve A>G değişimini içerir. Psikiyatrik GWAS Konsorsiyumu-Bipolar Bozukluk grubunun yaptığı yüksek ölçekli bir GWA çalışması sonucu, hem bağımsız araştırmacıların örneklerinde ( $p=2.1 \times 10^{-7}$ , OR=1.18, %95 güven aralığı: 1.11-1.25), hem de tüm örneklerin kombinasyonunda ( $p=4.4 \times 10^{-8}$ , OR=0.88) bu SNP'nin bipolar bozukluk ile ilişkisi bulunmuştur (Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group, 2011).

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları çizelge 5.5'de verilmektedir (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Türk popülasyonu için allelik dağılımlar Avrupa ile Kenya kökenli örneklerin arasında bir dağılım göstermektedir.

**Çizelge 5.5 TENM4 için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

<b>Populasyon</b>	<b>TENM4 rs12576775 A Allel Frekansı</b>	<b>TENM4 rs12576775 G Allel Frekansı</b>
HapMap-CEU (Avrupa)	0.82	0.18
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.92	0.08
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	0.98	0.02
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.92	0.08
HapMap-LWK (Webuye, Luhya, Kenya)	0.89	0.11
HapMap-MEX (Meksika)	0.90	0.10
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Şizofreni:0.86</b>	<b>Şizofreni:0.14</b>
	<b>Kontrol:0.87</b>	<b>Kontrol:0.13</b>
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Bipolar:0.87</b>	<b>Bipolar:0.13</b>
	<b>Kontrol:0.87</b>	<b>Kontrol:0.13</b>

Bu çalışmada; TENM4 rs12576775 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.558$ ,  $\chi^2=1.168$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.618$ ,  $\chi^2=0.962$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.6). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19'da gösterilmektedir.

Çalışmamızda hem şizofreni hem de bipolar bozuklukta, TENM4 geni rs12576775 polimorfizmi için elde edilen bulgular, bu SNP'nin bu hastalıklara özgü bağımsız bir risk faktörü olmadığını göstermiştir.

#### **RELN rs7341475:**

Kromozom 7q22.1 üzerinde bulunan RELN geni, beyin gelişiminde nöronal göç ve hücre konumlanmasında kritik rol oynayan, hücre-hücre etkileşimlerini kontrol eden,

büyük ekstraselüler bir matriks proteini kodlamaktadır. Özellikle temporal kortekste, hipokampusta, serebellumdaki glutamaterjik granül hücrelerinde, karaciğerde ve yetişkin beyinde eksprese olurlar. Sinaptik plastisiteyi düzenlerler, dendritik gelişimi uyarır, nöroblast göçünde rol oynarlar. Nöronlarda mikrotübül işlevini ve serebral nöronal katmanlaşmayı düzenlerler.

Postmortem incelemeler sonucu şizofreni ve bipolar bozuklukta serebellum, bazal ganglia, hipokampus ve kortekste reelin ekspresyonunda azalma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kandaki seviyeleri de azalmaktadır (Impagnatiello et al. 1998; Guidotti et al. 2000).

RELN genindeki hasarlar, otozomal resesif kalıtım gösteren serebral hipoplazili lizensefali hastalığına sebep olmaktadır. Bunun dışında da Alzheimer hastalığı, temporal lob epilepsisi ve otizm ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Reelin reseptörleri ApoER2 ve VLDLR, LDL reseptör gen ailesine aittir. Bu ailenin tüm üyeleri Apolipoprotein E (ApoE) için reseptör görevi yaparlar. Alzheimer hastalarında korteks reelin seviyesinin, kontrollere oranla %40 daha fazla olduğu belirlenmiştir (Folsom and Fatemi, 2013). Ayrıca şizofreni hastalarında VLDLR seviyesinin azaldığı belirlenmiş ve bu durumun şizofreni için biyobelirteç olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Suzuki et al. 2008). Yapılan bir aile çalışmasında ise RELN varyasyonlarının hafıza, görsel ve sözlü çalışma belleği gibi işlevlerle de ilişkili olduğu saptanmıştır (Wedenoja et al. 2008).

Epigenetik açısından bakıldığında şizofreni hastalarında serum folat seviyesinin azaldığı belirlenmiştir. Hayvan modelleri ile epigenetik ve nörogelişimsel hastalıklar arasındaki bağlantılar araştırılmaktadır. Reeler fareye, SAM biyosentezinin öncülü olan L-metiyonine bağlı bir diyet uygulandığında RELN geninin promotorunda metilasyonun arttığı görülmektedir (Van Loo and Martens, 2007).

RELN geninin ilk ekzon ve transkripsiyon başlangıç bölgesi GC bakımından çok zengindir. Burada bulunan bu CpG adacıklarının hipermetilasyonunun psikiyatrik hastalıklara yol açan bir unsur olduğu düşünülmektedir. Postmortem çalışmalar ile hipermetilasyon sonucu reelin'in downregüle olduğu, DNA metilasyon enzimi Dnmt1'in de seviyesinin arttığı bulunmuştur. Şizofreni hastalarında yapılan bir çalışma RELN



promotorunun cis-acting bölgesinde yüksek seviyede metilasyon belirlemiştir ( $p<0.001$ ). Dolayısıyla RELN ekspresyonunun da azalmış olduğu görülmüştür (Grayson et al. 2005).

RELN geninin diğer genlerle etkileşimi de epigenetik yollarda önemli rol oynamaktadır. Örneğin; MTHFR geni susturulmuş farelerde serebellumda reelin seviyesi de azalmakta ve lateral ventriküllerde genişleme görülmektedir (Chen et al. 2005). MTHFR geni folat metabolizmasında çok önemli rol oynamaktadır. MTHFR enzimi 5,10 - metilentetrahidrofolatı 5-metiltetrahidrofolata dönüştürür. Sonrasında 5-metiltetrahidrofolat homosisteinin metilasyonunda kullanılır. Sazcı ve ark.'nın (2003) yaptığı bir çalışmada Türk kökenli şizofreni hastalarında MTHFR C677T polimorfizmi şizofreni ile ilişkili ( $p=0.019$  ve  $\chi^2=7.9$ ) ve TT genotipinin ise şizofreni hastalarında 2.5 kat risk oluşturduğu ( $p=0.006$ , OR=2.504 ve %95 güven aralığı=1.276-4.915) belirlenmiştir. MTHFR T677 alleli, folat seviyesinde azalmaya ve plazma homosistein seviyesinde artışa neden olmaktadır.

Hiperhomosisteinemi; bipolar bozuklukta nörobilişsel hasarlara sebep olan faktörlerden biridir. Homosistein seviyesinin yükselmesi, bipolar bozuklukta ileri derece fonksiyonel bozukluklara ve özellikle kognitif hasarlara neden olmaktadır. MTHFR'nin yanı sıra homosistein metabolizmasında rol oynayan genlerden bir diğeri de Nikotinamid-N-Metiltransferaz (NNMT) genidir. NNMT enzimi, nikotinamid ve diğer piridin bileşiklerini metile ederek son ürün olarak homosisteini oluşturur. Bu gen kromozom 11q23.1'de bulunur ve üzerinde bulunan rs694539 polimorfizminin yükselmiş homosistein seviyesi ile ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Bu polimorfizmin şizofreni ile bağlantısı daha önce gösterildiğinden, Türk populasyonunda bipolar bozukluk için bir vaka-kontrol çalışması yapılmıştır. 95 bipolar hastası ve 201 kontrol kullanılan çalışmada NNMT rs694539 ile bipolar bozukluk arasında ilk kez ilişki gösterilmiştir ( $P=0.001$ ,  $\chi^2=13.382$ ). rs694539 A allelinin bipolar bozukluk için 2.4 kat risk oluşturduğu belirlenmiş ( $p=0.001$ ,  $\chi^2=11.981$ , OR=2.414, %95 güven aralığı=1.457-4.000), GG genotipinin ise koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur ( $p=0.001$ ,  $\chi^2=11.981$ , OR=0.414, %95 güven aralığı=0.250-0.686). Cinsiyetlere göre analizlerde ise sadece kadın bipolar hastalarında A alleli risk faktörü olarak saptanmıştır. NNMT geni rs694539 polimorfizmi ile bipolar bozukluk arasındaki ilişki ilk kez tarafımızdan literatüre kazandırılmıştır (Sazcı et al. 2013).

RELN rs7341475 polimorfizmi ise, intronik bir varyanttır ve A>G değişimi görülür. Shifman ve ark.'ının, Aşkenazi Yahudi kökenli, 745 şizofreni hastası ve 759 kontrol kullanarak yaptığı bir GWA çalışmasında sadece kadınlara özgü bağlantı saptanmıştır. GG genotipi için  $p=9.8 \times 10^{-5}$  ve  $OR=2.1$  şeklinde, G alleli için  $p=1.9 \times 10^{-5}$  ve  $OR=2.0$  şeklinde bulunmuştur. Sonrasında sayıyı arttırarak, (656 kadın ve 1988 tane erkek kontrol eklenerek) yapılan analizler kadınlara özgü ilişkiyi tekrar göstermiştir (GG genotipi için  $p=2.92 \times 10^{-5}$ ,  $OR=2.0$ ). Bu SNP'nin sadece Aşkenazi Yahudilerine özgü bir risk olup olmadığını anlamak için, aynı analizler Çin, İngiliz, İrlanda ve ABD kokenli örneklerde tekrarlanmış, sadece İngiliz populusyonunda kadınlarda GG genotipi,  $p=1.8 \times 10^{-3}$  ve  $OR=1.85$  değerleri ile ilişkili bulunmuştur. Bu gruba Aşkenazi Yahudileri de dahil edilerek analizler yapıldığında  $p=8.8 \times 10^{-7}$ ,  $OR=1.58$ , %95 güven aralığı=1.31-1.89 olacak şekilde yine kadınlarda güçlü bir ilişki bulunmuştur (Shifman et al. 2008).

Psikiyatrik hastalıkların oluşumunda cinsiyet farklılıklarına dair çalışmalar mevcuttur. Ama henüz çok net veriler elde edilmemiştir. RELN geni bu farklılığı araştırmak için uygun bir gendir. Katman I nöronlarında, kadınlarda RELN ekspresyonunun erkeklere oranla daha yüksek olduğunu ve şizofreni hastası olan erkeklere RELN ekspresyon seviyesinin azaldığını gösteren çalışmalar vardır. RELN seviyesindeki farklılıklar özellikle şizofreni için kortikal yapıları etkileyebilecek cinsiyet-ilişkili bir yolağa işaret etmektedir.

Çin kökenli şizofreni hastalarında yapılan iki ayrı vaka-kontrol çalışmasında RELN rs7341475 polimorfizminin şizofreni için bağımsız bir risk oluşturmadığı belirlenmiştir. Analizler cinsiyetlere göre tekrar yapılmış ama herhangi bir bağlantı saptanamamıştır (Liu et al. 2011; Yang et al. 2013).

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı populusyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları izelge 5.6'da verilmektedir (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ayrıca izelge 1.12'de [www.szgene.org](http://www.szgene.org) sitesinden alınan şizofreni hastalığına dair üst çözümleme verileri bulunmaktadır. Türk populusyonu

için allelik dağılımlar Kafkas, Meksika ve Kenya kökenli örneklerin arasında bir dağılım göstermektedir.

**Çizelge 5.6 RELN için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

<b>Populasyon</b>	<b>RELN rs7341475 A Allel Frekansı</b>	<b>RELN rs7341475 G Allel Frekansı</b>
HapMap-CEU (Avrupa)	0.14	0.86
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.09	0.91
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	0.12	0.88
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.14	0.86
HapMap-LWK (Webuye, Luhya, Kenya)	0.17	0.83
HapMap-MEX (Meksika)	0.24	0.76
<b>Türk</b>	<b>Şizofreni:0.20</b>	<b>Şizofreni:0.80</b>
<b>(Tez çalışması)</b>	<b>Kontrol:0.19</b>	<b>Kontrol:0.81</b>
<b>Türk</b>	<b>Bipolar:0.18</b>	<b>Bipolar:0.82</b>
<b>(Tez çalışması)</b>	<b>Kontrol:0.21</b>	<b>Kontrol:0.79</b>

Bu çalışmada; RELN rs7341475 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.290$ ,  $\chi^2=2.473$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.467$ ,  $\chi^2=1.523$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.8). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19'da gösterilmektedir. RELN geninin cinsiyetlere özgü ilişkisi Shifman ve ark.'nın (2008) çalışması ile uyumlu bir şekilde şizofreni ile ilişkili bulunmuştur. Şizofreni erkek grubunda bir bağlantı saptanamazken, şizofreni kadın grubunda RELN rs7341475 polimorfizminde GG genotipi 2.7 kat risk oluşturmaktadır ( $p=0.034$ ,  $\chi^2=4.490$ ,  $df=1$ ,  $OR=2.760$ , %95 Güven aralığı=1.058-7.197). Bunun yanı sıra, RELN rs7341475, A allelinin kadınlarda 2,7 kat koruyucu olduğu ( $p=0.034$ ,  $\chi^2=4.490$ ,  $df=1$ ,  $OR=0,362$ , %95 Güven aralığı=0,139-0,945) ve GA genotipinin ise kadınlarda 3.1 kat koruyucu etki

gösterdiği belirlenmiştir ( $p=0.023$ ,  $x^2=5.147$ ,  $df=1$ ,  $OR=0,322$ , %95 Güven aralığı= $0,118-0,881$ ). Bipolar bozukluk için cinsiyetlere göre bir ilişki bulunamamıştır.

Çalışmamızda RELN geni rs7341475 polimorfizmi için elde edilen genel bulgular; bipolar bozukluk için Liu et al. (2011) ve Yang et al. (2013)'ın yaptığı çalışma ile, şizofreni için ise Shifman et al. (2008)'ın yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir. Sonuçta bu polimorfizmin GG genotipinin, kadın grubunda şizofreniye yatkınlık sağlayan bir risk faktörü olduğu, A alleli ve GA genotipinin ise koruyucu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bipolar bozukluk için ise bağımsız bir risk faktörü olmadığı bulunmuştur.

### **CSF2RA rs4129148:**

CSF2RA geni X ve Y kromozomları üzerindeki psödootozomal bölge üzerinde bulunur (Xp22.32, Yp11.3). Sitokin ailesine dâhil, koloni uyarıcı faktör 2, heterodimerik reseptörünün alfa alt ünitesini oluşturan reseptör proteinini kodlamaktadır. Hematopoetik hücrelerin (Granülosit, makrofaj gibi) fonksiyonel aktivasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını uyaran sinyalleri iletir. Alfa alt ünitesi, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör için bağlanma bölgesi içerir. Beta alt ünitesi ise sinyal iletiminde görevlidir. Bu iki alt ünitenin birleşimi ile reseptör aktive olur.

CSF2RA geninin, kalıtsal tipe sahip pulmoner 4 - sürfaktan metabolizma bozukluğu (PAP) oluşumu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

CSF2RA geni, sitokin ilişkili inflamatuvar yanıtta rol oynadığından şizofreni ve bipolar bozuklukta incelenmesi önemli bilgilerin elde edilmesini sağlayabilir. İnflamasyon vücudun yaralanma veya enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını oluşturan mekanizmalardan biridir. Akut inflamasyon yanma, ağrı ve şişkinlik ile karakterize nonspesifik bir yanıttır. Lökositler yaralanan bölgeye göç ederler ve aktive olurlar, bu bölgeye gelen kan akışı hızlanır, damarlar daha geçirgen hale gelir ve moleküllerin daha kolay giriş çıkışı sağlanır. Sitokinler inflamasyonu kontrol eden anahtar moleküllerdir. Hem immun sistem hücreleri, hem de bazı diğer hücreler tarafından üretilirler. Şizofreni hastalarında periferik kanda ve serebrospinal sıvıda pro-inflamatuvar sitokinlerin seviyesinin arttığı görülmüştür. Kandaki sitokin anomalileri, düşük kognitif işlevlere, negatif belirtilere ve bölgesel beyin hacmi anomalilerine yol açmaktadır. Özellikle prenatal

dönemdeki risk faktörlerinden gebelik diyabeti, stres, depresyon, preeklampsi ve patojenlere maruziyet vb. durumlar inflamasyon ile doğrudan ilişkilidir (Kirkpatrick and Miller, 2013). Ayrıca genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerde bu hastalıkların oluşumunda büyük rol oynamaktadır. Gen-çevre ilişkilerinin birlikte incelenmesi, yolak temelli çalışmaların gelişimini sağlamaktadır. Aile temelli bir çalışmada, şizofreni hastası bir akrabaya sahip bireylerin, teratojenik maruziyetlerde negatif psikolojik ve nöroanatomik yanıt verdikleri belirlenmiştir. Bu sebeple psikiyatrik hastalıklarda, enfeksiyöz ajanlara yanıtın, otoimmün ve inflamatuvar süreçlerde rol oynayabileceği, özellikle CSF2RA geninin hemopoetik hücrelerin çoğalması ve farklılaşması rolü nedeniyle önemli olduğu düşünülmektedir (Lencz et al. 2007).

Kromozom Xp22.33 ve Yp11.32 üzerinde bulunan rs4129148 polimorfizmi ise, intergenik bir varyanttır ve C>G değişimini içerir. X/Y psödootozomal bölgede (PAR) lokalize olmuştur. Bu polimorfizm intergenik bir bölgede bulunduğundan, en yakın gen olan “CSF2RA” ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Lencz ve ark.’nın yaptığı 178 şizofreni hastası ile 144 kontrol kullanılan bir GWA çalışmasında, rs4129148 polimorfizmi G allelinin,  $p=3.7 \times 10^{-7}$ , OR=3.23, %95 güven aralığı=2.04-5.15 değerleri ile şizofreni için risk oluşturduğu belirlenmiştir. Bu SNP’nin X/Y kromozomları üzerinde bulunmasından dolayı aynı analizler, cinsiyetlere göre de yapılmış, lakin her iki cinsiyet için ilişki yine anlamlı ( $p \leq 0.001$ ) saptanmıştır. Böylelikle bu polimorfizmin bağlantısının cinsiyetten bağımsız olduğu belirlenmiştir (Lencz et al. 2007).

Sullivan ve ark.’nın yaptığı bir GWA çalışmasında 738 şizofreni hastası ve 733 kontrol kullanılmıştır. Özellikle daha önce risk olarak belirlenen genlere odaklanılmıştır. Örnek sayılarının daha da artmış olmasına rağmen, rs4129148 polimorfizmi ile şizofreni arasında ilişki bulunamamıştır ( $p=0.41$ ) (Sullivan et al. 2008).

Need ve ark.’nın yaptığı GWA çalışmasında ise 871 şizofreni hastası ve 863 kontrol kullanılmıştır. Ama hem genel, hem de cinsiyetlere göre herhangi bir ilişki saptanamamıştır (Need et al. 2009).

Bu polimorfizmin HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımları ve tez sonuçları çizelge 5.7’de verilmektedir

(<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Türk popülasyonu için allelik dağılımlar Avrupa kökenli örneklerle benzer bir dağılım göstermektedir.

**Çizelge 5.7 CSF2RA için HapMap projesi sonucunda ortaya çıkan bazı popülasyonlara özgü allelik dağılımlar ve tez sonuçları**

<b>Popülasyon</b>	<b>CSF2RA rs4129148 C Allel Frekansı</b>	<b>CSF2RA rs4129148 G Allel Frekansı</b>
HapMap-CEU (Avrupa)	0.33	0.67
HapMap-HCB (Han-Çin, Beijing)	0.63	0.37
HapMap-JPT (Japon-Tokyo)	0.53	0.47
HapMap-YRI (Yoruba-Afrika)	0.67	0.33
HapMap-MEX (Meksika)	0.58	0.42
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Şizofreni:0.35</b>	<b>Şizofreni:0.65</b>
	<b>Kontrol:0.36</b>	<b>Kontrol:0.64</b>
<b>Türk (Tez çalışması)</b>	<b>Bipolar:0.38</b>	<b>Bipolar:0.62</b>
	<b>Kontrol:0.35</b>	<b>Kontrol:0.65</b>

Bu çalışmada; CSF2RA rs4129148 için genel sonuçlar; Şizofreni için;  $p=0.434$ ,  $\chi^2=1.66$ ,  $df=2$  şeklinde, bipolar bozukluk için ise;  $p=0.689$ ,  $\chi^2=0.746$ ,  $df=2$  şeklindedir (çizelge 4.4). Cinsiyetlere göre analiz edildiğinde elde edilen veriler ise çizelge 4.12, 4.13 ve 4.18, 4.19'da gösterilmektedir. Hem şizofreni, hem de bipolar bozuklukta erkek grubunda herhangi bir ilişki saptanmazken, kadın şizofren hastalarında rs4129148 GC genotipinin 4.3 kat koruyucu olduğu belirlenmiştir ( $p=0.002$ ,  $\chi^2=9.775$ ,  $df=1$ ,  $OR=0.233$ , %95 Güven aralığı=0.090-0.601).

Çalışmamızda CSF2RA rs4129148 polimorfizmi için elde edilen genel bulgular; bipolar bozukluk için Sullivan et al. (2008) ve Need et al. (2009)'ın yaptığı çalışma ile, şizofreni için Lencz et al. (2007)'in yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir. Sonuçta

şizofreni kadın grubunda, bu polimorfizmin GC genotipinin koruyucu etki gösterdiği, bipolar bozukluk için ise bağımsız bir risk faktörü olmadığı bulunmuştur.

### Yöntemsel Karşılaştırmalar:

Tez çalışmasının istatistiksel analizi yapılırken HWE uyumu hesaplamalarıyla birlikte Pearson uyum iyiliği ki kare (Pearson's goodness-of-fit chi-square) hesaplamaları da yapılmıştır. Bu hesaplama ile hem gözlenen frekansların, beklenen frekanslardan farklılık derecesini, hem de değişkenlerin ve örneklerin bağımsızlık derecesini belirlemek mümkün olmaktadır. Tez sonuçlarında anlamlılık görülen bölgeler için Pearson uyum iyiliği ki kare testi P değerleri çizelge 5.8'deki gibidir.  $P > 0.05$  ise; hipotez doğru, örnekler bağımsız ve homojen bir populasyon kullanılmış demektir. Eğer  $P < 0.05$  ise; örnekler bağımlı ve heterojen bir populasyon kullanılmış demektir (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

**Çizelge 5.8 Tez çalışmasında anlamlı çıkan bölgeler için Pearson uyum iyiliği ki kare testi P değerleri**

Grup	Şizofreni	Şizofreni	Şizofreni
GEN	<b>ZNF804A</b>	<b>CSF2RA</b>	<b>RELN</b>
Genel	<b>P=0.03785</b>	P=0.81876	P=0.68089
Kadın	P=0.66577	<b>P=0.51447</b>	<b>P=0.07427</b>
Erkek	<b>P=0.01872</b>	P=0.64679	P=0.10641

Tez sonuçlarında anlamlı çıkan bölgelerin güvenilirliklerini test etmek için ortaya çıkan değerler bize şu bilgileri vermektedir:

- 1) Şizofreni için ZNF804A “GG” genotipi ve “T” alleli için Pearson  $P=0.03785 < 0.05$  ve şizofreni erkek grubunda “TT” genotipi ve “G” alleli için Pearson  $P=0.01872 < 0.05$  olduğundan, çalışılan populasyonun bu gen bakımından heterojen olduğunu göstermektedir.
- 2) Şizofreni kadın grubunda CSF2RA “GC” genotipi için Pearson  $P=0.51447 > 0.05$  olduğundan, ortaya çıkan anlamlılığın güvenilir olduğunu ve populasyonun bu gen bakımından homojen olduğunu göstermektedir.

- 3) Şizofreni kadın grubunda RELN “GG genotipi, GA genotipi ve A alleli” için Pearson  $P=0.07427>0.05$  olduğundan, ortaya çıkan anlamlılığın güvenilir olduğunu ve popülasyonun bu gen bakımından homojen olduğunu göstermektedir.

Araştırmacılar, bir fenotipin altında yatan genetik yapıyı incelerken, çalışmayı güvenilir bir biçimde tasarlamak için bazı kontrol mekanizmaları geliştirmişlerdir (Örn; kaç tane varyantın analiz edileceği, hasta ve grubunun seçim kriterleri, kaç örnek çalışılacağı, veri kalite kontrolü gibi). Çünkü genetik çalışmalarda istatistiksel gücü etkileyen birçok faktör vardır ve bunların önemli bir kısmı araştırmacının kontrolü dışındadır. Mesela hastalığın fenotipini oluşturan genetik komplikasyonun seviyesi, hastalığın kalıtım modeli, popülasyonun genetik ve tarihsel karakteristiği gibi durumlar araştırmacının manipüle edemeyeceği durumlardır. Bu sebeple ortaya çıkan sonuçların istatistiksel gücünü hesaplamak, ortaya çıkan sonucun güvenilirliğini belirlemek için önemli bir araç olmaktadır. Genetik çalışmalar için önemli olan diğer bir kriter ise; çalışılan örnek sayısıdır. Bir genetik varyantın hastalıkla ilişkisini belirlemek için gereken örnek sayısı; o varyantın allelik frekansları ile ilişkilidir. Düşük frekansa sahip allellerin, hastalığa etkilerinin düşük olduğu ve bunları tespit etmenin daha güç olduğu bilinmektedir. Vaka-kontrol çalışmalarında örnek sayısı çok yüksek olmasa bile,  $p<0.05$  eşiğini geçtiğinde varyantın bu hastalık için risk veya koruyucu etki oluşturduğu söylenebilir. Ama GWA çalışmalarında istatistiksel gücün iyi bir seviyede olması için, daha fazla örneğe ihtiyaç duyulmakta ve daha düşük p değerleri eşik olarak kabul edilmektedir.

GWA çalışmaları, 2000’li yılların sonlarında önemli bir metodoloji olarak ortaya çıkmışlardır. Yüksek rezolusyona sahip olmalarına rağmen, hastalıklarla ilişkili çok az sayıda gen saptamaktadır ve ortaya çıkan risk oranları oldukça düşüktür. Tez çalışmamızda; gen seçimimizi bu metodolojiden yararlanarak yaptık. Bu genlerden yola çıkarak, çalışacağımız SNP’leri ise; PCR-RFLP yöntemine uygun olarak seçtik. Bu SNP’lerin, bu yöntem için uygunluğunu incelemek için; istatistiksel güç ve örnek sayısı hesaplamalarını yaptık (<http://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/b2.html>). Çizelge 5.9’da GWAS ve RFLP yöntemiyle yapılan çalışmaların, karşılaştırmalı analizleri gösterilmektedir. Tez çalışmasında yararlanılan GWAS’larda istatistiksel güç 0.80’den yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda ise hem şizofreni, hem de bipolar bozukluk açısından istatistiksel güç hesaplamaları, çalışılan hasta sayısının yetersizliği nedeniyle 0.80’den



düşük bulunmuştur. Tez çalışmasında kullanılan örnek sayısı tüm Türk populasyonunu temsil edememektedir. Bunun için daha fazla örneğe ihtiyaç duyulmaktadır.

Ayrıca GWAS'lardan seçilen bu SNP'lerin vaka-kontrol çalışması için uygun olmadığı görülmektedir. Çünkü TaqSNP'ler GWA çalışmaları içerisinde bile bir sorun teşkil ederken, daha düşük ölçekli çalışmalar için gerçek SNP saptanmasını engelleyebilmektedirler. Hastalıkla ilişkili olabilecek asıl SNP, aynı gen üzerinde fakat TaqSNP'lerin gölgesi altında kalmış olabilir. Ya da rol oynayan gerçek varyant, GWA çalışmaları ile tespit edilmemiş olabilir. Bu sebeple, ilişkili olduğu düşünülen genlerin dizilemelerinin yapılması daha doğru sonuçlar verecektir.

Tez çalışmamızda analizi yapılan 7 SNP'den sadece ZNF804A geninin şizofreni ile ilişkisi belirlenmiştir. Cinsiyetlere göre analiz ettiğimizde ise; şizofreni erkek grubunda ZNF804A geni ile, şizofreni kadın grubunda ise CSF2RA ve RELN genleri ile ilişkiler saptanmıştır. İstatistiksel güç ve örnek sayısı hesaplamaları her bir gen için yapılmıştır. Cinsiyetlere ayrıldığında örnek sayısı azalırken, istatistiksel güç artmaktadır (Çizelgede renkli gösterilmektedir). Bunun nedeni; hasta ve kontroller arasındaki allelik frekans farkının, genel populasyondan daha büyük olmasıdır. GWA çalışmalarında yüksek sayıda örnek kullanılmasının nedeni budur. Çünkü düşük risk oranları bulunması ve allelik frekanslar arası farkın az olması nedeniyle sonucun güvenilirliğini kanıtlamak için istatistiksel gücün 0.80'in üzerinde bir rakam olması gerekmektedir. Çizelge 5.9'da görüldüğü gibi GWA çalışmalarında istatistiksel güç oldukça yüksektir. Tez çalışmamızdaki gibi vaka-kontrol çalışmaları bu yeterliliğe ulaşmamaktadır.

**Çizelge 5.9 RFLP ve GWA çalışmalarının istatistiksel güç ve örnek sayısı bakımından karşılaştırılması (Şiz:Şizofreni, Bip:Bipolar bozukluk, Kont:Kontrol, PGC:Psikiyatrik genomik konsorsiyum, cinsiyetlere göre anlamlı çıkan bölgelerin analizleri renkli gösterilmiştir)**

GEN (SNP)	RFLP			GWAS		
	İstatistiksel Güç (Power)	Power>0.80 olarak kabul edildiğinde olması gereken örnek sayısı	Tez çalışmasındaki örnek sayısı	İstatistiksel Güç (Power)	Power>0.80 olarak kabul edildiğinde olması gereken örnek sayısı	GWA çalışmasındaki örnek sayısı
ZNF804A (rs1344706)	Şiz:0.54 Bip:0.04	Şiz+kont:448 Bip+kont:36383	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Şiz:1.00 Bip:1.00	Şiz+kontrol:750 Bip+kontrol:4168	Şiz:7308 Bip:1865 Kont:12834 (O'Donovan et al. 2008)
ZNF804A(rs13440706) Erkek Şizofreni A alleli ve TT genotipi	Şiz:0.87	Şiz+kont:112	Şiz+kontrol:137	--	--	--
AGAP1 (rs13025591)	Şiz:0.14 Bip:0.09	Şiz+kont:2443 Bip+kont:4307	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Allel frekansları verilmemiştir.	Allel frekansları verilmemiştir.	Şiz:2681 Kont:2653 (Shi et al. 2009)
CSF2RA (rs4129148)	Şiz:0.04 Bip:0.09	Şiz+kont:35943 Bip+kont:4042	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Şiz:1.00	Şiz+kontrol:106	Şiz:178 Kont:144 (Lencz et al. 2007)
CSF2RA(rs4129148) Kadın Şizofreni GC genotipi	Şiz:1.00	Şiz+kont:38	Şiz+kontrol:105	--	--	--

<b>TCF4</b> <b>(rs9960767)</b>	Şiz:0.27 Bip:0.15	Şiz+kont: 1059 Bip+kont:1863	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Şiz:1.00	Şiz+kontrol:9540	Şiz:12945 Kont:34591 (Stefansson et al. 2009)
<b>TENM4</b> <b>(rs12576775)</b>	Şiz:0.05 Bip:0.03	Şiz+kont:18330 Bip+kont: ∞	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Şiz:1.00 Bip:1.00	Şiz+Bip+Kont:5792	Şiz:9375-Bip:6999 Kont:14044 (PGC bipolar bozukluk ve şizofreni grubu, 2011)
<b>CACNA1C</b> <b>(rs4765913)</b>	Şiz:0.19 Bip:0.33	Şiz+kont:1627 Bip+kont:697	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Şiz:1.00 Bip:1.00	Şiz+Bip+Kont:8806	Şiz:9375-Bip:6999 Kont:14044 (PGC bipolar bozukluk ve şizofreni grubu, 2011)
<b>RELN</b> <b>(rs7341475)</b>	Şiz:0.05 Bip:0.12	Şiz+kont:24641 Bip+kont:2737	Şiz+kontrol:242 Bip+kontrol:203	Genel Allel frekansları verilmemiştir.	Genel Allel frekansları verilmemiştir.	Genel Allel frekansları verilmemiştir. (Shifman et al. 2008)
<b>RELN (rs7341475)</b> <b>Kadın Şizofreni A alleli ve GG genotipi</b>	Şiz:0.89	Şiz+kont:81	Şiz+kontrol:105	Şiz kadın:1.00	Şiz+kont:195	Şiz kadın:256 Kontrol kadın:656 (Shifman et al. 2008)
<b>RELN (rs7341475)</b> <b>Kadın Şizofreni GA genotipi</b>	Şiz:0.92	Şiz+kont:73	Şiz+kontrol:105	--	--	--

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak “Şizofreni ve Bipolar Bozuklukta Genom Bağlantı Analizi ile İlişkili Genlerin Araştırılması” amaçlayan çalışmamızda; genel analizlerde; çalışılan 7 gen açısından bipolar bozukluk ve kontroller arasında allelik bir ilişki bulunamamıştır. Şizofreni için yapılan analizlerde ise sadece ZNF804A geni rs1344706 polimorfizmi ile ilişki tespit edilmiştir. ZNF804A rs1344706 GG genotipinin, şizofreni için 2,5 kat koruyucu olduğu ( $p=0.037$ ,  $OR=0,395$ , %95 Güven aralığı=0,161-0,967) ve T allelinin ise şizofreni için 2,5 kat risk oluşturduğu ( $p=0.037$ ,  $OR=2,534$ , %95 Güven aralığı=1,034-6,213) belirlenmiştir.

Cinsiyetlere göre analiz yapıldığında; bipolar bozukluk için hem erkek, hem de kadın grubunda herhangi bir allelik ilişki belirlenememiştir.

Şizofreni grubu için erkeklerde; sadece ZNF804A geni rs1344706 polimorfizmi açısından, genotipik ve allelik ilişki bulunmuştur ( $p=0.043$ ). Şizofreni erkek grubunda ZNF804A rs1344706 polimorfizmi TT genotipi 2,2 kat risk oluşturmakta ( $p=0.026$ ,  $OR=2,229$ , %95 güven aralığı=1,096-4,532), G alleli ise 2,2 kat koruyucu etki göstermektedir ( $p=0.026$ ,  $OR=0,449$ , %95 güven aralığı=0,221-0,912).

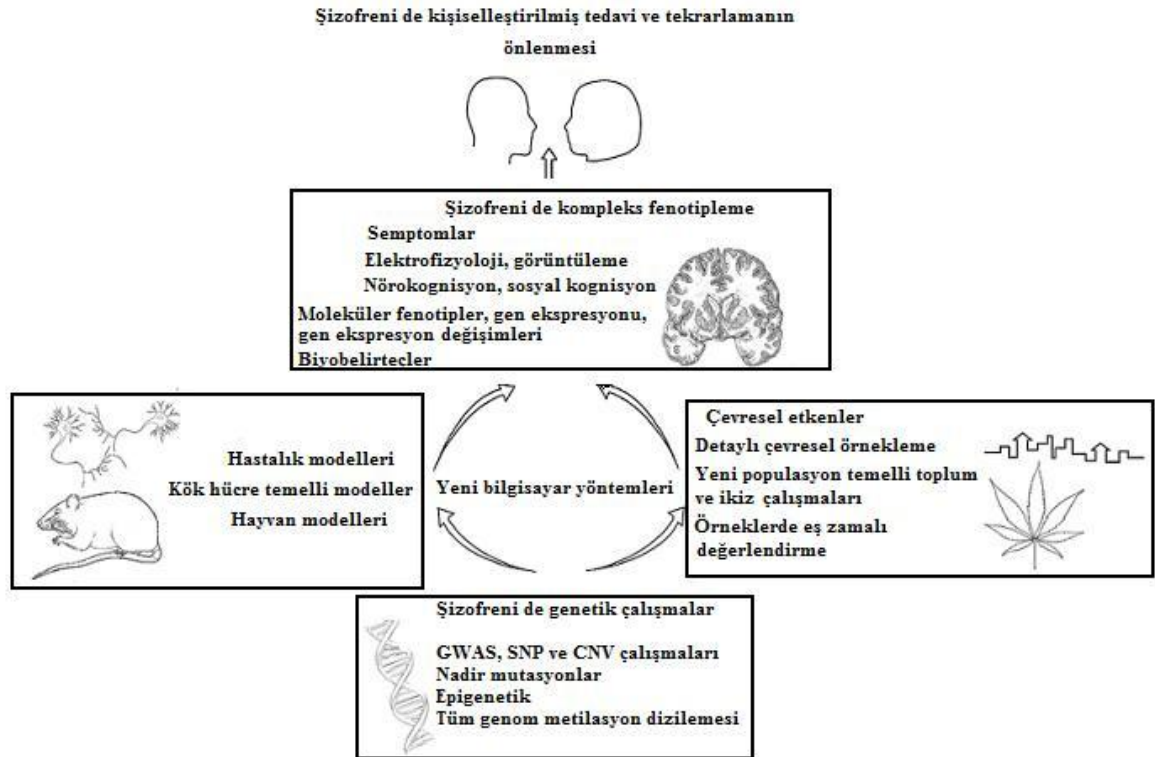
Şizofreni grubu için kadınlarda ise sadece CSF2RA ve RELN genleri ile bağlantılar saptanmıştır. CSF2RA rs4129148 polimorfizmi, GC genotipinin kadınlarda 4,3 kat koruyucu olduğu tespit edilmiştir ( $p=0.002$ ,  $OR=0,233$ , %95 Güven aralığı=0,090-0,601). Şizofreni kadın grubunda RELN rs7341475 polimorfizmi için ise; GG genotipinin 2,7 kat risk oluşturduğu ( $p=0.034$ ,  $OR=2,760$ , %95 Güven aralığı=1,058-7,197), GA genotipinin 3,1 kat koruyucu etki gösterdiği ( $p=0.023$ ,  $OR=0,322$ , %95 Güven aralığı=0,118-0,881) ve son olarak A allelinin ise 2,7 kat koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir ( $p=0.034$ ,  $OR=0,362$ , %95 Güven aralığı=0,139-0,945).

Bu çalışmada çalışılan tüm SNP'ler için kullanılan PCR-RFLP yönteminin dizaynı ilk defa bizim tarafımızdan geliştirilip, literatüre kazandırılmıştır.

Araştırmacılar bu alanda farklı metodolojiler ile yapılan araştırmaları birleştirmek için de çaba harcamaktadırlar. En yüksek GWAS sonuçları göz önünde bulundurularak,

farklı şizofreni fenotipleri ve gen-etkileşim çalışmaları ile test edilmektedir. Bunlara örnek olarak; ZNF804A ve TCF4 genlerinin şizofreni ile semptomatik ve nörobilişsel ilişkileri belirlenmiştir. Gelecekte, yeni teknolojilerin kombinasyonu ile şizofreni ve bipolar bozuklukta gen-çevre ilişkisini anlamak daha kolay olacaktır. Ayrıca şizofreni ve bipolar bozukluğun kompleks doğası gereği, genler sadece tek başlarına değil, birbirleriyle de etkileşerek de görev yapmaktadırlar. Bu sebeple sadece tek bir belirteçten yola çıkmak ve onu tek başına incelemek yeterli olmayacaktır. Bir diğer önemli husus ise; GWA çalışmalarının sonuçlarında anlamlılık eşiğini geçemeyen bazı genler de hastalığın etiyojisine katkıda bulunuyor olabilir. Bu yüzden GWA çalışmaları ile saptanamayan birçok gen şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynuyor olabilir.

Post-genomik döneme girerken araştırmacılar, epidemiyolojik, genetik, hayvan modelleri, kök hücre araştırmaları, klinik ve bilişsel nörobilim ile elde edilen bilgileri harmanlayarak, şizofreni ve bipolar bozukluğu tekrar gözden geçirecektir. Yeni modeller ışığında (Şekil 6.1) bu hastalıkları anlamak, kişiselleştirilmiş tedavi ve hastalıktan korunma yöntemleri geliştirilmesine zemin hazırlayacaktır (Rethelyi et al. 2013).



**Şekil 6.1 Şizofreni de gen-çevre etkileşimi için geliştirilen metodolojiler**

Çalışmamızda bazı sınırlamalar mevcuttur. Örneğin; Hasta sayımızın artırılması gerekmektedir. Daha güçlü istatistiksel sonuçlar elde etmek için hasta sayısı belli bir eşiğin üzerinde olmalıdır. Ayrıca daha önceki GWA çalışmalarında şizofreni ve bipolar bozukluk ile ilişkisi saptanan genler belirlenip, bunlardan PCR-RFLP yöntemine uygun olan SNP'ler çalışmaya dâhil edilmiştir. GWA çalışmalarında belirlenip, PCR-RFLP yöntemine uymayan diğer SNP'lerinde diğer yöntemlerle (allel-spesifik PCR, dizileme vb.) incelenmesi gerekmektedir. Çünkü bu hastalıkların yüksek derecede poligenik doğası gereği, risk oluşturan daha birçok genin olduğu düşünülmektedir.

İncelenen polimorfizmlerin hepsinin işlevleri henüz netleşmemiş olan intronik veya intergenik bölgelerde yer almasından ötürü, ileri çalışma olarak bu bölgelerinin fonksiyonel analizleri, ekspresyon ve translasyon çalışmaları da yapılmalıdır. Tüm bunların yanı sıra sistematik olarak gen-gen etkileşimleri, yolak analizleri ve gen-çevre etkileşimleri de incelenmeli, böylece her iki hastalığın poligenik ve multifaktöriyel doğasına açıklık getirilmeye çalışılmalıdır. Böylece bu hastalıklara tanı koymak daha da kolaylaşacaktır. Bunların ışığında farmakogenetik alanı da gelişerek, tedavi yöntemleri genetik temelli olarak kişiye özgü bir hal alacaktır. Bu sayede tedavinin verimi artacaktır.

Daha net sonuçların elde edilebilmesi için daha geniş ve detaylı bilgisi mevcut olan 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. Türk popülasyonu açısından bu genlerin şizofreni ve bipolar bozuklukta incelenmesi 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 bozuklukta rol oynadığı düşünülen diğer genlerin de (NRGN, PBRM1, ANK3 gibi) incelenmesi, hastalıkların oluşum mekanizmalarını açığa çıkarmak için önemli bir adım olacaktır.

Psikiyatrik hastalıkların tanısını koymak için şimdiye kadar sadece belirtilere ve izlenimlere bağı kalınmıştır. Hastalıkların birbirleriyle semptomatik olarak örtüşmeleri tanı koymayı güçleştirmektedir. Bu amaçla tanı koymak için genetik testler büyük önem arz etmektedir. Çok yüksek kalıtım gösteren şizofreni ve bipolar bozuklukta rol oynayan genlerin belirlenmesi ile yollar aydınlatılabilecek ve yeni tedavi yöntemleri geliştirilebilecektir.

## KAYNAKLAR

- Adam E., Şar V, Türkel R, Üçok A, Yazıcı O. (1998) İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Bölüm:9
- Albanna A., Choudhry Z, Harvey PO, Fathalli F, Cassidy C, Sengupta SM, Iyer SN, Rho A, Lepage M, Malla A, Joober R. (2014) TCF4 gene polymorphism and cognitive performance in patients with first episode psychosis. *Schizophr Res.* 152(1):124-9.
- American Psychiatric Association (2000) The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) 4th Edition, Text Revision, Arlington, American Psychiatric Publishing.
- American Psychiatric Association (2013) The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V) 5th Edition, Arlington, American Psychiatric Publishing.
- Austin J. (2005). Schizophrenia: an update and review. *J Genet Couns.* 14(5):329- 40.
- Ben-Zur T., Feige E, Motro B, Wides R. (2000) The mammalian Odz gene family: homologs of a Drosophila pair-rule gene with expression implying distinct yet overlapping developmental roles. *Dev Biol.* 1;217(1):107-20.
- Bergen SE., Petryshen TL. (2012) Genome-wide association studies of schizophrenia: does bigger lead to better results? *Curr Opin Psychiatry.* 25(2):76-82.
- Cacabelos R., Martínez-Bouza R. (2011) Genomics and pharmacogenomics of schizophrenia. *CNS Neurosci Ther.* 17(5):541-65.
- Chen M., Xu Z, Zhai J, Bao X, Zhang Q, Gu H, Shen Q, Cheng L, Chen X, Wang K, Deng X, Ji F, Liu C, Li J, Dong Q, Chen C. (2012) Evidence of IQ-modulated association between ZNF804A gene polymorphism and cognitive function in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology.* 37(7):1572-8.
- Chen Z., Schwahn BC, Wu Q, He X, Rozen R. (2005) Postnatal cerebellar defects in mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase. *Int J Dev Neurosci.* 23(5):465-74.
- Cosgrove VE., Suppes T. (2013) Informing DSM-5: biological boundaries between bipolar I disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia. *BMC Med.* 14;11:127.
- Craddock N., Jones I. (1999) Genetics of bipolar disorder. *J Med Genet.* 36(8):585-94.
- Craddock N., O'Donovan MC, Owen MJ. (2005) The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. *J Med Genet.* 42(3):193-204.
- Craddock N., Sklar P. (2013) Genetics of bipolar disorder. *Lancet.* 11;381(9878):1654-62.
- Craddock N., Owen MJ. (2010) *The Kraepelinian dichotomy-going, going... but still not gone.* *Br J Psychiatry.* 196(2):92-5.
- Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2013) Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet.* 20;381(9875):1371-9.
- Doherty JL., O'Donovan MC, Owen MJ. (2012) Recent genomic advances in schizophrenia. *Clin Genet.* 81(2):103-9.
- Donohoe G., Morris DW, Corvin A. (2010) The psychosis susceptibility gene ZNF804A: associations, functions, and phenotypes. *Schizophr Bull.* 36(5):904-9.



- Faraone SV., Taylor L., Tsuang MT. (2002). The molecular genetics of schizophrenia: an emerging consensus. *Expert Rev Mol Med.* 23, 1-13.
- Ferreira MA., O'Donovan MC, Meng YA, Jones IR, Ruderfer DM, Jones L, Fan J, Kirov G, Perlis RH, Green EK, Smoller JW, Grozeva D, Stone J, Nikolov I, Chambert K, Hamshere ML, Nimgaonkar VL, Moskvina V, Thase ME, Caesar S, Sachs GS, Franklin J, Gordon-Smith K, Ardlie KG, Gabriel SB, Fraser C, Blumenstiel B, Defelice M, Breen G, Gill M, Morris DW, Elkin A, Muir WJ, McGhee KA, Williamson R, MacIntyre DJ, MacLean AW, St CD, Robinson M, Van Beck M, Pereira AC, Kandaswamy R, McQuillin A, Collier DA, Bass NJ, Young AH, Lawrence J, Ferrier IN, Anjorin A, Farmer A, Curtis D, Scolnick EM, McGuffin P, Daly MJ, Corvin AP, Holmans PA, Blackwood DH, Gurling HM, Owen MJ, Purcell SM, Sklar P, Craddock N; Wellcome Trust Case Control Consortium. (2008) Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet.* 40(9):1056-8.
- Fineberg AM., Ellman LM. (2013) Inflammatory cytokines and neurological and neurocognitive alterations in the course of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 15;73(10):951-66.
- Folsom TD., Fatemi SH. (2013) The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology.* 68:122-35.
- Girgenti MJ., LoTurco JJ, Maher BJ. (2012) ZNF804a regulates expression of the schizophrenia-associated genes PRSS16, COMT, PDE4B, and DRD2. *PLoS One.* 1:76(5):387-96
- Grayson DR., Jia X, Chen Y, Sharma RP, Mitchell CP, Guidotti A, Costa E. (2005) Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 28;102(26):9341-6.
- Green EK., Grozeva D, Moskvina V, Hamshere ML, Jones IR, Jones L, Forty L, Caesar S, Gordon-Smith K, Fraser C, Russell E, St Clair D, Young AH, Ferrier N, Farmer A, McGuffin P, Holmans PA, Owen MJ, O'Donovan MC, Craddock N. (2010) Variation at the GABAA receptor gene, Rho 1 (GABRR1) associated with susceptibility to bipolar schizoaffective disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 5;153B(7):1347-9.
- Guan F., Zhang B, Yan T, Li L, Liu F, Li T, Feng Z, Zhang B, Liu X, Li S. (2014) MIR137 gene and target gene CACNA1C of miR-137 contribute to schizophrenia susceptibility in Han Chinese. *Schizophr Res.* 152(1):97-104.
- Guidotti A., Auta J, Davis JM, Di-Giorgi-Gerevini V, Dwivedi Y, Grayson DR, Impagnatiello F, Pandey G, Pesold C, Sharma R, Uzunov D, Costa E. (2000) Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry.* 57(11):1061-9.
- Hall MH., Levy DL, Salisbury DF, Haddad S, Gallagher P, Lohan M, Cohen B, Ongür D, Smoller JW. (2014) Neurophysiologic effect of GWAS derived schizophrenia and bipolar risk variants. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 165B(1):9-18.
- <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>
- <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
- <http://www.nimh.nih.gov/health/topics/bipolar-disorder/index.shtml> (National Institute of Mental Health- Bipolar Disorder)
- <http://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/b2.html>

- Impagnatiello F., Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG, Uzunov DP, Smalheiser NR, Davis JM, Pandey GN, Pappas GD, Tueting P, Sharma RP, Costa E. (1998) A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 22;95(26):15718-23.
- Keshavan, MS., Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA. (2008) Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3:neurobiology. *Schizophr Res*. 106(2-3):89-107.
- Khosravani H., Zamponi GW. (2006) Voltage-gated calcium channels and idiopathic generalized epilepsies. *Physiol Rev*. 86(3):941-66.
- Kim Y., Zerwas S, Trace SE, Sullivan PF. (2011) Schizophrenia genetics: where next? *Schizophr Bull*. 37(3):456-63.
- Kirkpatrick B, Miller BJ. (2013) Inflammation and schizophrenia. *Schizophr Bull*. 39(6):1174-9.
- Klug WS., Cummings MR. (2000) Concepts of Genetics, 6th Edition, Chapter 21. S:577-579, Prentice Hall Inc. New Jersey.
- Köroğlu E., Güleç C. ed. (2007) Psikiyatri Temel Kitabı, 2. Baskı, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, Bölüm 18:Şizofreni
- Lang UE., Puls I, Muller DJ, Strutz-Seebohm N, Gallinat J. (2007) Molecular mechanisms of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*. 20(6):687-702.
- Lee KW., Woon PS, Teo YY, Sim K. (2012) Genome wide association studies (GWAS) and copy number variation (CNV) studies of the major psychoses: what have we learnt? *Neurosci Biobehav Rev*. 36(1):556-71.
- Lencz T., Morgan TV, Athanasiou M, Dain B, Reed CR, Kane JM, Kucherlapati R, Malhotra AK. (2007) Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 12(6):572-80.
- Lennertz L., Rujescu D, Wagner M, Frommann I, Schulze-Rauschenbach S, Schuhmacher A, Landsberg MW, Franke P, Möller HJ, Wölwer W, Gaebel W, Häfner H, Maier W, Mössner R. (2011) Novel schizophrenia risk gene TCF4 influences verbal learning and memory functioning in schizophrenia patients. *Neuropsychobiology*. 63(3):131-6.
- Lett TA., Zai CC, Tiwari AK, Shaikh SA, Likhodi O, Kennedy JL, Müller DJ. (2011) ANK3, CACNA1C and ZNF804A gene variants in bipolar disorders and psychosis subphenotype. *World J Biol Psychiatry*. 12(5):392-7.
- Li M., Zhang H, Luo XJ, Gao L, Qi XB, Gourraud PA, Su B. (2013) Meta-analysis indicates that the European GWAS-identified risk SNP rs1344706 within ZNF804A is not associated with schizophrenia in Han Chinese population. *PLoS One*. 12;8(6):e65780.
- Li T., Li Z, Chen P, Zhao Q, Wang T, Huang K, Li J, Li Y, Liu J, Zeng Z, Feng G, He L, Shi Y. (2010) Common variants in major histocompatibility complex region and TCF4 gene are significantly associated with schizophrenia in Han Chinese. *Biol Psychiatry*. 1;68(7):671-3.
- Lichtenstein P., Yip BH, Björk C, Pawitan Y, Cannon TD, Sullivan PF, Hultman CM. (2009) Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet*. 17;373(9659):234-9.
- Liu XY., Li M, Yang SY, Su B, Yin LD. (2011) Association of RELN SNP rs7341475 with schizophrenia in the Chinese population. *Dongwuxue Yanjiu*. 32(5):499

- Luo R., Akpan IO, Hayashi R, Sramko M, Barr V, Shiba Y, Randazzo PA. (2012) GTP-binding protein-like domain of AGAP1 is protein binding site that allosterically regulates ArfGAP protein catalytic activity. *J Biol Chem.* 18;287(21):17176-85.
- Mueser KT., McGurk SR. (2004). Schizophrenia. *Lancet.* 19;363(9426):2063-72.
- Need AC., Ge D, Weale ME, Maia J, Feng S, Heinzen EL, Shianna KV, Yoon W, Kasperaviciute D, Gennarelli M, Strittmatter WJ, Bonvicini C, Rossi G, Jayathilake K, Cola PA, McEvoy JP, Keefe RS, Fisher EM, St Jean PL, Giegling I, Hartmann AM, Möller HJ, Ruppert A, Fraser G, Crombie C, Middleton LT, St Clair D, Roses AD, Muglia P, Francks C, Rujescu D, Meltzer HY, Goldstein DB. (2009) A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genet.* 5(2):e1000373.
- Nogi T., Yasui N, Hattori M, Iwasaki K, Takagi J. (2006) Structure of a signaling-competent reelin fragment revealed by X-ray crystallography and electron tomography. *EMBO J.* Aug 9;25(15):3675-83.
- Noll R. (2007) The Encyclopedia of Schizophrenia and Other Psychotic Disorders, Facts on File, P:59. New York.
- Nussbaum R.L., McInnes R.R, Willard H.F. (2007) Genetics in Medicine, S:90-91, Thompson&Thompson, Edition 7
- O'Donovan MC., Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR. (2008) Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration. *Nat Genet.*40(9):1053-5.
- Ovadia G., Shifman S. (2011) The genetic variation of RELN expression in schizophrenia and bipolar disorder. *PLoS One.* 6(5):e19955.
- Owen MJ. (2005). Genomic Approaches to Schizophrenia. *Clinical Therapeutics.* Volume 27, Supplement A. A:S2-7.
- Owen MJ., Williams HJ, O'Donovan MC. (2009) Schizophrenia genetics: advancing on two fronts. *Curr Opin Genet Dev.* 19(3):266-70.
- Phillips ML., Kupfer DJ. (2013) Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. *Lancet.* 11;381(9878):1663-71.
- Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group. (2011) Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nat Genet.* 18;43(10):977-83.
- Quednow BB., Ettinger U, Mössner R, Rujescu D, Giegling I, Collier DA, Schmechtig A, Kühn KU, Möller HJ, Maier W, Wagner M, Kumari V. (2011) The schizophrenia risk allele C of the TCF4 rs9960767 polymorphism disrupts sensorimotor gating in schizophrenia spectrum and healthy volunteers. *J Neurosci.* 4;31(18):6684-91.
- Randazzo PA., Inoue H, Bharti S. (2007) Arf GAPs as regulators of the actin cytoskeleton. *Biol Cell.* 99(10):583-600.
- Réthelyi JM., Benkovits J, Bitter I. (2013) Genes and environments in schizophrenia: The different pieces of a manifold puzzle. *Neurosci Biobehav Rev.* 37:2424-37.

- Riley B., Thiselton D, Maher BS, Bigdeli T, Wormley B, McMichael GO, Fanous AH, Vladimirov V, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS. (2010) Replication of association between schizophrenia and ZNF804A in the Irish Case-Control Study of Schizophrenia sample. *Mol Psychiatry*. 15(1):29-37.
- Ripke S., Sanders AR, Kendler KS, Levinson DF, Sklar P, Holmans PA, Lin DY, Duan J, Ophoff RA, Andreassen OA, Scolnick E, Cichon S, St Clair D, Corvin A, Gurling H, Werge T, Rujescu D. et al. (2011) The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet*. 18;43(10):969-76.
- Ripke S., O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kähler AK, Akterin S, Bergen SE, Collins AL, Crowley JJ, Fromer M, Kim Y, Lee SH, Magnusson PK, Sanchez N, Stahl EA, Williams S, Wray NR, Xia K, Bettella F, Borglum AD, Bulik-Sullivan BK, Cormican P, Craddock N, de Leeuw C, Durmishi N, Gill M, Golimbet V, Hamsheer ML, Holmans P, Hougaard DM, Kendler KS, Lin K, Morris DW, Mors O, Mortensen PB, Neale BM, O'Neill FA, Owen MJ, Milovancevic MP, Posthuma D, Powell J, Richards AL, Riley BP, Ruderfer D, Rujescu D, Sigurdsson E, Silagadze T, Smit AB, Stefansson H, Steinberg S, Suvisaari J, Tosato S, Verhage M, Walters JT; Multicenter Genetic Studies of Schizophrenia Consortium, Levinson DF, Gejman PV, Kendler KS, Laurent C, Mowry BJ, O'Donovan MC, Owen MJ, Pulver AE, Riley BP, Schwab SG, Wildenauer DB, Dudbridge F, Holmans P, Shi J, Albus M, Alexander M, Campion D, Cohen D, Dikeos D, Duan J, Eichhammer P, Godard S, Hansen M, Lerer FB, Liang KY, Maier W, Mallet J, Nertney DA, Nestadt G, Norton N, O'Neill FA, Papadimitriou GN, Ribble R, Sanders AR, Silverman JM, Walsh D. et al. (2013) Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nat Genet*. 45(10):1150-9.
- 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, Kilic G, Kaya G, Kara I. (2004) Catechol-O-methyltransferase gene Val108/158Met polymorphism, and susceptibility to schizophrenia: association is more significant in women. *Brain Res Mol Brain Res*. 6;132(1):51-6.
- Sazci A., Ergül E, Güzelhan Y, Kaya G, Kara I. (2003) Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in patients with schizophrenia. *Brain Res Mol Brain Res*. 10;117(1):104-7.
- Sazci A., Ozel MD, Ergul E, Yildiz M. (2012) A polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method for screening ZNF804A gene polymorphism (rs1344706) in patients with schizophrenia: a significant association. *Genet Test Mol Biomarkers*. 16(3):157-61.
- Sazci A, Ozel MD, Ergul E, Onder ME. (2013) Association of nicotinamide-N-methyltransferase (NNMT) gene rs694539 variant with bipolar disorder. *Gene*. 15;532(2):272-5.
- Schanze D., Ekici AB, Gawlik M, Pfuhlmann B, Reis A, Stöber G. (2011) Evaluation of risk loci for schizophrenia derived from genome-wide association studies in a German population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 156(2):198-203.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014) Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*. 24;511(7510):421-7.
- Schwab SG., Kusumawardhani AA, Dai N, Qin W, Wildenauer MD, Agiananda F, Amir N, Antoni R, Arsianti T, Asmarahadi A, Diatri H, Djatmiko P, Irmansyah I, Khalimah S, Kusumadewi I, Kusumaningrum P, Lukman PR, Mustar L, Nasrun MW, Naswati S, Prasetiyawan P, Semen GM, Siste K, Tobing H, Widiastih N, Wiguna T, Wulandari WD; Indonesian Schizophrenia Genetics Consortium, Benyamin B, Wildenauer DB.

- (2013) Association of rs1344706 in the ZNF804A gene with schizophrenia in a case/control sample from Indonesia. *Schizophr Res.* 147(1):46-52. (B)
- Schwab SG., Wildenauer DB. (2013) Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: an update on schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 263 Suppl 2:S147-54. (A)
- Shi J., Levinson DF, Duan J, Sanders AR, Zheng Y, Pe'er I, Dudbridge F, Holmans PA, Whittemore AS, Mowry BJ, Olincy A, Amin F, Cloninger CR, Silverman JM, Buccola NG, Byerley WF, Black DW, Crowe RR, Oksenberg JR, Mirel DB, Kendler KS, Freedman R, Gejman PV. (2009) Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature.* 6;460(7256):753-7.
- Shifman S., Johannesson M, Bronstein M, Chen SX, Collier DA, Craddock NJ, Kendler KS, Li T, O'Donovan M, O'Neill FA, Owen MJ, Walsh D, Weinberger DR, Sun C, Flint J, Darvasi A. (2008) Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet.* 4(2):e28.
- Stefansson H., Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen OP, Mors O, Mortensen PB, Sigurdsson E, Gustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børglum AD, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Hougaard D, Norgaard-Pedersen B, Böttcher Y, Olesen J, Breuer R, Möller HJ, Giegling I, Rasmussen HB, Timm S, Mattheisen M, Bitter I, Réthelyi JM, Magnusdottir BB, Sigmundsson T, Olason P, Masson G, Gulcher JR, Haraldsson M, Fossdal R, Thorgeirsson TE, Thorsteinsdottir U, Ruggieri M, Tosato S, Franke B, Strengman E, Kiemenev LA; Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP), Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, de Frutos R, Bramon E, Vassos E, Fraser G, Ettinger U, Pichioni M, Walker N, Touloupoulou T, Need AC, Ge D, Yoon JL, Shianna KV, Freimer NB, Cantor RM, Murray R, Kong A, Golimbet V, Carracedo A, Arango C, Costas J, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen MM, Rietschel M, Matthews PM, Muglia P, Peltonen L, St Clair D, Goldstein DB, Stefansson K, Collier DA. (2009) Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature.* 6;460(7256):744-7.
- Steinberg S., de Jong S; Irish Schizophrenia Genomics Consortium, Andreassen OA, Werge T, Børglum AD, Mors O, Mortensen PB, Gustafsson O, Costas J, Pietiläinen OP, Demontis D, Papiol S, Huttenlocher J, Mattheisen M, Breuer R, Vassos E, Giegling I, Fraser G, Walker N, Tuulio-Henriksson A, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Agartz I, Melle I, Djurovic S, Strengman E; GROUP, Jürgens G, Glenthøj B, Terenius L, Hougaard DM, Ørntoft T, Wiuf C, Didriksen M, Hollegaard MV, Nordentoft M, van Winkel R, Kenis G, Abramova L, Kaleda V, Arrojo M, Sanjuán J, Arango C, Sperling S, Rossner M, Ribolsi M, Magni V, Siracusano A, Christiansen C, Kiemenev LA, Veldink J, van den Berg L, Ingason A, Muglia P, Murray R, Nöthen MM, Sigurdsson E, Petursson H, Thorsteinsdottir U, Kong A, Rubino IA, De Hert M, Réthelyi JM, Bitter I, Jönsson EG, Golimbet V, Carracedo A, Ehrenreich H, Craddock N, Owen MJ, O'Donovan MC; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Ruggieri M, Tosato S, Peltonen L, Ophoff RA, Collier DA, St Clair D, Rietschel M, Cichon S, Stefansson H, Rujescu D, Stefansson K. (2011) Common variants at VRK2 and TCF4 conferring risk of schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 15;20(20):4076-81.
- Sullivan PF., Lin D, Tzeng JY, van den Oord E, Perkins D, Stroup TS, Wagner M, Lee S, Wright FA, Zou F, Liu W, Downing AM, Lieberman J, Close SL. (2008) Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry.* 13(6):570-84.
- Sullivan P., 96 Psychiatric Genetics Investigators. (2012) Don't give up on GWAS. *Mol Psychiatry.* 17(1):2-3.
- Sullivan PF. (2010) The psychiatric GWAS consortium: big science comes to psychiatry. *Neuron.* 21;68(2):182-6.

- Suzuki K., Nakamura K, Iwata Y, Sekine Y, Kawai M, Sugihara G, Tsuchiya KJ, Suda S, Matsuzaki H, Takei N, Hashimoto K, Mori N. (2008) Decreased expression of reelin receptor VLDLR in peripheral lymphocytes of drug-naive schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 98(1-3):148-56.
- Tandon R., Keshavan MS, Nasrallah HA. (2008) Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. Part 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res.* 102(1-3):1-18. (B)
- Tandon R., Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, "Just the Facts": what we know in 2008 part1: overview. (2008). *Schizophrenia Res.* 100(1-3):4-19. (A)
- Tao R., Cousijn H, Jaffe AE, Burnet PW, Edwards F, Eastwood SL, Shin JH, Lane TA, Walker MA, Maher BJ, Weinberger DR, Harrison PJ, Hyde TM, Kleinman JE. (2014) Expression of ZNF804A in Human Brain and Alterations in Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depressive Disorder: A Novel Transcript Fetally Regulated by the Psychosis Risk Variant rs1344706. *JAMA Psychiatry.* 71(10):1112-20
- Tucker RP., Kenzelmann D, Trzebiatowska A, Chiquet-Ehrismann R. (2007) Teneurins: transmembrane proteins with fundamental roles in development. *Int J Biochem Cell Biol.* 39(2):292-7.
- Van Loo KM, Martens GJ. (2007) Genetic and environmental factors in complex neurodevelopmental disorders. *Curr Genomics.* 8(7):429-44.
- Van Os J., Kapur S. Schizophrenia. (2009) *Lancet.* 22;374(9690):635-45.
- Wassink TH., Piven J, Vieland VJ, Jenkins L, Frantz R, Bartlett CW, Goedken R, Childress D, Spence MA, Smith M, Sheffield VC. Evaluation of the chromosome 2q37.3 gene CENTG2 as an autism susceptibility gene. (2005) *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 5;136B(1):36-44.
- Wedenoja J., Loukola A, Tuulio-Henriksson A, Paunio T, Ekelund J, Silander K, Varilo T, Heikkilä K, Suvisaari J, Partonen T, Lönnqvist J, Peltonen L. (2008) Replication of linkage on chromosome 7q22 and association of the regional Reelin gene with working memory in schizophrenia families. *Mol Psychiatry.* 13(7):673-84.
- Williams HJ., Norton N, Dwyer S, Moskvina V, Nikolov I, Carroll L, Georgieva L, Williams NM, Morris DW, Quinn EM, Giegling I, Ikeda M, Wood J, Lencz T, Hultman C, Lichtenstein P, Thiselton D, Maher BS; Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration (MGS) International Schizophrenia Consortium (ISC), SGENE-plus, GROUP, Malhotra AK, Riley B, Kendler KS, Gill M, Sullivan P, Sklar P, Purcell S, Nimgaonkar VL, Kirov G, Holmans P, Corvin A, Rujescu D, Craddock N, Owen MJ, O'Donovan MC. (2011) Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 16(4):429-41.
- Wright C., Turner JA, Calhoun VD, Perrone-Bizzozero N. (2013) Potential Impact of miR-137 and Its Targets in Schizophrenia. *Front Genet.* 26;4:58.

[www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)

[www.genecards.org](http://www.genecards.org)

[www.genome.gov/gwastudies](http://www.genome.gov/gwastudies)

[www.ncbi.nlm.nih.gov/gene](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene)

[www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome)

[www.szgene.org](http://www.szgene.org)

- Yang XB., Kang C, Liu H, Yang J. (2013) Association study of the reelin (RELN) gene with Chinese Va schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 23(3):138.
- Zaharie A., Ergul E, Ozel MD, Miclutia IV, Stanculete MF, Sazci A. (2012) ZNF804A rs1344706 variant and schizophrenia in a Romanian population from Cluj Napoca. *Genet Test Mol Biomarkers.* 16(9):1135-7.
- Zhang F., Chen Q, Ye T, Lipska BK, Straub RE, Vakkalanka R, Rujescu D, St Clair D, Hyde TM, Bigelow L, Kleinman JE, Weinberger DR. (2011) Evidence of sex-modulated association of ZNF804A with schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 15;69(10):914-7. (B)
- Zhang R., Valenzuela RK, Lu S, Meng L, Guo T, Du X, Kang W, Ma J. (2011) Is the conserved mammalian region of ZNF804A locus associated with schizophrenia? A population-based genetics analysis. *Schizophr Res.* 133(1-3):159-64. (A)
- Zhang R., Yan JD, Valenzuela RK, Lu SM, Du XY, Zhong B, Ren J, Zhao SH, Gao CG, Wang L, Guo TW, Ma J. (2012) Further evidence for the association of genetic variants of ZNF804A with schizophrenia and a meta-analysis for genome-wide significance variant rs1344706. *Schizophr Res.* 141(1):40-7.

## ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Bursa'da doğdum. İlk ve ortaokulu Bursa Altıparmak Fethi Açıncı 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. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programını 2008 yılında tamamladım. Yüksek Lisans eğitimim süresince TÜBİTAK yurt içi yüksek lisans bursunu aldım. 2008 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nın açmış olduğu doktora programına başladım. 12/2005'ten beri Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.