

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

G PROTEİN SİNYAL DÜZENLEYİCİ 4 GENİNİN ŞİZOFRENİ İLE İLİŞKİSİ

EMRE GÜLSU

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR-2011

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2007970129

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

G PROTEİN SİNYAL DÜZENLEYİCİ 4 GENİNİN ŞİZOFRENİ İLE İLİŞKİSİ

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMRE GÜLSU

Yrd. Doç. Dr. ÇİĞDEM ERESEN YAZICIOĞLU

Bu araştırma, Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2009.KB.SAG.92 sayı ile desteklenmiştir.

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2007970129

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans programı öğrencisi Emre Gülsu '**RGS4 Geninin Şizofreni İle İlişkisi**' konulu Yüksek Lisans tezini 17.10.2011 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Çiğdem Eresen Yazıcıoğlu

ÜYE

Prof. Dr. Köksal Alptekin

ÜYE

Doç. Dr. Sefa Kızıldağ

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
KISALTMALAR.....	vii
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. ŞİZOFRENİ	5
2.1.1. Tarihçesi.....	5
2.1.2. Epidemiyolojisi	6
2.1.2.1. Risk Faktörleri.....	6
2.1.2.1.1. Hamilelik ve doğum.....	6
2.1.2.1.2. Cinsiyet ve yaş	6
2.1.2.1.3. Enfeksiyonlar ve bağışıklık sistemi.....	8
2.1.2.1.4. Otoimmün hastalıklar	8
2.1.2.1.5. Etnik köken.....	8
2.1.2.1.6. Kannabis ve madde kullanımı	8
2.1.2.1.7. Şehirleşme ve göç.....	8
2.1.2.1.8. Genetik geçiş	8
2.1.3. Tanı ve Değerlendirme.....	8
2.1.3.1. Pozitif ve Negatif Belirtiler	9
2.1.3.2. DSM-IV' e göre Şizofreni Tipleri.....	10
2.1.3.2.1. Paranoid tip	10
2.1.3.2.2. Dezorganize (Hebefrenik) tip.....	10
2.1.3.2.3. Katatonik tip	10
2.1.3.2.4. Ayrışmamış tip	10
2.1.3.2.5. Rezidüel (Kalıntı) tip	10
2.1.4. Etyolojisi	10
2.1.4.1. Nörokimyasal Hipotezler	10
2.1.4.1.1. Dopamin hipotezi	10

2.1.4.1.2. Serotonerjik hipotez	11
2.1.4.1.3. Noradrenerjik hipotez	11
2.1.4.1.4. Glutamaterjik hipotez	12
2.1.4.2. Nörogelişimsel Hipotez	12
2.1.4.3. Nörodejeneratif Hipotez	12
2.1.4.4. Viroimmünolojik Hipotez	12
2.1.4.5. Aminoasitler	13
2.1.5. Beyin Yapısındaki Değişiklikler	14
2.2. ŞİZOFRENİDE GENETİK.....	15
2.2.1. Aile Çalışmaları	16
2.2.2. İkiz Çalışmaları.....	16
2.2.3. Evlat Edinme Çalışmaları	16
2.2.4. Genetik Geçiş.....	17
2.2.5. Şizofrenide Genetik ve Çevre Etkileşimi.....	17
2.2.6. Şizofrenide Moleküler Genetik Çalışmalar	17
2.3. RGS AİLESİ	19
2.3.1. <i>RGS4</i> Geni.....	20
2.3.1.1. <i>RGS4</i> ve SNP Bölgeleri.....	21
2.3.1.2. <i>RGS4</i> ve Haplotip Çalışmaları	22
2.3.1.3. <i>RGS4</i> ve Splays Varyantları	22
2.3.1.4. <i>RGS4</i> ve Beyin Bölgelerindeki Değişiklikler.....	23
2.3.1.5. <i>RGS4</i> ile Etkileşim Halinde Olan Diğer Etmenler.....	24
2.4. DNA DİZİ ANALİZİ	25
2.4.1. Maxam-Gilbert kimyasal kırılma yöntemi.....	26
2.4.2. Sanger dideoksi zincir sonlanma yöntemi	28
2.4.3. Otomatik DNA dizi analizi yöntemi	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Araştırmanın Tipi	30
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	30
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları.....	30
3.4. Çalışma Materyali.....	31
3.5. Araştırmanın Değişkenleri	31
3.6. Veri Toplama Araçları.....	31
3.7. Araştırma Planı ve Takvimi.....	33
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi.....	35

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları	35
3.10. Etik Kurul Onayı	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
7. KAYNAKLAR	59
8. EKLER	64
EK 1. Şizofreni için DSM-IV-TR Tanı Ölçütleri	64
EK 2. Şizofreni için ICD-10 Tanı Ölçütleri	65
EK 3. Şizofrenide kullanılan DSM-IV-TR ile ICD-10 Tanı Ölçütleri Karşılaştırması. ..	66
EK 4. Şizofrenide Negatif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği (SANS)	67
EK 5. Şizofrenide Pozitif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği (SAPS)	68
EK 6: Pozitif ve Negatif Semptom Skalası (PANSS)	69
EK 7: Sağlıklı kontroller için bilgilendirilmiş onam formu	70
EK 8: Hasta için bilgilendirilmiş onam formu.....	73
EK 9. Etik Kurul onayı	76
EK 10. Özgeçmiş.....	78

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Şizofrenide iyi ve kötü sonlanım arasındaki farklar	7
Tablo 2. Şizofrenide pozitif ve negatif belirtiler.....	9
Tablo 3. Şizofren ve normallerin plazma aminoasit konsantrasyonları (mmol/l)	13
Tablo 4. Şizofrenlerin akrabalarında bu hastalığın görülme riski	15
Tablo 5. İnsan dokularında <i>RGS4</i> mRNA profili.....	23
Tablo 6. İnsan beyin bölgelerinde mRNA ekspresyonu	24
Tablo 7. Kimyasal kırılma yönteminde kullanılan kimyasallar	27
Tablo 8. Kimyasal kırılma yöntemiyle yapılan reaksiyonların elektroforez sonrası görüntüsü ve okuma sonucu; GGGCTG	27
Tablo 9. Araştırma planı.....	33
Tablo 10. Kontrol grubu ve hasta örnek numaraları.....	37
Tablo 11. PCR için kullanılan malzemeler ve miktarları	42
Tablo 12. SNP1 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi.....	48
Tablo 13. SNP4 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi.....	49
Tablo 14. SNP7 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi.....	49
Tablo 15. SNP18 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi.....	49
Tablo 16. SNP1 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri ..	51
Tablo 17. SNP4 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri ..	51
Tablo 18. SNP7 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri ..	52
Tablo 19. SNP18 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri ..	52
Tablo 20. Dört SNP için hasta ve kontrol örneklerinde allel frekansı ve genotip dağılımı ile Hardy-Winberg dengesinin gösterilmesi.....	53
Tablo 21. <i>RGS4</i> ' te dört SNP bölgesiyle şizofreni ilişkisinin hasta-kontrol çalışmaları	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Şizofreni başlama yaşının medeni duruma göre dağılımı	7
Şekil 2. Normal bireylerin (N) ve şizofreni hastalarının (S) beyin aktivitelerindeki azalmanın fMRG (fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme) ile gösterilmesi.....	14
Şekil 3. Normal ve şizofren bireylerde lateral ventriküllerin MRG ile görüntüsü	15
Şekil 4. <i>RGS4</i> geninin birinci kromozomdaki yeri	20
Şekil 5. <i>RGS4</i> geninde dört SNP bölgesinin yerleşimi	21
Şekil 6. DNA dizi analizi mekanizması	26
Şekil 7. a) dNTP ve b) ddNTP molekülleri	28
Şekil 8. DNA fragmentlerinin elektroforez sonrası görüntüsü.....	28
Şekil 9. DNA dizi analizi cihazından alınan sonuçlar	29
Şekil 10. Kontrol grubu DNA örnekleri 1	38
Şekil 11. Kontrol grubu DNA örnekleri 2	38
Şekil 12. Kontrol grubu DNA örnekleri 3	39
Şekil 13. Hasta grubu DNA örnekleri 1	39
Şekil 14. Hasta grubu DNA örnekleri 2	40
Şekil 15. Hasta grubu DNA örnekleri 3	40
Şekil 16. Hasta grubu DNA örnekleri 4	41
Şekil 17. A primeri kontrol grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 50 dakika).....	42
Şekil 18. A primeri kontrol grubu PCR sonuçları 2 (120 V, 25 dakika).....	43
Şekil 19. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 45 dakika).....	43
Şekil 20. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 2 (120 V, 30 dakika).....	44
Şekil 21. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 3 (120 V, 20 dakika).....	44
Şekil 22. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 4 (120 V, 30 dakika).....	45
Şekil 23. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 5 (120 V, 15 dakika).....	45
Şekil 24. B primeri kontrol grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 45 dakika).....	45
Şekil 25. B primeri kontrol grubu PCR sonuçları 2 (120 V, 50 dakika).....	46
Şekil 26. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 40 dakika).....	46
Şekil 27. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 2 (130 V, 30 dakika).....	47
Şekil 28. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 3 (120 V, 30 dakika).....	47
Şekil 29. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 4 (130 V, 15 dakika).....	48

Şekil 30.	SNP1 için dört numaralı hasta örneğinin forward iplik sekans görüntüsü...	49
Şekil 31.	SNP4 için üç numaralı hasta örneğinin reverse iplik sekans görüntüsü	50
Şekil 32.	SNP7 için 15 numaralı hasta örneğinin reverse iplik sekans görüntüsü	50
Şekil 33.	SNP18 için 11 numaralı hasta örneğinin forward iplik sekans görüntüsü...	50

KISALTMALAR

aa: amino asit

APA: Amerikan Psikiyatri Birliği

BA10: Brodmann area 10

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

BT: Bilgisayarlı Tomografi

COMT: Katekol-O-metil transferaz

D₂: Dopamin tip 2 reseptörü

D₃: Dopamin reseptörleri 3

D₄: Dopamin reseptörleri 4

DBH: Dopamin Beta Hidroksilaz

DLPFC: Dorsolateral prefrontal cortex

DNA: Deoksiribonükleik asit

DSM: Zihinsel Bozukluklara ilişkin tanı ve el kitabı

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

dNTP: deoksiribonükleozit trifosfat

ddNTP: dideoksiribonükleozit trifosfat

DRD1: Dopamin reseptörü D1

DRD2: Dopamin reseptörü D2

DRD3: Dopamin reseptörü D3

DRD4: Dopamin reseptörü D4

DRD5: Dopamin reseptörü D5

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

EKT: Elektrokompulsif terapi

ErbB3: v-erb-b2 Eritroblastik lösemi viralonkojen homolog 3

fMRG: fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme

FDR: False discovery rate

G α : G proteini alfa

GAPs: GTPaz aktive edici proteinler

GDP: Guanozin di fosfat

GPCR: G-protein couple reseptör
GTP: Guanozin tri fosfat
GTPaz: Guanozin tri fosfataz
GRM1: Glutamat reseptör metobotropik 1
GRM5: Glutamat reseptör metobotropik 5
5-HIAA: 5-indoksi indol asetik asit
HLA: İnsan Doku Uygunluk Antijeni
5HT₂: 5-Hidroksitriptamin 2
5-HT_{2A}: 5-hidroksitriptamin reseptör 2A
HVA: Homovanilik asit
ICD: Uluslararası hastalık sınıflaması ve ilişkili sağlık sorunları
IFNG: interferon gama
IL-1B: interlökin 1 beta
IL-1RN: interlökin 1 reseptör antagonisti
IL-2: interlökin 2
IL-6: interlökin 6
IL-8: interlökün 8
IL-10: interlökin 10
MAO-B: Monoaminoksidaz B
MAPK: Mitojen aktive edilmiş protein kinaz
mGluR1a: metabotropik glutamat reseptör 1
MRG: Manyetik rezonans görüntüleme
mRNA: mesajcı ribonükleik asit
NMDA: N metil D aspartat
NRG1: Nöroglin 1
OH: Hidroksil
PANSS: Pozitif ve Negatif Sendrom Skalası
PCP: Feksiklidin
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PFC: Prefrontal korteks
RGS: G- protein sinyal düzenleyici
RGS4: G- protein sinyal düzenleyici 4

SANS: Negatif belirtiler değerlendirme ölçeği

SAPS: Pozitif belirtiler değerlendirme ölçeği

SPECT: Single photon emission computed tomography

TE: Tris-EDTA

TH: Tirozin hidroksilaz

tRNA: transfer ribonükleik asit

RGS4 GENİNİN ŞİZOFRENİ İLE İLİŞKİSİ

Emre Gülsu

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Tıp Bilimleri
Binası, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Kat 3, 35340, Inciraltı, Balçova, İZMİR

ÖZET

Amaç ve hipotez: *RGS4* geni, yapılan çeşitli ilişkilendirme ve linkaj analizi çalışmaları sonucunda, şizofreniyle ilişkisi olabileceği düşünülen genlerden birisidir. Bu çalışmanın amacı, *RGS4* geninin SNP' lerinden dört tanesinin [SNP1(rs10917670), SNP4(rs951436), SNP7(rs951439), SNP18(rs2661319)] genotiplerinin belirlenmesi ve saptanan genotiplerin şizofreni hastalığı ile ilişkisinin incelenmesidir.

Yöntem: Çalışmaya katılan bireylerden alınan iki cc periferik kandan izole edilen DNA örnekleri, spesifik primerler kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünleri DNA dizi analizine gönderildi. Analiz sonuçları klinik bulgularla beraber değerlendirildi.

Bulgular: 52 kontrol ve 100 hasta ile çalışıldı. Genotipler için yapılan χ^2 testi sonucunda p değerleri SNP1' de 0.12, SNP4' te 0.73, SNP7' de 0.10, SNP18' de 0.14 bulunmuştur ($p>0.05$). Alleller için p değerleri; SNP1 için 0.057, SNP4 için 0.56, SNP7 için 0.06, SNP18 için 0.066 olarak hesaplanmıştır ($p>0.05$).

Sonuç: Çalışmamızda, polimorfik bölgelerdeki değişik allel ve genotiplerin şizofreni varlığıyla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar Sözcükler: Şizofreni, *RGS4*, SNP, aday gen, genotip

Relation of *RGS4* Gene with Schizophrenia

Emre Gulsu

Institute of Medical Sciences of Dokuz Eylul University, Medical Biology and
Genetics ABD

Medical Faculty of Dokuz Eylul University, Institute of Medical Sciences, Building of
Basic Medical Sciences, Medical Biology and Genetics ABD, Floor 3, 35340, Inciralti,
Balcova, IZMIR

ABSTRACT

Objective and Hypothesis: *RGS4* gene is one of schizophrenia candidate genes, which are figured to be related with schizophrenia after various association and linkage studies. The aim of this study is to genotype four of SNPs of *RGS4* gene [SNP1(rs10917670), SNP4(rs951436), SNP7(rs951439), SNP18(rs2661319)] and to investigate the association of these determined genotypes with schizophrenia.

Methodology: DNA samples, that had been extracted from two cc peripheral blood samples, were amplified via PCR by using specific primers. PCR products were shipped for sequence analysis. Outputs of the analysis were evaluated together with clinical symptoms.

Findings: 100 patients and 52 control subjects were studied. As a result of χ^2 test for genotypes, p values are obtained as 0.12 for SNP1, 0.73 for SNP4, 0.10 for SNP7, and 0.14 for SNP18 ($p>0.05$). P valeus for alleles were calculated as 0.057 for SNP1, 0.56 for SNP4, 0.06 for SNP7, and 0.066 for SNP18 ($p>0.05$).

Results: In our study, it is indicated that there is no statistically significant association between four SNPs and schizophrenia.

Keywords: Schizophrenia, *RGS4*, SNP, candidate gene, genotype

1. GİRİŞ VE AMAC

Şizofreni, dünya nüfusunun yaklaşık %1' ini etkileyen, hastaların ve hasta yakınlarının yaşam kalitesini azaltan, bilişsel işlev bozukluğu oluşturan psikiyatrik bir hastalıktır (1,2).

Şizofreni hastalarının %10-20' sinde tamamen düzelme meydana gelirken, %30 hastada kısmi düzelme olmaktadır (2). Sıklıkla geç ergenlik veya erken erişkinlik dönemlerinde başlayabildiği gibi 40' ılı yaşlardan sonra da ortaya çıkabilmektedir (1).

Şizofreninin genetik ve biyolojik temelleri olan bir beyin hastalığı olduğu kabul edilmektedir. Yapılan aile çalışmaları hasta yakınlarında şizofreni görülme riskinin kontrollerin akrabalarına oranla yaklaşık 10 kat fazla olduğunu göstermiştir (3). İkiz çalışmalarıyla şizofreniye yatkınlığın kalıtsallığının yaklaşık %80 olduğu hesaplanmıştır (4).

Son yıllarda artan ilişkilendirme ve linkaj çalışmalarıyla birçok şizofreniye yatkınlık geni adayı ortaya konmuştur (5,6). Glutamat reseptörlerini kodlayan *RGS4* (Regulator of G-protein signaling 4; G proteini sinyalizasyonu düzenleyici 4) bu genlerden sadece biridir (7). 1q21.1-22' de yerleşim gösteren *RGS4*, 23.3 kDa (kilodalton) lık, 205 aa (aminoasit) dan oluşan bir proteindir (8). Sitoplazma, plazma membranı ve çekirdekte bulunan *RGS4*, kalmodulin bağlama, sinyal iletim aktivitesi gibi görevlerinin yanında MAPK (mitogen-activated protein kinase; mitojen aktifleşmiş protein kinaz) aktivitesinin inaktivasyonunu ve *GRM1* (Glutamat reseptör metabotropic 1; metabotropik glutamat reseptörü 1) ve *GRM5* (Glutamat reseptör metabotropic 5; metabotropik glutamat reseptörü 5) aracılığıyla sinyal iletiminin negatif regülasyonunu sağlar (7,8).

Literatürde şizofreniye yatkınlık genleri bulmaya ve varolan aday genleri araştırmaya yönelik pek çok çalışma bulunmaktadır (6). *RGS4* de şizofreniye neden olabilecek aday genlerden biridir (7). Bu gen üzerinde yapılan çalışmalarda birbirinden değişik sonuçlar elde edilmiştir. Bir popülasyonda şizofreniye neden olan aday bir gen olarak gösterilirken (9) diğer bir popülasyon için aynı sonuç elde edilememiştir (10). Bundaki en önemli etkenlerden biri toplumların farklı etnik kökenlerden gelen bireylerden oluşmasının yanında şizofreni gibi kompleks kalıtım

gösteren hastalıkların genetik temellerine dair yapılan çalışmalarda tek yönlü yaklaşımların yetersiz olmasıdır.

Çalışmamızda, aynı bireylerden elde edilen klinik ve genetik verilerin bir arada değerlendirilmesi ile hem *RGS4* genine ilişkin veriler genişletilebilecek hem de bilişsel süreçlerdeki görevleri hakkında yorumlar yapılmasını sağlayacak sonuçlar elde edilecektir. Ayrıca *RGS4* genotiplerinin şizofreniye aday diğer genlerle ilişkisi olup olmadığına bakılabilecek ve böylece hastalığa yönelik tedavi yöntemleri çok daha etkin olarak belirlenebilecektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. ŞİZOFRENİ

Şizofreni, insanın gerçek dünyadan uzaklaşarak kendine özgü bir dünya yarattığı; duygu, düşünce ve davranışlarda önemli değişikliklerin görüldüğü ağır bir ruhsal bozukluktur (11).

Organik ve psikososyal kökenli bir beyin hastalığı olduğu düşünülen şizofreni hastalığının toplumda görülme sıklığı %1' dir (11). Ülkemizde 700.000 şizofreni hastası olduğu öngörülmektedir (12). Sıklıkla genç yaşta başlar¹. 40' lı yaşlardan sonra da ortaya çıkabilmektedir. Hasta yavaş yavaş içine kapanıp kendine özgü bir dünyanın içine girer. Bazı hastalarda başlangıcı sinsidir ve yavaş bir ilerleyiş gösterir (1).

Şizofreni hastalarının %10-20' sinde tamamen düzelme meydana gelirken, %30 hastada kısmi düzelme meydana gelmektedir. Hastaların en az yarısında da belirtiler düzelmekte veya kötüleşme meydana gelmektedir (2). Çoğu hasta ve yakını ömür boyu bu hastalıkla mücadele etmek zorunda kalmaktadır. Hastalığın sosyal ve ekonomik etkisi çok büyüktür (13).

2.1.1. Tarihçesi

Şizofreni hastalığının bilimsel açıdan incelenmesi 19. yüzyılın sonlarına doğru olmuştur. Morel 1860 yılında, "erken bunama"² terimini kullanmıştır. Hecker' in hebefreniyi 1871' de kullanımından sonra, Kahlbaum da 1874 yılında katatoniye tanımlamıştır. 1896' da Emil Kraepelin bu iki hastalık tipine ek olarak paranoid ve basit tiplerini de eklemiş ve hepsini "erken bunama" tanısı altında toplamıştır. Kraepelin şizofreniyi ilk kez bir kavram olarak değerlendirmiştir (14,15). 1911' de, Eugen Bleuler bu kavramı yeniden ele alarak, hastalıkta kişinin ruhsal durumundaki bozulmanın önemini vurgulayarak hastalığı "şizofreni"³ olarak adlandırmıştır (16). Daha sonraları şizofreniyle ilgili olarak birçok araştırmacı yeni tanımlamalar getirmiştir (17).

¹ 16-35 yaş arası

² Dementia praecox

³ Yunanca "zihin bölünmesi, yarılmaması" anlamına gelir.

Günümüzde şizofreni tek bir hastalık olarak değil, birçok faktörün etki ettiği, farklı alt tipleri olan, gidiş ve sonlanımı değişkenlik gösteren, tedavi edilebilen bir hastalık olarak kabul edilmektedir (15).

2.1.2. Epidemiyolojisi

%1-1.5 olan şizofreninin yaşam boyu yaygınlığı⁴ toplumdan topluma farklılık göstermektedir (11,18). Sıklığı⁵ ise DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) verilerine göre binde 0.85' tir (14,16). Şizofreniye en sık Kanada' da (%11), en az Gana' da (%0.6) rastlanmıştır (19).

2.1.2.1. Risk Faktörleri

2.1.2.1.1. Hamilelik ve doğum: Kış ve ilkbahar aylarında doğanların şizofreniye yakalanma riskinin yaz aylarında doğanlara göre %5-8 oranında daha fazla olduğu tespit edilmiştir (20). Erken doğumda ve 2.500 g' den daha düşük ağırlıktaki doğumlarda şizofreni riski artmaktadır. Hamilelerin diyabete sahip olması şizofreni riskini arttıran diğer bir faktördür. Bunların yanında hamilelikteki hipertansiyon, preeklampsi⁶, yetersiz beslenme, stres, alkol ve sigara kullanımı şizofreniye yakalanma riskini %1.36-2.00 oranında arttıran önemli etkenlerdendir (15).

2.1.2.1.2. Cinsiyet ve yaş: Kadın ve erkekte aynı oranda görülmekle beraber hastalığın başlaması ve gidişinde farklılıklar gözlenmektedir. Hastalığın ortalama başlama yaşı 15-40 yaş olmakla birlikte en büyük risk altındakiler 15-25 yaş grubunda bulunanlardır. Erkeklerde başlama yaşı 15-25, kadınlarda 25-35 dolayındadır (11). Şizofreni çok değişik gidiş ve sonlanım gösteren süregelen bir hastalıktır (Tablo 1). Hastalığın ilk iki yıl içerisinde tekrar ortaya çıkma olasılığı %60 civarındadır. Kadınlarda hastalığın gidişi erkeklere göre daha iyi biçimde seyreder (16). Kadın hastaların %30' u evlilerden oluşurken erkek hastaların %10' u evli, %90 ı bekarıdır (30). Bekar kadınlarda başlangıç 31 iken erkeklerde 29' dur. Evli hastalarda ise oran çok düşmektedir (Şekil 1).

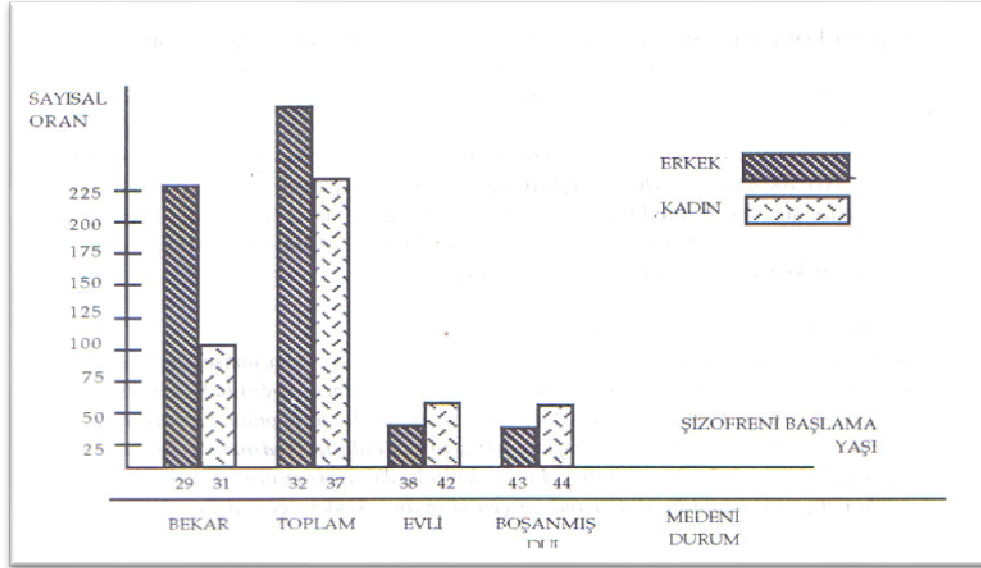
⁴ Prevalans: Belirli bir anda veya zaman süresinde eski ve yeni olgu sayısı

⁵ İnsidans: belirli bir dönemde ortaya çıkan yeni olgular

⁶ Gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan idrarda protein atımıyla görülen hipertansiyon

Tablo 1. Şizofrenide iyi ve kötü sonlanım arasındaki farklar⁷

İyi Sonlanım	Kötü Sonlanım
Geç başlangıç	Erken başlangıç
Tetikleyici etkenlerin varlığı	Tetikleyici etken yokluğu
Hastalık öncesi uyumun iyi oluşu	Hastalık öncesi uyumun kötü oluşu
Akut başlangıç	Sinsi başlangıç
Evli olmak	Boşanmış, bekar ya da dul olmak
Ailede duygudurum bozukluk öyküsü	Ailede şizofreni öyküsü
Sosyal destek sistemlerinin iyi oluşu	Destek sistemlerinin iyi olmaması
Pozitif belirtiler	Negatif belirtiler
	Nörolojik belirti ve bulgular
	Üç yıl içinde düzelme olmaması
	Çok sık tekrarlama
	Saldırganlık öyküsü



Şekil 1. Şizofreni başlama yaşının medeni duruma göre dağılımı⁸

⁷ <http://www.steteskop.net/News-file-article-sid-150.html>

⁸ Ceylan ME. Araştırma ve klinik uygulamada biyolojik psikiyatri. Birinci baskı, Birinci Cilt, İstanbul, 1993, s 14.

2.1.2.1.3. Enfeksiyonlar ve bağışıklık sistemi: Hamileliğin ilk aylarında geçirilen grip, şizofreni riskini üç kat arttırmaktadır (15). Hamilelerin rubella, herpes simpleks gibi viral enfeksiyonlara maruz kalması, çocuklarında şizofreni olma olasılığını arttırmaktadır (11,20). Ayrıca hamile bayanlarda Toxoplasma gondii parazitinin fetüse etki ederek şizofrenide önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (21). Çocuklarında şizofreni ortaya çıkan hamile bayanların TNF- α (Tümör Nekroz Faktör alfa) ve IL-8 (İnterlökin sekiz) kan seviyelerinde artış saptanmıştır (15).

2.1.2.1.4. Otoimmün hastalıklar: Ebeveynleri ya da kendileri tip I diyabet, tiroit ve çölyak hastalığına sahip kişilerin şizofreniye yakalanma olasılıkları yüksek bulunmuştur (15).

2.1.2.1.5. Etnik köken: Afrika-Karayip kökenlilerin şizofreniye yakalanma riski diğer etnik gruplara göre daha yüksek bulunmuştur (15,22).

2.1.2.1.6. Kannabis ve madde kullanımı: Kannabis, PCP (fensiklidin), metamfetamin gibi bağımlılık yaratan uyuşturucu maddelerini ve ilaçları kullananların şizofren olma olasılıkları oldukça yüksek bulunmuştur (15,23).

2.1.2.1.7. Şehirleşme ve göç: Şizofreni sıklığı şehirlerde ve endüstriyel bölgelerde köylere göre daha yüksektir. Ayrıca göç eden insanların şizofreniye yakalanma sıklığı daha fazla bulunmuştur (18,19).

2.1.2.1.8. Genetik geçiş: Yapılan aile çalışmaları hasta yakınlarında şizofreni görülme riskinin kontrollerin akrabalarına oranla yaklaşık 10 kat fazla olduğunu göstermiştir (3,4). Son yapılan çalışmalarda genetik geçişin %80 olduğu hesaplanmıştır (24,25).

2.1.3. Tanı ve Değerlendirme

Tıp tarihi boyunca mental bozuklukların sınıflandırılmasına çalışılmıştır. Bu çaba “mani” ve “histeri” terimlerini kullanan Hipokrat’ a kadar uzanır. Şizofreni için onaylanmış bir tanı koydurucu belirti, test veya görüntüleme yöntemi yoktur. Tanı, psikiyatri hekimi tarafından DSM (The Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorder; Zihinsel Bozukluklara İlişkin Tanı ve İstatistik El Kitabı) ve ICD (International Statistical Classification of Disease and Related Health Problems; Uluslararası Hastalık Sınıflaması ve İlişkili Sağlık Sorunları) tanı ölçütlerine göre

koyulmaktadır. Bu tanı sistemlerinin günümüzdeki versiyonları DSM-IV-TR⁹ (Bkz. EK 1) ve ICD-10¹⁰ (Bkz. EK 2) dur (26,27). APA (American Psychiatry Association; Amerikan Psikiyatri Birliği) ve DSÖ' nün ortak çalışmalarıyla bu iki sınıflandırma sistemi arasındaki farkların en aza indirilmesine çalışılmıştır (Bkz. EK 3).

2.1.3.1. Pozitif ve Negatif Belirtiler

Şizofreninin belirtileri pozitif ve negatif belirtiler olarak iki grupta değerlendirilir (Tablo 2). Pozitif ve negatif belirtilerin değerlendirilmesinde SANS¹¹ (Scale for the Assessment of Negative Symptoms; Negatif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği) ve SAPS¹² (Scale for the Assessment of Positive Symptoms; Pozitif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği) tanılama ölçütleri kullanılmaktadır (15,28).

Tablo 2. Şizofrenide pozitif ve negatif belirtiler¹³

Pozitif Belirtiler	Negatif Belirtiler
Sanrılar	Duygulara körelme
Varsanılar	Duygusal geri çekilme
Şüphencilik	Fakir ilişki
Olağandışı dağınıklık	Pasif, sosyal geri çekilme
Aşırı coşku, heyecan ya da durgunluk	Soyut düşüncede güçlük
Herkesi düşmanca yaklaşım	Konuşma akıcılığının kaybı
Kendini büyük görme	Yineleyen düşünce
Çocuksu davranışlar	Hareketlerde azalma

⁹ APA tarafından geliştirilmiş olan sınıflandırma sistemi ilk kez 1952 yılında yayımlandıktan sonra son gözden geçirilmiş baskısı 2007 yılında yayımlanmıştır (Zihinsel Bozukluklara İlişkin Tanı ve İstatistik El Kitabı dördüncü gözden geçirilmiş baskı).

¹⁰ DSÖ tarafından geliştirilmiş olup Avrupa'da kullanılan resmi sınıflandırma sistemidir (Uluslararası Hastalık Sınıflaması ve İlişkili Sağlık Sorunları 10'uncu gözden geçirilmiş baskı).

¹¹ Bkz. EK 4

¹² Bkz. EK 5

¹³ Simon H. Schizophrenia. Review. 2009.

Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO. Textbook of schizophrenia. First Edition. United States of America, American Psychiatric Publishing, 2006.

2.1.3.2. DSM-IV' e göre Şizofreni Tipleri

2.1.3.2.1. Paranoid tip: Bu hastalığa sahip kişilerin sanrılar dışında garip belirtileri olmadığından normal insanlardan ayırt edilmeleri zordur. Başlangıç yaşı 30' lu yaşlardır. Düşünce içeriğinde bozukluğun fazla olduğu bu tipte garip konuşma ve davranışlar gözlenmez. Yıkım belirtileri daha azdır. Diğer tiplere göre sonlanım daha iyidir (16).

2.1.3.2.2. Dezorganize (Hebefrenik) tip: Bilgileri toparlayamama, çağrışımlarda dağınıklık, ağır düşünce bozuklukları, gerçeği değerlendirmede yoksunluk, kendine bakımda özensizlik, uygunsuz duygulanım sık görülür. Benlik yıkımı hızlıdır (16).

2.1.3.2.3. Katatonik tip: Kişi belli bir durumda uzun süre kıpırdamadan kalır. Dışarıdan yapılan ilişki kurma girişimlerine karşı tepkisiz gibidir. Hasta çevrede olup bitenleri bildiği halde tepki vermez (16).

2.1.3.2.4. Ayırışmamış tip: Diğer hiçbir alt tipe girmeyen; ancak şizofreni tanısı alan hastaların oluşturduğu gruptur (16).

2.1.3.2.5. Rezidüel (Kalıntı) tip: Akut şizofrenik belirtiler kalmamıştır. Hastaların geçmişlerinde en az bir atak vardır. Negatif belirtiler ön plandadır. Duygu yoksunluğu ile birlikte hafiflemiş şizofreni belirtileri görülmeye devam eder (16).

2.1.4. Etiyolojisi

Şizofreninin belirtileri ve sonlanım biçimlerindeki çeşitlilikten dolayı, tek bir oluşumunun şizofreniyi ortaya çıkardığını söyleyebilmek olası değildir. Bu konuda çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır (29).

2.1.4.1. Nörokimyasal Hipotezler

2.1.4.1.1. Dopamin hipotezi: Postsinaptik dopamin reseptörlerine bağlanan dopamin, tirozinden noradrenalin sentezi sırasında oluşur. DRD1 (dopamin reseptörü D1), DRD2 (dopamin reseptörü D2), DRD3 (dopamin reseptörü D3), DRD4 (dopamin reseptörü D4) ve DRD5 (dopamin reseptörü D5) olmak üzere beş farklı dopamin reseptör geni vardır (28). Bu hipotez, şizofrenide dopaminergic hiperaktivasyon bulunduğunu, bunun ortadan kaldırılması için de postsinaptik dopamin reseptörlerinin bloke edilmesi gerektiğini öngörmektedir (30).

Kimi şizofreniklerde mezolimbik, mezokortikal ya da nigrositriatal dopaminerjik nöronlarda artma söz konusudur (16). Nöroleptikler DRD2' yi bloke ederek dopaminin artmasını önlerler (22). Amfetamin ve PCP gibi maddelerin uzun süre kullanılması sonucu paranoid türde bir psikoz gelişebilir (31).

BOS (Beyin Omurilik Sıvısı) HVA (Homovanilik asit) değerinin şizofrenlerdeki düşüklüğü ile kortikal atrofi ve ventriküler genişleme arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (19,32).

2.1.4.1.2. Serotonerjik hipotez: Serotonin, beyin ve vücutta haberleşmeyi sağlayan bir grup nörotransmitterden biridir. Bu kimyasal mesajcı, bir sinir hücresinden diğer bir sinir hücresine sinapslardan aktarılır. Aktarıldığı nöronda kendine özgü serotonin reseptörlerine tutunur. Şizofren hastalarında bu mekanizmanın işleyişinde ve reseptörlerde sorun vardır. Kimi hastalarda serotonin düzeylerinde azalma görülürken, kimilerinde artma saptanmıştır (14). Serotonin tip2 reseptörlerinin bloke edilmesi, psikotik belirtilerde azalmaya yol açmıştır. Aynı zamanda D₂ (dopamin tip 2 reseptörleri) baskılanmasına bağlı hareket bozukluklarının azaltılmasında önemli rol oynadıkları ileri sürülmüştür (33).

Yapılan bazı çalışmalarda şizofreni hastalarının 5-HIAA (5-indoksi indol asetik asit) değerleri normal bireylere göre farklı bulunmuştur. Kronik şizofrenlerin 5-HIAA değerleri akut ve paranoid hastaların 5-HIAA değerlerine göre daha yüksektir (19).

2.1.4.1.3. Noradrenerjik hipotez: BOS' la ilgili yapılan çalışmalarda şizofreni hastalarının noradrenalin düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (14).

Şizofrenlerde plazma noradrenalin düzeyleri yüksek bulunmuştur. Kadın hastaların plazma noradrenalin değerlerinin erkeklere göre daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur (14). İdrarda yapılan tayinlerde de paranoid şizofren hastaların, kontrollere göre daha yüksek noradrenalin düzeyine sahip oldukları görülmüştür. Ölüm sonrası incelenen limbik yapılar üzerindeki belli bölgelerde noradrenerjik artışlar gözlenmiştir (19).

Şizofreni hastalarında, putamen ve nükleus kaudatusta noradrenerjik aktivite ve TH (Tirozin hidroksilaz) aktivitesinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bütün şizofreni hastalarının pons bölgesinde artmış MAO-B (Monoamin oksidaz B) aktivitesine rastlanılmıştır (34). Dopaminin noradrenaline dönüşümünü sağlayan DBH

(Dopamin Beta Hidroksilaz) enziminin şizofreni hastalarının plazmasında hem arttığı hem de azaldığı saptanmıştır (19).

2.1.4.1.4. Glutamaterjik hipotez: Ketamin ve PCP gibi NMDA (N metil D aspartat) glutamat reseptörü agonistleri şizofreni benzeri psikoz oluşturabilirler (30,35). NMDA reseptörünün modulatorü olan D-serin, glisin ve sarkosin kullanımının negatif semptomlardaki terapötik etkisi glutamat hipotezini desteklemektedir. Ölüm sonrası araştırmalarda şizofrenide prefrontal korteks ve hipokampüsteki NMDA reseptörlerinde glutamaterjik etkinlikte bir eksiklik olduğu bildirilmiştir (30,36).

2.1.4.2. Nörogelişimsel Hipotez

Bu hipoteze göre gelişimin erken evrelerinde yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Nörogelişimsel değişiklikler, nöronal öncüller, glia proliferasyon ve migrasyonunda, aksonal ve dendritik proliferasyonda, aksonların miyelinlenmesinde, apoptozda ve sinaptik budanmada ortaya çıkmaktadır (37). Neonatal dönemde ventral hippocampus lezyonu oluşturulan farelerde prefrontal korteksin gelişiminde ve plastisitesinde değişiklikler oluşması, farelerin şizofrenide görülen davranışsal ve hücresele birçok farklılığı sergilemesine neden olmaktadır (38).

2.1.4.3. Nörodejeneratif Hipotez

Hastalığın gelişimsel dönemde değil nöronal dejenerasyon sonrasında ortaya çıktığı savunulmaktadır. Hastalığın seyri sırasında nöron fonksiyonlarında progresif kayba yol açan, bir nörodejeneratif sürecin devam ettiği ileri sürülmektedir. Genç erişkin dönemde klinik belirtiler başlayıncaya kadar birçok olguda ya beyin gelişiminin normal olduğu ya da sonradan gelişen metabolik, enfeksiyöz veya dejeneratif hastalıklar nedeniyle hasara uğrayan beynin bozuk işlevleri sonucu şizofreni ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (39).

2.1.4.4. Viroimmünolojik Hipotez

Epidemiyolojik veriler grip ile şizofreni arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Hamilelik sırasında bir enfeksiyona maruz kalan kadınların çocuklarında şizofreni gelişebileceği görülmüştür. Ayrıca Toxoplasma gondii parazitiyle enfekte olmuş hamile bayanların çocuklarında şizofreni benzeri psikozlar gözlenmiştir (21).

Şizofreni hastalarında IL-2 (interlökin 2) ve IFNG (interferon gama) ürünlerindeki azalmaya bağlı olarak tip bir immün yanıt yetersizliği gözlenirken, IL-6 (İnterlökin 6), IL-10 (interlökin 10) ve c seviyelerindeki artmaya bağlı tip iki immün yanıtında artış vardır. IL-1B (interlökin 1 beta) ve IL-1RN (interlökin 1 reseptör antagonisti) gibi sitokin genlerinde meydana gelen polimorfizm ile şizofreni hastalarındaki ventrikül genişlemesi arasında önemli bir ilişki saptanmıştır (29).

2.1.4.5. Aminoasitler

Aminoasitler doğrudan ya da dolaylı yoldan şizofreni hastalığında rol alırlar. Fenilketonüri hastalığında yüksek fenilalanin seviyeleri doğrudan psikotik bir tablo oluştururken, dopamin öncülü tirozin ise hiperdopaminasyona neden olarak dolaylı yoldan şizofrenide rol alır (14). Ayrıca şizofreni hastalarında glisin, serin aminoasitlerine ek olarak tablo üçte görüldüğü gibi bazı aminoasitlerin konsantrasyonlarında artış görülmüştür (19).

Tablo 3. Şizofren ve normallerin plazma aminoasit konsantrasyonları (mmol/l)¹⁴

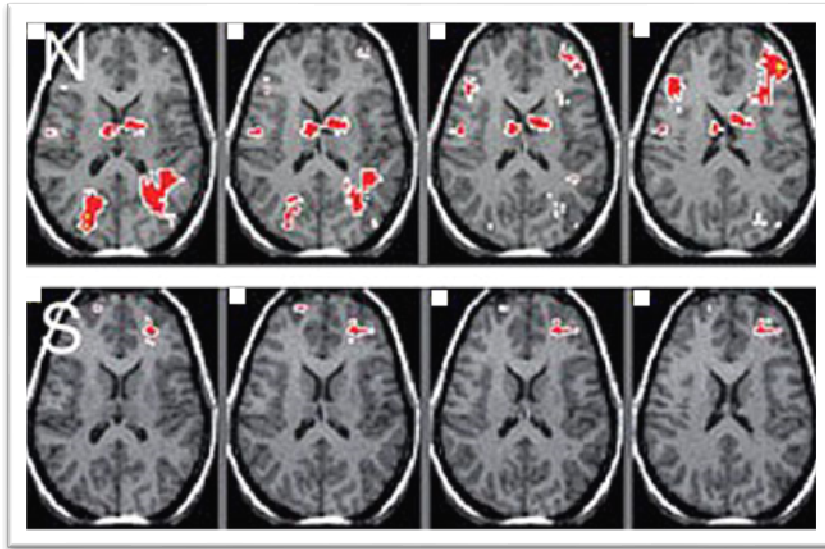
	Şizofren			Normal	
Aminoasit	Erkek	Kadın		Erkek	Kadın
Alanin	392	355		320	346
Valin	273	232		257	210
İzolösin	77	64		68	53
Lösin	171	141		159	120
Fenilalanin	64	57		60	52
Lizin	206	186		189	161

¹⁴Ceylan ME. Araştırma ve klinik uygulamada biyolojik psikiyatri. Birinci baskı, Birinci Cilt, İstanbul, 1993, s 190.

2.1.5. Beyin Yapısındaki Değişiklikler

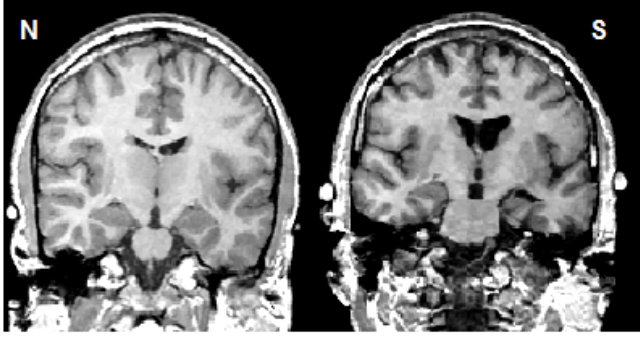
Şizofreninin organik ve psikososyal etkenlere dayalı bir beyin hastalığı olduğunun dile getirilmesiyle birlikte son yıllarda geliştirilen BT (bilgisayarlı tomografi), MRG (manyetik rezonans görüntüleme), SPECT (single photon emission computed tomography; tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi) gibi beyin görüntüleme yöntemleriyle hastaların beyinlerindeki değişiklikler tespit edilmeye başlanmıştır (40,41).

Şizofreni hastalarında beyin aktivitelerinde azalma (Şekil 2), tüm beyin hacminde azalma, kortekste azalma, hipokampüste değişiklik (azalma), amigdala ve parahipokampal girusta azalma, lateral ventrikül genişlemesi (Şekil 3), prefrontal bölgede değişiklik (daha küçük sağ ve sol prefrontal hacim), daha geniş sol kaudat hacim, anormal temporal lob asimetrisi görülmektedir (20,42). Şizofrenlerde talamus, singulat girus ve bazal ganglia hacimlerinde azalma saptanmıştır (43,44). Ayrıca şizofrenlerde beyaz ve gri maddenin azaldığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (40,41). Az da olsa bunun tersini gösteren çalışmalar da mevcuttur (20).



Şekil 2. Normal bireylerin (N) ve şizofreni hastalarının (S) beyin aktivitelerindeki azalmanın fMRG (fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme) ile gösterilmesi¹⁵

¹⁵<http://www.schizophrenia.com/family/disease.htm#significant> 7.06.2011



Şekil 3. Normal ve şizofren bireylerde lateral ventriküllerin MRG ile görüntüsü¹⁶

2.2. ŞİZOFRENİDE GENETİK

Yapılan aile ve evlat edinme çalışmaları, ikiz araştırmaları, moleküler genetik bulgular şizofrenide genetiğin önemini göstermiştir. Hasta akrabalarının kontrol grubuna göre şizofreniye yakalanma riskinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (6). Tablo 4’ te akrabalarda görülme sıklıkları gösterilmiştir.

Tablo 4. Şizofrenlerin akrabalarında bu hastalığın görülme riski¹⁷

Risk Faktörü	Risk (%)
Genel toplum	1
Hasta eşleri	2
Aile öyküsü	2-70
Tek yumurta ikizleri	50-70
Çift yumurta ikizleri	9-18
Birinci derece akrabalar	
İkinci derece akrabalar	3-6
Üçüncü derece akrabalar	2-3

¹⁶ <http://www.schizophrenia.com/family/disease.htm#significant> 7.06.2011

¹⁷ Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. Schizophrenia Res. 2008; 102: 1-18.

2.2.1. Aile Çalışmaları

Yapılan aile çalışmaları hasta yakınlarında şizofreni görülme riskinin kontrollerin akrabalarına oranla yaklaşık 10 kat fazla olduğunu göstermiştir (3). Ancak bu, bir hastalığın genetik olduğunu söylememektedir. Çevresel etkenler de genetik yapı üzerinde oldukça etkilidir (45).

Herhangi bir akrabasında şizofreni olmayan kişilerin hastalığa yakalanma riski yüzde birdir. Aile kökeninde şizofreni öyküsü olanlarda ise bu oran %2-70 arasında bulunmuştur. Ebeveynlerden biri hasta ise çocuklarda görülme oranı %12-14 iken her ikisinin hasta olduğu durumlarda %40-60 arasındadır. Anne-baba sağlam; ancak çocuklardan birinin şizofren olduğu durumlarda kardeşlerde görülme oranı yüzde sekizdir. Birinci derece akrabalarda ve çift yumurta ikizlerinde şizofreni görülme riski %10-18 bulunmuştur. Bu oran tek yumurta ikizlerinde %50-70' tir (18,19).

2.2.2. İkiz Çalışmaları

Akrabalar arasında hastalık riskinin yüksek olmasının nedeni ortak çevre ve ortak genlerdir. Tek yumurta ikizleri aynı genleri taşıırken çift yumurta ikizleri genlerin yarısını paylaşmaktadır (18). İkizler aynı ortamda büyüyüp aynı çevresel etkilere maruz kaldıklarından dolayı genetik ve çevresel etkilerin derecesi bilinmemektedir. Ancak bu çalışmaların en yararlı yönü, hastalığın genetik olarak %100 etkisi olmadığını gösterilmesidir (6,18).

Tek ve çift yumurta ikizleriyle yapılan birçok çalışmada eş hastalanma oranları farklı oranlarda bulunsada tek yumurta ikizlerinin eş hastalanma oranlarındaki yükseklik bütün çalışmaların ortak bulgusunu oluşturmaktadır (14).

2.2.3. Evlat Edinme Çalışmaları

Aynı soydan gelen farklı çevresel etkilere maruz kalan kişilerle farklı soydan olup aynı çevresel etkilere maruz kalan kişiler üzerinde yapılan çalışmalardır. Bu konuda Finlandiya' da yapılan en kapsamlı çalışmada, öz anne babası şizofren olup hasta olmayan başka bir ailede yetiştirilmiş kişilerde şizofreni riski, öz anne babası şizofren olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Kişinin öz anne babası şizofren olmayıp evlatlık verildiği ebeveynler şizofren ise, bu kişilerin hasta olma olasılığı şizofren olmayan ailede yetişenlere göre daha yüksek değildir. Çocuklukta evlat

edinilmiş şizofren kişilerin öz anne babalarında ve birinci derece akrabalarında risk oranı daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgulara bakarak, eğer genetik yatkınlık yoksa çocuğu yetiştiren ailenin şizofreni riskini yükseltmediği, şizofreniye yatkınlık olsa bile aile ortamının iyi olması durumunda hastalığa yakalanma riskinin düşük olduğu söylenebilir (19).

2.2.4. Genetik Geçiş

Şizofreni hastalığının kalıtımı için mendel kurallarına dayalı monogenik geçiş ya da diğer adıyla otozomal dominant gen kuramı, poligenik geçiş ve multifaktöryel (birçok etkene sahip) geçiş gibi birden çok genetik geçiş kuramı ileri sürülse de yapılan son çalışmalardan elde edilen bulgular doğrultusunda, çok genli ve çok etkenli bir geçişin olduğu düşünülmektedir (18,46).

2.2.5. Şizofrenide Genetik ve Çevre Etkileşimi

Özellikle yapılan ikiz çalışmaları ve evlatlık edinme araştırmalarıyla şizofrenide genetiğin tek başına rol almadığı, çevresel faktörlerin de önemli olduğu ortaya konmuştur. Bu konuda bazı modeller önerilmiştir (45):

Model 1: Genetik ve ailesel olmayan çevresel etmenlerin birlikte etki edip hastalığın ortaya çıkışını hızlandırdığı ileri sürülmüştür.

Model 2: Genetik duyarlılığın çevresel etmenlere göre daha fazla ön planda olduğunu söylemektedir.

Model 3: Hastalığın genetik geçişinde otozomal dominant bir gen kuramını savunmaktadır.

Model 4: Bu modele göre hastalığın ortaya çıkmasında birden çok gen ve pek çok çevresel etken rol almaktadır.

Ayrıca şizofrenide rol oynayan çevresel etmenler nöral sistemlerde gen ekspresyonuna etki eden promotor DNA (deoksiribonükleik asit) metilasyonu ile sonuçlanan epigenetik değişikliklere sebep olmaktadır (45).

2.2.6. Şizofrenide Moleküler Genetik Çalışmalar

Şizofrenide genetiğin, hastalığa yakalanmada önemli bir risk faktörü olduğu ve multifaktöryel bir geçiş gösterdiği düşüncesi ağırlık kazandıktan sonra ayrışma

(segregasyon), bağlantı (linkaj) ve ilişkilendirme (association) çalışmalarıyla moleküler genetik alanında yeni bulgular elde edilmiş, birçok kromozom bölgesi ve aday genler ortaya konmuştur (18,25).

Ayrışma analizleri, bir soyağacındaki hastalık sıklığını genetik geçiş yöntemiyle karşılaştırarak doğruluğunu belirler. Hastalığın multifaktöryel özelliğinden dolayı geçiş modalitesi tam olarak belirlenememiştir. Bu da yöntemin güvenilirliğini azaltmaktadır (19).

İlişkilendirme çalışmalarında bireyler arası polimorfizm gösteren HLA (Human Leukocyte Antigens; İnsandaki Doku Uygunluk Antijeni), kan proteinleri ve kan gruplarına bakılarak hasta olanların sağlıklılara göre ortak alleller paylaşp paylaşmadıkları araştırılmıştır. İlişkilendirme araştırmalarında birbiriyle ilişiksiz şizofren probandlar üzerinde çalışılması ve tek bir genin farklı allellerinin araştırılması, bu çalışmaların zayıf yönünü oluşturmaktadır (47).

Bağlantı analizlerinde yere özgü genetik belirleyiciler (lokus marker) kullanılarak, şizofreni hastalığında o lokusun önemi araştırılmaktadır. Bağlantı çalışmalarıyla protein yapısındaki bozukluk veya farklı bir nükleik asit dizisinin varlığı tespit edilebilmektedir (47).

Yapılan bazı ilişkilendirme çalışmalarında HLA-A9' un paranoid şizofreni riskini %60 oranında arttırdığı bulunmuştur. Ancak yapılan başka çalışmalarda bu bulguya rastlanılmamıştır. Kimi çalışmalarda D₃ (Dopamin reseptörleri 3) ve D₄ (Dopamin reseptörleri 4) reseptörleri ile şizofreni arasında bir ilişki gösterilirken kimi çalışmalarda ise bu sonuç elde edilememiştir. D₂ reseptörlerinin bulunduğu 11' inci kromozom ve 5HT₂ (5-Hidroksitriptamin 2) nin bulunduğu 13' üncü kromozomun incelendiği bir başka araştırmada da herhangi bir bozukluk tespit edilememiştir (14,24). X kromozomunun uzun (q) ve kısa (p) kollarıyla yapılan çalışmalar da henüz sonuç vermemiştir. Yalnızca miyotonik distrofinin bulunduğu Xp21 bölgesiyle şizofreni arasında zayıf bir bağ olabileceği bildirilmiştir. Beşinci kromozomun uzun kolunda sitogenetik olarak görülebilen, dengesiz parsiyel trizominin olduğu ve fiziksel anomalilerin şizofreniye eşlik ettiği bir ailenin belirlenmesinden sonra yapılan çalışmalarda bu kromozomun üzerinde hastalıkla ilgili bir lokus olduğuna dair deliller elde edilmiş; ancak bu bilgi başka araştırmalarda doğrulanamamıştır (48).

Lewis ve arkadaşlarının 1208 şizofren ailesiyle yaptığı çalışmada 1p, 2q, 3p, 5q, 6p, 8p, 11q, 13q, 14p, 20p ve 22p kromozom bölgeleriyle şizofreni arasında bağlantı saptanmıştır. Badner ve Gerson' un yapmış olduğu meta analiz çalışmasında 8p, 13q, 22q kromozom bölgelerinin şizofreniyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Segurado ve arkadaşlarının 347 aileyle yaptıkları çalışma, şizofrenide 9p, 10q, 14q ve 18q kromozom bölgelerinin önemini ortaya koymuştur. 236 Japon ailesiyle yapılan bağlantı çalışmasında 1p, 14q, 20p kromozom bölgelerinin şizofreniyle bağlantısı ortaya konmuşken DeLisi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma buna ek olarak 2q ve 8p kromozom bölgelerinin önemini göstermiştir (29).

Moleküler genetik alanındaki yeniliklerle birlikte birbirini destekleyen çalışmalar artmış, *NRG1* (Nöroglin 1), *COMT* (Katekol-O-metil transferaz), *RGS4* gibi birçok şizofreniye yatkınlık aday geni ortaya çıkarılmıştır (49).

2.3. RGS AİLESİ

RGS (Regulator of G-protein signaling) molekülleri, GPCR (G-protein couple reseptor) nin sinyal aktivitesini düzenleyen protein sınıfıdır. GAPs [GTPaz (Guanozin trifosfataz) aktive edici proteinler] ile GTP (Guanozin trifosfat) nin GDP (Guanozin difosfat) ye hidrolizini hızlandırarak GPCR sinyal yolağını kapar ve G proteinlerini inaktive eder (10,50).

RGS proteinleri, nöronal aktivasyonun ritmini ve direncini düzenleyen bir konumdadır (8). Şu ana kadar her biri seçici reseptör bölgelerine sahip 28' in üzerinde RGS proteini bulunmuştur (51).

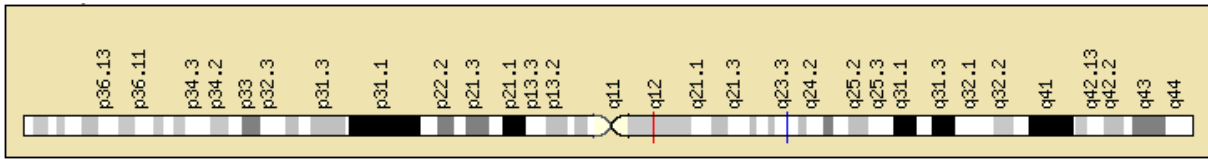
RGS ailesi üyeleri beyin ve periferde yüksek oranda eksprese edilir (7). *RGS4*, *RGS7*, *RGS8*, *RGS11* ve *RGS17* nin nukleus akumbens ve putameni kapsayan striatal bölgelerde önemli ölçüde eksprese edildiği bulunmuştur. mRNA ekspresyon seviyesi en yüksek ölçülen *RGS4* olmuştur. Bazı RGS ailesi üyeleri perifer dokularda yüksek ekspresyon göstermiştir. *RGS5* kalpte eksprese edilirken; *RGS1*, *RGS13* ve *RGS18* lenfositlerde eksprese edilir. *RGS1* ayrıca *RGS2* ve *RGS16* gibi akciğerlerde de eksprese edilir. *RGS3*, *RGS9*, *RGS10*, *RGS12* ve *RGS14* üst üste ve geniş bir mRNA dağılımı gösterir. Bazı RGS üyelerinin GPCRs tarafından sinyal modülasyonunda ve merkezi sinir sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol aldıkları gösterilmiştir (52).

RGS proteinlerinin, sinir sistemindeki birçok G protein sinyal yolağının düzenlenmesinden sorumlu olması, bu grubun üyelerinin çeşitli hastalıklarda rol oynadığının düşünülmesine sebep olmuştur. İlaç bağımlılığı ve beyin yaralanmasının, bazı RGS üyelerinin mRNA seviyelerindeki değişikliklerle ilgili olabileceği öne sürülmüştür (50).

Son yıllarda, artan ilişkilendirme ve linkaj çalışmalarıyla RGS genlerinin şizofreni gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarında rolü olduğunu gösteren kanıtlar bulunmuştur (52). RGS protein ailesinin alt tiplerinden biri olan glutamat reseptörlerini kodlayan *RGS4* de bunlardan biridir (7,51).

2.3.1.RGS4 Geni

Birinci kromozomun q23.3 bölgesinde (Şekil 4) yerleşim gösteren, 23.3 kDa ve 205 aminoasitten oluşan beş ekzonlu bu protein; 62-78 domain, beş ve 13 motif içerir (8,36).



Şekil 4. *RGS4* geninin birinci kromozomdaki yeri¹⁸

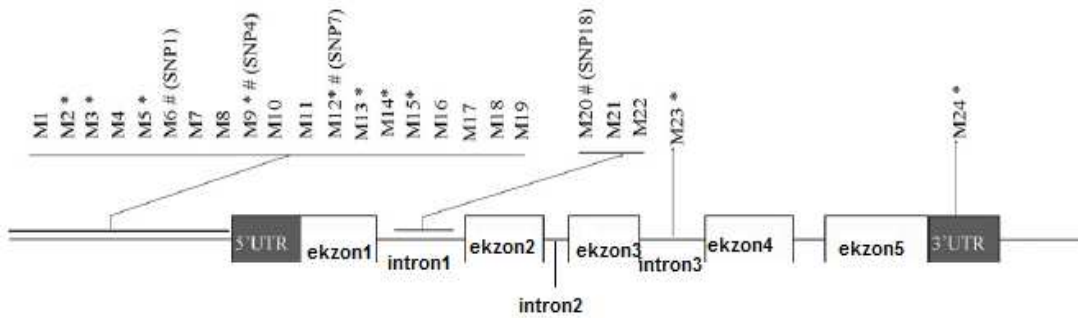
Birçok GPCR' nin hücreler arası sinyal zamanını, heterotrimerik G proteinlerinin Gα (G proteini alfa) alt ünitesi için GTPaz aktive edici proteini düzenleyen ve kontrol eden *RGS4*; sitoplazma, plazma membranı ve çekirdekte bulunur. Kalmodulin bağlama, sinyal iletim aktivitesi gibi görevlerinin yanında MAPK aktivitesinin inaktivasyonunu, GRM1 ve GRM5 aracılığıyla sinyal iletiminin negatif regülasyonunu sağlar (7,8).

RGS4 ayrıca strese yanıtta rol oynar. Niget ve arkadaşlarının 1999' da yaptıkları çalışmada, *RGS4* ekspresyonunun düzenlenmesi takibinde, kemirgenlerde öngörülemez kronik stresin olduğu gösterilmiştir (7,50).

¹⁸<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RGS4&search=RGS4> 15.06.2011

2.3.1.1. *RGS4* ve SNP Bölgeleri

2002' de yayınlanan çalışmasında Chowdari ve arkadaşları, *RGS4*' ün SNP1 (rs10917670), SNP4 (rs951436), SNP7 (rs951439) ve SNP18 (rs2661319) olmak üzere dört SNP (tek nükleotid polimorfizmi) bölgesinin şizofreni hastalığında önemli olduğunu göstermiştir (24). Bu SNP bölgeleri *RGS4* lokusunda 10 kb' lik bir bölgede yerleşim gösterir (53). Beşinci şekilde de görüldüğü gibi SNP1, SNP4 ve SNP7, genin beş üssü upstream bölgesinde olup 849 baz uzaklıktadır. SNP18 ise birinci intronun içindedir (10). SNP7' nin birinci ekzonun transkripsiyon başlama bölgesinden 5.46 kb uzaklıkta olduğu gösterilmiştir (54).



Şekil 5. *RGS4* geninde dört SNP bölgesinin yerleşimi¹⁹

Lewitt ve arkadaşlarının 2006'da yayınlanan çalışmasında *RGS4*' ün beş üssü SNP bölgelerinin DLPFC (dorsolateral prefrontal cortex) deki değişikliklerle ve şizofrenideki pozitif ve negatif belirtilerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (50,54). SNP18, frontoparietal ve frontotemporal bağlantılarda, oksijen bağlı kan seviyeleri ile ilişkilidir. SNP4, beyindeki gri ve beyaz madde değişiklikleriyle ilişkili olması ve şizofreni hastalarında DLPFC' deki en düşük hacmin T/T genotipine sahip olanlarda görülmesinden dolayı *RGS4*' ün şizofreniye yatkınlık geni olmasını sağlayan en güçlü kanıttır (54,55).

Son çalışmalarda SNP4 ile SNP18 arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (53). SNP4' te negatif semptomlar için heterozigot bireylerin düşük PANSS (Pozitif ve negatif sendrom skalası) total skora ve genel psikopatoloji skoruna sahip olma

¹⁹Chowdari KV, Bamne M, Wood J, Talkovski ME, et al. Linkage disequilibrium pattern and functional analysis of *RGS4* polymorphism in relation to schizophrenia. Schizophrenia Bull. 2008;34(1):118-126.

eğiliminde olduğu bulunmuştur. Ayrıca SNP18' de, heterozigot bireyler de düşük PANSS total skora sahip olma eğilimindedirler. Ancak; FDR (False discovery rate; yanlış keşif testi) kullanılarak yapılan çoklu testlerde, yalnızca SNP4 genotiplerinin PANSS total skorları ve genel psikopatoloji skorlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. SNP4, sözel akıcılık skorlarıyla ilişkilidir. T/G genotipine sahip hastalar en yüksek sonuca ulaşırken T/T genotipinde olanların en düşük skora sahip olduğu bulunmuştur (55).

2.3.1.2. *RGS4* ve Haplotip Çalışmaları

İlişkilendirme çalışmalarında şizofreni ile ilişkili birbirinden farklı haplotipler bulunmakla birlikte çoğunda pozitif sonuçlar elde edilmiştir (13,19). Yapılan haplotip çalışmalarında şizofreni için GGGG ve ATAA olmak üzere 2 temel (major) haplotip bulunmuştur (14). Bazı popülasyonlarda risk haplotipi olarak GGGG (13,22) bazılarında ise ATAA (19) bulunmuşken Ishiguro ve arkadaşlarının 2006'da yayınlanan Japon popülasyonundaki çalışmasında bu iki haplotipin frekansı şizofreni hastalarında ve sağlıklı bireylerde önemli bir fark göstermemiştir (51).

İkili haplotip çalışmalarında SNP4-18 ve SNP7-18 için G-G haplotipi, üçlü haplotip çalışmalarında SNP1-4-18 için G-G-G haplotipi major haplotip olarak bulunmuştur (9,54).

2.3.1.3. *RGS4* ve Splays Varyantları

İnsan beyinde *RGS4*' ün, *RGS4*-1, *RGS4*-2, *RGS4*-3, *RGS4*-4 ve *RGS4*-5 olmak üzere beş değişik izoformu vardır. Sırasıyla 205, 205, 302, 93 ve 187 aminoasitten oluşurlar. *RGS4*-1, *RGS4*-2, *RGS4*-3 ve *RGS4*-4 proteinlere çevrilir. *RGS4*-2 dokuya spesifik iken *RGS4*-4 ve *RGS4*-5 her yerde eksprese edilir. *RGS4*-1 in ekspresyon seviyeleri cenin beyni, kalp, omurilik ve prostatta düşükken böbrek, karaciğer, akciğer, plasenta, timüs, tiroit gibi bazı dokularda az da olsa eksprese edildiği tespit edilmiştir. *RGS4*-2 beyin, omurilik ve prostatta eksprese edilirken *RGS4*-3 yetişkin beyni, prostat, omurilik, böbreküstü bezleri, trake ve testiste eksprese edilir (53). Şizofreni hastalarında *RGS4*-3 mRNA ekspresyon seviyeleri azalmıştır (56). *RGS4*-4 ve *RGS4*-5' in ise en yüksek eksprese olduğu yerler; yetişkin beyni, omurilik, testis, beyincik ve böbreküstü bezidir. DLPFC ve visual kortekste

insan *RGS4* izoformlarının değişik ekspresyonları bulunmuştur. *RGS4*-1, *RGS4*-2 ve *RGS4*-3 beyincikte eksprese olmamasına rağmen tüm *RGS4* splay varyantları kortikal alanlarda yüksek miktarda eksprese olur (53).

2.3.1.4. *RGS4* ve Beyin Bölgelerindeki Değişiklikler

RGS4, en fazla beyinde eksprese olur (Tablo 5). *RGS4*' ün beyinde en fazla eksprese olduğu bölgeler parahipokampal girus, superior frontal girus, medial frontal girus ve singulat girus'tur (Tablo 6). 2001'de yayınlanan, şizofreni hastalarından alınan ölüm sonrası örneklerin mikroarray teknolojisiyle incelendiği çalışmada Mirnics ve arkadaşları DLPFC' de *RGS4* mRNA ekspresyonunda azalma saptamışlardır (57). Erdely ve arkadaşlarının 2006' daki çalışmasında da şizofreni hastalarının singulat girus, superior frontal girus ve insular korteksinde *RGS4* mRNA seviyelerinde azalma bulunmuştur. *RGS4* mRNA ekspresyonu şizofrenlerde kortikal alanlarda yüksek, kaudat ve putamende düşüktür. Ancak kaudat ve putamendeki *RGS4* mRNA ekspresyonunda, kontrol grubu ve şizofrenler arasında önemli bir fark bulunamamıştır (58).

Tablo 5. İnsan dokularında *RGS4* mRNA profili²⁰

Doku	<i>RGS4</i>
Beyin	++++
Kalp	+
Akciğer	0
Karaciğer	0
Böbrek	0
Barsak	0
Lenfosit	0
Plasenta	0

mRNA seviyeleri: >20000, +++++; 2000-20000, +++; 500-2000, ++; < 500, +; bulunamayan, 0.

²⁰Larminie C, Murdock P, Walhin JP, Duckworth M, et al. Selective expression of regulators of G-protein signaling (RGS) in the human central nervous system. Mol Brain Res. 2004;122: 24-34.

Tablo 6. İnsan beyin bölgelerinde mRNA ekspresyonu²¹

Beyin bölgesi	RGS4
Singulat girus	+++++
Medial frontal girus	+++++
Superior frontal girus	+++++
Striatum	++++
Nukleus akumbens	+++
Putamen	++++
Kaudat nukleus	++
Hipokampus	++++
Parahipokampal girus	+++++
Amigdala	++
Globus pallidus	+
Medulla Oblongata	+
Talamus	+
Hipotalamus	+
Substantia nigra	+
Lokus coeruleus	++
Beyincik	0

mRNA seviyeleri: >20000, +++++; 10000-20000, ++++; 6000-10000, +++; 2000-6000, ++; <2000, +; belirlenemeyen, 0.

2.3.1.5. RGS4 ile Etkileşim Halinde Olan Diğer Etmenler

RGS4, neurogulin reseptörü olan ErbB3 (v-erb-b2 eritroblastik lösemi viral onkojen homolog 3) ile etkileşim halindedir (51). 18-67 yaş arası 72 ölüm sonrası beyin örneğinin kullanıldığı bir çalışmada BA10 (Brodmann area 10) da *RGS4* ekspresyonunun yaşla doğru orantılı olarak azaldığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda *RGS4*' ün ilişkili olduğu ErbB3 ekspresyonu da azalmıştır (59). *RGS4*' ün

²¹Larminie C, Murdock P, Walhin JP, Duckworth M, et al. Selective expression of regulators of G-protein signaling (RGS) in the human central nervous system. Mol Brain Res. 2004; 122: 24-34.

ekspresyonu *COMT* geni ve enzim aktivitesi tarafından etkilenmiştir (55). PFC (Prefrontal korteks) ve hipokampüsteki *RGS4* ekspresyonunun azalması *COMT* un Val158Met genotipi ile ilişkilendirilmiştir (56). *RGS4* dopaminerjik modölatörlerle düzenlenir. D₂ reseptör stimülasyonu ya da D₁ reseptör blokajı *RGS4*'ün upregüle edilmemesine neden olur. 5-HT_{2A} (5-hidroksitriptamin reseptör 2A) ve grup I metabotropik glutamat reseptörlerle bağlantılı olan *RGS4*'ün şizofreni hastalarında PFC' deki mGluR1a (metabotropik glutamat reseptör 1) ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir (58). *RGS4*, stres ve glukokortikoidler tarafından düzenlenir (29). Stresin bu genin ekspresyonunu değiştirdiği ve bunun sonucunda hücreler arası Ca⁺⁺ dengesi ile nörotransmitter salınımını bozduğu, GPCR sinyalizasyonunu durdurduğu gösterilmiştir (7).

2.4. DNA DİZİ ANALİZİ

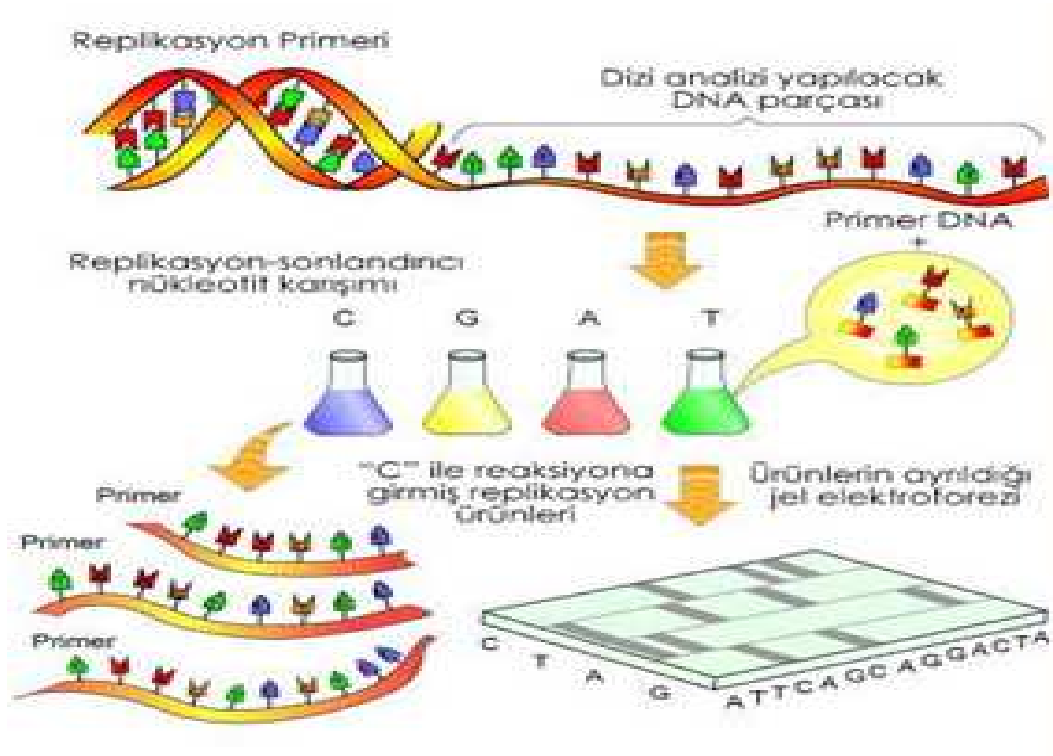
DNA dizi analizleri, bir DNA molekülündeki nükleotidlerin sırasının belirlenmesinde kullanılan, bir nükleik asit dizisinin diğerine hibridizasyonu²² işlemine dayanan bir yöntemdir (60). Bu yöntemin aşamaları şunlardır (Şekil 6):

- Hedef DNA' nın tek sarmal hale getirilmesi
- Primer bağlanması
- Primerin üç üssü ucundan itibaren DNA sentezinin gerçekleştirilmesi
- Reaksiyonun sonlandırılması

1960' lı yılların başında 75-80 nükleotitlik tRNA' lar (transfer ribonükleik asit) ile başlayan çalışmalar, gen yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında birçok bilgi edinmemizi sağlamıştır. Radyoaktif olmayan işaretleme ve otomatik DNA dizi analizi gibi yöntemlerin yanında, günümüzde nükleotit dizilerinin belirlenmesinde "Maxam-Gilbert kimyasal kırılma yöntemi" ve "Sanger dideoksi zincir sonlanma yöntemi" gibi iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Her iki yöntemin de üç aşaması bulunmaktadır (60):

1. DNA eldesi
2. Reaksiyonlar
3. Jel elektroforezi

²² Radyoaktif veya radyoaktif olmayan maddelerle işaretleme yapılır.



Şekil 6. DNA dizi analizi mekanizması²³

2.4.1. Maxam-Gilbert kimyasal kırılma yöntemi

DNA' nın bazı kimyasallarla (Tablo 7) özgül baz dizilerinden kesilerek değişik uzunlukla fragmentler elde edilmesi prensibine dayanır. Beş üssü ucundan ³²P ya da floresan bir boya ile yalnızca bir ucundan işaretlenen DNA molekülleri dört tüpe ayrılır. A (Adenin), C (Sitozin), G (Guanin) ya da T (Timin) nükleotitlerini değiştirmek ve kırmak için gerekli tepkimeler gerçekleştirilir. Sonuçta, kırılmanın olduğu pozisyona göre boyları birbirinden farklı, beş üssü pozisyonlarından işaretli DNA parçaları elde edilmiş olur (61). Kısalan DNA dizileri, jel elektroforezi ile büyüklüklerine göre ayrılır ve otoradyografi uygulanarak bantlar görüntülenir (Tablo 8).

²³<http://www.shmekan.com/sihirli-mekan-saglik-genel/136277-molekuler-genetik-nedir-detayli-bilgi.html>
17.06.2011

Tablo 7. Kimyasal kırılma yönteminde kullanılan kimyasallar²⁴

Özgül Baz	Baza özgül kimyasal	Baz ayırmada kullanılan kimyasal	Zincir kırılma da kullanılan kimyasal
G	Dimetil sülfat	Piperidin	Piperidin
A+G	Asit	Asit	Piperidin
C+T	Hidrazin	Piperidin	Piperidin
C	Hidrazin+Baz	Piperidin	Piperidin
A>C	Baz	Piperidin	Piperidin

Tablo 8. Kimyasal kırılma yöntemiyle yapılan reaksiyonların elektroforez sonrası görüntüsü ve okuma sonucu; GGGCTG²⁵

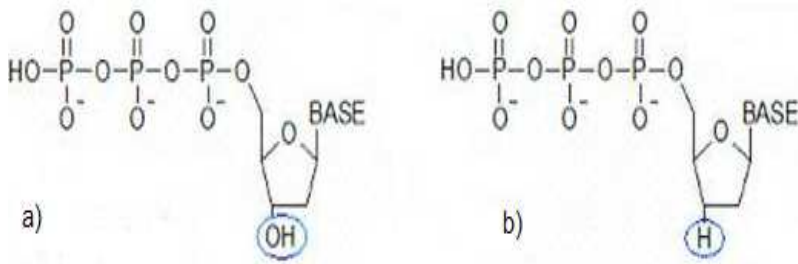
G>A	A>G	C	T
-			-
		-	
-			
-			
-			

^{24,25} yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_sekansteknikleri.pdf

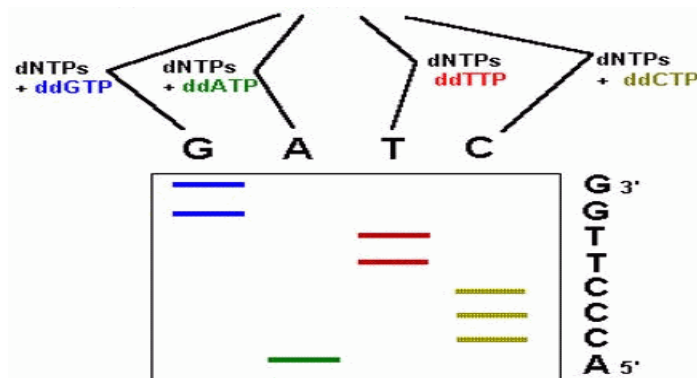
2.4.2. Sanger dideoksi zincir sonlanma yöntemi

Günümüzde kullanılan en yaygın dizi analiz yöntemidir. Maxam-Gilbert yöntemine göre daha hızlıdır ve tehlikeli kimyasal maddeler içermez. Bu yöntem için tek iplikçi kalıp DNA, dNTP (deoksiribonükleozit trifosfat), ddNTP (dideoksiribonükleozit trifosfat), DNA polimeraz ve serbest OH (Hidroksil) grubu içeren primer gereklidir (61).

Her bir nükleotid bir sonraki nükleotide üç üssü OH ucundan bağlanır. DNA polimeraz normal bir dNTP yerine ddNTP eklediğinde, ddNTP'lerin üçüncü karbonundaki OH molekülünde oksijen atomu bulunmamasından dolayı (Şekil 7) zincir uzaması sonlanır. Bu eklenme rastgele olduğundan değişik uzunluklarda kendilerine özgü boya taşıyan fragmentler oluşur. Elektroforez ile jelde yürütülerek dizi analizi gerçekleştirilen DNA fragmentleri, ddNTP' nin tipine göre okunur (Tablo 9).



Şekil 7. a) dNTP ve b) ddNTP molekülleri²⁶



Şekil 8. DNA fragmentlerinin elektroforez sonrası görüntüsü²⁷

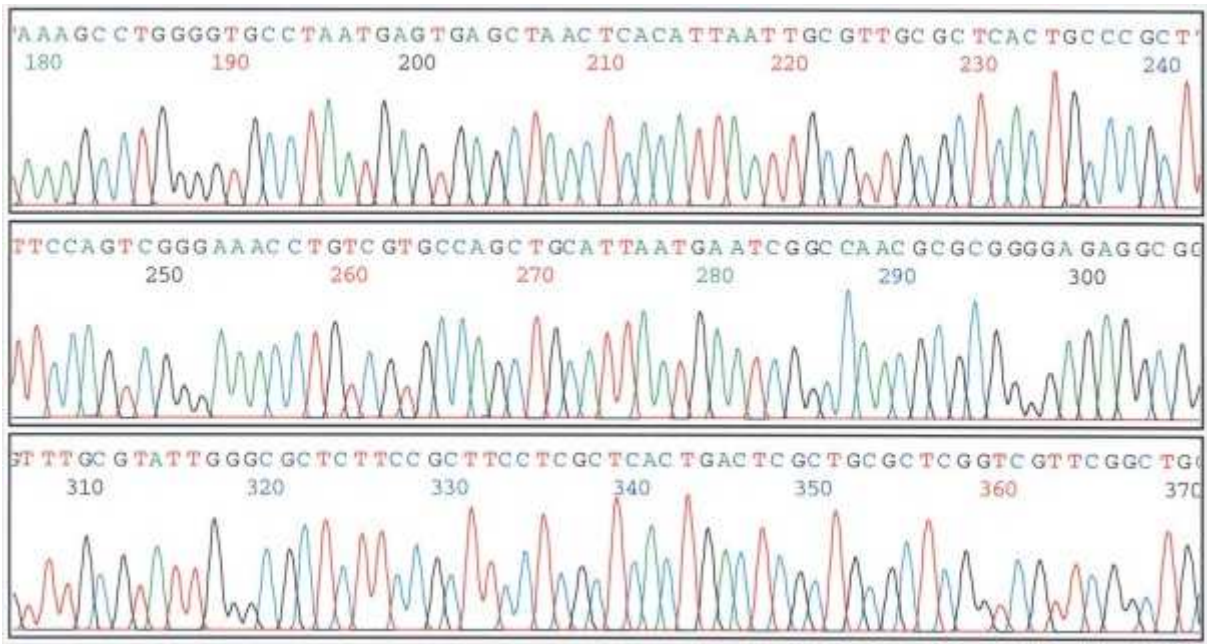
²⁶ http://core.iddrc.org/molecular-genetics/wp-content/nucleotides-text_small_1125082.jpg 17.06.2011

²⁷ <http://www.emunix.emich.edu/~rwinning/genetics/tech4.htm> 17.06.2011

2.4.3. Otomatik DNA dizi analizi yöntemi

İnsan Genom Projesi gibi büyük projeler için kullanılan bu yöntem, zaman tasarrufunun yanında çok fazla iş gücü gerektirmemesi ve sonuçların daha çabuk değerlendirilmesi nedeniyle tercih edilmektedir.

Otomatik DNA dizi analiz cihazları, sabit bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sisteminden oluşur. Elektroforetik ünitelerde bulunan lazer ışık kaynağı ile monokromatik bir ışık oluşturularak jel matriks taranır. DNA'ya bağlanan floresan boya, ışık ile taranan bölgeye geldiğinde uyarılarak ışığı geri yansıtır. Bir dedektör tarafından kaydedilen ışık demeti, bilgisayar programlarıyla değerlendirildikten sonra çıkan sonuçlar grafiksel (Şekil 9) olarak bilgisayar ekranına aktarılır (60).



Şekil 9. DNA dizi analizi cihazından alınan sonuçlar²⁸

²⁸<http://www.bilimfeneri.gen.tr/phpBB2/viewtopic.php?f=1&t=6187> 17.06.2011

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırmanın Tipi

Deneysel, kontrollü randomize ve multidisipliner bir klinik araştırma yapılmıştır.

3.2.Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılmıştır. Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD (Anabilim dalı), Psikiyatri ABD ve Biyofizik ABD çalışmaya katılmış olan disiplinlerdir.

Çalışma zamanı, başlangıçta bir yıl olarak öngörülmesine rağmen, gerek deneysel aşamalardaki aksaklıklar gerek diğer etkenlerden dolayı iki yıla yakın bir zamanda tamamlanmıştır.

3.3.Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Çalışmada kontrol grubu ve hasta grubu kullanılmıştır. Genetik çalışmalar için, 100 hasta ve 52 kontrol alınmıştır. DSM-IV ölçütlerine göre şizofreni tanısını almış olan hastalarla çalışılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların tamamına PANSS (Bkz. EK 6) uygulanmış ve pozitif belirtiler, negatif belirtiler ve genel psikopatoloji toplam puanları elde edilmiştir.

Kontrol grubu “sağlıklı toplumdan” seçilen, daha önce psikiyatri tedavisi görmemiş ve halen herhangi ruhsal bir hastalığı olmayan kişilerden oluşturulmuştur. Kontrol grubu, yaş ve cinsiyete göre eşleştirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

1. DSM-IV Şizofreni Tanı ölçütlerini karşılaması
2. Yazılı bilgilendirilmiş olur verebilme
3. 18-55 yaş arası
4. Okur yazar olmak

Dışlama kriterleri;

1. Kontrol grubundaki kişilerin herhangi psikiyatrik hastalık geçmişi olması
2. Hasta grubundaki bireylerin son 6 ay içinde EKT (Elektrokompulsif terapi) tedavisi almış olması
3. Kontrol ve hasta grubundaki kişilerde nörolojik hastalık bulunması

4. Madde ve alkol kullanımı
5. Hem pozitif hem negatif belirtili tip özelliği göstermesi
6. 55 yaşı'n üzerinde olmak

3.4.Çalışma Materyali

Çalışma materyali olarak insan kanı kullanılmıştır. Dört ml EDTA' lı (Etilen diamin tetra asetik asit) tüplere alınan periferik kanların iki mililitresi kullanılırken diğer iki mililitresi -20 °C' de saklanmıştır. Kontrol ve hasta kanları Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri bölümünde yetkili hemşirelerce alınmıştır. Kan alımı halen devam etmektedir ve yeni hasta olguları geldikçe devam edecektir. Hasta olgularını Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri servisine başvuranlar ve şizofreni tanısı alanlar oluştururken kontrol grubunda ise herhangi bir psikiyatrik rahatsızlık geçirmemiş kişiler yer almıştır.

3.5.Araştırmanın Değişkenleri

Araştırmamızda “şizofreni” bağımlı değişken, “RGS4 geni” bağımsız değişkendir. Ayrıca RGS4 geninin SNP1, SNP4, SNP7 ve SNP18 bölgeleri de bağımsız değişkenler olup şizofrenideki rolleri araştırılmıştır.

3.6.Veri Toplama Araçları

Çalışmaya katılan hastaların tamamına PANSS (Bkz. EK 6) uygulanmıştır. Ayrıca hem kontrol hem de hasta grubunu oluşturan bireylere bilgilendirme formları uygulanarak (Bkz. EK 7, EK 8) kişilerin onayı alınmıştır.

Dört ml olarak EDTA' lı tüplere alınan kanların iki ml' si DNA izolasyonunda kullanılmıştır. 100 bç uzunluğunda DNA ladder kullanılarak jel görüntüsü alınan DNA örnekleri PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılmış ve jel elektroforezinde yürütülmüştür. Bakılan dört SNP (SNP1, SNP4, SNP7, SNP18) bölgesine “DNA dizi analizi” uygulanmıştır.

SPSS 11.0 ve statcalc yazılımlarıyla, şizofreni olgu ve kontrol gruplarında genotiplerin dağılımının istatistiksel anlamlılığı araştırılmıştır. Tüm deneyler için p değeri < 0.05 ise anlamlı olarak kabul edilmiştir. Tüm SNP' ler için Hardy-Weinberg dengesi yapılarak p değeri > 0.05 ise Hardy-Weinberg dengesi içinde kabul edilmiştir.

Kullanılan cihazlar:

- Mini santrifüj cihazı (Eppendorf mini spin plus)
- Vorteks cihazı (Labnet)
- Su banyosu (Pharmacia Biotech)
- Hassas terazi (Precisa 205 A SCS)
- Tartım cihazı (Precisa 2200 C SCS)
- Mini jel elektroforez sistemi (Thermo B2 easy cast mini)
- Jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat infinity)
- Thermal cycler (Techne TC-3000G)
- Uv kabinet (Labconco)
- Otoklav (Getinge HS11-K3)
- Pastör fırını (Gallenkamp, Sanyo)
- Derin donduruculu buzdolabı (Beko D8540SM)

Sarf malzemeler:

-Tek kullanımlık plastik malzemeler: EDTA' lı tüp (Vacutest plast 13x75), 2ml lik ölçekli eppendorf tüpü (greiner bio-one), 1.8ml' lik ölçekli eppendorf tüpü (greiner bio-one), 0.2 ml' lik PCR tüpü (DNAase-RNAase free, grainer bio-one), 0.5-10 µl' lik filtreli pipet ucu (grainer bio-one), 10-100 µl' lik filtreli pipet ucu (grainer bio-one), 100-1000 µl' lik filtreli pipet ucu (grainer bio-one), 15 ml lik falcon tüp (grainer bio-one), parafilm (Pechiney plastic plackaging), alüminyum folyo, pudrasız eldiven (Tenty flex M).

-DNA izolasyonu ve kullanılan kimyasallar: DNA izolasyon kiti (Roche, Lot 11147000) %100 etanol (AppliChem, Lot: 8O003291), %70 etanol, TE (Tris-EDTA) buffer (AppliChem, Lot: 7A009907), 10X TBE (Tris-Borat-EDTA, AppliChem, Lot: 0D009312).

-PCR ve ürünlerin görüntülenmeleri için gerekli kimyasallar: 25 bazlık dört adet primer çifti (1 µmol, Metabion), FastStart Taq polimeraz (5 U/µl, Roche, Lot 12224600), dNTPs (10mM, Fermentas, #R0192), PCR buffer+MgCl₂ (Roche, Lot: 12916700), Agaroz (AppliChem, Lot: 7A005305), DNA Ladder (Fermentas, #SM0241).

Hizmet alımı: DNA dizi analizi (Macrogen, Kore)

DNA izolasyonunda Roche' nin kandan DNA izolasyon kit protokolü kullanılmıştır:

1. İki ml eppendorf tüpüne bir ml kırmızı kan hücresi liziz tamponu koyuldu.
2. 500 µl kan eklendi ve vortekslemeden hafifçe karıştırıldı.
3. Karıştırıcıda 10 dakika karıştırıldıktan sonra 875 g' de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant döküldü. Vortekslendi. Eğer hücreler patlamamışsa ilk aşamadan buraya kadar olan kısım tekrar edildi. .
4. 250 µl beyaz hücre liziz tamponu konuldu. Vortekslenerek 37 °C' de 15-30 dakika inkübasyon yapıldı.
5. 130 µl protein çöktürme solüsyonu konuldu. 25 saniye vortekslendi.
6. 12.000 g' de 10 dakika santrifüj yapıldı ve süpernatant yeni tüpe alındı.
7. Süpernatantın iki katı kadar %100 etanol konuldu. Elde sallandı. 875 g de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı.
8. 250 µl %70 soğuk etanol konuldu. Dikkatlice ters düz edildikten sonra 875 g' de beş dakika santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
9. DNA pelleti kurumaya bırakıldı. 100 µl TE tamponu eklendi, vortekslendi ve 65 °C' de 30-60 dakika inkübe edildi. DNA saklanmak üzere -20 °C' ye kaldırıldı.

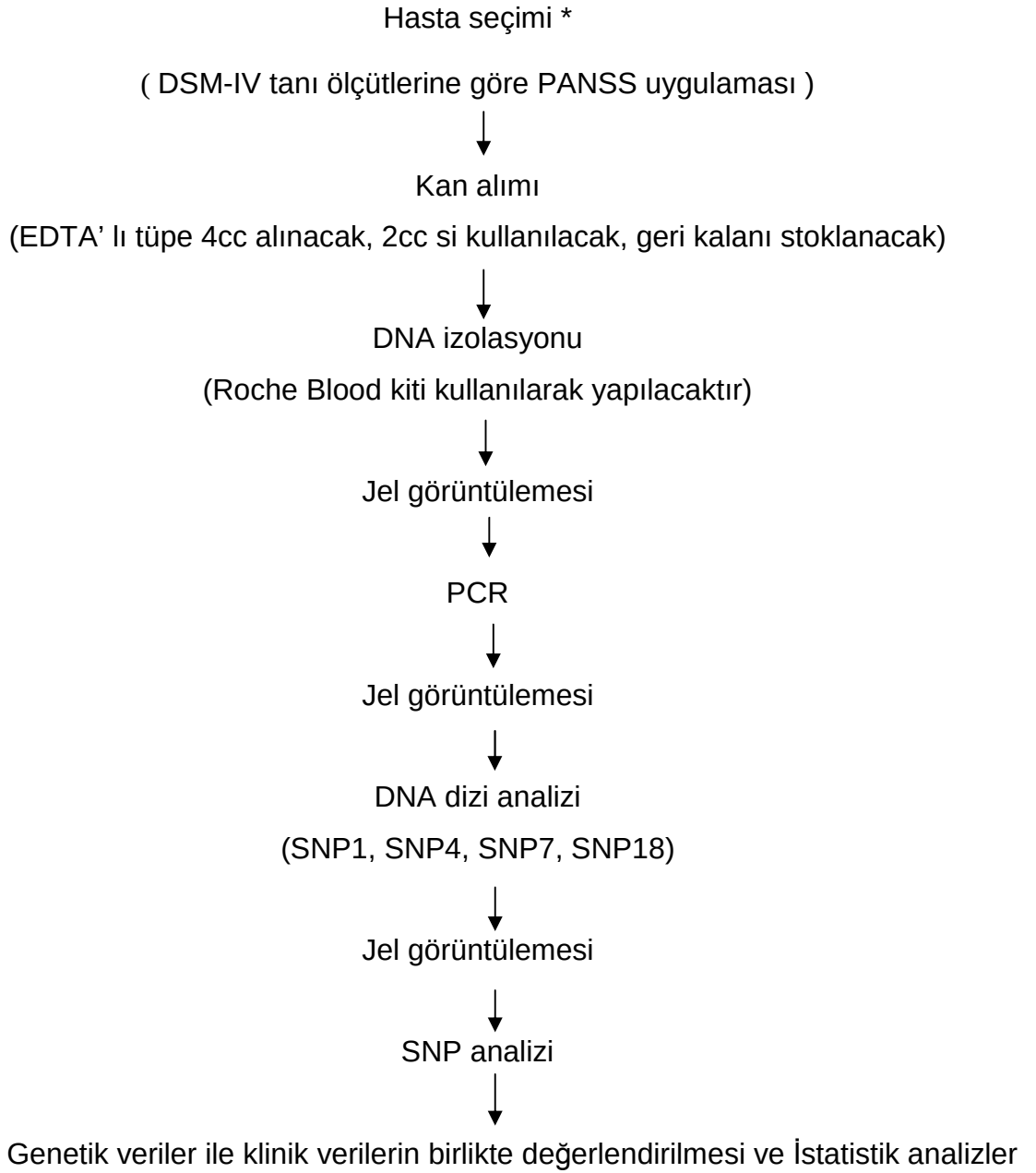
3.7.Araştırma Planı ve Takvimi

Öngörülen çalışma süresi: 12 ay

Tablo 9: Araştırma planı

YAPILACAK İŞ	AYLAR
1. Laboratuvarda kullanılacak olan sarf malzemelerin satın alınması 2. Şizofreni hastası bulunması ve değerlendirme kriterlerine uygunluğunun araştırılması 3. Kan alımı 4. DNA izolasyonu	1-4. aylar
5. Polimorfizm incelenmesi	5. ay
6. DNA dizi analizi 7. Verilerin istatistiksel değerlendirmesi	5-11. aylar
8. Makale taslağının yazımı 9. Proje sonlanma raporunun yazımı	12. ay

Deney Akış Şeması



* Tüm hastalar DSM-IV ölçütlerine göre şizofreni tanısını tam olarak karşılayacaktır. Çalışmaya alınan hastaların tamamına PANSS uygulanacak ve pozitif belirtiler, negatif belirtiler ve genel psikopatoloji toplam puanları elde edilecektir.

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

DNA dizi analizi sonuçlarının değerlendirilmesinde “ChromasPro” ve “Mutation surveyor” programları kullanılmıştır. ChromasPro programı, göz ile taradığımız SNP değişikliklerini grafiksel olarak gösterebilmesinden dolayı işlemin daha kısa sürede yapılmasına imkân sağlamıştır. Mutation surveyor programı ise bulunan bu sonuçların sağlamasını yapmak için kullanılmıştır.

İstatistiksel verilerin hesaplanmasında “SPSS” programı kullanılmıştır. Örneklerin allel ve genotip bazında yüzdeleri hesaplandıktan sonra program aracılığıyla örnek sonuçlarının karşılaştırmasında anlamlı bir farkın olup olmadığının söylenebilmesi için p değerleri ve risk oranı hesaplanmıştır. Ayrıca Hardy-Weinberg dengesi yapılarak p değerleri bulunmuştur. Bu işlem bir önceki sonuçların sağlaması niteliğindedir.

Yaptığımız bu işlemler, amacımız olan *RGS4* geninin şizofreniye neden olan aday bir gen olup olmadığı hakkında fikir vermesi açısından yararlı olmuştur.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

DNA izolasyonunda “manuel” yöntem kullanılmaması daha az DNA eldesine yol açmıştır. Kontrol grubu ve hasta sayısının az olması daha niteliksel sonuçlar elde etmemize engel olmaktadır. Ayrıca çok büyük uzunlukta baz çiftlerini optimize eden tek primer kullanımı da veri elde etmemizi zorlaştırmıştır. Elde edilecek veriler, değişik parametrelerle birleştirilerek daha kapsamlı bir sonuca ulaşılabilir. Yapılan çalışmalara ek olarak haplotip çalışması yapılarak, bulunan sonucun güçlülüğü arttırılabilirdi. Ayrıca PANSS skorları, elde edilen genetik verilerle birleştirilerek daha fazla klinik veri toplanabilirdi.

3.10. Etik Kurul Onayı

“*RGS4* geninin şizofreni ile ilişkisi” isimli proje, 26 Şubat 2009 tarih ve 04/05/2009 no.lu toplantıda 28/2009 protokol numarasıyla Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Etik Kurulu tarafından kabul edilmiştir (Bkz. EK 9). Ayrıca kontrol grubu ve hasta bireyler için ayrı onam formları hazırlanmış ve imzalatılmıştır (Bkz. EK 7, EK 8).

4. BULGULAR

Çalışılan olguların “örnek numaraları”, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri birimindeki görevli hemşireler tarafından verilmiştir. Tıbbi Biyoloji ve Genetik biriminde kolaylık olması adına, tarafımdan alfabetik bir numaralandırma yapılmıştır. İki farklı primer çifti kullanıldığından bir primer çiftine “A”, diğerine “B” kodu verilmiştir.

Klinik veriler, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri biriminde Klinik Psikolog Banu Karad tarafından 01/01/2009 tarihinde alınmaya başlanmıştır ve halen alınmaya devam etmektedir.

52 kontrol ve 100 hasta ile çalışılmıştır. Kontrol grubunun ve hastaların örnek numaraları Tablo 10’ da verilmiştir.

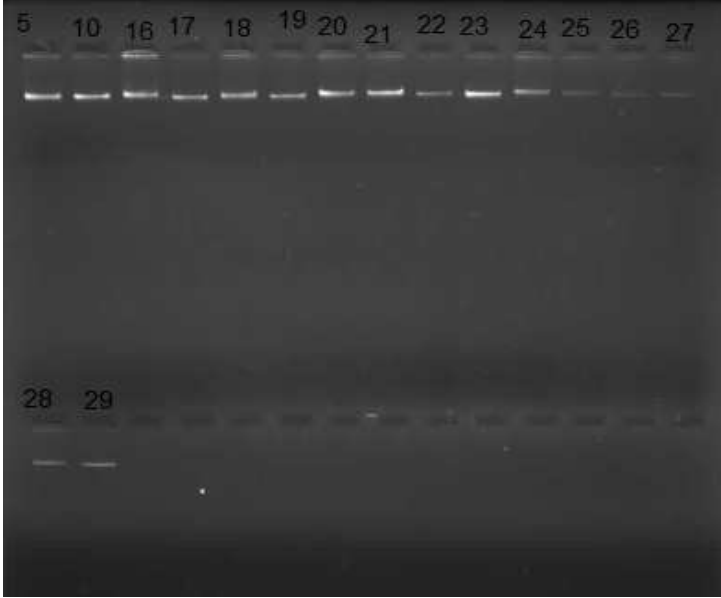
Roche kandan DNA izolasyon kitiyle örneklerin DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

Bütün jeller %2’ lik 40 ml döküldü. Bunun için 0.8 g agaroz tartılıp 40 ml 0.5X TBE konuldu ve mikrodalga fırında eritildikten sonra 2.5 µl etidyum bromür eklendi. Jeller, 120 voltta 45 dakika yürütülmüştür.

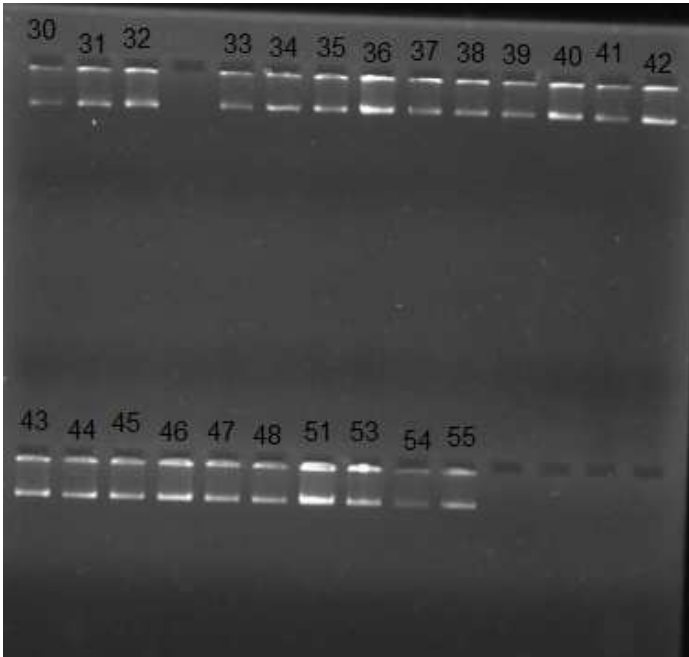
Tablo 10. Kontrol grubu ve hasta örnek numaraları.

Kontrol grubu Örnek no		Primer çifti		Hasta grubu Örnek no				
		SNP1,4,7 İçin kod	SNP18 İçin kod					
5	40	A	B	1	73	101	128	
10	41			2	74	102	130	
16	42			3	75	103	132	
17	43			4	76	104	135	
18	44			8	77	105	136	
19	45			11	78	106	145	
20	46			13	79	107	146	
21	47			14	80	108	148	
22	48			15	81	109	149	
23	51			49	82	110	150	
24	53			50	83	111	151	
25	54			52	84	113	152	
26	55			57	85	114	153	
27	56			58	86	115	154	
28	68			59	87	116	155	
29	69			60	88	117	156	
30	129			61	89	118	159	
31	133			62	90	119	160	
32	134			63	91	120	161	
33	138			64	92	121	162	
34	139			65	93	122	163	
35	140			66	95	123	164	
36	141			67	97	124		
37	142			70	98	125		
38	143			71	99	126		
39	158	Toplam:52		72	100	127		Toplam:100

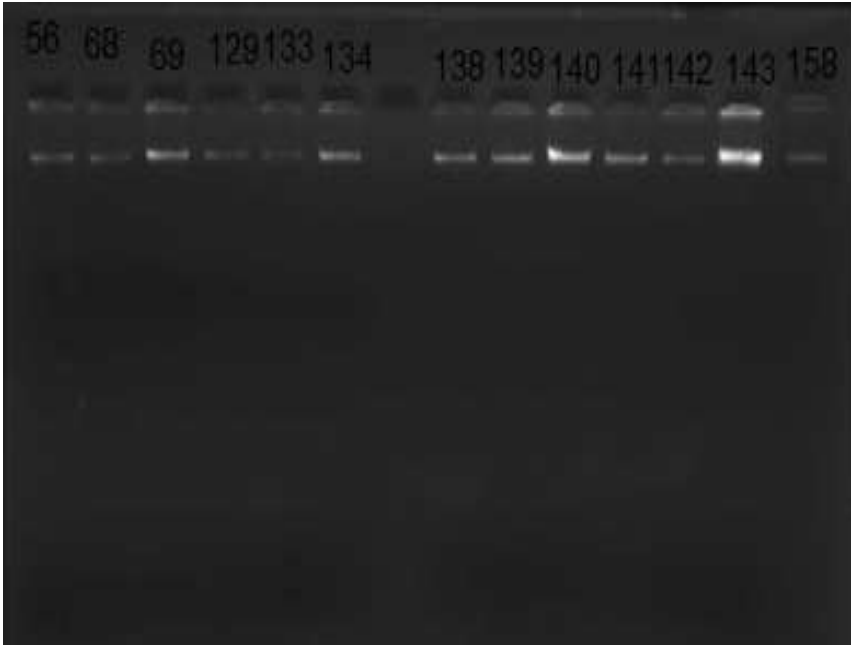
Aşağıdaki şekillerde DNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin jel elektroforez görüntüleri verilmiştir.



Şekil 10: Kontrol grubu DNA örnekleri 1



Şekil 11. Kontrol grubu DNA örnekleri 2



Şekil 12. Kontrol grubu DNA örnekleri 3



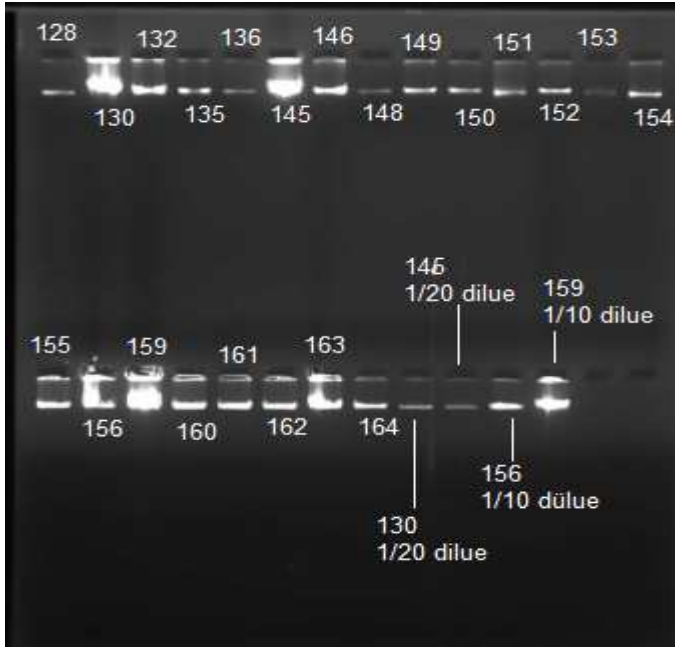
Şekil 13. Hasta grubu DNA örnekleri 1



Şekil 14. Hasta grubu DNA örnekleri 2



Şekil 15. Hasta grubu DNA örnekleri 3



Şekil 16. Hasta grubu DNA örnekleri 4

DNA izolasyonundan sonra stok primerler 100 pmol olacak şekilde sulandırılmıştır:

SNP 1, 4, 7 için kullanılan primer: A kodlu *RGS4* 147 (1075 bç)

SNP 18 için kullanılan primer: B kodlu *RGS4* 18 (1417 bç)

RGS4 147 primerini 100 pmol olacak şekilde sulandırmak için;

F: 803 µl su koyulmuştur.

R: 897 µl su konulmuştur.

RGS4 18 primerini 100 pmol olacak şekilde sulandırmak için;

F: 973 µl su konulmuştur.

R: 888 µl su konulmuştur.

Elde edilen DNA örnekleri DNA dizi analizi için hazır hale getirilmek üzere PCR yöntemiyle çoğaltılarak jelde yürütülmüş ve görüntüleri alınmıştır.

PCR' de kullanılan malzemeler, miktarları ve PCR protokolü aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

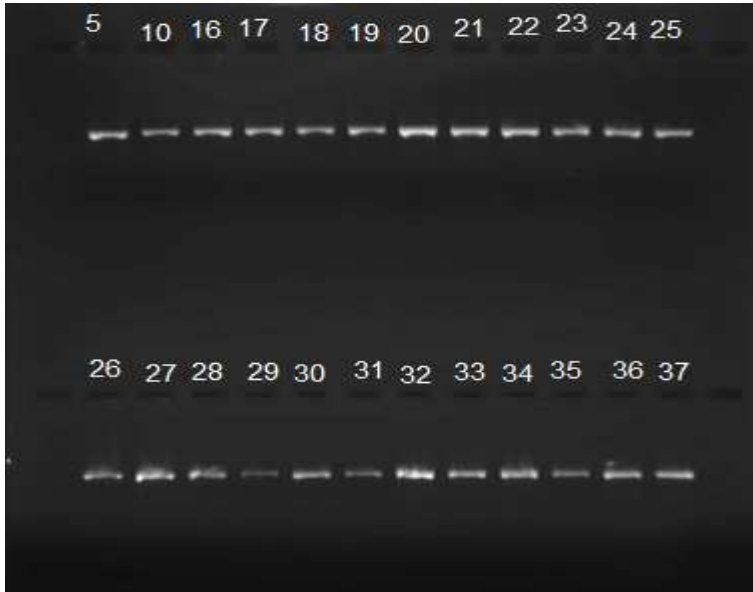
Tablo 11. PCR için kullanılan malzemeler ve miktarları

Total: 50 µl
dNTP: 1 µl
P₁: 2.6 µl
P₂: 2.6 µl
P.buffer + MgCl₂: 5 µl
FastStart Taq: 0.6 µl
Su: 36.2 µl
DNA: 2 µl

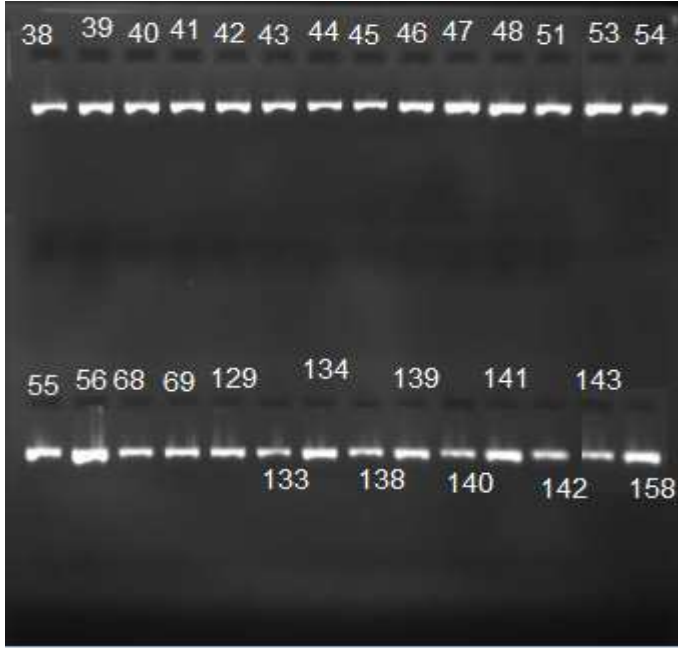
PCR protokolü:

95 °C' de 4 dakika
35 döngü
94 °C' de 30 saniye
65 °C' de 1 dakika 30 saniye
72 °C' de 7 dakika

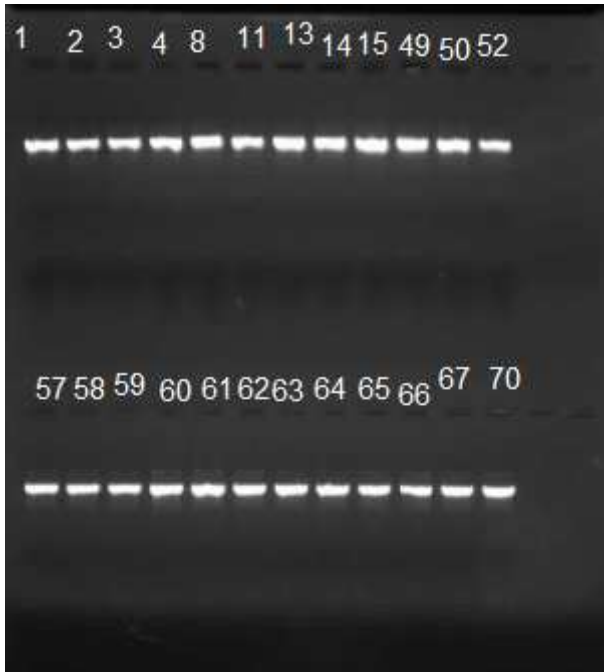
A ve B primer çiftleriyle PCR' ı yapılan kontrol grubu ve hasta olgularının jel elektroforez sonuçları şekillerde görüldüğü gibidir. % 2' lik agaroz jel dökülerek bütün PCR örneklerinden 5 µl yüklenmiştir.



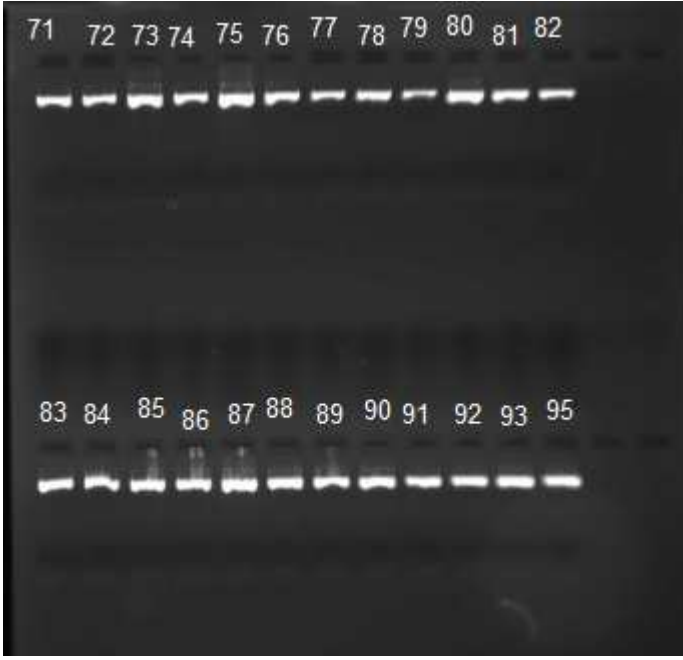
Şekil 17. A primeri kontrol grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 50 dakika).



Şekil 18. A primeri kontrol grubu PCR sonuçları 2 (120 V, 25 dakika).



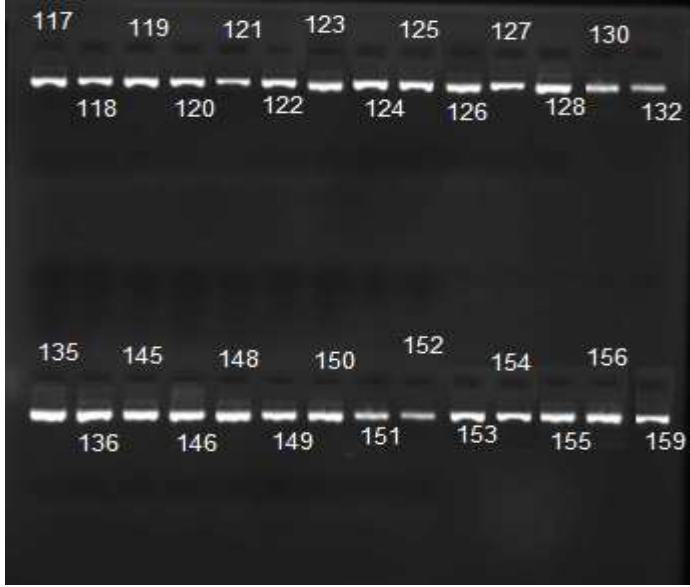
Şekil 19. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 45 dakika).



Şekil 20. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 2 (120 V, 30 dakika).



Şekil 21. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 3 (120 V, 20 dakika).



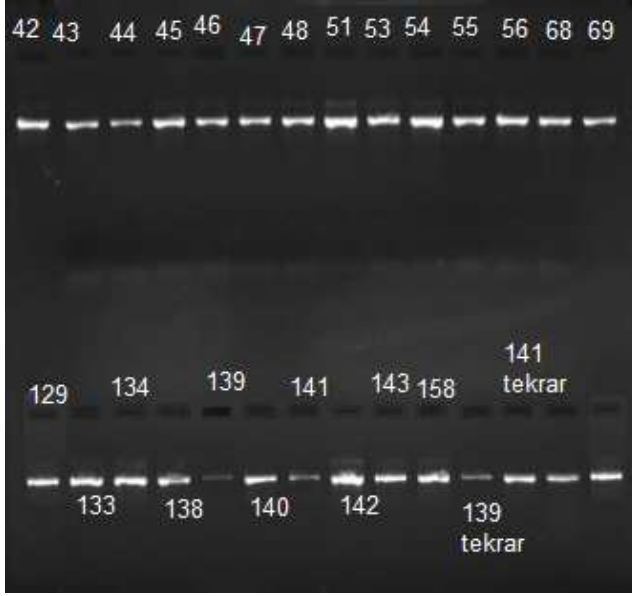
Şekil 22. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 4 (120 V, 30 dakika).



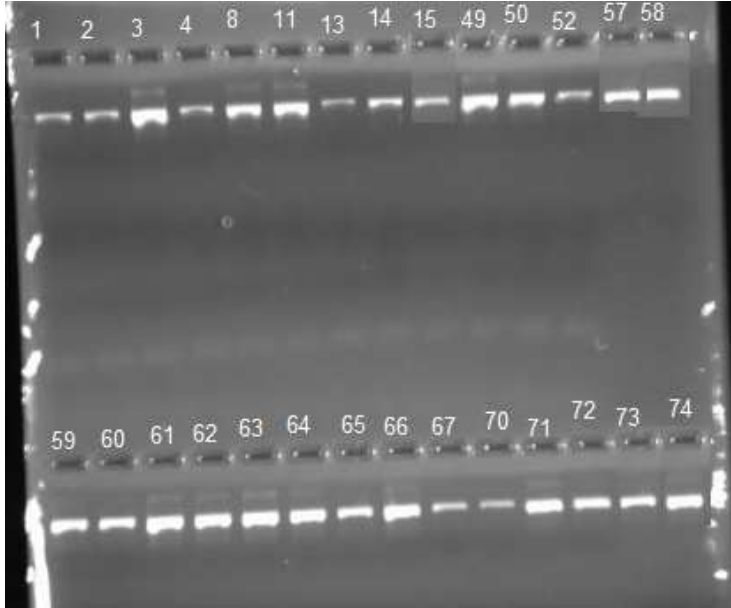
Şekil 23. A primeri hasta grubu PCR sonuçları 5 (120 V, 15 dakika).



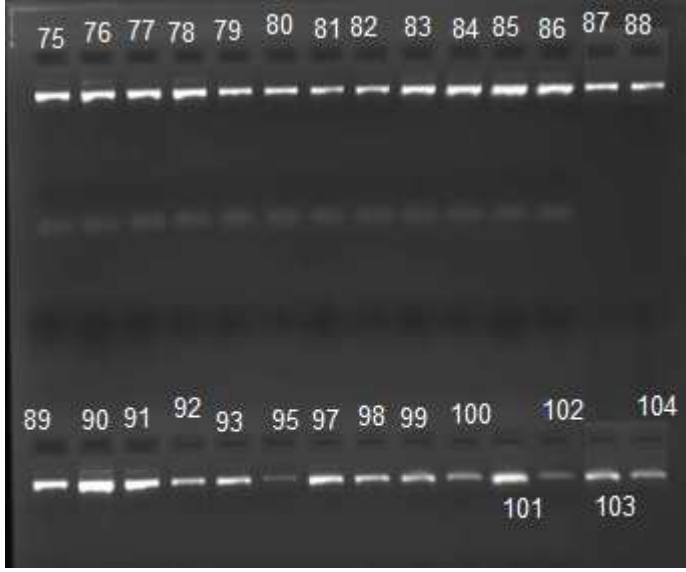
Şekil 24. B primeri kontrol grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 45 dakika).



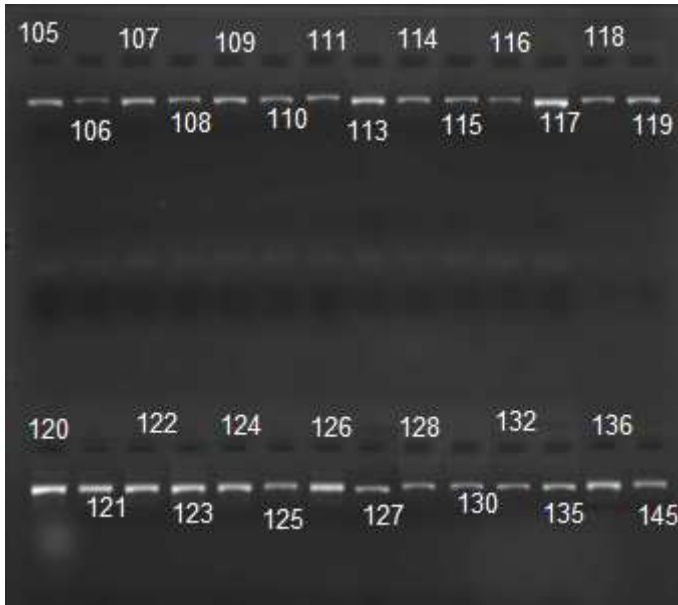
Şekil 25. B primeri kontrol grubu PCR sonuçları 2 (120 V, 50 dakika).



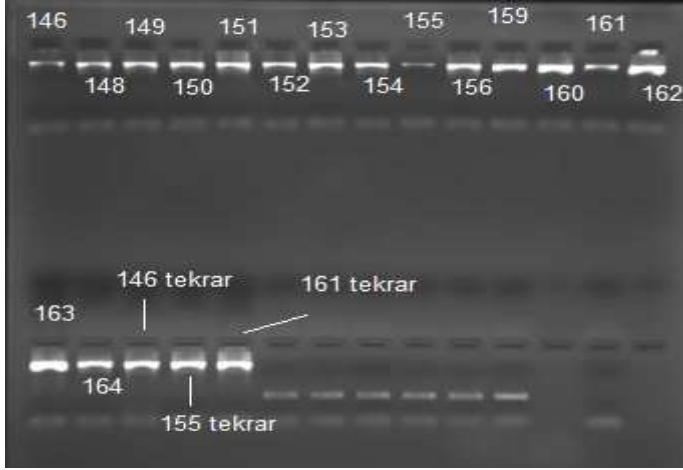
Şekil 26. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 1 (120 V, 40 dakika).



Şekil 27. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 2 (130 V, 30 dakika).



Şekil 28. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 3 (120 V, 30 dakika).



Şekil 29. B primeri hasta grubu PCR sonuçları 4 (130 V, 15 dakika).

Her bir primer çifti için, 52 kontrol ve 100 hastadan oluşan toplam 304 adet PCR örneği “MacroGen” firmasına (Kore) sekans analizine yollandı. Gelen sonuçlara göre dört SNP bölgesi incelendi. SNP1 analizinde, 52 kontrolün 27’ si heterozigot G/A, 16 sı homozigot GG, 9’ u homozigot AA bulunurken; 100 hastadan 51’ i heterozigot G/A, 19’ u homozigot GG, 30’ u homozigot AA bulunmuştur (Tablo 12). SNP4 analizinde, 52 kontrolün 28’ i heterozigot T/G, 14’ ü homozigot TT, 10’ u homozigot GG iken 100 hasta olgusundan 50’ si heterozigot T/G, 33’ ü homozigot TT, 17’ si homozigot GG olarak tespit edilmiştir (Tablo 13). SNP7 için; 52 kontrol grubundan 23’ ü heterozigot G/A, 21’ i homozigot GG, 8’ i homozigot AA bulunmuşken; 100 hastadan 53’ ü heterozigot G/A, 24’ ü homozigot GG, 23 ü homozigot AA bulunmuştur (Tablo 14). Son olarak SNP18 için yapılan değerlendirmede 52 kontrolden 27’ si heterozigot A/G, 10’ u homozigot AA, 15’ i homozigot GG iken 100 hastadan 48’ i heterozigot A/G, 33 ü homozigot AA, 19’ u homozigot GG olarak tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 12. SNP1 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi

	Toplam	Homozigot (AA)	Homozigot (GG)	Heterozigot (G/A)
Kontrol	52	9	16	27
Hasta	100	30	19	51

Tablo 13. SNP4 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi

	Toplam	Homozigot (GG)	Homozigot (TT)	Heterozigot (T/G)
Kontrol	52	10	14	28
Hasta	100	17	33	50

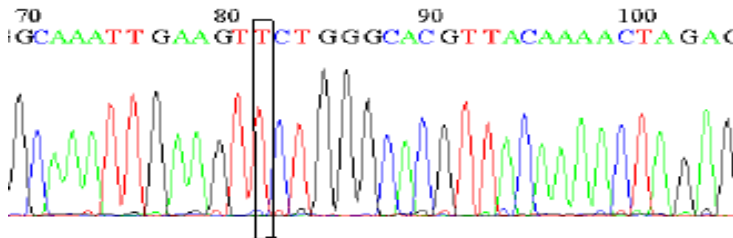
Tablo 14. SNP7 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi

	Toplam	Homozigot (AA)	Homozigot (GG)	Heterozigot (G/A)
Kontrol	52	8	21	23
Hasta	100	23	24	53

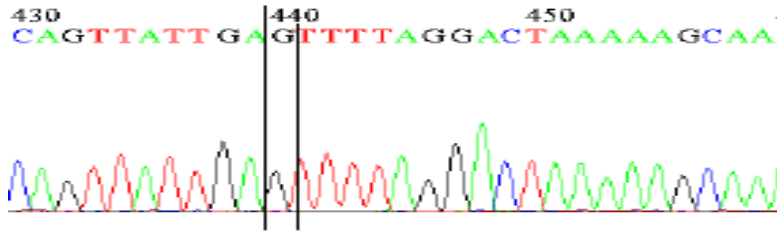
Tablo 15. SNP18 için kontrol ve hasta grubunun değerlendirilmesi

	Toplam	Homozigot (GG)	Homozigot (AA)	Heterozigot (A/G)
Kontrol	52	15	10	27
Hasta	100	19	33	48

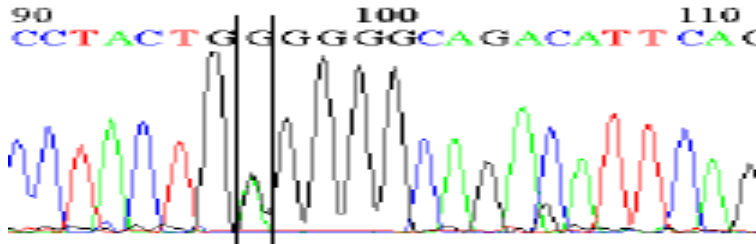
Aşağıdaki şekillerde bazı örneklerin sekans sonuçlarının grafik görüntüleri verilmiştir.

**Şekil 30.** SNP1 için dört numaralı hasta örneğinin forward iplik sekans görüntüsü²⁹

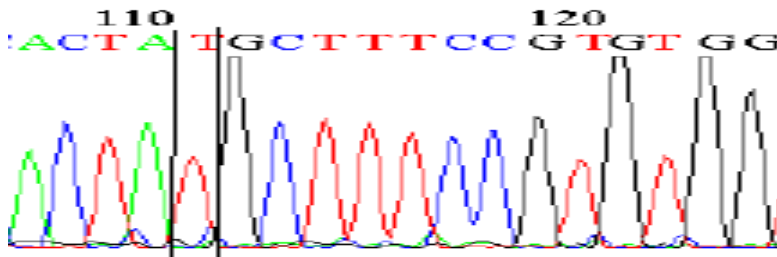
²⁹ 82' nci bazda, C yerine T bazı görülmektedir (birey genotipi; heterozigot CT).



Şekil 31. SNP4 için üç numaralı hasta örneğinin reverse iplik sekans görüntüsü³⁰



Şekil 32. SNP7 için 15 numaralı hasta örneğinin reverse iplik sekans görüntüsü³¹



Şekil 33. SNP18 için 11 numaralı hasta örneğinin forward iplik sekans görüntüsü³²

Tablo 16, 17, 18, 19' da, dört SNP bölgesi için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin sahip olduğu genotipler verilmiştir.

³⁰ 440' ıncı bazda, T yerine G bazı görülmektedir (birey genotipi; homozigot GG)

³¹ 97' nci bazda, olması gereken G bazının değişmediği görülmekle beraber A bazı ile tam çakıştığı görülmektedir (birey genotipi; heterozigot GA)

³² 112' nci bazda, olması gereken T bazının değişmediği görülmektedir (birey genotipi; homozigot TT)

Tablo 16. SNP1 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri

		Genotipler		
		Homozigot AA	Homozigot GG	Heterozigot G/A
SNP1 kontrol	Örnek No	18,22,34,38,40,41,43,56,69	5,10,26,27,28,30,31,33,35,37,45,46,47,48,134,140	16,17,19,20,21,23,24,25,29,32,36,39,42,44,51,53,54,55,68,129,133,138,139,141,142,143,158
SNP1 hasta	Örnek No	1,4,63,66,71,73,78,87,88,95,98,100,101,102,109,114,115,123,124,125,126,127,145,146,153,161,162,163,164	11,14,49,59,62,65,67,72,75,77,81,83,85,104,108,120,130,132,136,159	2,3,8,13,15,50,52,57,58,60,61,64,70,74,76,79,80,82,84,86,89,90,91,92,93,97,99,103,105,106,107,110,111,113,116,117,118,119,121,122,128,135,148,149,150,151,152,154,155,156,160

Tablo 17. SNP4 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri

		Homozigot GG	Homozigot TT	Heterozigot T/G
SNP4 kontrol	Örnek No	27,30,31,33,37,40,45,46,134,140,	18,22,25,26,38,43,44,54,65,69,129,141,142, 158,	5, 10,16, 17,19,20,21,23,24,28,29,32,34,35,36,39,41,42,47,48,51,53,55,56,133,138,139,143,
SNP4 hasta	Örnek No	49,59,67,72,75,77,78,81,85,120,124,130,132,136,159,161, 164	2,3,8,13,58,61,66,70,71,73,84,87,88,91,95,98,100,101,102,103,114,115,117,119,123,125,126,127,145,146,153, 162, 163	1,4,11,14,15,50,52,57,60,62,63,64,65,74,76,79,80,82,83,86,89,90,92,93,97,99,104,105,106,107,108,109,110,111,113,116,118,121,122,128,135,148,149,150,151,152 ,154,155,156,160,

Tablo 18. SNP7 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri

		Genotipler		
		Homozigot AA	Homozigot GG	Heterozigot G/A
SNP7 kontrol	Örnek No	18,22,23,24,36,43,69,158	10,21,26,27,28,30,31,32,33,34,35,37,38,40,41,45,46,47,48,134,140	5,16,17,19,20,25,29,39,42,44,51,53,54,55,56,68,129,133,138,139,141,142,143
SNP7 hasta	Örnek No	1,4,66,71,73,87,88,95,98,100,101,102,116,123,125,127,145,146,148,150,153,162,163	8,11,49,59,62,65,67,72,75,77,78,81,83,85,104,108,120,124,130,132,136,159,161,164	2,3,13,14,15,50,52,57,58,60,61,63,64,70,74,76,79,80,82,84,86,89,90,91,92,93,97,99,103,105,106,107,109,110,111,113,114,115,117,118,119,121,122,126,128,135,149,151,152,154,155,156,160

Tablo 19. SNP18 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan her bir bireyin genotipleri

		Genotipler		
		Homozigot GG	Homozigot AA	Heterozigot A/G
SNP18 kontrol	Örnek No	16,24,26,27,28,30,31,33,37,40,45,46,51,134,140	18,25,38,43,44,68,69,129,141,142	5,10,17,19,20,21,22,23,29,32,34,35,36,39,41,42,47,48,53,54,55,56,133,138,139,143,158
SNP18 hasta	Örnek No	1,2,49,59,67,72,75,77,78,81,85,120,124,130,132,136,159,161,164	11,14,15,58,66,70,71,73,84,87,88,91,95,98,101,102,103,114,116,117,119,123,125,126,127,145,146,148,150,151,153,162,163	3,4,8,13,50,52,57,60,61,62,63,64,65,74,76,79,80,82,83,86,89,90,92,93,97,99,100,104,105,106,107,108,109,110,111,113,115,118,121,122,128,135,149,152,154,155,156,160

Her bir SNP için hasta ve kontrol örneklerinin allel frekansı ve genotip dağılımları yapılarak p değerleri³³ ve risk oranları hesaplandı. Ayrıca allel ve genotip frekanslarını karşılaştırmak için χ^2 değerleri hesaplandı. Farklı allel ve genotiplerin popülasyonda görülmesinde anlamlı bir farkın olup olmadığı Hardy-Weinberg dengesi³⁴ hesaplanarak gösterildi (Tablo 20).

Tablo 20. Dört SNP için hasta ve kontrol örneklerinde allel frekansı ve genotip dağılımı ile Hardy-Weinberg dengesinin gösterilmesi

SNP Bölgeleri	Örnekler	N	Allel		P	Risk oranı (%95 CI)	Genotip			P	χ^2	HWE için P
			A	G			AA	GG	G/A			
SNP1	Kontrol	52	45(%43.3)	59(%56.7)	0.057	.1.64	9(%17.3)	16(%30.8)	27(%51.9)	0.12	0.17	0.67
	Hasta	100	111(%55.5)	89(%44.5)			30(%30.0)	19(%19.0)	51(%51.0)		0.10	0.74
			G	T			GG	TT	G/T			
SNP4	Kontrol	52	48(%46.2)	56(%53.8)	0.56	0.84	10(%19.2)	14(%26.9)	28(%53.9)	0.73	0.36	0.54
	Hasta	100	84(%42.0)	116(%58.0)			17(%17.0)	33(%33.0)	50(%50.0)		0.06	0.79
			A	G			AA	GG	A/G			
SNP7	Kontrol	52	39(%37.5)	65(%62.5)	0.06	.1.63	8(%15.4)	21(%40.4)	23(%44.2)	0.10	0.16	0.68
	Hasta	100	99(%49.5)	101(%50.5)			23(%23.0)	24(%24.0)	53(%53.0)		0.36	0.54
			G	A			GG	AA	G/A			
SNP18	Kontrol	52	57(%54.8)	47(%45.2)	0.066	0.62	15(%28.9)	10(%19.2)	27(%51.9)	0.14	0.12	0.72
	Hasta	100	86(%43.0)	114(%57.0)			19(%19.0)	33(%33.0)	48(%48.0)		0.04	0.83

SNP1 için; kontrol grubunu oluşturan 52 kişinin %56.7' si toplumda daha fazla gözükken G alleli, %43.3' ü A alleli taşıırken 100 hastadan %44.5' inde G alleli, %55.5 inde A alleli bulunmuştur. Yapılan hesaplamalar sonucu p değeri 0.05' ten küçük olmadığından (0.057), kontrol ve hasta grubu için toplumda G veya A allelinin olması açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. SNP1 için kontrol grubunu oluşturan

³³ p< 0.05 ise anlamlı kabul edilmiştir.

³⁴ Hardy-Weinberg dengesi için hesaplanan p< 0.05 ise Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu değildir.

bireylerin genotiplerine bakıldığında; %30.8' i GG genotipinde, %17.3' ü AA genotipinde, %51.9' u ise G/A genotipinde bulunurken, hasta bireylerin %19' u GG, %30' u AA, %51' i G/A genotipindedir. Kontrol ve hasta grubu için p değeri (0.12) 0.05' ten büyük olduğundan toplumda bu genotiplerin bulunmasında anlamlı bir farka ulaşılamamıştır. Yapılan Hardy-Weinberg dengesi hesaplamasında p değeri kontrol grubu için 0.67, hasta grubu için 0.74 bulunmuştur ($p > 0.05$).

SNP4 için; kontrol grubunun %53.8' inde T alleli, %46.2' sinde G alleli bulundu. Hasta grubunda ise %58 T alleli, %42 G alleli vardı. Kontrol ve hasta grubu için p değeri 0.56 iken risk oranı 0.84 olarak hesaplandı. Kontrol bireylerinde en fazla G/T genotipi (%53.9) bulundu. Ayrıca %19.2 oranında GG, %26.9 oranında TT genotipi görülürken, hasta olgularının %50' sinde G/T, %33' ünde TT, %17' sinde GG genotipi saptandı. Kontrol ve hasta grubu için p değeri 0.73 bulundu. Kontrol grubu için Hardy-Weinberg dengesi 0.54, hasta grubunda 0.79 olarak hesaplandı.

SNP7 için kontrol ve hasta grubunu oluşturan bireylerin allel frekansları hesaplandı. 52 kişiden oluşan kontrol grubunun %62.5' inde G alleli, %37.5' inde ise A alleli bulundu. Hasta grubundaki bireylerin %50.5' i G allele sahipken %49.5' inin A alleli taşıdığı saptandı. Kontrol ve hasta grubu için p değeri 0.06 iken risk oranı 1.63 bulundu. Ayrıca kontrol ve hasta grubunu oluşturan bireylerin genotipleri belirlenerek "yüzde hesabı" yapıldı. Kontrol grubunun %44.2' si A/G, %40.4' ü GG, %15.4' ü AA genotipindeydi. Hasta grubunun ise %53' ü A/G, %24' ü GG, %23' ü AA genotipinde bulundu. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin sahip olduğu genotipler için p değeri 0.73 bulundu. Hardy-Weinberg dengesi ise kontrol grubu için 0.68, hasta grubu için 0.54 olarak hesaplandı.

Son olarak SNP18 için kontrol ve hasta grubunun allel ve genotip yüzdeleri hesaplanarak p değerleri bulundu. Kontrol grubunun %45.2' si A alleli, %54.8' i G alleli taşıırken; hastaların %57' sinde A alleli, %43' ünde G alleli bulundu. Kontrol ve hasta grubu için p değeri 0.066 olarak hesaplandı. Genotip yüzdelerine bakıldığında; kontrol grubunun %51.9' u G/A, %19.2' si AA, %28.9' u GG genotipinde bulundu. Hastalarda ise %48 G/A, %33 AA, %19 GG genotipi görüldü. Kontrol ve hasta grubu için p değeri 0.14 bulundu. Hardy-Weinberg dengesi için hesaplanan p değeri ise kontrol grubu için 0.72, hasta grubu için 0.83 olarak hesaplandı.

5.TARTIŞMA

Araştırmada; 52 kontrol ve 100 şizofreni hastasının periferik kanları ile çalışıldı. Amaç, DNA izolasyonu yapıldıktan sonra PCR ile çoğaltılacak örneklerin sekans analizi yapıp dört SNP bölgesinin (SNP1, SNP4, SNP7, SNP18) allel ve genotip açısından şizofreni ile ilişkisi olup olmadığına bakılmasıydı.

DNA izolasyon çalışmaları sırasında üç farklı protokol uygulandı. Bunlardan biri olan “manuel protokol” çok uzun olduğundan çalışılacak materyal sayısı da göz önüne alınarak kullanılmadı. “NukleoSpin Blood L” kiti kullanılarak yapılan çalışmalarda da istenilen yoğunlukta DNA elde edilememesi ve kanların kolondan geçişi aşamasında donması gibi sorunlar nedeniyle verim alınamadığından “Roche DNA isolation kit for mammalian blood” kiti denendi. Hem yöntemin basitliği hem de iyi DNA kalitesinden dolayı bu protokolle DNA izolasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen DNA' lar jelde yürütülerek yoğunluklarına bakıldı ve gerekli görülenler dilüe edilerek aynı seviyeye getirilmeye çalışıldı.

PCR aşamasına geçildikten sonra malzeme miktarlarının ve protokolün optimizasyonu yapıldı. SNP1-4-7 için bir primer çifti, SNP18 için ise başka bir primer çifti kullanıldı. Sekansa gönderilmek üzere, her bir örnek için hazırlanan 50 µl' lik PCR ürününün 5 µl' si agaroz jelde yürütüldü. Kalan miktar ise analize gönderildi.

Sekans sonuçları alındıktan sonra dört SNP için bireylerin hangi allel ve genotipte oldukları bulunarak yüzdeleri ve p değerleri hesaplandı. Tüm SNP' ler için bulunan p değerleri 0.05' ten büyük çıktığından, hasta ve kontroller arasında SNP allel ve genotip dağılımlarında anlamlı bir farktan söz edilememekle birlikte üç SNP nin (SNP1, SNP7, SNP18) p değerleri (0.057, 0.06, 0.066) anlamlı bir sonuca ulaşmak için belirlenen aralığa ($p < 0.05$) çok yakın bulunmuştur. Eğer kontrol ve olgu sayısı arttırılırsa bu verilerin anlamlı bir sonuca dönüşme olasılığı vardır. Elde edilen verilerle haplotip çalışması yapılarak kesin sonuçlara ulaşılabilir. Ayrıca kontrol ve hastalar için Hardy-Weinberg dengesi yapılmış ve tüm p değerleri 0.05' ten büyük bulunmuştur. Bu da bize, dört polimorfizmin de Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu göstermiştir.

Literatüre baktığımızda, *RGS4* geninin dört SNP bölgesinde (SNP1, SNP4, SNP7, SNP18) yapılan allel ve genotip çalışmalarında farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Chen ve arkadaşları, İrlanda popülasyonunda yaptıkları araştırmada SNP4 ve SNP18' in önemli olduğunu gösteren anlamlı sonuçlara ulaşmışlardır (SNP4 için $p:0.02$; SNP18 için $p:0.007$). Ayrıca her iki SNP bölgesi için de etkilenmiş bireylerde G allelinin yüksek oranda bulunduğunu gözlemlemişlerdir (SNP4 için: %49.2; SNP18 için: %51.8) (54). Bizim çalışmamızda, SNP4 için hasta bireylerde G alleli %42, SNP18 için %43 bulunmuştur. Her iki SNP için de anlamlı bir farka ulaşamamıştır (SNP4 için $p: 0.56$; SNP18 için $p: 0.066$).

Talkowski ve arkadaşları, 2006' da Çin popülasyonunda yaptıkları 3486 hasta ve 3755 kontrolden oluşan geniş çaplı araştırmada, SNP4 bölgesi ile şizofreni arasında önemli bir ilişki saptamışlardır ($p: 0.01$). Özellikle SNP4 için G allelinin önemli olduğunu göstermişlerdir ($p: 0.002$) (51). Biz ise SNP4 için G alleliyle ilgili anlamlı bir sonuca ulaşamadık ($p: 0.73$).

Başka bir çalışmada Williams ve ark., Birleşik Krallık ve İrlanda' dan topladıkları hasta-kontrol örneklerinde, SNP4 için hasta grubunda daha fazla T alleli bulmuşlardır (54). Bizim çalışmamız, T allelinin (%58) daha fazla bulunması açısından bu çalışma ile paralel olmasına rağmen; p değerinin 0.56 hesaplanmasıyla anlamlı bir farkın bulunmaması ve allelik ilişkisinin gösterilemeyişiyle ters düşmektedir.

Uyum gösteren çalışmaların aksini iddia eden çalışma sayısı da az değildir ve daha yüksek örnek sayılarıyla yapılmışlardır (Tablo 21).

Tablo 21. *RGS4*' te dört SNP bölgesiyle şizofreni ilişkisinin hasta-kontrol çalışmaları³⁵

		<i>N</i>		1		4		7		18	
		Case	Control	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
Williams et al. 2003	Caucasians, UK or Ireland	709	710	0.95	0.82-1.11	1.20	1.03-1.40	0.92	0.79-1.07	1.1	0.95-1.28
Morris et al. 2004	Irish	196	231	1.33	1.01-1.75	0.79	0.60-1.03	1.34	1.02-1.76	1.22	0.93-1.60
Cordeiro et al. 2004	Brazilian	271	576	1.03	0.83-1.26	0.97	0.79-1.20	1.03	0.84-1.27	1.09	0.88-1.34
Sobell et al. 2005	Caucasians, USA	568	689	1.14	0.97-1.34	0.93	0.80-1.10	1.14	0.97-1.34	1.05	0.90-1.23
Zhang et al. 2005	Scottish	580	620	0.85	0.72-1.00	1.18	1.00-1.38	0.78	0.66-0.92	0.85	0.73-1.00
Rizig et al. 2006	UK	450	450	-	-	1.02	0.85-1.24	1.02	0.84-1.23	0.97	0.80-1.18
Our data	Chinese	288	288	1.06	0.84-1.34	0.82	0.65-1.04	1.12	0.88-1.41	1.03	0.82-1.31
Pool 1		3062	3564	1.03	0.92-1.16	1.00	0.89-1.12	1.02	0.90-1.15	1.02	0.95-1.10
Pool 2		2774	3276	1.03	0.90-1.18	1.03	0.91-1.15	1.01	0.88-1.16	1.02	0.95-1.10

³⁵ Guo S, Tang W, Shi Y, Huang K, et al. *RGS4* polymorphisms and risk of schizophrenia: An association study in Han Chinese plus meta-analysis. *Neuroscience Letters*. 2006; 406: 122-127.

Japonya’ da 1918 hasta ve 1909 kontrol ile dört SNP bölgesi için yapılan bir çalışmada, hasta ve kontroller arasında SNP allel ve genotip dağılımlarında önemli bir fark elde edilememiştir (51).

Diğer bir araştırmada Guo ve arkadaşları, SNP4 ile ilgili olumlu sonuçları içeren diğer çalışmalardan yola çıkarak bu bölgeyi araştırmış; ancak bir ilişki gösterememişlerdir (OR: 1.19, p: 0.11) (51).

Cheong ve arkadaşlarının Çin popülasyonunda 504 hasta ve 531 kontrol ile yaptıkları çalışmada, SNP4 ve SNP18’ in SNP1 ve SNP7’ ye göre daha dikkate değer bir bölge olduğunu göstermelerine rağmen, dört SNP bölgesi için anlamlı bir farka ulaşamadıklarından şizofreni ile pozitif bir ilişki kuramamışlardır (55).

288 hasta ve 288 kontrol ile Çin’ de yapılan araştırmada da allel frekansı ve genotip açısından önemli bir fark elde edilememiş, dört SNP ile şizofreni arasında önemli bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (62).

Çalışmamızın sonuçları, *RGS4* polimorfizminin şizofreni riskine etki ettiği hipotezini desteklememektedir. Ancak SNP bölgeleri ile şizofreni arasındaki ilişki genelde haplotip çalışmalarıyla gösterildiğinden, haplotiplendirme yapılarak daha sağlıklı sonuçlara ulaşılabilir. Ayrıca PANSS’ den elde edilen veriler SNP’ ler açısından değerlendirilip SNP’ ler ile klinik bulguların karşılaştırması yapılabilir, klinik açıdan daha fazla öngörüye ulaşılabilir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, DNA izolasyonu yapıldıktan sonra PCR ile çoğaltılan örnekler sekans analizi ile değerlendirildi. SNP1, SNP4, SNP7 ve SNP18 bölgelerinin hasta ve kontrol grubundaki allel frekansı ve genotip oranları bulunduğundan sonra p değerleri hesaplanarak şizofreni ile ilişkisine bakıldı. Araştırma sonucunda, allel frekansları için hesaplanan p değeri; SNP1 için 0.057, SNP4 için 0.56, SNP7 için 0.06, SNP18 için 0.066 bulunmuştur. Genotip oranlarına bakılarak hesaplanan p değeri ise; SNP1 için 0.12, SNP4 için 0.73, SNP7 için 0.10, SNP18 için 0.14' tür. Ayrıca her bir SNP için kontrol ve hasta grubunda Hardy-Weinberg dengesine bakılmıştır. Kontrol grubunda SNP1 için 0.67, SNP4 için 0.54, SNP7 için 0.68, SNP18 için 0.72 bulunan p değerleri hasta grubunda SNP1 için 0.74, SNP4 için 0.79, SNP7 için 0.54, SNP18 için 0.83 olarak hesaplanmıştır. Bu da bize tüm örneklerimizin Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu gösterdi.

Elde ettiğimiz bu verilere bakıldığında, hasta ve kontrol grubu arasında SNP allel ve genotip dağılımlarında anlamlı bir fark elde edilemediğinden SNP bölgeleri ile şizofreni arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır.

Konvansiyonel yöntem kullanılarak DNA izolasyonu yapılsaydı daha ekonomik olabilirdi ve optik dansitesi daha iyi olan DNA' lar elde edilebilirdi. Kit kullanılarak zamandan tasarruf amaçlandı. Bundan başka; örnek sayısı arttırılabilir, daha kesin sonuçlara ulaşabilmek için haplotip çalışması yapılabilir, her SNP için hasta bireylerin genotipleri ile klinik ve nörobilişsel profiller karşılaştırılabilir, dört SNP için *RGS4* genotiplerinin şizofreniye aday diğer genlerle ilişkisi olup olmadığına bakılabilir.

7.KAYNAKLAR

1. Goldner EM, Hsu L, Waraich P, Somers JM. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: A systematic review of the literature. *Can J Psychiatry*. 2002; 47(9): 833-43.
2. Kelly J, Murray RM, Os J Van. The outcome of psychotic illness. In *comprehensive care of schizophrenia*. Eds: Lieberman JA, Murray RM. Martin Dunitz London 2001 p: 37-58.
3. Kendler KS, Diehl SR: The genetics of schizophrenia: A current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr Bull*. 1993; 19: 261–285.
4. Cardno AG, Gottesman II: Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to Star Wars Mx and functional genomics. *Am J Med Genet*. 2000; 97: 12–17.
5. Vilella E, Costas J, Sanjuan J, Guitart M, et al. Association of schizophrenia with DTNBP1 but not with *DAO*, *DAOA*, *NRG1* and *RGS4* nor their genetic interaction. *Journal of Psychiatric Res*. 2007
6. Riley B, Kendler KS. Molecular genetics studies of schizophrenia. *European J of Human Gen*. 2006; 14: 669-680
7. Levitt P, Ebert P, Mirnics K, Nimgaonkar VL, et al. Making the case for a candidate vulnerability gene in schizophrenia: Convergent evidence for Regulator of G-Protein Signaling 4 (*RGS4*). *Biol Psychiatry*. 2006; 60: 534-537.
8. Buckholtz JW, Linderberg AM, Honea RA, Straub RE, et al. Allelic variation in *RGS4*: Impacts functional and structural connectivity in the human brain. *The JNeurosci*. 2007 Feb 27(7): 1584-1593.
9. Talkowski ME, Seltman H, Bassett AS, Brzustowicz LM, et al. Evaluation of susceptibility gene for schizophrenia: Genotype based meta-analysis of *RGS4* polymorphism from thirteen independent samples. *Biol Psychi*. 2006; 60: 152-162.
10. Gibbons AS, Scarr E, McOmish CE, Hannan AJ, et al. Regulator of G-protein signaling 4 expression is not altered in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Australian and New Zeland JPsychi*. 2008; 42: 740-745.

11. Simon H. Schizophrenia. Review. 2009.
12. <http://www.ruki.org/schizophel.htm>
13. <http://www.schizophrenia.com/szfacts.htm>
14. Öztürk M. Ruh sağlığı ve bozuklukları. Onuncu basım. Ankara, Nobel Tıp Kitabevi, 2004.
15. Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO. Textbook of schizophrenia. First Edition. United States of America, American Psychiatric Publishing, 2006.
16. <http://www.steteskop.net/News-file-article-sid-150.html>
17. <http://www.schizophrenia.com/history.htm>
18. Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. Schizophrenia Res. 2008; 102: 1-18.
19. Ceylan ME. Araştırma ve klinik uygulamada biyolojik psikiyatri. Birinci baskı, Birinci Cilt, İstanbul, 1993.
20. Galderisi S, May M. Deficit schizophrenia: An overview of clinical, biological and treatment aspect. EURPSY. 2009.
21. Torrey EF, Yolken RH. Toxoplasma gondii and schizophrenia. Emerg Infect Dis [serial online] Nov 2003 [date cited]. URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no11/03-0143.htm>
22. Stefan M, Travis M, Murray RM. An atlas of schizophrenia. Fourth Edition. United States of America, The Parthenon Publishing Group, 2002.
23. <http://www.schizophrenia.com/prevention/streetdrugs.html>
24. Bertolino A, Blasi G. The genetics of schizophrenia. Neuroscience. 2009
25. Bertram L. Genetic research in schizophrenia: New tools and future perspectives. Schizophr Bull. 2008; 34: 806-812.
26. <http://www.terapistim.com/kitap/DSMveICDnedir.html>
27. http://www.saglikliyasam.gov.tr/index.php?option=com_k2&view=item&id=574:%C5%9Fizofreni&Itemid=131
28. Küçük MU. Şizofrenili hastalarda periferik kan lenfositlerindeki (PBL) DRD3 geni mRNA düzeyleri ile DRD3 SER9 GLY polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması. Mersin, Mersin Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik ADB, Doktora tezi, 2006.

- 29.Lang UE, Puls I, Müller DJ, Seeböhm NS, et al. Molecular mechanism of schizophrenia. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20: 687-702.
- 30.Keshavan MS, Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA. Schizophrenia, “just the facts”: What we know in 2008. Part 3: Neurobiology. *Schizophrenia Res*. 2008; 106: 89-107.
- 31.Kapur S, Lecrubier Y. Dopamine in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. First edition. United States of America, Taylor and Francis group, 2003.
- 32.METE L. Şizofreni, En Uzak Ülke. Birinci baskı. İstanbul, İletişim Yayıncılık, 1998.
- 33.Iqbal N, Goldsamt LA, Schwartz B. Serotonin and schizophrenia. *Psychiatric Annals*. 1993.
- 34.Sharma T, Chitnis X. Brain imaging in schizophrenia: Insights and application. Second Edition. United States of America, Remedica Publishing, 2001.
- 35.Ross CA, Margolis RL, Reading SAJ, Pletnikov M, et al. Neurobiology of schizophrenia. *Neuron* 2006; 52: 139-153.
- 36.Miyamoto S, LaMantia AS, Duncan GE, Sullivan P, et al. Recent advantages in the neurobiology of schizophrenia. *Schizophrenia Bull*. 2003; 3(1): 24-39.
- 37.Lieberman JA. Is schizophrenia a neurodegenerative disorder? A clinical and neurobiological perspective. *Biol. Psychiatry* 1999; 46: 729-739.
- 38.Lipska BK. Using animal models to test a neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci*. 2004; 29(4): 282-6.
- 39.Rund BR. Is schizophrenia a neurodegenerative disorder? *Nord J Psychiatry* 2009; 63: 196-201.
- 40.Chan WY, Chia MY, Yang GL, Woon PS, et al. Duration of illness, regional brain morphology and neurocognitive correlates in schizophrenia. *Ann Acad Med Singapore*. 2009; 38: 388-395.
- 41.Bassitt DP, Neto MRL, Castro CC, Busatto GF. Insight and regional brain volumes in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2007; 257: 58-62.
- 42.Williams NM, Preece A, Spurlock G, Norton N, et al. Support for *RGS4* as a susceptibility gene for schizophrenia. *Biol Psychi*. 2004; 55: 192-195.

43. Liddle P, Pantelis C. Brain imaging in schizophrenia. In: Hirsch SR and Weinberger DR (Eds.), Schizophrenia. Blackwell Publishing, Malden, MA, 2003; pp. 403–417.
44. McCarley RW, Wible CG, Frumin M, Hirayasu Y, et al. MRI anatomy of schizophrenia. Biol Psychiatry, 1999; 45: 1099–1119.
45. The European Network of Schizophrenia Networks for the Study of Gene-Environment Interactions (EU-GEI). Schizophrenia Res. 2008; 102: 21-26.
46. Kirov G, O'Donovan MC, Owen MJ. Finding schizophrenia genes. The J of Clinical Investigation. 2005; 115: 6.
47. Sadock BJ, Sadock VA. Kaplan&Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry (2 Volume Set). 7th Edition. Chapter 14. United Kingdom, Lippincott Williams&Wilkins Publishers, 2000.
48. Taner E. Şizofreninin genetiği. Şizofreni Dizisi. 1999; 3: 94-101.
49. Karayiorgou M, Gogos JA. Schizophrenia genetics: Uncovering positional candidate genes. Eur J Human Genetics. 2006; 14: 512-519.
50. Chowdari KV, Bamne M, Wood J, Talkovski ME, et al. Linkage disequilibrium pattern and functional analysis of *RGS4* polymorphism in relation to schizophrenia. Schizophrenia Bull. 2008; 34(1): 118-126.
51. Ishiguro H, Horiuchi Y, Koga M, Inada T, et al. *RGS4* is not a susceptibility gene for schizophrenia in Japanese: Association study in a large case-control population. Schizophrenia Res. 2007; 89: 161-164.
52. Larminie C, Murdock P, Walhin JP, Duckworth M, et al. Selective expression of regulators of G-protein signaling (RGS) in the human central nervous system. Mol Brain Res. 2004; 122: 24-34.
53. Ding L, Mychalecky JC, Hedge AN. Full length cloning and expression analysis of splice variants of regulator of G-protein signaling *RGS4* in human and murine brain. Gene 2007; 401: 46-60.
54. Chen X, Dunham C, Kendler S, Wang X, et al. Regulator of G-Protein Signaling 4 (*RGS4*) gene is associated with schizophrenia in Irish high density families. Neuropsych Gen. 2004; 129B: 23-26.

55. So HC, Chen RYL, Chen EYH, Cheung EFC, et al. An association study of *RGS4* polymorphisms with clinical phenotypes of schizophrenia in a Chinese population. *Neuropsychiatric Genetics*. 2008; 147B:77-85.
56. Ding L, Hedge AN. Expression of *RGS4* splice variants in dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenic and bipolar disorder patients. *Biol Psychiatry*. 2009; 65: 541-545.
57. Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD, Lewis DA, et al. Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (*RGS4*) expression in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*. 2001; 6: 293-301.
58. Erdely HA, Tamminga CA, Roberts RS, Vogel MW. Regional alterations in *RGS4* Protein in Schizophrenia. *Synapse*. 2006; 59: 472-479.
59. Colantuoni C, Hyde TM, Mitkus S, Joseph A, et al. Age-related changes in the expression of schizophrenia susceptibility genes in the human prefrontal cortex. *Brain Struct. Funct.* 2008; 213: 255-271.
60. yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_dizi.pdf
61. yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_sekansteknikleri.pdf
62. Guo S, Tang W, Shi Y, Huang K, et al. *RGS4* polymorphisms and risk of schizophrenia: An association study in Han Chinese plus meta-analysis. *Nuroscience Letters*. 2006; 406: 122-127.

8.EKLER

EK 1. Şizofreni için DSM-IV-TR Tanı Ölçütleri (15)

A. Karakteristik belirtiler: Bir ay boyunca (eğer başarıyla tedavi edilmişse daha kısa sürede) aşağıdakilerden iki ya da daha fazlasının olması:

- Sanrılar
- Varsanılar
- Dezorganize konuşma (tekrar hatırlamada dağınıklık veya bilgileri toplayamama)
- İleri derecede dezorganize ya da donakalım davranış
- Negatif septomlar (duygusal yoksunluk, konuşmada fakirleşme ya da istek azlığı)

Not. Eğer sanrılar garipse ya da varsanılar kişinin davranış veya düşüncelerine yorum yapan seslerden oluşuyorsa ya da iki veya daha fazla sesin konuşmasından oluşuyorsa A belirtilerinden yalnızca birinin olması gereklidir.

B. Sosyal/mesleki bozulma: İş, kişilerarası ilişkiler ya da kendine bakım gibi bir veya birden fazla alan bozulma veya gerileme

C. Süre: Bozukluğun belirtileri en az altı ay boyunca devam eder. Bu altı aylık süre, A belirtilerini en az bir ay içermelidir ve prodromal ve rezidüel belirtileri kapsayabilir. Bu prodromal ve rezidüel belirtiler boyunca, yalnızca negatif belirtiler ya da A belirtileri listesinden iki ya da daha fazla belirtili görülebilir.

D. Şizoafektif ve duygudurum bozukluğunun dışlanması: Psikotik özelliklere sahip şizoafektif bozukluk ve duygudurum bozukluğu dışlanmalıdır.

- Majör depresif, manik ve karışık olaylar aktif faz belirtileriyle aynı anda olmamalıdır.
- Eğer duygudurum bozuklukları aktif faz belirtileri sürecinde meydana gelirse, aktif ve rezidüel bölümlerdeki toplam süreleri kısa olmalıdır.

E. Madde kullanımı/genel tıbbi durumun dışlanması: Bozukluk, madde kullanımının ya da genel bir tıbbi durumun fizyolojik etkilerinden kaynaklanmaz.

F. Yaygın gelişimsel bozukluk: Otistik bozukluk yada diğer yaygın gelişimsel bozukluk geçmişte varsa, en az bir ay süreyle belirgin sanrı veya varsanılar varsa şizofreni hastalığına dahil edilir.

EK 2. Şizofreni için ICD-10 Tanı Ölçütleri (15)

I. Bir psikotik rahatsızlıkta liste birde belirtilen belirtilerden en az biri yada liste ikideki belirtilerinden en az ikisi en az bir ay boyunca uzun bir zaman devam etmelidir.

1. En az biri olmalıdır:

- A. Yansıma düşünceler, düşünce sokulması ya da geri çekilmesi ya da düşüncenin yayınlanması
- B. Kontrol edilme, etkilenme ya da pasiflik sanrıları, beden hareketlerine veya özel düşüncelere, faaliyetlere ait olabilir; sanrısız algılama
- C. Hastanın davranışına yön veren ya da hasta hakkında kendi aralarında tartışan işitsel varsanılar veya vücudun başka bölümlerinde gelen başka varsanısız sesler
- D. Kültüre uygunsuz ve tamamen olağandışı sanrılar

2. Veya aşağıdakilerden en az ikisi

- A. En az bir ay boyunca her gün duygusal içerikten yoksun ya da sürekli aşırı değerlilik fikirleriyle birlikte görülen bir şekli olmayan sürekli varsanılar
- B. Neolojizm, düşüncelere ekleme yapılması sonucunda tutarsız ya da düzensiz konuşma
- C. Heyecan, duruş veya balmumu esnekliği, karşı gelme eğilimi, sessizlik ya da bilinçsizlik gibi donakalım davranış
- D. İstek kaybı, konuşma fakirliği, ve körelme ya da duygusal yanıtta uyumsuzluk gibi negatif belirtiler

II. Dışlama nedenleri

- A. Eğer hasta manik veya depresif kısım belirtilerini karşılırsa, yukarıdaki bir iki kriterlerinin duygudurum bozukluğunun gelişiminden önce görülmesi gerekir.
- B. Bozukluk, organik beyin hastalığı, alkol kullanımı veya ilaç intoksikasyonu bağımlılık veya eksikliğine dayandırılmaz.

EK 3. Şizofrenide kullanılan DSM-IV-TR ile ICD-10 Tanı Ölçütleri Karşılaştırması
(15)

	DSM-IV-TR	ICD-10
Belirtilerin süresi	Bir aydan fazla; prodromal veya rezidüel özellikler en az altı ay	Bir aydan fazla
Karakteristik belirtileri	Garip sanrılar, sesler paylaşma ya da işitme	Kontrol edilme sanrıları, sanrısız algı, sesler paylaşma/işitme ya da vücudunun bir yerinden sesler gelmesi
Daha az özel diğer belirtiler	Diğer sanrılar, diğer varsanılar, dezorganize konuşma, ağır dezorganize ya da donakalım davranış, negatif belirtiler	Sürekli varsanılar, düşünce bozukluğu, donakalım, negatif belirtiler, kişilikte önemli değişimler
Duygusal belirtiler	Kısa	Psikotik belirtileri takip etmeli
Sosyal/mesleki bozulma	Bir veya daha fazla alanda bozukluk	N/A
Dışlama kriterleri	Şizoafektif veya duygudurum bozukluğu, kötü madde kullanımı veya genel ilaç durumları, yaygın gelişimsel hastalıklar	Şizoafektif veya duygudurum bozuklukları, ilaç intoksikasyonu ya da yoksunluğu, beyin hastalığı

EK 4. Şizofrenide Negatif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği (SANS) (15)

Duygusal düzleşme ve körelme	
1. Değişmeyen donuk yüz ifadesi	0 1 2 3 4 5
2. Doğal hareketlerde azalma	0 1 2 3 4 5
3. Anlamlı jest ve hareketlerin azlığı	0 1 2 3 4 5
4. Zayıf göz teması	0 1 2 3 4 5
5. Duygusal yoksunluk	0 1 2 3 4 5
6. Ses tonundaki yoksunluk	0 1 2 3 4 5
7. Evrensel olarak duygusal düzleşme	0 1 2 3 4 5
Konuşma yitimi	0 1 2 3 4 5
1. Konuşmada yoksunluk	0 1 2 3 4 5
2. Konuşma içeriğinde bozukluk	0 1 2 3 4 5
3. Engelleme	0 1 2 3 4 5
4. Yanıt verme süresinde artma	0 1 2 3 4 5
5. Evrensel olarak konuşma yitimi	0 1 2 3 4 5
İstek azlığı – Anlamsız yüz görünümü	0 1 2 3 4 5
1. Üst baş özeni ve temizlik	0 1 2 3 4 5
2. İş veya okulda devamsızlık	0 1 2 3 4 5
3. Fiziksel enerjide azalma	0 1 2 3 4 5
4. Evrensel olarak istek azlığı ve anlamsız yüz görünümü	0 1 2 3 4 5
Zevk alamama – Asosyalite	0 1 2 3 4 5
1. Yaratıcı ilgi ve aktiviteler	0 1 2 3 4 5
2. Seksüel ilgi ve aktivite	0 1 2 3 4 5
3. Yakınlık ve dostluk kurma yeteneği	0 1 2 3 4 5
4. Arkadaş ve eş ile ilişkiler	0 1 2 3 4 5
5. Evrensel olarak zevk alamama ve asosyalite	0 1 2 3 4 5
Dikkat	
1. Sosyal dikkatsizlik	0 1 2 3 4 5
2. Testler sırasındaki dikkatsizlik	0 1 2 3 4 5
3. Evrensel olarak dikkat	0 1 2 3 4 5

EK 5. Şizofrenide Pozitif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği (SAPS) (15)

VARSANILAR

- | | |
|------------------------------------|-------------|
| 1. İşitsel varsanılar | 0 1 2 3 4 5 |
| 2. Yorumlayıcı sesler | 0 1 2 3 4 5 |
| 3. Aralarında konuşan sesler | 0 1 2 3 4 5 |
| 4. Bedensel ve dokunsal varsanılar | 0 1 2 3 4 5 |
| 5. Koku varsanıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 6. Görsel varsanılar | 0 1 2 3 4 5 |
| 7. Evrensel olarak varsanılar | 0 1 2 3 4 5 |

SANRILAR

- | | |
|--------------------------------------|-------------|
| 1. Kötülük görme sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 2. Kıskançlık sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 3. Günahkarlık ve suçluluk sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 4. Büyüklük sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 5. Dini sanrılar | 0 1 2 3 4 5 |
| 6. Bedensel sanrılar | 0 1 2 3 4 5 |
| 7. Alınma sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 8. Kontrol edilme sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 9. Akıl okuma sanrıları | 0 1 2 3 4 5 |
| 10. Düşünce yayınlanması | 0 1 2 3 4 5 |
| 11. Düşünce sokulması | 0 1 2 3 4 5 |
| 12. Düşünce çekilmesi | 0 1 2 3 4 5 |
| 13. Evrensel olarak sanrılar | 0 1 2 3 4 5 |

GARİP DAVRANIŞ

- | | |
|--|-------------|
| 1. Kılık kıyafet | 0 1 2 3 4 5 |
| 2. Sosyal ve seksüel yoksunluk | 0 1 2 3 4 5 |
| 3. Agresif ve tahrik edici davranışlar | 0 1 2 3 4 5 |
| 4. Tekrarlayan veya basmakalıp davranışlar | 0 1 2 3 4 5 |
| 5. Evrensel olarak garip davranışlar | 0 1 2 3 4 5 |

POZİTİF DÜŞÜNCE BOZUKLUĞU

- | | |
|--|-------------|
| 1. Düşüncenin raydan çıkması | 0 1 2 3 4 5 |
| 2. Teğetleme | 0 1 2 3 4 5 |
| 3. Tutarsızlık | 0 1 2 3 4 5 |
| 4. Mantıkdışılık | 0 1 2 3 4 5 |
| 5. Çevresel konuşma | 0 1 2 3 4 5 |
| 6. Argo konuşma | 0 1 2 3 4 5 |
| 7. Çelinebilir konuşma | 0 1 2 3 4 5 |
| 8. Ses çağırışım | 0 1 2 3 4 5 |
| 9. Evrensel olarak pozitif düşünce bozukluğu | |

EK 6: Pozitif ve Negatif Semptom Skalası (PANSS) (15)

Pozitif Belirtiler

1. Delüzyonlar
2. Dağınıklık
3. Halüsinasyon
4. Heyecan, coşku
5. Muhteşemlik
6. Şüphencilik
7. Düşmanlık

Negatif Belirtiler

1. Duygu körelmesi
2. Duygusal yoksunluk
3. İlişkilerde zayıflık
4. Sosyal gerilik, pasif olma
5. Pratik düşünmede zorluk
6. Sohbet akıcılıktan yoksun olmak
7. Tekdüze düşünme

Genel Psikopatolojik Belirtiler

1. Bedensel şikayet
2. Kaygı
3. Suçluluk duygusu
4. Gerginlik
5. Yapmacıklık
6. Depresyon
7. Motor retardasyon
8. Yardımseverlikten yoksun olmak
9. Alışılmadık düşünce içeriği
10. Uyum sağlayamama
11. Dikkat eksikliği
12. Anlama ve tahminde zayıflık
13. İrade bozukluğu
14. Dürtü kontrolünde zayıflık
15. Endişe
16. Sosyal açıdan geri çekilme

EK 7: Sağlıklı kontroller için bilgilendirilmiş onam formu

Bu formu lütfen dikkatle okuyun. Yapmakta olduğumuz araştırma hakkında bilgiler içeren bu form, bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermenize yardımcı olacaktır. Bu araştırma ve aşağıda verilen bilgiler ile ilgili her türlü soruyu sorabilirsiniz.

Şizofreni, genetik temelleri olduğu gösterilen ancak bu genetik temellerin henüz ayrıntılı olarak bulunamadığı bir bozukluktur. Bu çalışmada genetik analizler uygulanarak şizofreniye yatkınlığa sebep olduğu düşünülen genler incelenecektir. Çalışmaya, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı, Şizofreni Polikliniğinde izlenen, klinik olarak şizofreni tanısı almış 130 hasta alınacaktır. Hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyette, nörolojik ya da psikiyatrik bir hastalığı olmayan 130 kişi ise kontrol grubunu oluşturacaktır. Araştırmaya katılmak isterseniz size uygulanan tıbbi işlemler şöyle olacaktır: Önce Dr.tarafından muayene edileceksiniz. Daha sonra kolunuzdan 4 ml kan alınacaktır. Kan alınırken iğne batması nedeni ile hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alınırken kanamanın uzaması riskleri olabilir. Kan alımı birkaç dakika sürecektir.

Çalışmaya katılan tüm bireylerden kan alındıktan sonra laboratuvarlarımızda şizofreniyle ilişkili olduğu düşünülen *RGS4* geni incelenecektir. **Sizden alınan kan örneği şizofreni hastalığı ile ilgili farklı çalışmalarda da kullanılabilecektir.**

Bu işlemler için gerekli masraflar size veya güvencesi altında olduğunuz resmi veya özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

Bu çalışmaya katılmayı reddetme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmeme hakkına sahipsiniz. Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir. Araştırmacı da denemeye katılan bireyin kendi rızasına bakmadan, olguyu araştırma dışı bırakabilir. Bu çalışma size doğrudan bir tıbbi yarar sağlamayacaktır. Ancak çalışmanın sonuçları hastalıkla ilgili bilimsel bilgilerin artmasını, ilerideki dönemlerde hastalığın tanı ve tedavisinin daha başarılı olmasını sağlayabilir.

Bu araştırmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız ve kişisel bilgileriniz kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız

kurumun yerel etik komitesine ve Sağlık Bakanlığı'na açık olacaktır. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılmayacaktır.

Katılımcının beyanı

Dr.tarafından “RGS4 Geninin Şizofreni ile İlişkisi” isimli bir araştırmanın yapılacağı bana belirtildi. Araştırmanın amacı ve uygulanma biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. **Alınan kan örneğinin şizofreni hastalığı ile ilgili farklı çalışmalarda da kullanılabileceği belirtildi.** Araştırma sırasında temas kuracağımtelefon numarası verildi. İstediğim zaman kendisi ile temasa geçebilirim. İstediğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılmamam veya katılıp daha sonra araştırmadan çekilmem durumunda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü olurumla katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Veli/Vasinin

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Tanığın

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Hekimin

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Görüşme tarihi ve saati:

EK 8: Hasta için bilgilendirilmiş onam formu

Bu formu lütfen dikkatle okuyun. Yapmakta olduğumuz araştırma hakkında bilgiler içeren bu form, bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermenize yardımcı olacaktır. Bu araştırma ve aşağıda verilen bilgiler ile ilgili her türlü soruyu sorabilirsiniz.

Şizofreni, genetik temelleri olduğu gösterilen ancak bu genetik temellerin henüz ayrıntılı olarak bulunamadığı bir bozukluktur. Bu çalışmada genetik analizler uygulanarak şizofreniye yatkınlığa sebep olduğu düşünülen genler incelenecektir. Çalışmaya, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı, Şizofreni Polikliniğinde izlenen, klinik olarak şizofreni tanısı almış 130 hasta alınacaktır. Hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyette, nörolojik ya da psikiyatrik bir hastalığı olmayan 130 kişi ise kontrol grubunu oluşturacaktır. Araştırmaya katılmak isterseniz size uygulanan tıbbi işlemler şöyle olacaktır: Önce Dr.tarafından muayene edileceksiniz. Daha sonra kolunuzdan 4 ml kan alınacaktır. Kan alınırken iğne batması nedeni ile hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alınırken kanamanın uzaması riskleri olabilir. Kan alımı birkaç dakika sürecektir.

Çalışmaya katılan tüm bireylerden kan alındıktan sonra laboratuvarlarımızda şizofreniyle ilişkili olduğu düşünülen *RGS4* geni incelenecektir. **Sizden alınan kan örneği şizofreni hastalığı ile ilgili farklı çalışmalarda da kullanılabilecektir.**

Bu işlemler için gerekli masraflar size veya güvencesi altında olduğunuz resmi veya özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

Bu çalışmaya katılmayı reddetme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmeme hakkına sahipsiniz. Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir. Araştırmacı da denemeye katılan bireyin kendi rızasına bakmadan, olguyu araştırma dışı bırakabilir. Bu çalışma size doğrudan bir tıbbi yarar sağlamayacaktır. Ancak çalışmanın sonuçları hastalıkla ilgili bilimsel bilgilerin artmasını, ilerideki dönemlerde hastalığın tanı ve tedavisinin daha başarılı olmasını sağlayabilir.

Bu araştırmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız ve kişisel bilgileriniz kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız

kurumun yerel etik komitesine ve Sağlık Bakanlığı'na açık olacaktır. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılmayacaktır.

Hastanın beyanı

Dr.tarafından “RGS4 Geninin Şizofreni ile İlişkisi” isimli bir araştırmanın yapılacağı bana belirtildi. Araştırmanın amacı ve uygulanma biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. **Alınan kan örneğinin şizofreni hastalığı ile ilgili farklı çalışmalarda da kullanılabileceği belirtildi.** Araştırma sırasında temas kuracağımtelefon numarası verildi. İstediğim zaman kendisi ile temasa geçebilirim. İstediğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılmamam veya katılıp daha sonra araştırmadan çekilmem durumunda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü olurumla katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Veli/Vasinin

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Tanığın

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Hekimin

Adı:

Soyadı:

Adresi:

Telefonu:

Tarih:

İmza:

Görüşme tarihi ve saati:

EK 9. Etik Kurul onayı

 **DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ**
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Tel. : 0 232 - 259 87 73 - 259 87 74 Fax : 0 232 - 259 05 41
Sayı : B.30.2.DEÜ.0.01.00.00 / 4433 İnciraltı 35340-İzmir

04 MART 2009

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞ'NE

Fakültemiz Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Etik Kurulu Başkanlığı tarafından Dekanlığımıza iletilen; 28/2009 Protokol numaralı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Öğretim Üyelerinden Yard.Doç.Dr.Çiğdem Eresen YAZICIOĞLU'nun proje yöneticisi ve Emre GÜLSU'nun sorumlusu olduğu, "RGS4 Geninin şizofreni ile ilişkisi" isimli proje ile ilgili Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları Etik Kurulu Kararı ve sonuç ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve ilgiliye iletilmesi hususunda gereğini rica ederim.



Prof.Dr. Hakan ABACIOĞLU
Dekan

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Ek: Etik Kurul Kararı
Kayıt Tarihi : 04 Mart 2009
Kayıt No :
Dosya No : 773

04.03.2009
04/03
BY

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK VE LABORATUVAR ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**

Etik Kurul Üyeleri

Prof.Dr.A.Arzu SAYINER
Prof.Dr.Tunç ALKIN
Prof.Dr.Mustafa SEÇİL
Doç.Dr.M.Hakan ÖZDEMİR
Doç.Dr.Vesile ÖZTÜRK
Doç.Dr.Murat DUMAN
Doç.Dr.Güven ASLAN
Doç.Dr.Servet AKAR
Yard.Doç.Dr.Murat ÖRMEN
Öğr.Gör.Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN
Yunus KARSLI

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Etik Kurulumuzun 26 Şubat 2009 tarih ve 04/05/2009 no.lu toplantısında; 28/2009 Protokol numaralı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü Öğretim Üyelerinden Yard.Doç.Dr.Çiğdem Eresen YAZICIOĞLU'nun proje yöneticisi ve Emr GÜLSU'nun sorumlusu olduğu, "RGS4 Geninin şizofreni ile ilişkisi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.



Prof. Dr.A.Arzu SAYINER
Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları
Etik Kurul Başkanı

EK 10. Özgeçmiş**EMRE GÜLSU**

TC Kimlik No / Pasaport No:	25532174784
Doğum Yılı:	1984
Yazışma Adresi :	Çamlıpınar mah. 293/26 sok. No:8 Kat:4 Buca/İzmir 35160 İzmir/Türkiye
Telefon :	232-2762079
e-posta :	delght18@yahoo.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Celal Bayar Üniversitesi	FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ	Biyoloji	Lisans	2007

UZMANLIK ALANLARI

Uzmanlık Alanları
Tıbbi Biyoteknoloji , Ruh ve Sinir Hastalıkları, İnsan Genetiği

PROJE DENEYİMİ

Proje Adı	Kurum	Bütçe	Tarih	Görev	Proje Türü
Erkek Meme Karsinomlarında Vitamin D Reseptör Apa I, Taq I ve Fok I Polimorfizmi Analizi		22500	15.01.2009-15.10.2009	Bursiyer	Ulusal
Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu tanısı ile sağaltılan ergenlerde izlem çalışması: Genetik, klinik gidiş tedavi ve Tc-99m trodat beyin spect sonuçları	Dokuz Eylül Üniversitesi	44976	15.07.2008-15.07.2011	Araştırmacı/Uzman	Ulusal
RGS4 geninin şizofreni ile ilişkisi	Dokuz Eylül Üniversitesi	27948	19.12.2009-19.12.2011	Araştırmacı/Uzman	Kurumsal (BAP vb.)

ÖDÜLLER

	Ödülün Adı	Alındığı Kuruluş	Yılı
☐	Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Derneği Proje Ödülü	Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Derneği	2009
Submit			

YAYINLARI

Diğer yayınlar

"Erkek meme karsinomlarında Vitamin D reseptör ApaI, TaqI ve FokI Polimorfizmi Analizi" Sefa Kızıldağ, Emre Gülsu, Erdinç Yüksel, Tülay Canda. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik kongresi, 2009, Bodrum, Türkiye