

**NÖROPSİKİYATRİK HASTALIKLARDA YENİ NESİL SEKANS TEKNOLOJİSİNİN KULLANIMI VE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR**

**NEXT GENERATION SEQUENCING AND CURRENT APPROACHES IN NEUROPSYCHIATRIC DISEASES**

**Tuğba TOPALOĞLU<sup>1</sup>, Elif Funda ŞENER<sup>1</sup>, Halit CANATAN<sup>1</sup>**

*Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri*

**ÖZ**

Geçtiğimiz yirmi yıl içerisinde psikiyatrik hastalıkların genetik temelini anlaşılan ve olağanüstü gelişmeler yaşanmıştır. Bu alandaki gelişmeler bu hastalıkların altında yatan mekanizmalar ve bunlarla ilişkili genlerle ilgili önemli bakış açıları sağlamıştır. DNA dizileme teknolojilerindeki ilerlemeler sayesinde insan hastalıklarıyla ilgili birçok gen tanımlanabilmiştir. Ancak, nöropsikiyatrik bozuklukların altında yatan mekanizmalar halen bilinmezliklerini korumaktadır. Günümüz biyomedikal araştırmaların temel amaçlarından birisi de bu tip kompleks hastalıkların genetik etiyolojilerini ortaya çıkarmaktır. Yeni nesil sekans teknolojileri tüm genom veya tüm ekzonları sekanslayarak kompleks hastalıklardan sorumlu olabilecek genetik yapıyı anlamamızı kolaylaştıracak güçlü bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu teknoloji sayesinde dizileme işlemi geniş kapsamlı olarak hem düşük maliyetli hem de hızlı bir şekilde uygulanabilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle de giderek daha yaygın kullanım alanına sahip olmaktadır. Yeni nesil sekanslama uygulamalarının yaygınlaşması ile elde edilecek bulgular, sadece nöropsikiyatrik hastalıkların değil diğer kompleks hastalıkların patogenezinin anlaşılmasını da kolaylaştıracaktır. Bu derleme depresif bozukluk, şizofreni ve bipolar bozukluk gibi kompleks nöropsikiyatrik hastalıkların genetik temellerinin anlaşılmasında yeni nesil dizi teknolojilerinin uygulamalarına odaklanmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Psikiyatri, Şizofreni, Bipolar Bozukluk, Depresyon, Yeni Nesil Sekans

**GİRİŞ**

**YENİ NESİL SEKANS UYGULAMALARI: TÜM GENOM VE EKZOM SEKANSLAMA**

2004 yılında İnsan Genom Projesi'nin tamamlanması ile postgenomik alan başlamış ve sistem biyolojisi yaklaşımı büyük önem kazanmıştır (1). Son zamanlarda tüm sistem genetiğini tarama çalışmaları kompleks hastalıkları anlamamıza büyük ölçüde katkı sağlamaktadır. Bu hastalıklarla ilgili aday genler ve lokuslar hızlı bir şekilde taranmakta ayrıca bu hastalıklardan etkilenmiş bi-

**ABSTRACT**

There have been extraordinary advances in understanding the genetic basis of psychiatric disorders in the past two decades. Developments in this area have provided important insights into the underlying mechanisms and the genes associated with these diseases. With the advances in DNA sequencing technology many genes related to human diseases have become identifiable. However, the mechanisms are still unknown in neuropsychiatric disorders. Today, one of the purposes of the biomedical researches is to uncover the genetic etiology of such complex diseases. The next generation sequencing technologies have been used as a powerful tool for understanding the genetic etiology which is responsible for complex diseases by sequencing whole genome or all exons. Sequencing process can be performed both low cost and quickly with this technology. Due to these features, it has increasingly been used nowadays. Results obtained from the next generation sequencing will facilitate understanding not only the pathogenesis of neuropsychiatric diseases but also of other complex diseases. This review focused on the application of next generation sequencing technology for understanding of the genetic basis of complex neuropsychiatric diseases such as depressive disorder, schizophrenia and bipolar disorder.

**Keywords:** Psychiatry, Schizophrenia, Bipolar Disorder, Depression, Next Generation Sequence

reyler arasındaki varyasyonlar da tespit edilebilmektedir. Populasyonlar arasındaki varyasyonların belirlenmesi kişiye özgü tedavinin geliştirilmesine de temel oluşturmaktadır. Son 30 yıldır, Sanger dizileme metodu DNA'nın dizilenmesi için altın standart ve dominant bir yöntem olarak kabul edilmekteydi. İlk kez 2005 yılında geniş ölçüde paralel pyrosekanslama (pyrosequencing) platformu ticari olarak piyasaya sürüldü ve günümüzde yeni nesil sekanslama olarak adlandırılan bu sistem yüksek genomik veri analizleri için yeni bir çağın da

**Corresponding Author:** Elif Funda Şener  
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı  
E-mail: efefunda@yahoo.com

Makale Geliş Tarihi : 04.01.2016  
Makale Kabul Tarihi: 15.07.2016

başlangıcı oldu (2). 2005 yılından beri yeni nesil sekans (YNS) teknolojileri tıbbi bilimler ve bilimsel araştırma taleplerini gerçekleştirmek için hızlı, yüksek veri ve uygun maliyetli yöntemler sağlamaktadır (3). YNS teknikleri, biyomedikal araştırmalara olan katkılarından ötürü Nature Methods tarafından 2007'de yılın metodu olarak seçilmiştir (4). Özellikle 2010'dan beri yeni nesil sekansın maliyeti azalmaya devam etmektedir (5). Genomda proteine çevrilen bölgeler ekzon olarak adlandırılır ve tüm ekzonlar genomun yaklaşık %1'ine karşılık gelmektedir. Ekzom terimi ise genomdaki tüm ekzonları ifade etmektedir. Sonuçta "ekzom" genomda protein kodlayan sekanslara odaklanmaktadır (6). Ekzom sekanslama yaygın genetik bozuklukları ya da yeni genetik defektleri tanımlamak amacıyla kullanılan bir sekanslama tekniğidir (7).

Geçtiğimiz yıllarda basit ya da kompleks hastalıklara ait lokusların araştırılmasında bağlantı ve ilişki çalışmalarından yararlanılmıştır. Geleneksel yöntemler (karyotipleme, geniş genom ilişki çalışmaları, bağlantı analizleri, kopya sayısı varyasyonları analizleri gibi) geçtiğimiz birkaç yılda Mendeliyen hastalıkları anlamamıza büyük katkılar sağlamalarına rağmen, genomik varyasyonların tüm formlarını tespit etmek için yetersiz kalmıştır (14). Bağlantı analizleriyle bir hastalığın bilinen bir genetik belirleyiciye bağlı olup olmadığı araştırılmaktadır. Bu çalışmalar hastalığın belirli bir kalıtım şekli varsa, tek gen etkisi söz konusuysa ve hastalığın tanısı güvenilir olup patolojik bulgularla destekleniyorsa en iyi sonuç verir. Psikiyatrik hastalıklar gibi kompleks hastalıklarda pek çok bağlantı çalışmaları yapılmıştır ancak elde edilen sonuçlar hastalık etiolojisini aydınlatmada yetersiz kalmıştır. İlişki çalışmalarında ise hastalığın patofizyolojisinden yola çıkarak etiolojisinde rol oynayabileceği düşünülen bir aday genin olması gerekir. Dolayısıyla kompleks hastalıklarda bağlantı ve ilişki çalışmaları, hastalığın patofizyolojisi bilinmediği için başarılı olamamıştır (15).

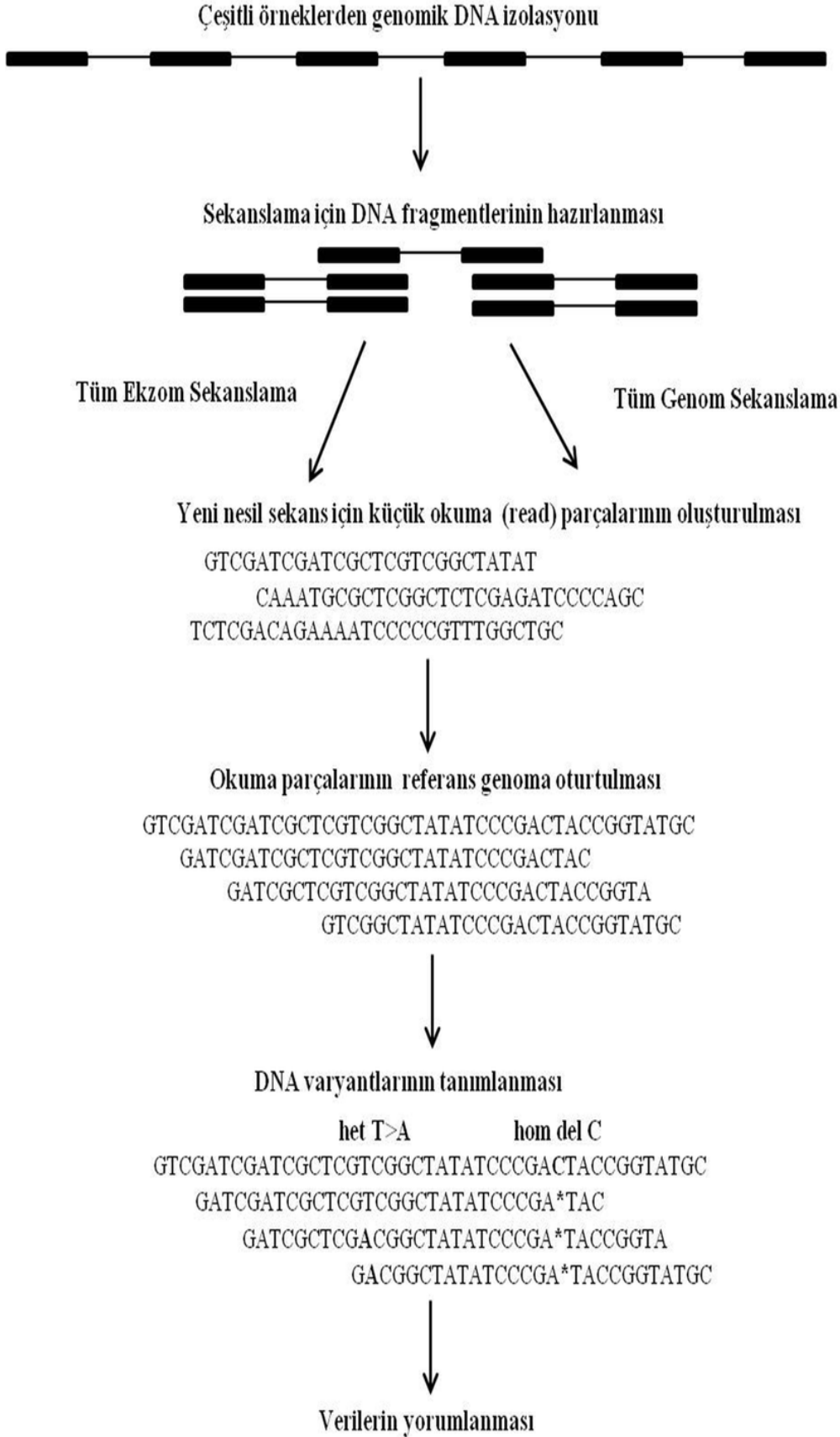
Ekzom sekanslama ekzonların %95'inden daha fazlasının sekanslanması olup ve bu yaklaşım ile Mendeliyen hastalıklarda hastalığa sebep olan mutasyonların %85'i tanımlanabilmektedir (8). Tek gen hastalıklarının (Mendeliyen hastalıklar) büyük bir kısmında protein kodlayan sekanslarda mutasyonlar söz konusu olduğundan bu yöntem tek gen hastalıklarından sorumlu varyantları tanımlamakta etkili bir yöntem olma özelliği taşımaktadır (8—12). Tüm genom ve ekzom sekanslama tekniklerinin Mendeliyen hastalıklardan sorumlu genlerin tanımlanmasındaki başarısı (Miller, Kabuki, Schinzel-Giedion Sendromu, Osteogenesis imperfecta gibi) önemli ölçüde kanıtlanmıştır (9,11). YNS tüm bu özellikleriyle genetik mutasyonların keşfinde geleneksel yöntemleri geride bırakmıştır. YNS teknolojisinin çalışma basamakları şematize olarak Şekil 1'de özetlenmiştir. Genetik varyasyonlar hem Mendeliyen hem de Mendeliyen olmayan hastalıklarda temel bir rol oynamaktadır (13). Kalıtılan varyantların yanı sıra, yeni mutasyonlar da hastalıklara yakalanma riskine katkı sağlayabilmektedir. Sekanslamadaki teknolojik ilerlemeler mutasyonların çoğu tipinin tanımlanmasına izin vermiştir ve insan genomunda genomik varyasyonların tanımlanmasında devrim yapmıştır (16). Tüm ekzom sekanslama ile genom içerisinde kodlanan tüm bölgeler-

deki varyasyonlar belirlenebilmektedir (8).

YNS'ın tüm genomu sekanslama yeteneği büyük ölçekli vaka-kontrol karşılaştırma çalışmalarında hasta ve sağlıklı bireylerdeki genetik farklılıkları anlamamızı mümkün kılmaktadır (17). Tüm ekzom sekanslamasının aksine tüm genom sekanslama araştırmacılara genetik varyasyonların tüm aralığını görme fırsatı sağlamaktadır (18). Tüm ekzom sekanslama ile sekanslanan her bireyde yaklaşık 20.000 varyant tanımlarken (19), tüm genom sekanslama ile yaklaşık 4.000.000 varyant tanımlanabilmektedir (20). Tüm genom sekansı tüm kromozomal yeniden düzenlemelerin, insersiyon-delesyon (indel) tespiti ve kopya sayısı değişimleri gibi yapısal varyasyonların bütün tiplerini geniş aralıkta tespit edebilir (21). Benzer bir şekilde tüm ekzom sekanslama ile de, genomun kodlanan segmentinde tek nükleotid varyantları, çoğu indel ve bazı kopya sayısı değişimleri güvenilir şekilde tespit edebilir (21,22). Bu nedenle tüm genom sekanslama ile elde edilen veri, ekzom sekanslamadan çok daha fazladır, daha çok zaman alır, analiz edilmesi zorlaşır. Tüm bu nedenlerle de tüm genom sekanslama ekzom sekanslamadan daha pahalıdır (23). YNS ile kompleks hastalıklar ile ilişkili olabilecek kopya sayısı değişimleri (Copy Number Variation, CNV) de tanımlanabilmektedir (24). CNV'ler insan çeşitliliğinin önemli bir belirteçidir ve hastalıklara duyarlılıkta önemli rol oynarlar (24). CNV'lerin çoğu nöropsikiyatrik bozuklukların ve diğer hastalıkların genetik çeşitliliğinin temel belirleyicisi olarak kullanılabilir. Ayrıca YNS teknolojilerini kullanan son çalışmalar nöropsikiyatrik hastalıklarda *de novo* mutasyonların önemli bir rolü olduğunu vurgulamaktadır (25). Özellikle anormal beyin gelişimiyle ilgili nörolojik bozukluklara sebep olan *de novo* varyantları tanımlamak için tüm ekzom sekanslama etkili bir yöntem olma özelliği taşımaktadır (26). YNS, sahip olduğu özellikleriyle çok büyük bir hasta kitlesiyle çalışılmasına ve genomik analizlerin detaylandırılmasına olanak sağlamaktadır. Klinikte özellikle bazı hastalıkların doğru tanısının konulabilmesinde genetik heterojenite engel teşkil etmektedir. Tüm ekzom sekanslama ve bazı vakalarda tüm genom sekanslama genetik heterojenitelerin anlaşılmasında kritik öneme sahiptir. Tüm bu özellikleriyle hem tüm genom hem de tüm ekzom sekanslamasının etkili tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesinin klinik tıpta doğru tanı konulabilmesinde derin bir etki bırakacağı öngörülmektedir (27). Bu nedenle de tüm genom sekanslama, nöropsikiyatrik bozuklukların etiolojik keşfi için klinik genetikte güçlü bir araç olarak önemli bir buluşu temsil etmektedir.

#### **NÖROPSİKİYATRİK HASTALIKLARIN ARAŞTIRILMASINDA YENİ NESİL SEKANS UYGULAMALARI**

Psikiyatrik hastalıklar her geçen gün dikkat çekecek ölçüde artış göstermektedir. Genel populasyonda mental bozuklukların yaygınlığı kayda değer bir şekilde yüksektir (28). Beynin en önemli fonksiyonları olan duygu, düşünce ve davranış alanında görülen bu bozukluklar, kişinin bütün insan ilişkilerini ve hayatını derinden etkilemektedir (29). Bu hastalıklar hem bireysel hem de toplumsal boyutta önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Nöropsikiyatrik hastalıklar kompleks kalıtım göstermekte ve genetik etiolojileri henüz tam olarak bilinmemektedir (30). Bu hastalarda birden



**Şekil I.** Çeşitli örneklerden elde edilen genomik DNA'nın yeni nesil sekanslama işlemlerine hazırlanması

**Tablo I.** Nöropsikiyatrik Hastalıklarda Yeni Nesil Sekans Uygulamaları.

HASTALIK	METOD	ÇALIŞILAN GENLER	REFERANS
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>ZNF565, NRIP, LRP1, CCDC137, KPNA1, ZNF480, EIF5, ALS2CL, CHD4, KDM2B, LAMA1, CASP4, SDF4, PIK3CB, SBNO1</i>	Girard ve ark, 2011
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>KL</i>	Need ve ark, 2012
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>FAN1</i>	Lonita-laza 2013
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>RGS12</i>	Guipponi M, 2014
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>SETD1A</i>	Takata A,2014
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>ARC, PSD-95</i>	Purcell SM,2014
Şizofreni	Tüm ekzom sekanslama	<i>DGCR2</i>	Xu B,2012
Major Depresif Bozukluk	Yeniden sekanslama	<i>SLC6A4, PCLO</i>	Verbeek EC,2013
Major Depresif Bozukluk	Yeniden sekanslama	<i>FKBP5</i>	Ellsworth KA, 2013
Major Depresif Bozukluk	Ekzom sekanslama	<i>BMP</i>	Tammiste A, 2013
Bipolar Bozukluk	Ekzom sekanslama	<i>DUSP6, CACNA1C</i>	Chen, 2013
Bipolar Bozukluk	Ekzom sekanslama	<i>ZNF259</i>	Cruceanu, 2013

fazla gen ve çevresel faktörler rol oynadığından hastalığın patogenezi daha da kompleks hale gelmekte ve etkin bir tedavi yapılamamaktadır. Nöropsikiyatrik bir hastalığın erken dönemde tanınması ve o hastalığa özgü koruyucu stratejilerin geliştirilebilmesi amacıyla hastalığın öncül belirteçlerinin ve risk faktörlerinin tanımlanması günümüzde önem kazanmıştır (31). Dünya genelinde psikiyatrik hastalıkların genetik temeli en çok çalışılan konulardan biri haline gelmiştir (32). Son yıllarda psikiyatrik hastalıkların genetik temelinin anlaşılmasında hızlı gelişmeler kaydedilmiştir. Bu alandaki gelişmeler bu hastalıkların altında yatan mekanizmalar ve genlerle ilgili önemli bakış açısı sağlamıştır (33). Son yıllarda geliştirilen YNS teknolojileri tüm genom, tüm ekzom, transkriptom, DNA-protein etkileşimlerinin geniş kapsamlı analizini ucuz, rutin ve yaygın hale dönüştürdüğünden biyolojik araştırmaları önemli ölçüde hızlandırmıştır. Kodlanmayan bölgeleri de içeren sekans bilgisi, günümüzde nöropsikiyatrik hastalıklara duyarlı genleri tanımlayacak analizleri gerçekleştirme fırsatını sunmaktadır (34). YNS teknolojilerindeki ilerlemeler bu tip kompleks hastalıkların penetrans ve sıklığını göstermeyi başarabilecek ve gen-çevre etkileşimleri temeline dayanan hastalık riskleri ve varyantlar arasındaki ilişkileri ortaya çıkarabilecektir. Bu durum, nöropsikiyatrik bozuklukların patogenezlerinin altında yatan yeni yolların tanımlanması üzerine önemli bir adım olacaktır (35). YNS teknolojileri psikiyatrik hastalıklarda (şizofreni ve otizm gibi mental ve gelişimsel bozuklukların analizinde) umut verici bir araç olarak kullanılmaktadır (36). Bundan sonraki bölümde bu uygulamaların örneklerine yer verilecektir. Bu çalışmaların kısa özeti de Tablo I'de gösterilmiştir.

#### DEPRESYON

Depresyon; kalıtsal, çevresel ya da hormonal bozuk-

luklar sonrasında gelişen duyu durumu bozukluğudur. Depresyon, günümüzde görülme sıklığı açısından dünyada 4. sırada bulunan yaygın bir psikiyatrik hastalıktır (37). Dünya Sağlık Örgütü, 2020 yılında depresyonun, stres ve kardiyovasküler sistem ile ilişkili komplikasyonlar nedeniyle, ölüme yol açan hastalıkların arasında ikinci sırada olacağını ön görmektedir (38). Bu yaygınlığın yanı sıra depresyonun patofizyolojisinin altında yatan nörobiyolojik değişiklikler hakkında halen çok az şey bilinmektedir (39). Depresyonun temelinde daha önceden isteyerek ve severek yaptığı günlük aktivitelere karşı isteksizlik ve hayattan zevk almama durumu vardır (40). Klinik anlamda depresyon denince, derin üzüntülü bir ruh hali içinde düşünce, konuşma ve hareketlerde yavaşlama ve durgunluk, değersizlik, küçüklük, güçsüzlük, isteksizlik, karamsarlık duyu ve düşünceleri ile fizyolojik işlevlerde bozukluk gibi belirtileri içeren bir sendrom anlaşılmalıdır (41). Depresyonun yaşam boyu prevalansı %10-21 arasında değişmektedir (42). Depresyon, bebeklikten yaşlılığa kadar hayatın her döneminde görülebilir (43). Depresif bozukluk, kadınlarda erkeklerden yaklaşık iki kat daha fazla görülmektedir (44). Duygudurum bozuklukları arasında major depresif bozukluk, görülme sıklığı açısından grubun diğer hastalıklarının önünde yer alan bir rahatsızlıktır (45). Yaşam boyu yaygınlığı %17-21 olarak bildirilen Major Depresif Bozukluk (MDB) depresme, yineleme ve süregenleşme oranları yüksek olan ve Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre fiziksel, sosyal ve mesleki yeti yitimine yol açan sebepler arasında ilk sırada yer alan ruhsal hastalıktır. Major depresyon kadınlarda erkeklerden 2-3 kat fazla görülmektedir (46). MDB, psikolojik, davranışsal ve fizyolojik belirtiler sergileyen heterojen bir bozukluktur. MDB tek bir genetik sebebi olmayan kompleks bir hastalıktır. Bu hastalığın kalıtılabilirliği %31-42 arasın-

dadır. Etiyolojideki bilinmezlikler yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için engel teşkil etmektedir (47). MDB patofizyolojisinin altında yatan nörobiyolojik değişiklikler hakkında halen çok az şey bilinmektedir. Çevresel şartların bu hastalığın etiyojisine etkisi olduğu kanıtlanmıştır (48). MDB'li 9000'den fazla vaka analiz edilmesine rağmen, bu hastalıkla ilgili genetik lokuslar tanımlanmamıştı. Tüm genom sekans teknolojisi kullanılarak yapılan bir çalışmada 10. kromozom üzerinde MDB riskine katkıda bulunan 2 lokus tanımlanmıştır (49). YNS ile MDB tanımlı hastalarda yeni genomik varyantları tespit etmek için yapılan bir çalışmada 1738 vaka ve 1802 kontrolü içeren bir MDB çalışma grubu oluşturulmuştur. *SLC6A4* ve *GRM7* literatürde MDB için daha önce belirlenen iki aday genidir. 2009 yılında yapılan geniş-genom ilişkili çalışması (Genome-Wide Association Studies, GWAS) ile *PCLO* geninde sinonim olmayan bir SNP (rs2522833) tanımlanmıştır. Araştırmacılar YNS ile MDB çalışma grubunda *SLC6A4*, *GRM7*, *PCLO* aday genlerinde tespit edilmemiş yaygın varyantları bulmayı amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar *SLC6A4* genindeki yeni bir SNP (rs1042173)'in MDB grubunda daha düşük oranda bulunduğu sonucuna ulaşmışlardır. (48). Erişkinlerde yapılan çalışmalarda genetik varyasyonların antidepresanlara tedavi yanıtı üzerinde etkili olduğu saptanmıştır (50). MDB hastalarından izole edilen 96 DNA örneği yeni nesil sekans teknolojisi kullanılarak yapılan sekanslamayla *FKBP5* geninde 657 SNP tanımlanmıştır. Genotip-fenotip ilişkisi analizleri sonucunda *FKBP5* geninde tespit edilen rs352428 tek nükleotid polimorfizminin hem 6 hafta hem de 8 hafta uygulanan tedavi cevabıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (51). Bu noktadan yola çıkarak *FKBP5* genindeki varyasyonların antidepresan cevabında rol oynadığı düşünülebilir. 2013 yılında yapılan bir diğer çalışmada ekzom sekans uygulaması sonucu MDB hastalarının %30'unda BMP geninde rs41271330 varyasyonuna ait A allelinin tedaviye kötü cevap oluşturduğu gösterilmiştir (52). Buna benzer YNS çalışmalarının bireye özgü tedavinin gelişmesine katkıda bulunduğu ve bulunacağı aşikardır.

### ŞİZOFRENİ

Şizofreni; güçlü genetik komponente sahip olan ve yaşam boyu güçten düşüren şiddetli bir mental bozukluk olup, dünya nüfusunun %1'inden daha azını etkilemektedir (53,54,55,56). Ayrıca tüm dünyada büyük oranda kişisel ve ekonomik sorunlara yol açan en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. Şizofreni genetiği ile ilgili yapılan çalışmalarda şizofreninin kalıtsal bir kökeni olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar hastalığın klinik ve etiyojik heterojenite gösterdiğini bildirmektedir (57). Bu bozukluğun hem yaygınlığı hem de klinik seyri, toplumsal özellikler, coğrafi yerleşim ve zaman dilimi açısından farklılıklar göstermektedir (58). Yapılan bağlantı çalışmaları aracılığıyla şizofreni ile ilişkili olduğu gösterilmiş birçok aday gen ve kromozom bölgesi saptanmıştır. Ancak saptanan aday gen ve kromozom bölgeleri çok genli ve çok etmenli bir hastalık olan şizofrenide rol oynayan mutasyonların belirlenmesinden uzaktır (59). YNS stratejilerinin şizofreni için uygulaması, bu hastalığın etiyojisinde *de novo* mutasyonların bir rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır (60,61).

Literatürde özellikle anne-baba-çocuk üçlüsünü (trio) içeren ekzom sekanslama stratejilerini kullanmak otizm ve mental retardasyon (MR) gibi hastalıklardaki nadir varyantların tanımlanmasına oldukça başarılı olmuştur (62,63). Aynı yaklaşımın şizofrenide de uygulandığı, kalıtılan veya *de novo* varyantların bulunmasında başarılı olduğu bilinmektedir. Girard ve arkadaşları 2011 yılında 8 probandda 15 *de novo* mutasyon tespit etmişlerdir (60). Şizofreninin genetik etiyojisine *de novo* mutasyonların etkisini araştırmak için yapılan bir diğer çalışmada ise 53 sporadik vakada ekzom sekanslama yapılmıştır. 27 vakada 40 mutasyon tanımlanarak özellikle *de novo* mutasyonların büyük oranda şizofreni riskini artırdığı vurgulanmaktadır (61). Need ve arkadaşları, 2012'de 166 vaka ve 307 kontrol kullanılarak *KL* geninde tespit edilen bir missense mutasyonun şizofreni ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (64). Şizofreni ve otizm spektrum bozukluklarına yatkınlığa yol açan genleri araştırmak için yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında ekzom sekanslama teknolojisi kullanılmıştır ve *FAN1* (fanconi ilişkili nükleaz 1) geninde varyantlar tanımlanmıştır. *FAN1* 15q13.3 bölgesinde lokalize olan bir genidir. Yapılan çalışma *FAN1*'in psikiyatrik ve nörogelişimsel fenotiplerle ilişkili anahtar gen olduğunu ortaya koymuştur (57). *De novo* varyantların şizofreniye katkısını değerlendirmek için yapılan bir başka çalışmada 53 sporadik şizofreni vakasında ekzom sekanslama teknolojisi kullanılarak 49 *de novo* varyant tanımlanmıştır. Bu varyantlardan 18 tanesinin gen işlevini değiştirdiği tahmin edilmiştir (65). Benzer bir çalışma gen işlev kaybına yol açan varyantların şizofreniye katkısını araştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada 231 vaka ve 34 kontrol trioları kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda histon metil transferazları kodlayan bir alt ünite olan *SETD1A* geninde işlev kaybına yol açan 2 *de novo* varyant tanımlanmıştır. Böylelikle de şizofreni riskinde kromatin düzenleyicilerinin rolü için daha genel bir kanıt sağlanmıştır (66). YNS yapılmış bir başka çalışmada bu hastalığın anlaşılmasına katkıda bulunan henüz keşfedilmemiş çok nadir varyantların çoğunun şizofreniye katkısını araştırmak üzere 2536 şizofreni vakası ve 2543 kontrol kullanılarak oldukça büyük bir popülasyonun ekzom sekanslama analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda birçok geni etkileyen mutasyonlar gösterilmiştir ve popülasyon bazlı ekzom sekanslamasının nöropsikiyatrik hastalıklarda risk allellerini keşfedebileceği ön görülmüştür (67). 22q11.2 delesyonuna sahip bireylerde öğrenme güçlükleri ve psikiyatrik sorunlardan oluşan davranış anomalileri sıklığı (68). Bu delesyonun şizofreni riskine katkısını araştırmak üzere 6 Şizofrenili ve 3 kontrol grubundan oluşan 9 bireyin tüm genom sekanslaması yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda 22q11.2 delesyonunun şizofreni oluşumuna katkı sağlayan genetik bir risk faktörü olduğu tüm genom sekanslama ile desteklenmiştir (69).

### BİPOLAR BOZUKLUK

Bipolar bozukluk (BPB), manik ve depresif dönemlerle seyreden, kronik gidişli ve aynı zamanda kalıtılabilen yaygın bir nöropsikiyatrik bozukluktur (70). Bipolar Bozukluk, kişinin yaşam kalitesini etkileyen ve sıklıkla da hayati tehlike arz edebilen bir hastalıktır. Toplam dünya nüfusunun %1-5'ini etkilemektedir (71). Yaşam

boyu süren bu hastalık çoğu kez manik depresyon olarak da adlandırılır. Bipolar duygudurum bozukluğu hem toplumda sık olarak görülen hem de mortalite ve morbiditesi yüksek olan bir hastalıktır (72). BPB'ta genetik geçişin önemi çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Özellikle aile ve ikiz çalışmaları bu bozukluğun %80 olarak kalıtılabildiğini ve güçlü bir genetik komponente sahip olduğunu göstermiştir (73). Bipolar bozukluk şiddetli bir psikiyatrik bozukluk olup, bu nöropsikiyatrik hastalığın patofizyolojisinde güçlü genetik etkiler bulunmuştur. BPB tanısı almış kişilerin %80-90'ında ailede bipolar veya major depresyon öyküsü vardır. Diğer psikiyatrik hastalıklarda olduğu gibi, özellikle ilk yapılan ilişki ve bağlantı analizi çalışmaları ile belli başlı aday genler tanımlanmış durumdadır. Bipolar bozuklukla ilgili yapılan ilk ekzom çalışması 191 vaka ve 107 kontrolün dâhil edildiği Chen ve arkadaşlarına ait olan çalışmadır. *DUSP6* ve *CACNA1C* genleri BPB ile ilişkili bulunmuştur (74). Bir başka çalışmada BPB olan geniş bir aileye uygulanan ekzom sekanslama sonrasında *ZNF259* geninde tanımlanan missense mutasyonun çalışılan ailede segregе olduğu gösterilmiştir (75). Aile ve ikiz çalışmaları da şizofreni ile ortak genlerin ilişkili olduğunu göstermektedir (76). Bugüne kadar BPB için tüm genom sekanslama yapılan iki çalışma mevcuttur. İlkinde 50 bireye uygulanan tüm genom sekanslama sonrasında 30 zararlı missense mutasyon tanımlanmıştır (77). Diğer çalışmada 99 BPB hastasına tüm genom sekans uygulanmış, 190 varyant tanımlanmış ancak *CACNA1C* ve *ANK3* genlerindeki varyantlara odaklanılmıştır (78).

## SONUÇ

Yukarıda açıklanan ve buna benzer olarak yürütülen çalışmaların bir kısmından elde edilen sonuçlara göre ekzom sekanslama sadece şizofreni ve bipolar bozukluk değil diğer kompleks nöropsikiyatrik hastalıkların geniş allelik spektrumunu tespit edebilmekte güçlü bir yöntem olduğunu kanıtlamıştır. Yakın gelecekte de tüm genom ve tüm ekzom sekanslama stratejileri klinikte psikiyatrik hastalıklar ve diğer yaygın hastalıklar arasında bilinen ve yeni risk faktörlerinin tanımlanmasında kullanılmaya devam edecektir. Kompleks hastalıklardaki genetik heterojenliğin açıklanabilmesi ve yeni genlerin keşfi için, yüksek kapasiteli sekans uygulamalarının güçlü bir platform sağlayacağı açıktır. Genomik DNA'ya kolay ulaşılabilirlik yakın gelecekte tıbbi ve biyolojik alanlara, hastalıkların sebeplerinin analizinde, yeni ilaçlar ve klinik tanıların gelişimine yol açacaktır. Klinik amaçlar için tüm genom DNA sekanslamayı kullanan bu yeni teknolojilerin gelecek 20 yıl içerisinde de yaygınlaşacağı öngörülmüştür (79). YNS 2009 yılından beri hızlı bir şekilde Mendeliyen hastalıklardan sorumlu mutasyonları tanımlamak için kullanılan standart bir yöntem olmuştur (13). Bu devrim bireysel tıp çağına yol açacak, hastalık gruplarını tekrar tanımlayacak, yeni terapilerin hedeflenmesine izin verecek ve kompleks etiyolojilerin anlaşılabilmesinde yol gösterici olacaktır. YNS yaklaşımları ile kompleks hastalıklardaki genetik varyasyonlardan sorumlu birçok gen keşfedilmiş ve keşfedilmeye de devam edilecektir. Kompleks hastalıklar için birden fazla vakaya sahip ailelerin kullanımı (multipleks aile)

ve bazı durumlarda özellikle bağlantı analizi ve ilişki çalışmalarının birleştirildiği tüm ekzom ve genom sekanslama ile aileye özgü yüksek penetranslı mutasyonların tanımlanması mümkün olmuştur (80). Bu tip yaklaşımlar ile desteklenen YNS stratejileri daha da başarılı sonuçlara imza atmaktadır. Tüm genom ve ekzom sekanslamanın başarıları birçok çalışmada gösterilmiştir ve gelecekte de diğer YNS tekniklerinin de yaygın olarak kullanılması ile dominant yöntemler olarak genetik kompleksliğin aydınlatılması üzerine katkılarının devam edeceği açıktır.

## KAYNAKLAR

1. Üstek D, Abacı N, Sırma S, ve ark. Yeni nesil DNA dizileme. İstanbul Üniversitesi 2011; 1:11-18.
2. Voelkerding K, Dames S, Durtschi J. Next-generation sequencing: From basic research to diagnostics. *Clinical Chemistry* 2009; 55: 641-658.
3. Rabbani B, Mahldeh N, Hosomichi K, et al. Next-generation sequencing: Impact of exome sequencing in characterizing Mendelian disorders. *Journal of Human Genetics* 2012; 57:621-632.
4. Chi KR. The year of sequencing. *Nature Methods* 2008; 5:11-14.
5. Fischbach GD, Lord C. The simons simplex collection: A resource for identification of autism genetic risk factors. *Neuron* 2010; 68:192-195.
6. Kato T. Whole genome/exome sequencing in mood and psychotic disorders. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 2014; 69:65-76.
7. Persico AM, Napolioni V. Autism genetics. *Behav Brain Res* 2013; 251:95-112.
8. Rabbani B, Tekin M, Mahdieh N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *Journal of Human Genetics* 2014; 59:5-15.
9. Need AC, Shashi V, Hitomi Y, et al. Clinical application of exome sequencing in undiagnosed genetic conditions. *Med Genet* 2012; 49:353-361.
10. Morris JA, Barrett JC. Olorin: Combining gene flow with exome sequencing in large family studies of complex disease. *Advance Access Publication* 2012; 28:3320-3321.
11. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, et al. Unlocking Mendelian disease using exome sequencing. *Genome Biology* 2011; 12:228.
12. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet* 2011; 12:745-755.
13. Choia M, Scholla UI, Jia W, et al. Genetic Diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *PNAS* 2009; 106:19096-19101.
14. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, et al. Disease gene identification strategies for exome sequencing. *European Journal of Human Genetics* 2012; 20:490-497.
15. Arısoy Ö. Psikiyatrik genetik. *Düşünen Adam* 2004; 17:109-125.
16. Gauthier J, Rouleau GA. De novo mutations in neurological and psychiatric disorders: Effects, diagnosis and prevention. *Gauthier and Rouleau Genome Medicine* 2012; 4:71.
17. Yang Y, Muzny DM, Xia F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome

- sequencing. JAMA 2014; 312:1870-1879.
18. Belkadi A, Bolze A, Itan Y, et al. Whole-genome sequencing is more powerful than whole-exome sequencing for detecting exome variants. Proc Natl Acad Sci 2015; 112:5473-5478.
  19. Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. Nature 2009; 461:272-276.
  20. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. Nature 2008; 456:53-59.
  21. Ligt J, Boone PM, Fundt RP, et al. Detection of clinically relevant Copy Number Variants with whole-exome sequencing. Hum Mutat 2013; 34:1439-1448.
  22. Buxbaum JD, Daly MJ, Devlin B, et al. The autism sequencing consortium: Large scale, high throughput sequencing in autism spectrum disorders. Neuron 2012; 76:1052-1056.
  23. Samuels ME, Hasselmann C, Deal C, et al. Whole-exome sequencing: Opportunities in pediatric endocrinology. Personalized Medicine 2014; 11:63-78.
  24. Poultney CS, Goldberg AP, Drapeau E, et al. Identification of small exonic CNV from whole-exome sequence data and application to autism spectrum disorder. The American Society of Human Genetics 2013; 93:607-619.
  25. Gauthier J, Rouleau GA. De novo mutations in neurological and psychiatric disorders: Effects, Diagnosis and Prevention. Genome Medicine 2012; 4:71.
  26. Veeramah KR, Johnstone L, Karafet TM, et al. Exome sequencing reveals new causal mutations in children with epileptic encephalopathies. Epilepsia 2013; 54:1270-1281.
  27. Biesecker LG, Burke W, Kohane I, et al. Next generation sequencing in the clinic: Are we ready? Nat Rev Genet 2012; 13:818-824.
  28. Toft T, Fink P, Ornbol E, et al. Mental disorders in primary care: Prevalence and co-morbidity among disorders: Results from the functional illness in primary care (FIP) study. Psychol Med 2005; 8:1175-1184.
  29. Yavuz R. Şizofreni. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar sempozyum dizisi 2008; 62:49-58.
  30. Han G, Sun J, Wang J, et al. Genomics in neurological disorders. Genomics Proteomics Bioinformatics 2014; 12:156-163.
  31. Gaebel W, Zielasek J. Schizophrenia in 2020: Trends in diagnosis and therapy. Psychiatry and Clinical Neurosciences 2015; 69:661-673.
  32. Fryers T, Brugha T. Childhood determinants of adult psychiatric disorder. Clin Pract Epidemiol Ment Health 2013; 9:1-50.
  33. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. Nature Reviews Neuroscience 2006; 7:818-827.
  34. Schreiber M, Dorschner M, Tsuang D. Next-generation sequencing in schizophrenia and other neuropsychiatric disorders. American Journal of Medical Genetics 2013; 162:671-678.
  35. Bras J, Guerreiro R, Hardy J. Use of Next-generation sequencing and other whole-genome strategies to dissect neurological disease. Neuroscience 2012; 13:453-464.
  36. Ezewudo M, Zwick ME. Evaluating rare variants in complex disorders using next generation sequencing. Curr Psychiatry Rep 2013; 15:349.
  37. Arıcıoğlu F, Çetin M. Psikiyatride Bireye Özgü Tedavi: Belki biraz eski veya biraz yeni, ama geleceğin tedavisi. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2010; 20:269-273.
  38. www.who.int/whr/2001/chapter2/.../index4.html.
  39. Kotan Z, Sarandöl A, Eker SS, et al. Depresyon, nöroplastisite ve nörotrofik faktörler. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry 2009; 1:22-35.
  40. Çiftçi H, Yıldız E, Mercanlıgil SM. Depresyon ve beslenme tedavisi. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2008; 28:369-377.
  41. Yavuz R. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Depresyon, somatizasyon ve psikiyatrik aciller sempozyumu 1999; 29-34.
  42. Noble RE. Depression in women. Metabolism 2005; 54:49-52.
  43. Colman I, Polubidis GB, Wadsworth ME, et al. A Longitudinal typology of symptoms of depression and anxiety over the life course. Biol Psychiatry 2007; 62:1265-1271.
  44. Chahrour MH, Yu TW, Elaine T, et al. Whole-exome sequencing and homozygosity analysis implicate depolarization-regulated neuronal genes in autism. PLoS Genet 2012; 8: e1002635.
  45. Köroğlu E. Psikonozoloji-tanımlayıcı klinik psikiyatri. HYB Yayıncılık 2004; 253-277.
  46. Ertan T. Psikiyatrik Bozuklukların Epidemiyolojisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar sempozyum dizisi 2008; 62:25-30.
  47. Dalton VS, Kolshus E, McLoughlin DM. Epigenetics and depression: Return of the repressed. J Affect Disord 2014; 155:1-12.
  48. Verbeek EC, Bevova MR, Bochdanovits Z, et al. Resequencing three candidate genes for major depressive disorder in a Dutch Cohort. PLoS One 2013; 8:e79921.
  49. Cai N, Bigdeli TB, Kretschmar W, et al. Sparse whole genome sequencing identifies two loci for major depressive disorder. Nature 2015; 523:588-591.
  50. Lekman M, Laje G, Charney D, et al. The FKBP5-gene in depression and treatment responses - an association study in the sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR\*D) cohort. Biol Psychiatry 2008; 63:1103-1110.
  51. Ellswortha KA, Moona I, Eckloff BW, et al. FKBP5 genetic variation: Association with selective serotonin reuptake inhibitor treatment outcomes in major depressive disorder. Pharmacogenet Genomics 2013; 23:156-166.
  52. Tammiste A, Jiang T, Fischer K, et al. A Whole-

- exome sequencing identifies a polymorphism in the BMP5 gene associated with SSRI treatment response in major depression. *J Psychopharmacol* 2013; 27:915-920.
53. Escudero I, Johnstone M. Genetics of schizophrenia. *Curr Psychiatry Rep* 2014;16:502.
  54. Guipponi M, Santoni FA, Setola V. Exome sequencing in 53 sporadic cases of schizophrenia identifies 18 putative candidate genes. *PLoS One* 2014; 9:e112745.
  55. Rodriguez-Murillo L, Gogos JA, Karayiorgou M. The Genetic architecture of schizophrenia: New mutations and emerging paradigms. *Annu Rev Med* 2012; 63:63-80.
  56. Greenwood TA, Lazzeroni LC, Calkins ME, et al. Genetic assessment of additional endophenotypes from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia Family Study. *Schizophr Res* 2016; 170:30-40.
  57. Lonita-Laza I, Xu, B, Makarov V, et al. Scan statistic-based analysis of exome sequencing data identifies FAN1 at 15q13.3 as a susceptibility gene for schizophrenia and autism. *Proc Natl Acad Sci* 2014; 111:343-348.
  58. Jablensky A. Epidemiology of Schizophrenia: The global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2000; 250:274-285.
  59. Gottesman II, Gould TD. The endophenotype concept in psychiatry: Etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry* 2003; 160:636-645.
  60. Girard SL, Gauthier J, Noreau A, et al. Increased exonic de novo mutation rate in individuals with schizophrenia. *Nat Genet* 2011; 43:860-863.
  61. Xu B, Roos JL, Dexheimer P, et al. Exome sequencing supports a de novo mutational paradigm for schizophrenia. *Nat Genet* 2011; 43:864-868.
  62. Vissers LE, de Ligt J, Gilissen C, et al. A de novo paradigm for mental retardation. *Nat Genet* 2010; 42:1109-1112.
  63. O'Roak BJ, Deriziotis P, Lee C, et al. Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations. *Nat Genet* 2011; 43:585-589.
  64. Need AC, McEvoy JP, Gennarelli M, et al. Exome sequencing followed by large-scale genotyping suggests a limited role for moderately rare risk factors of strong effect in schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2012; 91:303-312.
  65. Guipponi M, Santoni FA, Setola V, et al. Exome sequencing in 53 Sporadic Cases of schizophrenia identifies 18 putative candidate genes. *PLoS One* 2014; 9:e112745.
  66. Takata A, Xu B, Ionita-Laza I, et al. Loss-of-function variants in schizophrenia risk and SETD1A as a candidate susceptibility gene. *Neuron* 2014; 82:773-780.
  67. Purcell SM, Moran JL, Fromer M, et al. A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature* 2014; 506:185-190.
  68. Shprintzen RJ. Velo-cardio-facial syndrome. *Genetics of Pediatric Heart Disease* 2005;20:187-193.
  69. Merico D, Zarrei M, Costain G, et al. Whole-genome sequencing suggests schizophrenia risk mechanisms in Humans with 22q11.2 Deletion Syndrome. *Genomes* 2015; 5:2453-2461.
  70. Anderson IM, Haddad PM, Scott J. Bipolar disorder. *BMJ* 2012; 345:e8508.
  71. Kronfol Z, Zakaria Khalil M, Kumar P, et al. Bipolar disorders in the Arab world: a critical review. *Ann N Y Acad Sci* 2015;1345:59-66.
  72. Bauer M, Pfennig A. Epidemiology of Bipolar Disorders. *Epilepsia* 2005; 46:8-13.
  73. Akdemir D, Gökler B. Bipolar duygudurum bozukluğu olan anne babaların çocuklarında psikopatoloji. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2008; 19:133-140.
  74. Chen YC, Carter H, Parla J, et al. A hybrid likelihood model for sequence-based disease association studies. *PLoS Genet* 2013; 9:e1003224.
  75. Cruceanu C, Ambalavanan A, Spiegelman D, et al. Family-based exome-sequencing approach identifies rare susceptibility variants for lithium-responsive bipolar disorder. *Genome* 2013; 56:634-640.
  76. Shinozaki G, Potash JB. New developments in the genetics of bipolar disorder. *Curr Psychiatry Rep* 2014; 16:493.
  77. Georgi B, Craig D, Kember RL, et al. Genomic view of bipolar disorder revealed by whole genome sequencing in a genetic isolate. *PLoS Genet* 2014;10:e1004229.
  78. Fiorentino A, O'Brien NL, Locke DP, et al. Analysis of ANK3 and CACNA1C variants identified in bipolar disorder whole genome sequence data. *Bipolar Disord* 2014;16:583-591.
  79. Ansorge WJ. Next-generation DNA sequencing techniques. *New biotechnology* 2009; 25:195-203.
  80. Morris JA, Barrett JC. Olorin: Combining gene flow with exome sequencing in large family studies of complex disease. *Advance Access Publication* 2012; 28:3320-3321.