ANKARA ÜNİVERSİTESİ

BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ

DOKTORA TEZİ

ÖNEMİ BELİRSİZ KLONAL HEMATOPOEZ İLE ALZHEIMER HASTALIĞI ARASINDAKİ İLİŞKİ: UK BIOBANK WES DATA ANALİZİ

Burcu Çevik

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Meram Can Saka

Ocak

2024

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının; akademik kural ve etik ilkelere bağlı kalınarak hazırlandığını, çalışmada yararlanılan ve bu çalışma ürünü olmayan bütün bilgiler için kaynak yayınlara atıfta bulunulmuş olduğunu beyan ederim.

Burcu Çevik

İmzası

ONAY

Prof. Dr. Meram Can Saka danışmanlığında Burcu Çevik tarafından hazırlanan bu çalışma 31/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Nurten AKARSU İmza:

Üye: Prof. Dr. Meram Can SAKA İmza:

Üye: Prof. Dr. Işınsu KUZU İmza:

Üye: Doç. Dr. Bala GÜR DEDEOĞLU İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi İdil YET İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Demet CANSARAN DUMAN

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez ile Alzheimer Hastalığı arasındaki ilişki: UK Biobank WES data analizi

Burcu Çevik

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Prof. Dr. Meram Can Saka

Alzheimer hastalığı (AH) beynin bilişsel fonksiyonlarını yok eden nörodejeneratif bir hastalıktır. Dünya çapında 50 milyon insan, AH'nin alt grubunu oluşturduğu Demansa sahiptir. İlk kez 1906'da tanımlanan AH'nin nedenleri günümüze kadar farklı yaklaşımlarla araştırılmış, erken başlangıçlı AH için genetik nedenler ortaya konmuş, ancak geç başlangıçlı AH'nin nedenleri henüz aydınlatılamamıştır. AH için yaş en belirgin risk faktörüdür ancak yaşlanmanın hastalık üzerine etkileri tam olarak anlaşılamamıştır.

Yaşlanmayla birlikte hücrelerde letal olmayan somatik mutasyon geliştirme riski artmaktadır. Hematopoetik kök hücrelerde ortaya çıkan belirli somatik mutasyonlar o kök hücrenin ve o hücreden köken alan kan hücrelerinin klon olarak yayılımını arttırmaktadır. Bu klonal ekspansiyon, Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez ya da CHIP (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential) olarak adlandırılır. CHIP genç yaştaki insanlarda nadir olarak görülmekle birlikte, yaş arttıkça yaygınlaşmakta ve bu mutasyonlara sahip bireylerde yaşlanmayla ilişkili kanser dışı hastalık riskleri de artmaktadır.

Bu tez çalışmasında; AH tanısı almış (N=100) ve bu hasta grubuyla yaş cinsiyet ve APOE geni statüsü bakımından benzer olan AH tanısı almamış (N=100) yaşlı bireylerin UK Biobank WES verileri hematolojik malignite ile ilişkili genlerde ortaya çıkan somatik mutasyon açısından incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubunda CHIP varyantlarına daha fazla rastlanmıştır.

2024, 132 sayfa

Anahtar kelimeler: UK Biobank (UKB); Tüm Exom Sekanslama (WES); Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez (CHIP); Alzheimer Hastalığı (AH).

ABSTRACT

PhD Thesis

Connections Between Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential and Alzheimer's Disease: Analysis of the UK Biobank WES data

Burcu Çevik

Ankara University Biotechnology Institute

Prof. Meram Can Saka

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease that destroys the cognitive functions of the brain. 50 million people worldwide have Dementia, a subgroup of AD. The causes of AD, which was first described in 1906, have been investigated with different approaches until today, and genetic causes for early-onset AD have been revealed, but the causes of late-onset AD have not yet been elucidated. Age is the most obvious risk factor for AD, but the effects of aging on the disease are not fully understood.

The risk of developing non-lethal somatic mutations in cells increases with aging. Certain somatic mutations that occur in hematopoietic stem cells increase the clonal spread of that stem cell and the blood cells originating from that cell. This clonal expansion is called Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential or CHIP. Although CHIP is rare in young people, it becomes more common as age increases, and it has been shown that the risk of non-cancerous diseases associated with aging increases in individuals with these mutations.

In this thesis study; UK Biobank WES data of elderly individuals diagnosed with AD (N=100) and those without AD (N=100) who were similar to this patient group in terms of age, gender and APOE gene status were examined for somatic mutations in genes associated with hematological malignancy. Although not statistically significant, CHIP variants were more common in the control group.

2024, 132 pages

Keywords: UK Biobank (UKB); Whole Exome Sequence (WES); Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential (CHIP); Alzheimer's disease (AD)

TEŞEKKÜR

Doktora sürecimi en kolay şekilde geçirebilmem için benden her konuda yardımını asla esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Meram Can Saka'ya,

Kloanal hematopoez konusunu çalışmamda bana ilham kaynağı olan, bana yeni nesil dizileme teknolojisini öğreten ve tüm doktora sürecim boyunca ilerlememde büyük katkısı olan Prof. Dr. Işınsu Kuzu'ya,

Yeterlilik sınavında sınav jürisi olması vesilesiyle tanıştığım, doktora sürecim boyunca beni yönlendiren ve hep yardımcı olan tez izleme komitesi üyesi Prof. Dr. Nurten Akarsu'ya,

Tez önerisi sunumumdan tez savunması sürecine kadar bana her zaman pozitif geri dönüşler veren ve hep motivasyonumu yükselten tez izleme komitesi üyesi Doç. Dr. Bala Gür Dedeoğlu'na

Tezimin metod kısmındaki ham sekans veri analizi esnasında karşılaştığım tüm hata mesajları ile ilgilenen ve data analizi alanında gelişmemi sağlayan DNAnexus'un bilim insanları Ondrej, Gary, Chai ve Aishani'ye,

CHIP konusunu çalışmamda en büyük payı olan İspanya Ulusal Kardiyovasküler Hastalıklar Merkezi, Hematovasküler Patofizyoloji bölümü direktörü Dr. Jose Javier Fuster'a,

Tüm süreç boyunca yanımda olan ve her zorluğu aşmamda bana yardım eden laboratuvar arkadaşlarım Dr. Merve Besler ve Dr. Laleh Medayen'e,

Doktora sürecini daha önce tamamlamış ve ve bu süreçteki tüm deneyimlerini benimle paylaşan, bilimsel yorumlarıyla çalışmamın gelişmesini sağlayan arkadaşım Dr. Nazife Ayyıldız'a,

Biyoinformatik alanında bana her zaman danışmanlık yapan arkadaşım Dr. Can Justin Kiessling'e

Bu süreçte benimle birlikte büyük bir sabır gösteren ve başarımdaki en büyük paya sahip olan Aileme,

Sonsuz teşekkürler…

Bu tez çalışması bilimin gelişmesine katkı sağlayan UK Biobank katılımcılarına atfedilmiştir.

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2022-2537 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN ..... **İ**

ÖZET ..... **İİİ**

ABSTRACT ..... **İV**

TEŞEKKÜR ..... **V**

İÇİNDEKİLER ..... **Vİİ**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **Xİ**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **XİV**

SİMGELER DİZİNİ ..... **XVİ**

1. GİRİŞ **1**

2. KURAMSAL TEMELLER **2**

2.1. ALZHEIMER HASTALIĞI **2**

2.1.1. ALZHEIMER HASTALIĞININ NÖROPATOLOJİSİ 2

2.1.2. ALZHEIMER HASTALIĞININ GENETİĞİ 2

2.1.2.1. Apolipoprotein E İle Alzheimer Hastalığı Arasındaki İlişki 3

2.1.3. ALZHEIMER HASTALIĞININ VASKÜLER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ 3

2.2. KLONAL HEMATOPOEZ **4**

2.2.1. ÖNEMİ BELİRSİZ KLONAL HEMATOPOEZ 5

2.2.2. CHIP'İN KANSER VE DİĞER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ 5

2.2.3. CHIP'İN ALZHEIMER HASTALIĞI İLE İLİŞKİSİ 7

3. GEREKÇE VE AMAÇ **9**

4. MATERYAL VE YÖNTEM **10**

4.1. MATERYAL 10

4.2. YÖNTEM 10

4.2.1. KOHORTUN OLUŞTURULMASI 10

4.2.1.1. Dışlama Ve İçerme Kriterleri İçin Kullanılan Veri Alanları Ve Seçenekleri 12

4.2.1.1.1. Kanser Kayıtları Veri Alanı Kullanılarak Hematolojik Kanser Tanılı Grubun Dışlanması 13

4.2.1.1.2. İlk Rapor Veri Alanı Kullanılarak Kanser-Dışı Hastalık Tanılı Grubun Dışlanması 17

4.2.1.1.3. Sözlü Görüşme Veri Alanı Kullanılarak Hematolojik Kanser Tanılı Grubun Dışlanması 20

4.2.1.1.4. Hastane Kayıtları Veri Alanı Kullanılarak Seçilen ICD-9 Ve ICD-10 Tanılarına Göre Dışlama 20

4.2.1.1.5. Ölüm Kayıtları Veri Alanı Kullanılarak Seçilen ICD-9 Ve ICD-10 Tanılarına Göre Dışlama 26

4.2.1.1.6. Genotiplendirme Veri Alanı Kullanılarak Genetik Akrabalığı Olan Katılımcıların Dışlanması 28

4.2.1.1.7. Tüm Dışlama İşlemleri Sonrasında Oluşturulan Kohort 28

4.2.1.1.8. Genomik Filtreleme Aracı Kullanılarak APOE2/4 Varyantlarının Dışlanması .. 30

4.2.1.1.9. Hasta Ve Kontrol Grubunun Belirlenmesi 33

4.2.2. WES VERİSİNİN ANALİZİ 34

4.2.2.1. WES Verisi 34

4.2.2.2. WES Verisinin İşlenmesinde Kullanılan Araçlar 35

4.2.2.2.1. Swiss Army Knife (Version 4.9.1) 35

4.2.2.2.2. Mutectcaller (Parabricks Accelerated) 36

4.2.2.2.3. SnpEff Annotate 38

4.2.2.3. WES Verisinin İşlenme Basamakları 38

4.2.2.3.1. CRAM Dosyasının BAM Dosyasına Dönüştürülmesi 38

4.2.2.3.2. BAM Dosyalarının SM Taglerinin Bulunması 39

4.2.2.3.3. BAM Dosyasının VCF Dosyasına Dönüştürülmesi 40

4.2.2.3.4. VCF Dosyasının Anotasyonu 41

4.2.2.3.5. Anote Edilen VCF Dosyalarının Filtrelenmesi 42

4.2.2.3.6. Anote Edilen Ve Filtrelenen VCF Dosyasının Tabular Veriye Dönüştürülmesi 46

4.2.3.3.7. Kodlanmayan bölgelerdeki varyantların çıkarılması 46

4.2.3.3.8. İş Akışı Denemesi İçin Kullanılan Pozitif Örnekler 46

4.2.3.3.9. Sekans Artifaktlarının Çıkarılması İçin Kullanılan Negatif Örnekler 47

4.2.3. VARYANTLARIN DEĞERLENDİRMESİ 48

5. ARAŞTIRMA BULGULARI 51

5.1. POZİTİF ÖRNEKLERİN MUTASYON PROFİLİ 51

5.2. KOHORTUN ÖZELLİKLERİ 55

5.3. ÖRNEKLEMİN MUTASYON PROFİLİ 55

5.3.1. OKUMA DERİNLİĞİ DEĞERLERİ KULLANILARAK VARYANTLARIN FİLTRELENMESİ 56

5.3.1.1. Her İki Yönde Okuması Olmadığı İçin Sonuçlardan Çıkarılan Varyantlar 56

5.3.1.1. Her İki Yönde Okuması 3'den Az Olduğu İçin Sonuçlardan Çıkarılan Varyantlar 58

5.3.2. SEKANS ARTİFAKTLARININ BELİRLENEREK FİLTRELENMESİ..... 60

5.3.3. GERMLİNE OLDUĞU VARSAYILAN VARYANTLARIN ÇIKARILMASI..... 62

5.3.4. YANLIŞ ANLAM MUTASYONLARI DIŞINDAKİ MUTASYONLARA UYGULANAN EK FİLTRELEME 63

5.3.5. CHIP VARYANTLARI..... 64

5.3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 68

6. TARTIŞMA VE SONUÇ..... 69

6.1. TARTIŞMA 69

6.2. SONUÇ..... 73

KAYNAKLAR 74

EKLER 82

ÖZGEÇMİŞ 97

TEZDEN ÇIKAN YAYINLAR..... 98

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. CHIP'in hastalıklarla ilişkisi (48) 7

Şekil 4. 1. RAP içerisinde oluşturulmuş projelerin ekran görüntüsü 11

Şekil 4. 2. RAP içerisinde datasetinin gösterimi 12

Şekil 4. 3. Kanser kayıtlarında kullanılan kodların yıllara göre gösterimi 14

Şekil 4. 4. CB üzerinde kanser türü verileri için eklenen filtrelerin gösterimi 17

Şekil 4. 5. CB üzerinde kanser kayıtları üzerinden ICD10 ve ICD9 kodları için instance 20-21 ve 13-14'ün görünümü 17

Şekil 4. 6. CB üzerinde İlk rapor kayıtları verileri için eklenen filtrelerin gösterimi 19

Şekil 4. 7. CB üzerinde öz-bildirim verileri için eklenen filtrelerin gösterimi 20

Şekil 4. 8. CB üzerinde hastane kayıt verileri için eklenen filtrelerin gösterimi 21

Şekil 4. 9. CB üzerinde ölüm nedenleri verileri için eklenen filtrelerin gösterimi 27

Şekil 4. 10. Genetik akrabalık filtresinin CB üzerinde kullanımının gösterimi 29

Şekil 4. 11. CB üzerinde genetik akrabalık verisi için eklenen filtrelerin gösterimi 29

Şekil 4. 12. Filtreleme işlemleri sonrasında oluşturulan kohort 30

Şekil 4. 13. Genomik filtreleyici içerisine eklenen rsID'lerin CB üzerinde görünümü 31

Şekil 4. 14. rs7412 ve rs429358'e sahip bireylerden oluşan kohortun CB üzerinde görünümü 31

Şekil 4. 15. Cohort combine özelliğinin CB üzerindeki görünümü 32

Şekil 4. 16. "Cohort Combine" işlemi sonrası oluşturulan kohortun CB üzerinde görünümü 33

Şekil 4. 17. RAP üzerinde Exome sequences klasörünün gösterimi 34

Şekil 4. 18. Mutectcaller uygulamasının iş akışı 37

Şekil 4. 19. CRAM dosyasından BAM dosyasına dönüştürme işinin RAP içerisindeki görüntüsü 38

Şekil 4. 20. BAM dosyasının SM tag'ini bulma işinin RAP içerisindeki görüntüsü 39

Şekil 4. 21. BAM dosyasına ait SM tag'in log dosyasındaki görüntüsü 40

Şekil 4. 22. Mutectcaller uygulamasında BAM dosyasının VCF dosyasına dönüştürme işinin RAP içerisindeki görüntüsü 41

Şekil 4. 23. SnpEff Annotate uygulamasında VCF dosyasının anotasyonu işinin RAP içerisindeki görüntüsü 42

Şekil 4. 24. SAK uygulamasında anote edilmiş VCF dosyasının bed dosyası kullanılarak filtrelenmesi işinin RAP içerisindeki görüntüsü 45

Şekil 4. 25. Jupyterlab kod görüntüsü 46

Şekil 4. 26. CB üzerinde sağlıklı grubun gösterimi 47

Şekil 5. 1. İkinci örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı 52

Şekil 5. 2. Üçüncü örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı 53

Şekil 5. 3. Dördüncü örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı 53

Şekil 5. 4. Beşinci örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı 54

Şekil 5. 5. Altıncı örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı 54

Şekil 5. 6. LUC7L2 geninde aranan pozisyonun IGC'deki görünümü 60

Şekil 5. 7. PDS5B geninde tespit edilen ilk varyantın IGV'deki görünümü 61

Şekil 5. 8. PDS5B geninde tespit edilen ikinci varyantın IGV'deki görünümü 61

Şekil 5. 9. ASXL1 geninde tespit edilen varyantın IGV'deki görünümü 62

Şekil 5. 10. Tespit edilen varyantların sayısı 64

Şekil 5. 11. Genlerde bulunan varyant sayısı grafiği 65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. APOE varyantlarının gösterimi 3

Çizelge 4. 1. ICD10'a göre hematolojik kanser kodları ve isimleri 15

Çizelge 4. 2. ICD9'a göre hematolojik kanser kodları ve isimleri 16

Çizelge 4. 3. Hastane kayıtları verisi kullanılarak dışlanan ICD10 kodları 22

Çizelge 4. 4. Hastane kayıtları verisi kullanılarak dışlanan ICD9 kodları 24

Çizelge 4. 5. Ölüm nedenleri kayıtları alanında kullanılan alt veri alanları 27

Çizelge 4. 6. SAK içerisindeki araçlar 36

Çizelge 4. 7. İncelenen genler ve lokasyonları 43

Çizelge 4. 8. Pozittif örneklerin rs kodları ve açıklamaları 47

Çizelge 4. 9. Sorgulanan Varyantların Listesi 49

Çizelge 5. 1. Pozitif örneklerde tespit edilen varyantlar 52

Çizelge 5. 2. Tespit edilen varyantların popüslayon frekansları ve klinik önemleri 54

Çizelge 5. 3. Pozitif kontrollerde tespit edilen benign varyantlar 55

Çizelge 5. 4. Örneklemin sosyodemografik özellikleri 55

Çizelge 5. 5. FR ya da RR değerlerinden herhangi biri 0 olan varyantlar 57

Çizelge 5. 6. AltAD değeri 3'den küçük olan varyantlar 59

Çizelge 5. 7. Sekans artifaktı olarak değerlendirilen varyantlar 60

Çizelge 5. 8. Germline olarak değerlendirilen varyantlar 63

Çizelge 5. 9. ORF'nin ilk ya da son %10'ununda yer alan varyantlar 64

Çizelge 5. 10. CHIP varyantı taşıyıcılık oranı 65

Çizelge 5. 11. Kohortun CHIP varyant profili 66

Çizelge 5. 12.İstatistiksel bulgular 68

SİMGELER DİZİNİ

Aβ	Amyloid-β
AD	Alelik okuma derinliği
AF	Alel fraksiyonu
AltAD	Alternatif alel okuma derinliği
AH	Alzheimer Hastalığı
APOE	Apolipoprotein E
BAM	Binary Alignment Map
COSMIC	Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer
bp	baz çifti
BWA	Burrows-Wheeler Aligner
ºC	Santigrat derece
CB	Cohort Browser
CH	Klonal Hematopoez
CHIP	Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez
CRAM	Compressed Reference-oriented Alignment Map
DP	Okuma derinliği
GRCh38	Genome Reference Consortium Human Build 38
HGVS	Human Genome Variation Society
HSC	Hematopoietik kök hücre
ICD-9	International Classification of Diseases 9
ICD-10	International Classification of Diseases 10
Mbp	Milyon baz çifti
NFTs	Neurofibrillary tangles
NGS	Yeni Nesil Dizileme

OQFE	Original Quality Functionally Equivalent
OR	Odds Ratio
PiB	pebibyte
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAP	Research Analysis Platform
SAK	Swiss Army Knife
UKB	UK Biobank
VAF	Varyant Alel Fraksiyonu
VCF	Variant Call Format
WES	Whole Exome Sequence

1. GİRİŞ

Yaşlanma, bir dizi hastalık için en güçlü risk faktörüdür. Alzheimer Hastalığı (AH) ileri yaş ile direkt ilişkili olup, bu sürecin hastalık üzerine etkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Alzheimer hastalığı, yaşlılarda morbidite ve mortalitenin önde gelen nedeni olmayı sürdürmektedir ancak ilerlemesini etkili bir şekilde yavaşlatabilecek veya durdurabilecek tedaviler eksiktir.

Yaşlanan hematopoetik sistem, klonal genişlemeye yatkın olan edinilmiş somatik varyantların artan prevalansı ile karakterizedir. Hematopoetik kök hücrelerde ortaya çıkan bu somatik varyantlar klonal çoğalma ile sonuçlanır ve bu durum Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez (CHIP) olarak adlandırılır. CHIP taşıyıcıları, hematolojik kanserler için risk altındadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu somatik mutasyon taşıyıcılarının Kardiyovasküler hastalıklar için de risk altında olduklarını ortaya çıkarmıştır. Bu bağlantının, mutant makrofajlardaki inflamasyonun artmasıyla ilişkili olduğu hayvan deneyleriyle gösterilmiştir.

Alzheimer hastalığı ile beyindeki makrofaj benzeri hematopoetik hücreler olan mikrogliadaki fonksiyonel değişikliklerin AH ile ilişkili olduğu bilinmektedir. CHIP ile ilişkili mutasyonlar myeloid hücrelerin fonksiyonunu etkilediğinden, CHIP'in AH üzerine etkisi olup olmadığı bu hastalığın yaşlanma ile ilişkisini göstermek açısından önemlidir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. ALZHEIMER HASTALIĞI

Demans vakalarının %70'ini oluşturan, yaşa bağlı bilişsel bozukluğun en yaygın nedeni olan Alzheimer hastalığı beyin fonksiyonlarını aşamalı olarak yok eden nörodejeneratif bir beyin hastalığıdır. WHO 2019 verilerine göre AH ölüm nedenleri sıralamasında dünya çapında diğer demans türleri ile birlikte 7. sırada, yüksek gelirli ülkeler baz alındığında ise 2. sırada yer almaktadır (1). AH, tipik olarak bellek bozukluğu ile başlamakta, kademeli bir ilerleme göstererek ölümcül olmaktadır. Diğer yaygın bulguları arasında konfüzyon, yargılama bozukluğu, dil bozukluğu, görsel şikayetler, ajitasyon, sosyal içe çekilme ve halüsinasyonlar yer almaktadır. Tanı aşamasında beyin görüntüleme yöntemleri kullanılarak serebral patolojiler ve diğer demans alt tipleri dışlanmaktadır (2).

2.1.1. ALZHEIMER HASTALIĞININ NÖROPATOLOJİSİ

AH'ye hücresel fazda bakıldığında temporal loblarda ve kısmen hipokampusta birikim gösteren Amyloid-β (Aβ) plakları ve nörofibriler yumaklar (Neurofibrillary tangles - NFTs) iki önemli patoloji olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yerleşim özelliği hastalığın başlangıcındaki belirtilerinin neden bellekle ilgili olduğunu açıklamaktadır. Aβ plakları, amyloid öncü proteinin (APP) hatalı kesilmesi sonucunda olması gereken 40 veya 42 aminoasitten daha uzun olması, NFTs ise mikrotübülleri stabilize eden mikrotübül ilişkili bir protein olan tau'nun hiperfosforilasyonundan kaynaklanır (3,4). Son 10 yıldaki AH ile ilgili araştırmalar, bu iki patolojik bulguya ek olarak inflamasyonun da AH'nin patogenezinde katkı sağladığını söylemektedir (5).

2.1.2. ALZHEIMER HASTALIĞININ GENETİĞİ

AH'nin nedenlerine bakıldığında erken başlangıçlı AH (EOAD) vakaları (yaş <60-65) için genetik sebepler öne çıkmaktadır. 1990'larda keşfedilen APP, PSEN1, PSEN2 genlerindeki otozomal dominant mutasyonların Aβ plaklarının oluşum sürecinin önemli bir parçası olduğu gözlenmiştir (6–8). AH'nin yaklaşık % 95'ini oluşturan geç başlangıçlı AH (LOAD) (yaş > 60-65) vakalarının ise nedeni henüz tam olarak anlaşılamıştır (9). Hastalığa yaş, genetik ve çevresel etmenlerin katkı sağladığı ve multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir.

2.1.2.1. Apolipoprotein E İle Alzheimer Hastalığı Arasındaki İlişki

Apolipoprotein E (APOE), hepatositler ve astrositlerde üretilen, plazma ve beyin omurilik sıvısında bulunan, kolesterol ve lipid metabolizmasında rol oynayan bir glikoproteindir. APOE geni 19. Kromozomda yer alır. Üç ana APOE aleli (ε4, ε3 ve ε2) 2 tekli nükleotid polimorfizminde (rs429358 ve rs7412) varyantların kombinasyonuna göre isimlendirilir. APOE geni 4. ekzon 112. ve 158. pozisyondaki aminoasitlerin kombinasyonları APOE genlerinin allellerini verir (10). Çizelge 2.1.'de bu kombinasyonlar özetlenmiştir.

Çizelge 2. 1. APOE varyantlarının gösterimi

Allel	SNP rs429358	Protein 112	SNP rs7412	Protein 158
ε2	TGC	Cys	TGC	Cys (atasal olmayan
ε3	TGC	Cys	CGC	Arg
ε4	CGC (Atasal olmayan)	Arg	CGC	Arg

AH için APOE genindeki varyasyonların risk faktörü olduğu bulunmuş (11) APOE-4 varyantına heterozigot olarak sahip olmanın 3-4 kat, homozigot olarak sahip olmanın da 12 kat AH riskini arttırdığı gözlenmiştir (12). APOE-2 varyantına sahip olmak ise, APOE-3 ile kıyaslandığında az miktarda koruyucu etkiye sahip olduğu, APOE-3'ün de hastalık üzerine nötr bir etkisi olduğu bulunmuştur (13).

Alzheimer hastalığı geliştirme riski ile ilişkili çok sayıda duyarlılık geni (veya lokus) ve kodlama varyantları tanımlanmış, ancak büyük etki boyutu ve yüksek prevalansı nedeniyle, Apolipoprotein E geni (APOE) polimorfizmi, AD için en güçlü genetik risk belirleyicisi olmuştur.

2.1.3. ALZHEIMER HASTALIĞININ VASKÜLER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

AH, geleneksel olarak nöronları etkileyen nörodejeneratif bir hastalık olarak kabul edilse de, serebral makro ve mikrovasküler değişiklikler de mevcuttur. Beynin hassas bir şekilde düzenlenmiş kanlanması ve kan-beyin bariyeri değişimine kritik bağımlılığı göz önüne alındığında (14), bu vasküler değişiklikler nöronal disfonksiyonda ve demansın altında yatan hasarda rol oynayabileceği düşünülmektedir (15). AH patolojisi, vasküler düzensizliği, kan-

beyin bariyeri (KBB) bozulmasını indükleyerek ve aterosklerozu teşvik etmesiyle serebral kan damarlarında disfonksiyona ve hasara yol açar (16). Buna karşılık, kötü vasküler sağlık, Aβ üretimini artırarak ve vasküler klirensini azaltarak amyloid birikimini destekler. Vasküler ve AH patolojisinin zararlı etkileri beyin üzerinde birleşerek nöronal disfonksiyon ve kognitif bozukluğa neden olur (17). Serebral ve sistemik damarlarda ve kalpte meydana gelen değişiklikler sıklıkla AH patolojisi ile bir arada bulunur. Ortaya çıkan serebrovasküler yetmezlik, bilişsel işlev bozukluğunun başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunur. Ortalama yaşın 88.8 olduğu, vakaların %42'sinin AH teşhisi aldığı, 1143 bireyin beyninin incelendiği postmortem bir çalışmada; ateroskleroz veya arteriolosklerozun şiddetindeki her bir seviye artışı Alzheimer hastalığı görülme olasılığı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca epizodik, anlamsal, algısal, görsel-uzamsal alanlarda atesklerozun daha düşük skorlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, serebral ateroskleroz ve arteriyolosklerozun AH ile ilişkisini göstermekte, ancak serebral damar patolojisinin, AH için yeterince tanınmayan bir risk faktörü olduğu düşündürmüştür (18).

Aterosklerotik süreçlerin AH patolojisi üzerine etkisi (19,20), aterosklerotik olaylarla ilişkisi gösterilen ve yaşla birlikte prevelansının da arttığı bilinen hematopoetik kök hücrelerdeki somatik mutasyon birikimlerinin Alzheimer patolojisine de katkı yapabileceğini düşündürmektedir (21–23).

2.2. KLONAL HEMATOPOEZ

Tüm hücreler yaşamları boyunca, normal yaşlanma sürecinde, genomlarında apoptozla sonuçlanmayan ya da hücrenin sağ kalımı / çevreye uyumu açısından önemli sonuçlar barındırmayan mutasyonlar biriktirir (21). Nadiren de olsa, meydana geldiği hücreye seçici bir çoğalma avantajı sağlayan bir mutasyon ortaya çıktığında, bu mutasyon; hücrenin ve "klon" olarak adlandırılan soyunun zaman içinde aşamalı olarak çoğalıp baskın klon olmasını sağlayabilir. Hematopoetik kök hücreler (HSCs) doğası gereği daha fazla bölünme geçirdiği için daha fazla mutasyon gelişme riskine sahiptir. Bir HSCs, ona diğer kök hücrelere göre avantaj sağlayan bir mutasyon kazandığında, farklı genetik alt yapıya sahip myeloid hücre alt popülasyonunu oluşturur. Bu duruma "Klonal Hematopoez (CH)" denir (24).

Klonal hematopoez ilk kez asemptomatik bireylerde X kromozomunun inaktivasyon (XCI) modellerinin analizi yoluyla 90'lı yıllarda gösterilmiştir (25–28). Yeni nesil dizileme (NGS)

yönteminin gelişmesiyle, kanser veya hematolojik fenotipe sahip olmayan bireylerin periferik kan hücrelerindeki DNA'nın sekanslanmasıyla elde edilen Tüm Exom Sekans (WES) verilerinin analizi ile KH'ye sebep olan somatik mutasyonlar tespit edilmiş (29,30), günümüzde de tespit için yeni nesil dizileme yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.2.1. ÖNEMİ BELİRSİZ KLONAL HEMATOPOEZ

Hematolojik kanserlerin morfolojik kanıtları ortaya çıkmamış bireylerde kan veya kemik iliği hücrelerinde myeloid malignitelerle ilişkili bir gende en az %2 varyant allel fraksiyonlu (VAF) bir mutasyonun varlığı "Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential – CHIP)" olarak adlandırılmaktadır. Bu terim ilk kez Benjamin L. Ebert ve ark. tarafından 2015'te önerilmiştir(31). Saptanan belirli bir varyatın, toplam okuma (read) içerisinde yüzde kaç oranda gözlendiğini ifade eden VAF değeri yeni nesil dizileme teknolojileri (NGS) ile etkin olarak belirlenebilmektedir. CHIP kavramı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Hematolenfoid Tümörler: Myeloid ve Histiositik/Dendritik Neoplaziler sınıflandırmasında ilk kez 2022 yılında 5. Güncellemesinde resmi olarak tanımlanmış (32) ve myeloid malignitelerin potansiyel bir öncüsü olarak kabul edilmiştir (33).

CHIP prevalansı, bireyin yaşı ile bağlantılı olarak değişmektedir. CHIP prevalansının 40 yaşın altındaki bireylerde %1'den az, 70 yaş ve üzeri yaş bireylerde %10-30 olduğu hematolojik malignitesi olmayan bireylerin katıldığı çalışmalarda gösterilmiştir (29,30,34,35).

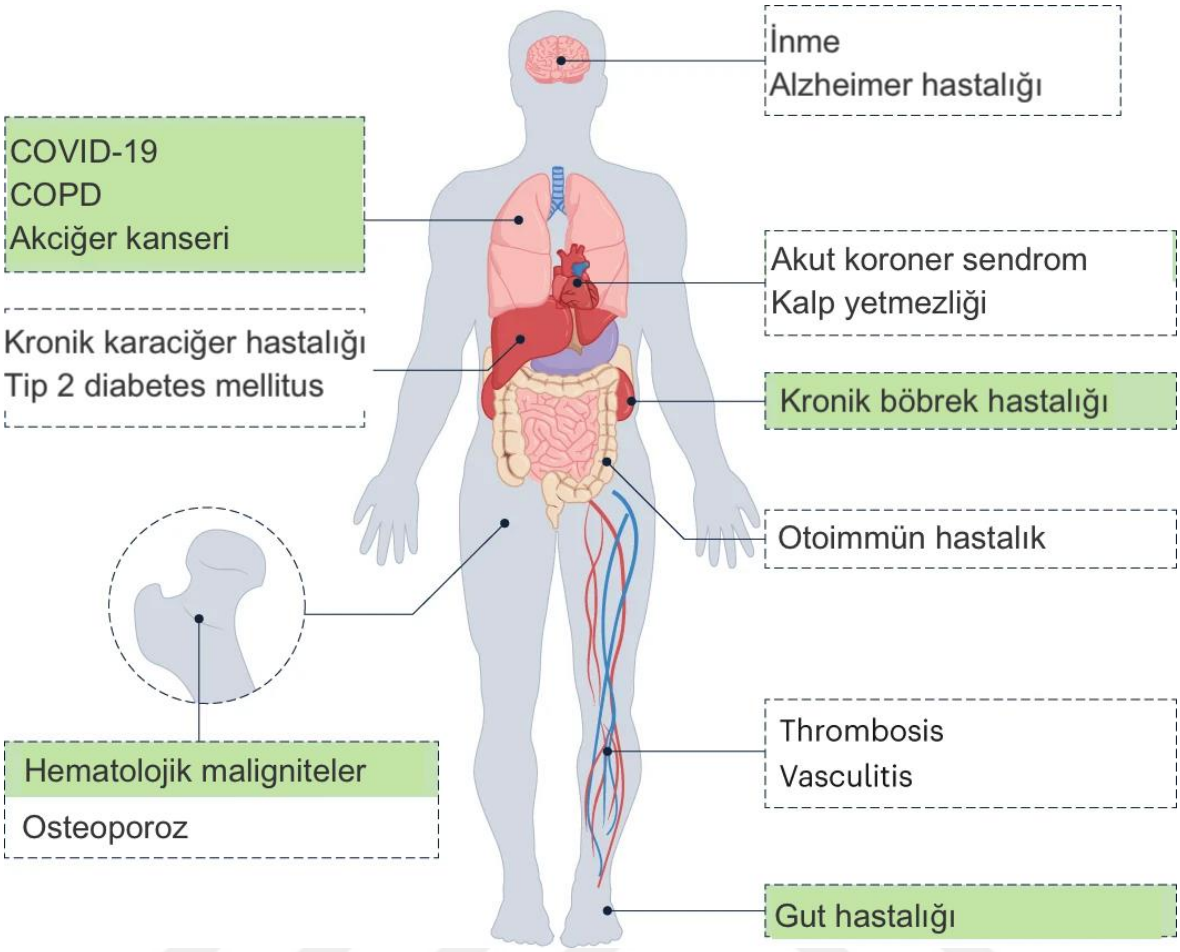
2.2.2. CHIP'İN KANSER VE DİĞER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

CHIP, normal bireylerde sitopeni ve morfolojik displazi yokluğu ve <%5 kemik iliği blastik hücre oranı durumunda ≥2 VAF değerine sahip somatik mutasyon varlığı ile oluşan durum için kullanılan terimdir. Eğer bu duruma 4 aydan uzun süren nedeni açıklanamayan sitopeni eklenirse bu Önemi Belirsiz Klonal Sitopeni (Clonal Cytopenia of Uncertain Significance – CCUS) olarak adlandırılır. CCUS durumuna ≥%10 morflolojik displazi ve <%20 artmış kemik iliği blastik hücre oranı eklenirse Myelodisplastik Sendrom (MDS) ortaya çıkar. Kemik iliği blast hücre oranının > %20 olma durumunda da oluşan tablo Akut Myeloid Lösemi (AML) olarak adlandırılır (36). CHIP bu süreçteki ilk basamak olarak kabul edilmektedir ve myeloid maligniteler için risk faktörüdür (33). Myeloid Neoplasm riskini;

mutasyon sayısının, belirli genlerde (SRSF2, SF3B1, ZRSR2, IDH1, IDH2, FLT3, RUNX1, ve JAK2) mutasyona sahip olmanın, sadece DNMT3A geninde tek bir mutasyona sahip olmanın, VAF değerinin %20'den düşük ya da yüksek olmasının, yaşın 65 üzeri ya da altında olmasının, sitopeninin tabloya eklenmesinin ve kandaki eritrosit dağılım genişliği (RDW) ile ortalama hücresel hacim (MCV) değerlerinin bu riski etkilediği gösterilmiştir (37)

Kanser dışında CHIP'in aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalığı, inme, iskemik kalp yetmezliği, iskemik olmayan kalp yetmezliği ile ilişkisi son yıllarda çıkan çok sayıdaki çalışmayla desteklenmiştir (38). CHIP'e sebep olan bir somatik mutasyona sahip olmanın koroner kalp hastalığı riskini 1.9 kat, miyokard infarktüsünü (MI) ise 4.0 kat arttırdığı gösterilmiştir (19). Bir diğer çalışmada, mutasyonlar artmış mortalite riski ile ilişkilendirilmiş, bu riskin kanser ölümleri ile açıklanamayacağı, verilerin artmış kardiyovasküler mortalite ile ilişkili olduğu görülmüştür (29). CHIP için in vivo çalışmalarda, en sık rastlanan mutant genlere göre modellenen hayvan çalışmalarına bakıldığında CHIP ile inflamasyon arasında karşılıklı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Tet2 -/- fare modellerinde IL-6 ve IL-1β ifadesinin arttığı (19,20,39,40), bu fare modellerinden elde edilen makrofajlarda Tet2 kaybının, IL-1β, IL-6, Arg1 ifadesinin artmasına sebep olduğu, TET2 mutasyonuna sahip myelodisplastik sendrom (MDS) ve kronik myelomonositik lösemi (CMML) hastalarından alınan makrofajlarda ise IL-6'nın ifade artışı gösterilmiştir (41). 65 yaş üzeri sağlıklı insanlarda, CH mutasyonlarına sahip olan bireyler, mutasyona sahip olmayan bireylerle karşılaştırıldığında C-reaktif protein (CRP) düzeylerinde ve eritrosit sedimentasyon hızında (ESR) bir farklılık olmamasına rağmen serum IL-6 düzeyinin iki katına çıktığı gözlenmiştir (42). Buna ek olarak bir başka çalışmada da TET2 geninde mutasyona sahip CHIP taşıyıcısı kişilerde daha yüksek IL-8 dolaşım seviyeleri gösterilmiştir (19). Kardiyovasküler hastalık tanılı bireylerin tüm genom sekans analizlerinin incelendiği bir diğer çalışmada da >%0.10'dan büyük VAF ile CHIP bulunan bireylerde, azalmış IL-6 sinyal yolağı varyasyonuna sahip olmanın kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı gösterilmiştir (43).

Çeşitli organ sistemlerindeki çok çeşitli diğer sağlık sonuçları KH ile ilişkilendirilmiştir; (44–49). Bu hastalıklar Şekil 2.1'de özetlenmiştir.



Şekil 2. 1. CHIP'in hastalıklarla ilişkisi (50)

2.2.3. CHIP'İN ALZHEIMER HASTALIĞI İLE İLİŞKİSİ

İleri yaşlarda, hematopoetik kök hücrelerde hücrelerin işlevleri ile ilgili birçok fonksiyonu olan genlerde somatik mutasyonların geliştiği ancak bunların hücrelerin farklılaşma veya olgunlaşmasını engellemeden biriktiği bilinmektedir. Zaman içinde biriken bu mutasyonların hücre işlevleri ile ilgili bazı gen aktivasyonlarına ve inflamatuar etkilere yol açtığı keşfedilmiştir.

AH inflamasyon ilişkisi de dikkat çekici şekilde karşımıza çıkmaktadır. Başlangıçta monosit / makrofaj gibi immün hücrelerin nörodejeneratif hastalıkların patolojisinde rolü olmadığı, kan beyin bariyeri (KBB)'nin beyin endotelyumunda özel taşıyıcılar ya da reseptörler olmadıkça, kandaki moleküllerin beyine girişini kısıtladığı düşünülüyordu. Ancak merkezi sinir sisteminin (MSS) bağışıklık sisteminden ayrı ve beyin enfeksiyonu koşulları haricinde bağışıklık hücresi doluluğu açısından steril olduğu düşüncesi son birkaç on yılda literatüre

eklenen yeni çalışmalarla değişmiştir (51). Yaşa bağlı olarak KBB geçirgenliğinin arttığı, vasküler ve AH demansına sahip kişilerin aynı yaştaki kontrol örnekleri ile kıyaslandığında bu artışın daha da fazla olduğu bildirilmiştir (52). AH'li bireylerin beyin dokularının incelendiği otopsi çalışmasında, Cyclooxygenase-2 pozitif makrofajların beyin perivasküler boşluğa ve nöropile (neuropile) sızdığı (53), periferal makrofaj ve nötrofillerin beyin parankimine geçtiği farklı çalışmalarda gösterilmiştir (54)(55)(56). Ayrıca kandan, merkezi sinir sistemine (MSS), IL-1α, IL-1β, IL-6, TNF-α gibi sitokinlerin doyurulabilir transport sistemi aracılığıyla geçtiği bulunmuştur (57). Bu bulgulara dayanarak, beynin düşünüldüğü gibi kan hücreleri ve kan bileşenlerinden çok da izole bir ortam olmadığı görüşü güncel literatürde mevcuttur (51). Bununla uyumlu olacak şekilde de amyloid-β birikiminin NLRP3 inflamazom yolağını aktive etmesi yoluyla AH ile inflamasyon ilişkisi sıklıkla bildirilmektedir (5,58–60).

Bu bulgular, inflamasyonla ilişkili olabilecek AH'nin de içinde bulunduğu nörodejeneratif hastalıkların patolojisinde CHIP'in etkili olabileceğini düşündürmektedir (21). Literatüre bakıldığında CHIP ve AH arasındaki ilişkinin incelendiği ilk çalışma Kadın Sağlığı İnisiyatifi Hafıza Çalışması (Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS))'nın verilerinin incelendiği, hafif bilişsel bozukluk ya da olası demans grubu ile kontrol grubunu CHIP mutasyonu varlığı açısından karşılaştıran, CHIP mutasyonu sahibi olmanın bilişsel bozulma riski açısından ilişkisiz olduğunu gösteren bir poster sunumudur (61). İkinci çalışma ise 2021 yılında 63. Amerikan Hematoloji Birliği'nin (American Society of Hematology) kongresinde sunulan (62) ve 2023 yılında Nature Medicine dergisinde yayımlanan CHIP mutasyonlarının AH üzerinde koruyucu etkisi olduğunu gösteren çalışmadır (63). Bu çalışmada 3 farklı projeden (FHS, CHS, ADSP) 1362 AH ve 4368 AH tanısı olmayan bireyin tüm genom/ekzom sekans verileri incelenmiş, meta-analiz sonucunda CHIP varyantlarına sahip bireyler için AH riskinin 0.64 oranında azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CHIP taşıyıcılarının kan hücrelerinde görülen mutasyonların beyin dokusunda bulunup bulunmadığını belirlemek için, CHIP taşıyıcısı olduğu tespit edilen 8 bireyin beyin dokuları bu somatik varyantlar açısından incelendiğinde 6'sında kanda rastlanan aynı varyantlara rastlanmış, 2'sinde kandaki varyantlar tespit edilmemiştir. Beyinlerinde kandaki CHIP varyantı ile aynı varyanta sahip olan 6 bireyin AH demansı olmadığı ve AH ilişkili nöropatolojik değişime sahip olmadıkları, tespit edilen 2 bireyin ise AH demansına sahip oldukları belirtilmiştir.

3. GEREKÇE VE AMAÇ

Son 10 yılda amyloid seviyelerini düşürmeyi amaçlayan, hastalığın gerilemesinde veya bilişte iyileşme sağlamayan birden fazla ilacın tekrarlanan başarısızlığından elde edilen içgörülerden biri, klinik olarak Alzheimer hastalığı olarak adlandırılan hastalığın basit bir durum olmadığı ve her hastada tek bir biyolojik mekanizmaya bağlı olmadığıdır. Şu andaki mevcut ilaçlar AH'nin ilerlemesini durdurmamakta ve tersine çevirmemektedir. Bu durum bilim insanlarını hastalıkla ilgili yeni hipotezler, farklı çalışma stratejileri geliştirmeye zorlamaktadır. CHIP kapsamında bilinen mutasyonların yaşlılıkla arttığı bilinmekle beraber, yaşlılarda sık görülen AH ile ilişkisinin çalışılması bu alanda yeni bir açılım yapmaya adaydır ve son yılların en gözde konularından birisidir.

Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi gösterilen ve yaşlanmayla birlikte oluşan hematopoetik kök hücrelerdeki somatik mutasyonların, inflamasyon aracılığıyla AH'nin patogenezine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu tez çalışmasının amacı Hematopoetik kök hücrelerde meydana gelen somatik mutasyonların, Alzheimer hastalığı için bir risk faktörü olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaca ulaşmak için:

1) UK Biobank boylamsal çalışmasına katılan hematolojik maligniteye sahip olmayan AH tanısı almış ve almamış yaşlı bireylerde, periferik kandan elde edilen DNA ile çalışılmış Tüm Ekzom Sekanslama (Whole exome sequencing (WES)) datası somatik mutasyon açısından incelenmiştir.

2) Oluşturulan kohorttaki tüm katılımcıların sahip oldukları hematolojik malignitelerle ilişkilendirilmiş 74 gendeki CHIP varyantları tespit edilerek, bu genlerdeki mutasyon profili, VAF (Varyant alel frekansı) değeri ve mutasyon sayısı tespit edilmiştir. Ayrıca kohort oluşturulurken yaşlanma ve ileri yaşla birlikte sıklığı artan kompleks hastalıklar, UKB sağlıkla ilişkili veriler klasöründeki farklı data alanları kullanılarak dışlanmıştır.

3) Kohort içerisindeki hasta ve kontrol grubunun CHIP taşıyıcılık oranları belirlenmiş, istatistiksel olarak anlamlılıkları araştırılmıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. MATERYAL

Bu tez çalışmasında UK Biobank (UKB)'a ait Tüm Exom Sekanslama (Whole Exome Sequencing (WES)) veri seti ve fenotipik veriler kullanılmıştır. Veri erişimi için UK Biobank'a proje başvurusunda bulunulmuş, https://www.ukbiobank.ac.uk/enable-your-research/apply-for-access proje 20 Nisan 2022 tarihinde kabul edilmiştir. (https://www.ukbiobank.ac.uk/enable-your-research/approved-research/a-uk-biobank-longitudinal-study-of-clonal-haematopoiesis-and-risk-of-alzheimer-s-disease) Tüm çalışma 81793 ID'li "A UK Biobank longitudinal study of clonal haematopoiesis and risk of Alzheimer's Disease" başlıklı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında kullanılan UK Biobank verileri için, etik kurul iznine gerek yoktur. UK Biobank, 2011 yılında "UK Biobank: a large scale prospective epidemiological resource of 500,000 people aged 40-69 from around the UK" (Birleşik Krallık Biyobankası: Birleşik Krallık'ın dört bir yanından 40-69 yaş arası 500.000 kişiden oluşan büyük ölçekli ileriye dönük bir epidemiyolojik kaynak) başlığı ile **NHS National Research Ethics Service North West Multi-centre Research Ethics Committee (MREC)**'sine yaptıkları başvuruda (Referans no: 11/NW/0382) Araştırma Doku Bankası Kaynağı olarak etik izin almıştır. Bu onay, UK Biobank resmi araştırmacıları için ayrı bir etik izne ihtiyaç duyulmadığı ve bu onay kapsamında araştırmacıların araştırmalarını yapabilecekleri anlamına gelmektedir. (https://www.ukbiobank.ac.uk/learn-more-about-uk-biobank/about-us/ethics)

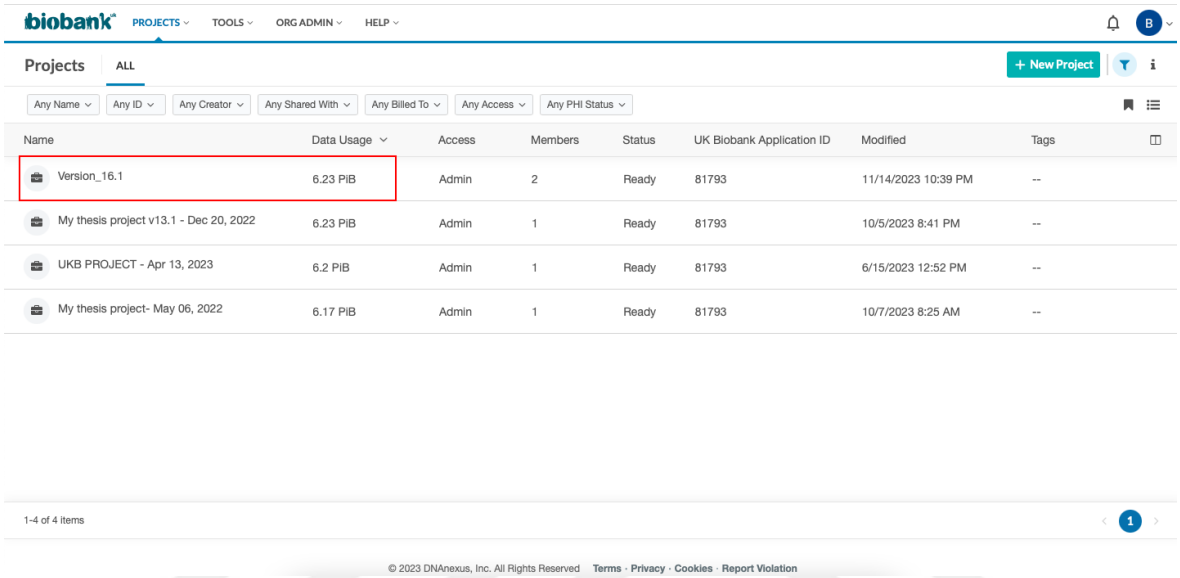
4.2. YÖNTEM

4.2.1. KOHORTUN OLUŞTURULMASI

UK Biobank 2006-2010 yılları arasında çalışmaya katılan 40-69 yaş arası 500.000'den fazla katılımcının yer aldığı çok geniş ve ayrıntılı, ileriye dönük bir çalışmadır (64). Bu tez çalışmasında UK Biobank çalışmasına katılan katılımcıların genomik ve fenotipik verileri kullanılmıştır.

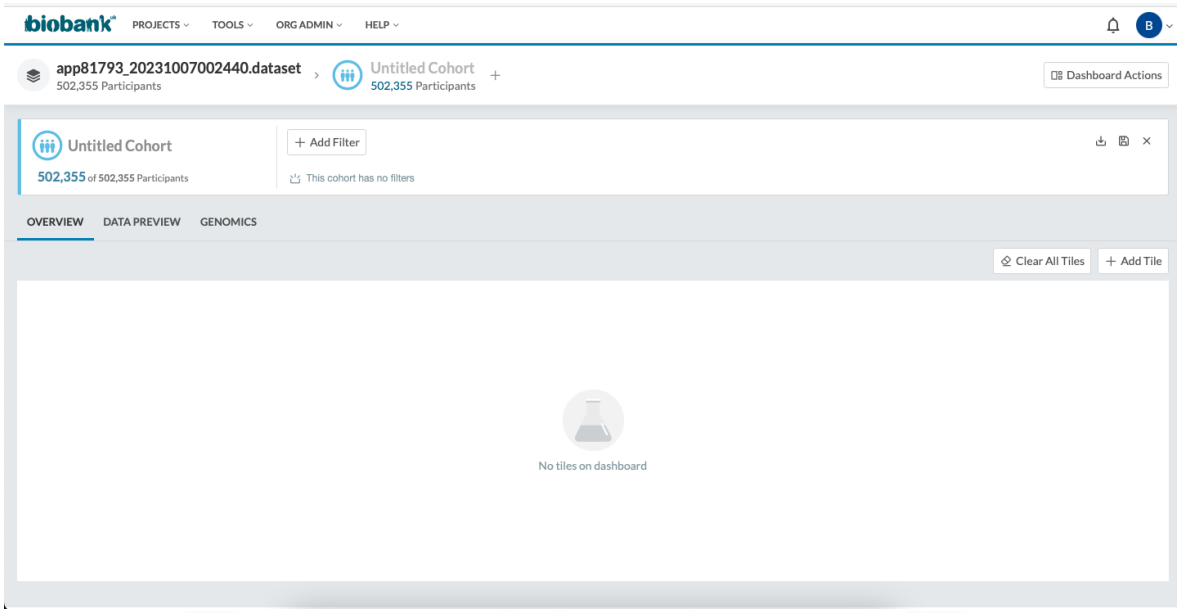
81793 ID'li proje kapsamında kullanılacak olan verilere erişim için, öncelikle UK Biobank Research Analysis Platform (RAP)'da kullanılan kullanıcı adı ve şifre oluşturulmuş

sonrasında https://ukbiobank.dnanexus.com web adresinden sisteme giriş yapılmıştır. İlk olarak RAP içerisinde UK Biobank başvuru kodu girilerek bir proje oluşturulmuştur. User-ukb.robot datasetini oluşturulan proje içine dağıtmıştır. Oluşturulan her yeni proje içerisine user-ukb.robot en son yayınlanan veriyi dağıtmaktadır. Bu tez çalışmasında, 2 Ağustos 2023 tarihinde yayınlanan data seti version 16.1 kullanılmıştır. Oluştrulan proje **6.23 PiB** büyüklüğündedir. Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 1. RAP içerisinde oluşturulmuş projelerin ekran görüntüsü

Kohort dizaynı ve tüm ham veri analizi RAP içerisinde gerçekleştirilmiştir. Kohort dizaynı için platform içerisinde yer alan Kohort Tarayıcısı (Cohort Browser (CB)) kullanılmıştır. Kohort dizaynı için "app81793_20231007002440.dataset" başlıklı data seti kullanılmıştır. Bu data setinde 502,355 katılımcının verisi mevcuttur. Şekil 4.2.'de RAP içerisinde CB üzerinden dataseti gösterilmiştir.



Şekil 4. 2. RAP içerisinde datasetinin gösterimi

Kohort dizayn edilirken **ilk olarak**; CB üzerinde "Filtre Ekle (Add Filter)" özelliği aracılığıyla, hematolojik kanser tanısı almış katılımcılar, kardiyovasküler hastalık tanısı almış katılımcılar ve AH dışındaki Demans tanısı almış katılımcılar veri seti içerisindeki kohorttan belirli veri alanları ve belirli seçenekler kullanılarak dışlanmıştır. **İkinci olarak;** kohort içerisinde genotype verisi kullanılarak genetik akrabalığa sahip tüm bireyler dışlanmıştır. **Üçüncü olarak**; "Genomik filtre ekle (Genomic Add Filter)" özelliği aracılığla, APOE2 ve APOE4 varyantlarına homozigotik veya heterozigotik olarak sahip tüm bireyler dışlanmıştır. Dışlama kriterleri uygulandıktan sonra belirli veri alanları kullanılarak kohorttaki AH tanısı almış bireyler tespit edilmiştir. AH tanısı alan grup **"Hasta grubu"** olarak adlandırılmıştır. Kohort içerisinden hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyete sahip AH tanısı almamış aynı sayıda katılımcı seçilerek **"Kontrol grubu"** oluşturulmuştur.

4.2.1.1. Dışlama Ve İçerme Kriterleri İçin Kullanılan Veri Alanları Ve Seçenekleri

Kullanılan dışlama faktörleri, veri alanlarına göre belirtilerek aşağıdaki başlıklarda gösterilmiştir.

UKB fenotipik verileri 8 ana başlık altındadır. UK Biobank Fenotipik verilerinin olduğu data alanlarının başlıkları aşağıda belirtilmiştir:

1. Participant information (Katılımcı bilgisi)
2. Population characteristics (Popülasyon karakteristiği)
3. Assessment centre (Değerlendirme merkezi)
4. Biological samples (Biyolojik örnekler)
5. Genomics (Genomiks)
6. Online follow-up (Çevrimiçi takip)
7. Additional exposures (Ek maruziyetler)
8. Health-related outcomes (Sağlıkla ilişkili veriler)

RAP CB üzerinde data seti içerisindeki tüm katılımcılar içerisinden eğer belirli bir hastalık grubunu içeren **tüm** katılımcılar dışlanmak ya da belirli bir hastalık tanısına sahip **tüm** katılımcılar bulunmak isteniyorsa; birden fazla data alanı, bu alanların alt grupları olan instance'lar ve bu instance'ların alt grupları olan array'ler içerisinde, belirlenen kriterler kullanılarak tek tek "dışlama (excluded)" ve "içerme (included)" işlemi yapılması gerekmektedir. Çünkü sistem içerisinde tüm hastalık verilerini içeren ve tüm data alanlarını kapsayan tek bir data alanı bulunmamaktadır. Aşağıda kullanılan tüm data alanları ve bunların alt grupları belirtilmiş, filtreleme işlemleri aşama aşama gösterilmiştir.

4.2.1.1.1. Kanser Kayıtları Veri Alanı Kullanılarak Hematolojik Kanser Tanılı Grubun Dışlanması

UKB datasetinde Hematolojik kanser tanılı katılımcıları dışlamak için "Sağlıkla İlişkili Veriler" başlığı altındaki kanser kayıtları (Cancer register (Kategori 100092)) veri alanı kullanılmıştır. Kanser kayıtları ICD-9 ve ICD-10 olmak üzere iki farklı alt kategoriye ayrılmaktadır. UKB, Kanser kayıtları için 1979-1996 yılları arasında ICD-9 kodlarını, 1997 sonrası için de ICD-10 kodlarını kullanmıştır. Yıllara göre gösterimi Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.

Cancer data

Cancer	Data Provider	International Classification of Diseases (ICD)		Period of data currently available	Censoring date
		ICD9	ICD10		
England	NHS England	1979 - 1994	1995 onwards	1971 onwards	31 December 2020
Wales	NHS England	1979 - 1994	1995 onwards	1971 onwards	31 December 2016
Scotland	National Records of Scotland, NHS Central Register	1980 - 1996	1997 onwards	1957 onwards	30 November 2021

Şekil 4. 3. Kanser kayıtlarında kullanılan kodların yıllara göre gösterimi

ICD-10'a göre kanser türü (Type of cancer) kayıtlarının olduğu (Data alanı: 40006) data alanı içerisinde İngiltere, Galler ve İskoçya'dan 22 farklı merkeze (Instance) ait alt veri alanları bulunmaktadır. Bu alt veri alanları içerisinde Çizelge 4.1.'de belirtilen kodlar seçilerek hematolojik kanser türleri için dışlama işlemi yapılmıştır.

Çizelge 4. 1. ICD-10'a göre hematolojik kanser kodları ve isimleri

	ICD-10	**Chapter II Neoplasms**
1	C92	Myeloid leukaemia
2	C93	Monocytic leukaemia
3	C94	Other leukaemias of specified cell type
4	C95	Leukaemia of unspecified cell type
5	C96	Other and unspecified malignant neoplasms of lymphoid, haematopoietic and related tissue
6	D45	Polycythaemia vera
7	D46	Myelodysplastic syndromes
8	D47	Other neoplasms of uncertain or unknown behaviour of lymphoid, haematopoietic and related tissue
9	D76	Certain diseases involving lymphoreticular tissue and reticulohistiocytic system

ICD-9'a göre kanser türü (Type of cancer) kayıtlarının olduğu (Data alanı: 40013) data alanı içerisinde 14 farklı merkeze (Instance) ait alt veri alanları bulunmaktadır. Bu alt veri alanları içerisinde Çizelge 4.2.'de belirtilen kodlar seçilerek hematolojik kanser türleri için dışlama işlemi yapılmıştır.

Çizelge 4. 2. ICD-9'a göre hematolojik kanser kodları ve isimleri

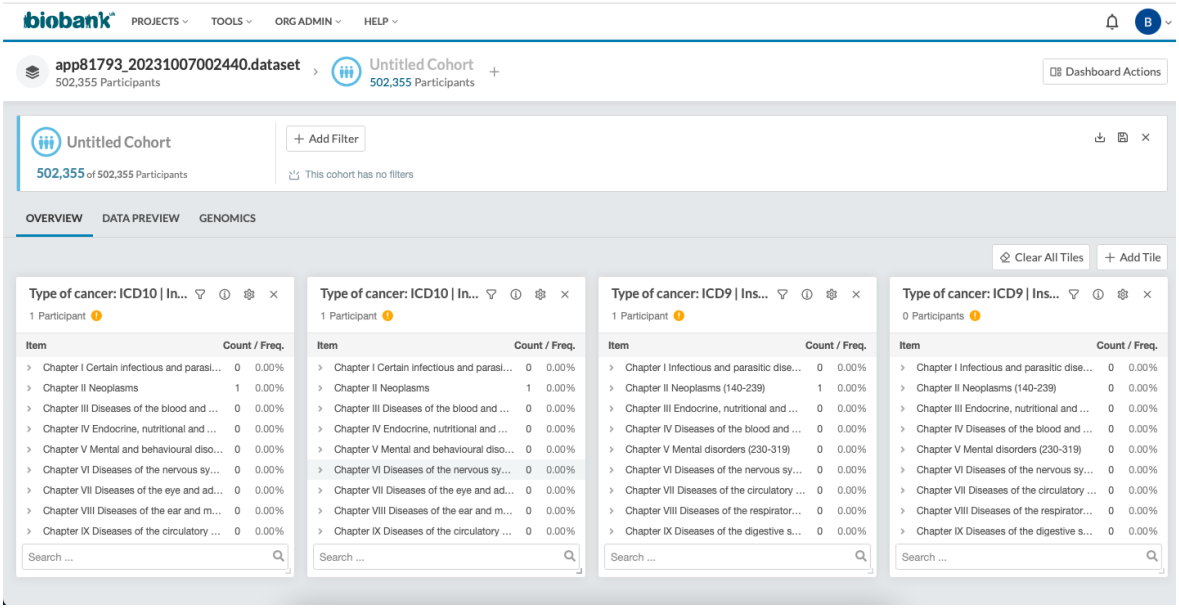
	ICD-9	**Chapter II Neoplasms**
1	205	Myeloid leukaemia
2	206	Monocytic leukaemia
3	207	Other specified leukaemias
4	208	Leukaemia of unspecified cell type
5	2384	Polycythaemia vera
6	2385	Neoplasms of uncertain behaviour histiocytic and mast cells
7	2386	Neoplasm of uncertain behaviour of plasma cells
8	2387	Neoplasms of uncertain behaviour of lymphoid, haematopoietic tiss
9	2388	Neoplasm of uncertain behaviour of other specified sites
10	2389	Neoplasm of uncertain behaviour of unspecified sites
11	2023	Malignant histiocytosis
12	2029	Other and unspecified malignant neoplasms of lymphoid and histiocytic tissue

ICD-10 için sadece ilk 6 (0-5 Instance), ICD-9 için de sadece ilk 5 alan (0-4 Instance) alan kullanılmıştır. Dışlama işleminin yapıldığı 11 alanın ekran görüntüsü Şekil 4.4.'te gösterilmiştir. Şekilde gösterilen "9 values" Çizelge 4.1.'de belirtilen kodlar, "12 values" ise Çizelge 4.2.'de belirtilen kodlardır.



Şekil 4. 4. CB üzerinde kanser türü verileri için eklenen filtrelerin gösterimi

Diğer Instance'lar Çizelge 4.1. ve 4.2.'de belirtilen kodlar için boş olduğundan bu veri alanları dışlama işlemi için kullanılmamıştır. Boş olan ICD-10 için instance 20 ve 21, ICD-9 için instance 13 ve 14 Şekil 4.5.'teki ekran görüntüsünde örnek olarak gösterilmiştir.



Şekil 4. 5. CB üzerinde kanser kayıtları üzerinden ICD-10 ve ICD-9 kodları için instance 20-21 ve 13-14'ün görünümü

4.2.1.1.2. İlk Rapor Veri Alanı Kullanılarak Kanser-Dışı Hastalık Tanılı Grubun Dışlanması

Sağlıkla ilişkili veriler başlığı altındaki İlk rapor verileri (First Occurrences (data alanı: 1712) kayıtları kanser dışı hastalıkları dışlamak için kullanılmıştır. Bunlar; Birinci Basamak, Hastane, Ölüm ve Kişisel bildirim alanlarını temel almaktadır.

Health-related outcomes → *First occurrences* (Kategori 1712)

- Kanserdışı hastalıklar için kullanılır.

  i. *Primary Care data* (Kategori 3000)
  ii. *Hospital inpatient data* (Kategori 2000)
  iii. *Death Register records* (Kategori 4001, 4002)
  iv. *Self-reported medical condition codes* (Kategori 2002)

Aşağıda bu dışlama için kullanılan Kardiyovasküler hastalıklar ve AH dışı demans hastalıklarının veri alanlarının isimleri ve data alan numaraları gösterilmiştir.

Data alanı: 2409 Kan dolaşım sistemi (Circulatory system disorders) başlığı altında yer alan hastalık alanları:

131299 Source of report of I21 (acute myocardial infarction)

131301 Source of report of I22 (subsequent myocardial infarction)

131303 Source of report of I23 (certain current complications following acute myocardial infarction)

131305 Source of report of I24 (other acute ischaemic heart diseases)

131307 Source of report of I25 (chronic ischaemic heart disease)

131351 Source of report of I48 (atrial fibrillation and flutter)

131355 Source of report of I50 (heart failure)

131361 Source of report of I60 (subarachnoid haemorrhage)

131363 Source of report of I61 (intracerebral haemorrhage)

131367 Source of report of I63 (cerebral infarction)

131369 Source of report of I64 (stroke, not specified as haemorrhage or infarction)

131289 Source of report of I11 (hypertensive heart disease)

131293 Source of report of I13 (hypertensive heart and renal disease)

Data alanı: 2405 Zihinsel ve Davranışsal bozukluklar (Mental and behavioural disorders) başlığı altında yer alan hastalık alanları

130839 Source of report of F01 (vascular dementia)

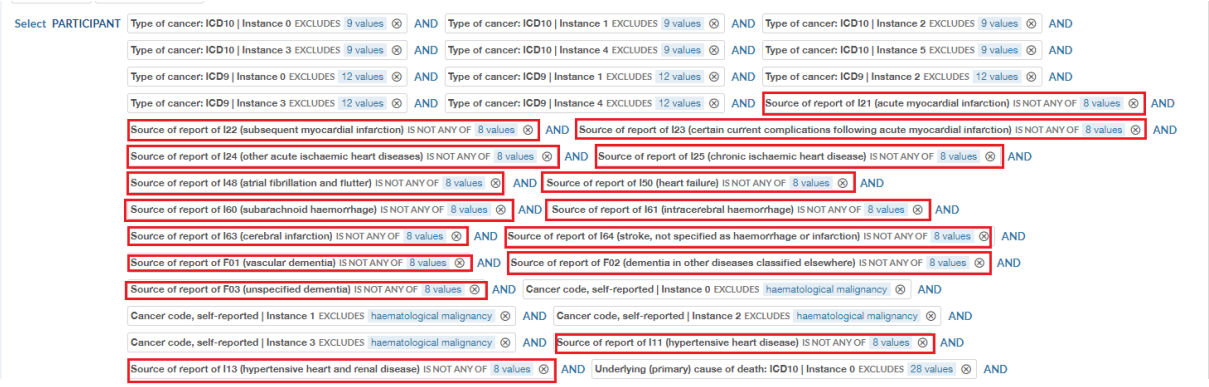
130841 Source of report of F02 (dementia in other diseases classified elsewhere)

130843 Source of report of F03 (unspecified dementia)

Bu hastalık alanlarında aşağıda belirtilen 8 kayıt için dışlama işlemi gerçekleştirilmiştir.

1. Death register only
2. Death register and other source(s)
3. Primary care only
4. Primary care and other source(s)
5. Hospital admissions data only
6. Hospital admissions data and other source(s)
7. Self-report only
8. Self-report and other source(s)

Dışlama işleminin yapıldığı İlk rapor kayıtları kategorisi içerisinde kullanılan 16 alanın CB üzerindeki filtreleme işlemi Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 4. 6. CB üzerinde İlk rapor kayıtları verileri için eklenen filtrelerin gösterimi

4.2.1.1.3. Sözlü Görüşme Veri Alanı Kullanılarak Hematolojik Kanser Tanılı Grubun Dışlanması

Dataseti içerisindeki Hematolojik kanser tanılı katılımcıları kohorttan çıkarmak için "Değerlendirme merkezi" başlığı altındaki katılımcı tarafından beyan edilen kanser tanısı ile oluşturulan data alanı kullanılmıştır. Bu data alanı 4 Instance içermektedir.

Değerlendirme merkezi başlığı altındaki alt kategoriler aşağıda gösterilmiştir.

Assessment centre → Verbal interview (Category 100071) → Medical conditions (Category 100074) → Cancer code, self-reported (Category 20001)

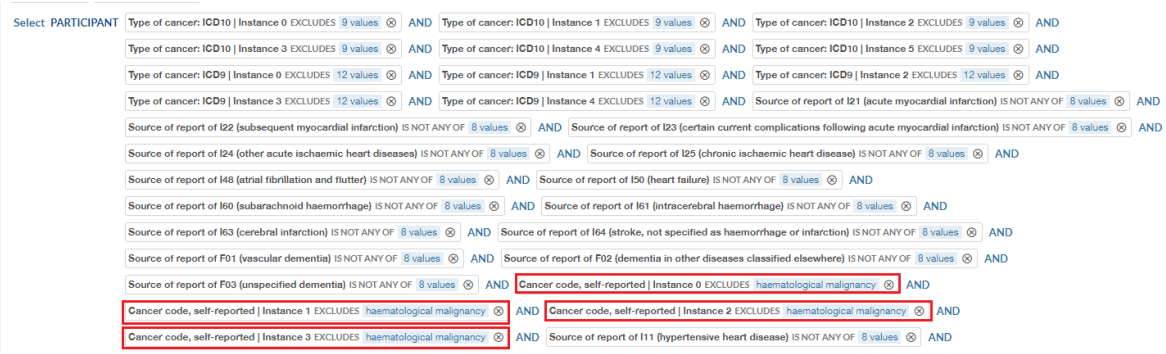
Instance 0

Instance 1

Instance 2

Instance 3

Bu alanlardan "haematological malignancy" klasöründeki tüm katılımcılar dışlanmıştır. Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.

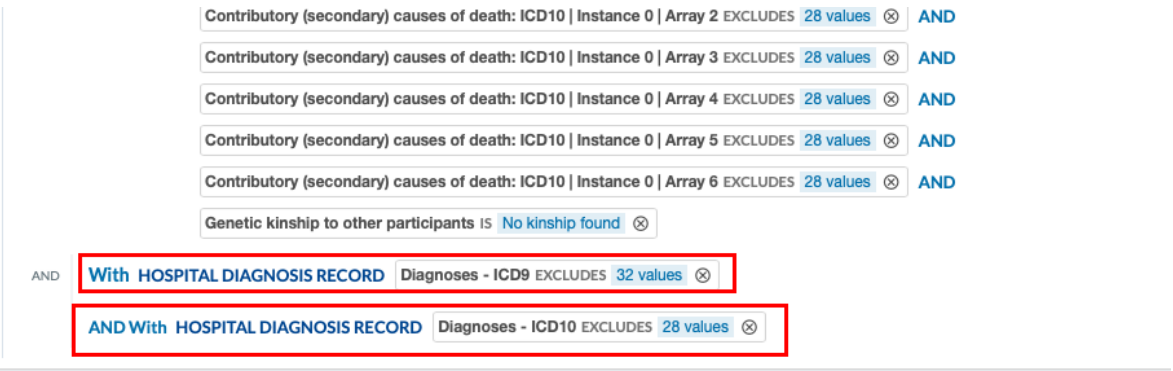


Şekil 4. 7. CB üzerinde öz-bildirim verileri için eklenen filtrelerin gösterimi

4.2.1.1.4. Hastane Kayıtları Veri Alanı Kullanılarak Seçilen ICD-9 Ve ICD-10 Tanılarına Göre Dışlama

Sağlıkla ilişkili veriler başlığı altındaki hastane tanı kayıtlarının altında yer alan ICD-10 ve ICD-9 için olan iki farklı data alanı kullanılarak hematolojik kanser, kardiyovasküler

hastalıklar ve AH dışındaki Demans türleri dışlanmıştır. CB üzerinde dışlama işlemi Şekil. 4.8'de gösterilmiştir. Dışlama işleminde kullanılan ICD-10 ve ICD-9 kodları ve açıklamaları Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 8. CB üzerinde hastane kayıt verileri için eklenen filtrelerin gösterimi

Sağlıkla ilişkili veriler başlığı altındaki kullanılan alt kategoriler aşağıda gösterilmiştir.

1) *Health-related outcomes → Hospital inpatient → Record level Access → Hospital diagnoses record → Diagnoses ICD10*

2) *Health-related outcomes → Hospital inpatient → Record level Access → Hospital diagnoses record → Diagnoses ICD9*

Çizelge 4. 3. Hastane kayıtları verisi kullanılarak dışlanan ICD-10 kodları

	ICD-10	**Chapter II Neoplasms**
1	C92	Myeloid leukaemia
2	C93	Monocytic leukaemia
3	C94	Other leukaemias of specified cell type
4	C95	Leukaemia of unspecified cell type
5	C96	Other and unspecified malignant neoplasms of lymphoid, haematopoietic and related tissue
6	D45	Polycythaemia vera
7	D46	Myelodysplastic syndromes
8	D47	Other neoplasms of uncertain or unknown behaviour of lymphoid, haematopoietic and related tissue
9	D76	Certain diseases involving lymphoreticular tissue and reticulohistiocytic system
		Chapter IX Diseases of the circulatory system
10	I11.0	Hypertensive heart disease with (congestive) heart
11	I13	Hypertensive heart and renal disease
12	120-125	Ischaemic heart diseases
13	I48	Atrial fibrillation and flutter
14	I50	Heart failure

Çizelge 4.3. (devam)

	ICD-10	**Chapter IX Diseases of the circulatory system**
15	I60	Subarachnoid haemorrhage
16	I61	Intracerebral haemorrhage
17	I63	Cerebral infarction
18	I64	Stroke, not specified as haemorrhage or infarction
		Chapter V Mental and behavioural disorders
19	A81.0	Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease
20	F01	Vascular dementia
21	F02	Dementia in other diseases classified elsewhere
22	F03	Unspecified dementia
23	F05.1	Delirium superimposed on dementia
24	F10.6	Mental and behavioural disorders due to use of alcohol - amnesic syndrome
25	G31.0	Circumscribed brain atrophy
26	G31.1	Senile degeneration of brain
27	G31.8	Other specified degenerative diseases of nervous system
28	I67.3	Binswanger's disease

Çizelge 4. 4. Hastane kayıtları verisi kullanılarak dışlanan ICD-9 kodları

	ICD-9	**Chapter II Neoplasms**
1	205	Myeloid leukaemia
2	206	Monocytic leukaemia
3	207	Other specified leukaemias
4	208	Leukaemia of unspecified cell type
5	2384	Polycythaemia vera
6	2385	Neoplasms of uncertain behaviour histiocytic and mast cells
7	2386	Neoplasm of uncertain behaviour of plasma cells
8	2387	Neoplasms of uncertain behaviour of lymphoid, haematopoietic tiss
9	2388	Neoplasm of uncertain behaviour of other specified sites
10	2389	Neoplasm of uncertain behaviour of unspecified sites
11	2023	Malignant histiocytosis
12	2029	Other and unspecified malignant neoplasms of lymphoid and histiocytic tissue
		Chapter VII Diseases of the circulatory system
13	410	Acute myocardial infarction
14	411	Other acute and subacute forms of ischaemic heart disease
15	412	Old myocardial infarction
16	4140	Coronary atherosclerosis
17	4148	Other specified forms of chronic ischaemic heart disease

Çizelge 4.4. (devam)

	ICD-9	Chapter VII Diseases of the circulatory system
18	4149	Chronic ischaemic heart disease, unspecified
19	4273	Atrial fibrillation and flutter
20	428	Heart failure
21	430	Subarachnoid haemorrhage
22	431	Intracerebral haemorrhage
23	434	Occlusion of cerebral arteries
24	436	Acute but ill-defined cerebrovascular disease
		Chapter V Mental disorders
25	290.2	Senile dementia, depressed or paranoid type
26	290.3	Senile dementia with acute confusional state
27	290.4	Arteriosclerotic dementia
28	291.2	Other alcoholic dementia
29	294.1	Dementia in other conditions classified elsewhere
30	331.1	Pick's disease
31	331.2	Senile degeneration of brain
32	331.5	Creutzfeldt-Jakob disease

4.2.1.1.5. Ölüm Kayıtları Veri Alanı Kullanılarak Seçilen ICD-9 Ve ICD-10 Tanılarına Göre Dışlama

Sağlıkla ilişkili veriler başlığı altındaki Ölüm kayıtları alt başlığı altındaki birincil ve ikincil ölüm sebepleri verileri ICD-10 kodları kullanılarak hematolojik kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve AH dışındaki Demans türleri dışlanmıştır. CB üzerinde dışlama işlemi Şekil. 4.9.'da gösterilmiştir. Dışlama işleminde Çizelge 4.3.'te belirtilen kodlar kullanılmıştır.

Sağlıkla ilişkili veriler başlığı altındaki kullanılan alt kategoriler aşağıda gösterilmiştir.

1) *Health-related outcomes → Death register → Death cause of record → Underlying (primary) cause of death*

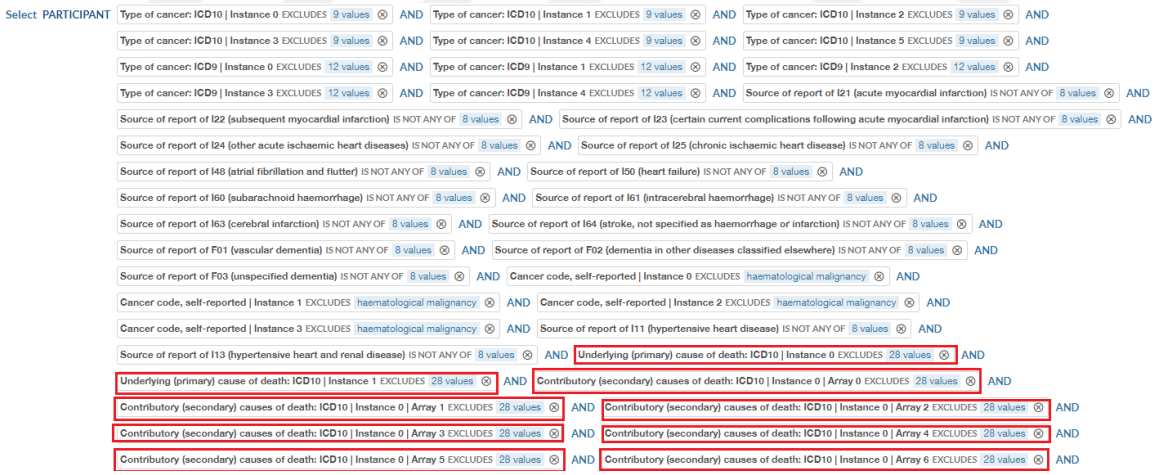
2) *Health-related outcomes → Death register → Death cause of record → Contributory (secondary) causes of death*

Birincil ölüm nedenleri (Underlying (primary) cause of death: ICD10 (data alanı:40001)) veri alanı Instance 0 ve Instance 1'den oluşmaktadır.

İkincil ölüm nedenleri (Contributory (secondary) causes of death: ICD10 (data alanı: 40002)) veri alanı Instance 0 Array (0-14) Instance 1 Array (0-14) olmak üzere toplam 30 farklı alandan oluşmaktadır. Kullanılan alanlar Çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. Diğer veri alanları dışlama işleminde kullanılacak ICD-10 kodlarını içermediğinden bu data alanlarına filtre eklenmemiştir. CB üzerinde kullanılan filtreler Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 5. Ölüm nedenleri kayıtları alanında kullanılan alt veri alanları

	Death cause of record		
1.	Underlying (primary) cause of death	Instance 0	
2.	Underlying (primary) cause of death	Instance 1	
3.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 0
4.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 1
5.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 2
6.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 3
7.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 4
8.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 5
9.	Contributory (secondary) causes of death: ICD10	Instance 0	Array 6



Şekil 4. 9. CB üzerinde ölüm nedenleri verileri için eklenen filtrelerin gösterimi

4.2.1.1.6. Genotiplendirme Veri Alanı Kullanılarak Genetik Akrabalığı Olan Katılımcıların Dışlanması

UKB datasetinde Genotype verilerine göre en az bir akrabalık ilişkisi belirlenenler, akrabalık dışlanımı sürecinde çıkarılan bireyler ile on ve daha fazla üçüncü dereceden akrabalık ilişkisi belirlenen katılımcılar kohorttan dışlanmıştır.

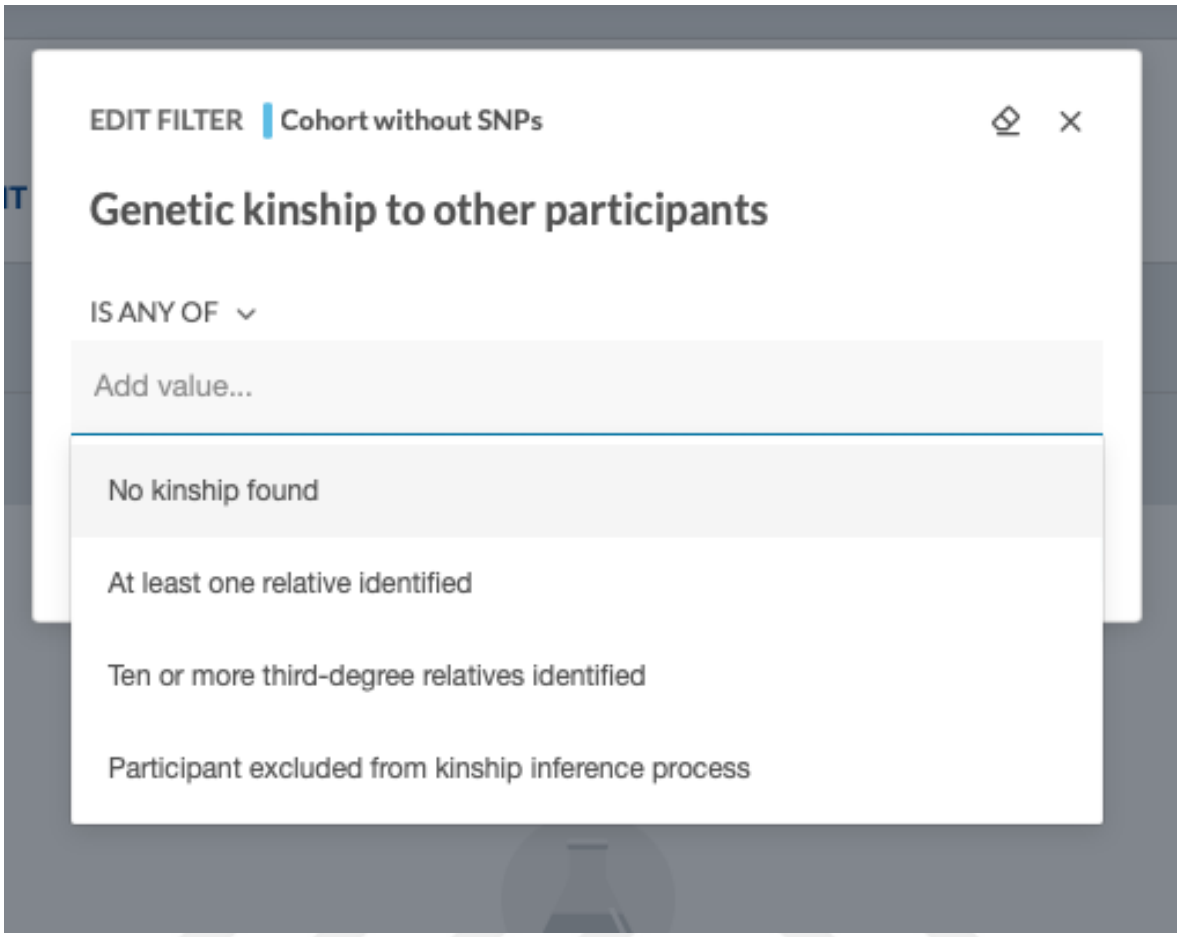
Bu dışlama işlemi için CB üzerinde aşağıda belirtilen data alanları kullanılmıştır.

1) *Genomics → Genotypes → Genotyping process and sample QC*

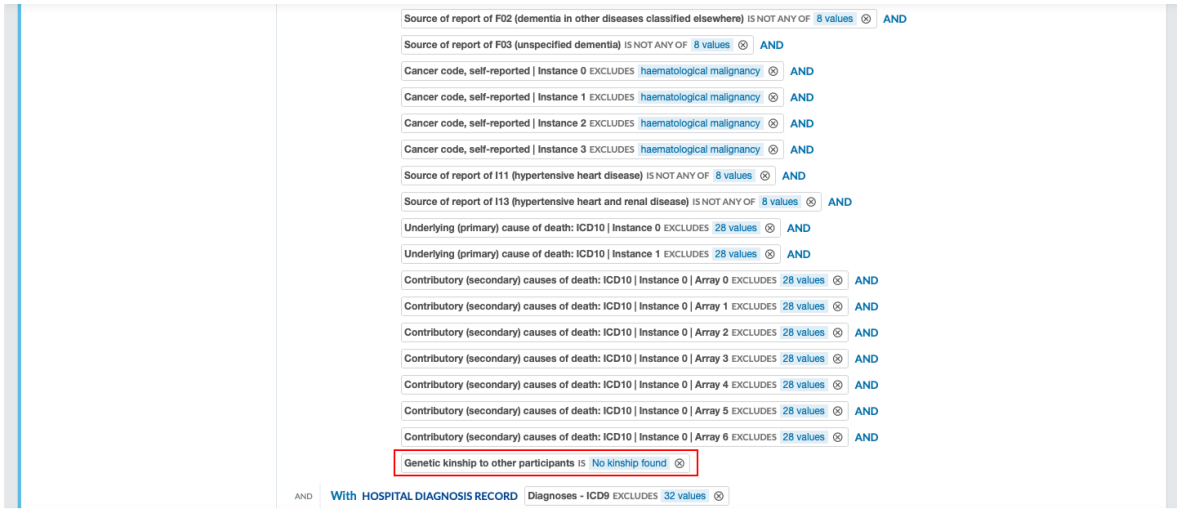
"genetic kinship to other participant" (Data-Field 22021) data alanı içerisinde "No kinship found" seçeneği seçilmiştir. Bu işlem Şekil 4.10.'da gösterilmiştir. CB üzerinde genetik akrabalığın dışlanması için yapılan filtreleme Şekil 4.11.'de gösterilmiştir.

4.2.1.1.7. Tüm Dışlama İşlemleri Sonrasında Oluşturulan Kohort

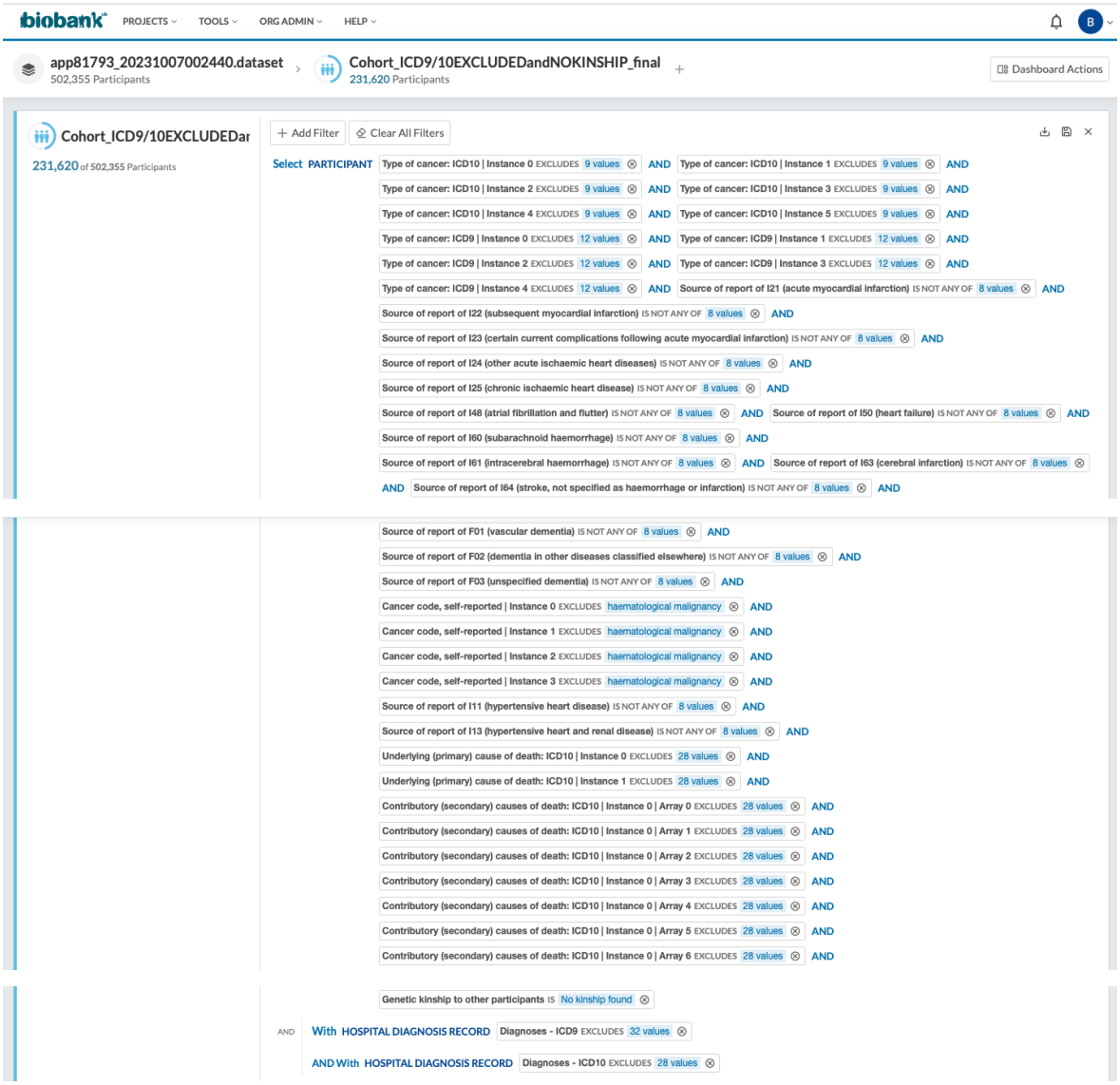
502,355 katılımcılı UKB datasetinden, fenotipik veriler kategorisindeki sağlıkla ilişkili veriler, değerlendirme merkezi verileri ve genomiks verileri kullanılarak hematolojik maligniteler, kardiyovasküler hastalıklar ve AH dışı demans hastalıklarına sahip katılımcılar çıkarılmıştır. Ayrıca kohort içerisinde genetik akrabalığa sahip tüm katılımcılar çalışmadan dışlanmıştır. Filtreme işlemleri sonrasında 270,735 katılımcı elenmiş, 231,620 katılımcıdan oluşan "Cohort_ICD9/10EXCLUDEDandNOKINSHIP_final" olarak isimlendirilen kohort RAP içerisindeki projeye kaydedilmiştir. Kohort Şekil 4.12.'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 10. Genetik akrabalık filtresinin CB üzerinde kullanımının gösterimi



Şekil 4. 11. CB üzerinde genetik akrabalık verisi için eklenen filtrelerin gösterimi



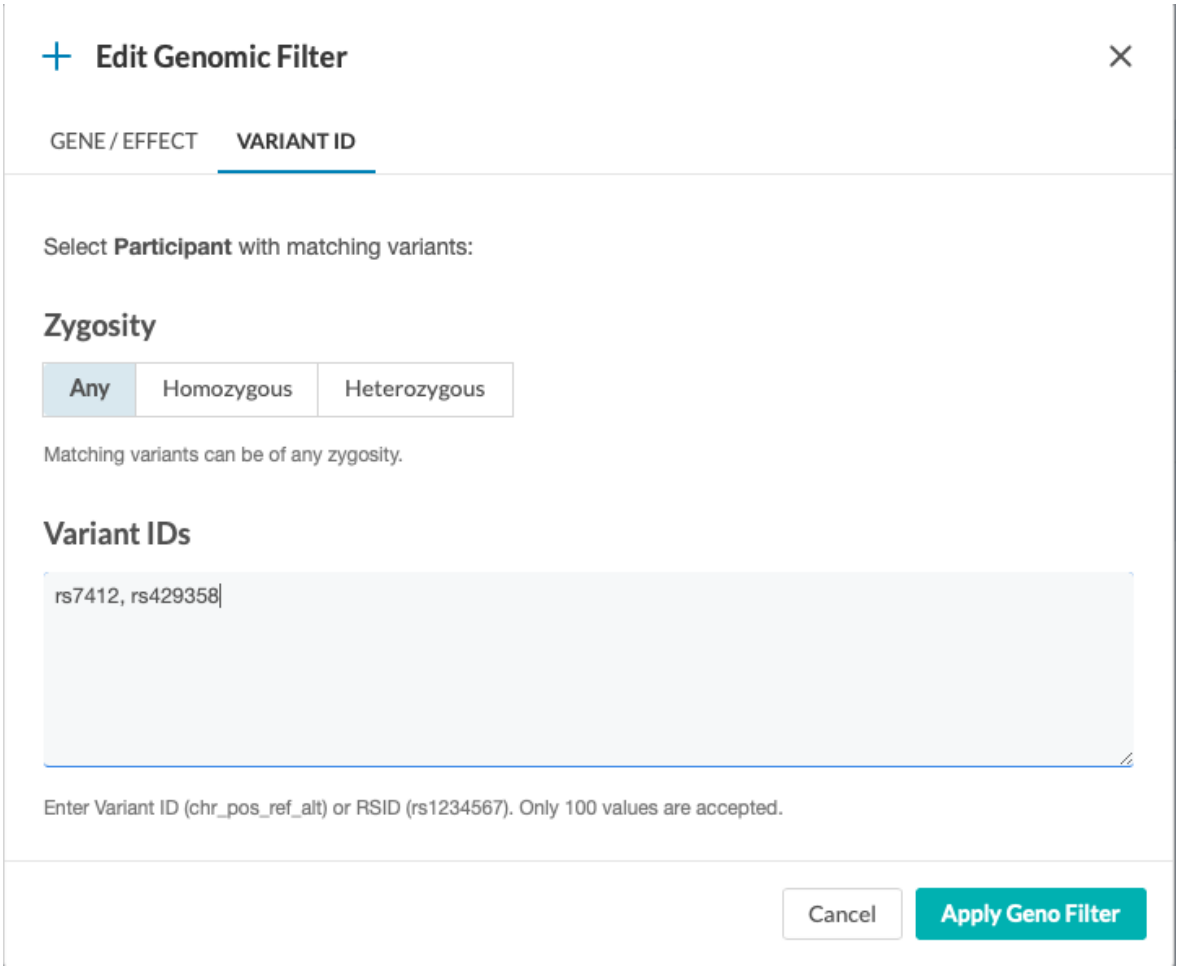
Şekil 4. 12. Filtreleme işlemleri sonrasında oluşturulan kohort

4.2.1.1.8. Genomik Filtreleme Aracı Kullanılarak APOE2/4 Varyantlarının Dışlanması

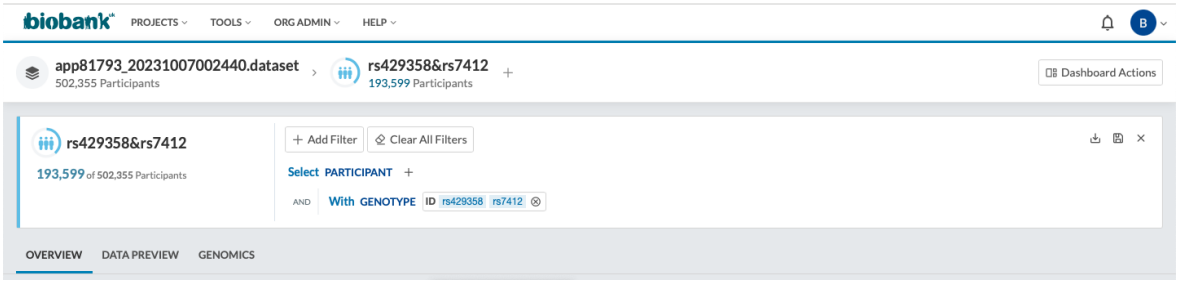
CB üzerinde genomik filtreleme aracı kullanılarak rs7412 ve rs429358 SNP'lerinden herhangi birine homozigotik veya heterozigotik olarak sahip tüm bireyler dışlanmıştır.

Dışlama için ilk olarak dataseti içerisindeki bu SNP'lere sahip bireylerden oluşan bir kohort dizayn edilmiştir. 502,355 katılımcıdan rs7412 SNP'ine homozigotik veya heterozigotik olarak sahip 71,915 katılımcı, rs429358 SNP'ine homozigotik veya heterozigotik olarak sahip 133,371 katılımcının olduğu filtreleme araçları kullanılarak bulunmuştur. Hem rs7412 hem de rs429358'e homozigotik veya heterozigotik olarak sahip 11.678 katılımcı vardır.

rs7412 ve rs429358'den herhangi birine homozigotik veya heterozigotik olarak sahip olan katılımcılardan oluşan kohortun CB üzerinde dizaynı Şekil 4.13.'te gösterilmiştir. Toplamda 193,599 katılımcıdan oluşan ve "rs429358&rs7412" olarak isimlendirilen bir kohort oluşturup, proje içerisine kaydedilmiştir. Kohortun CB üzerinde görünümü Şekil 4.14.'te gösterilmiştir.

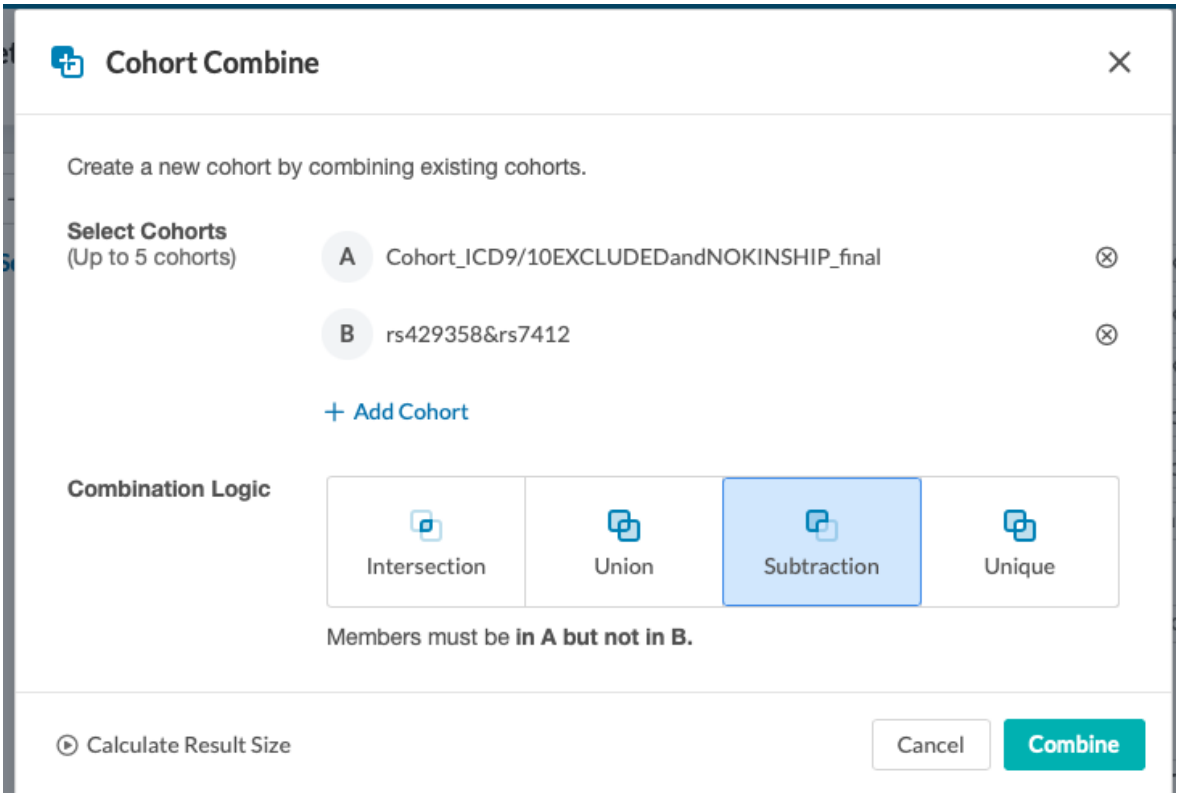


Şekil 4. 13. Genomik filtreleyici içerisine eklenen rsID'lerin CB üzerinde görünümü



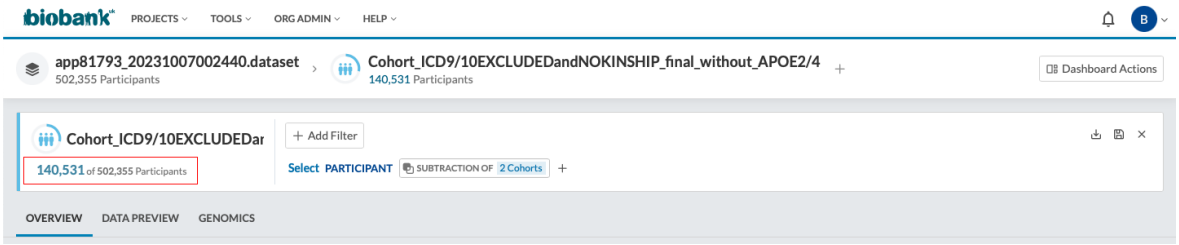
Şekil 4. 14. rs7412 ve rs429358'e sahip bireylerden oluşan kohortun CB üzerinde görünümü

İkinci olarak proje içerisindeki "Cohort_ICD9/10EXCLUDEDandNOKINSHIP_final" kohortu ile "rs429358&rs7412" kohortu CB'nin "Cohort Combine" özelliği kullanılarak "combination logic : subtraction" seçeneği seçilerek "Cohort_ICD9/10EXCLUDEDandNOKINSHIP_final" kohortundan rs7412 ve rs429358 SNP'lerinden herhangi birine homozigotik veya heterozigotik olarak sahip tüm katılımcılar dışlanmıştır. Yapılan işlem Şekil 4.15.'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 15. Cohort combine özelliğinin CB üzerindeki görünümü

Subtraction işlemi sonrası 140,531 katılımcıdan oluşan "Cohort_ICD9/10EXCLUDEDandNOKINSHIP_final_without_APOE2/4" olarak isimlendirilen kohort proje içerisine kaydedilmiştir. "Cohort Combine" işlemi sonrası oluşturulan kohortun CB üzerinde görünümü Şekil 4.16.'da gösterilmiştir.



Şekil 4. 16. “Cohort Combine” işlemi sonrası oluşturulan kohortun CB üzerinde görünümü

4.2.1.1.9. Hasta Ve Kontrol Grubunun Belirlenmesi

“Cohort_ICD9/10EXCLUDEDandNOKINSHIP_final_without_APOE2/4” kohortuna CB üzerinde belirtilen 4 farklı alandan içerme kriterleri eklenmiştir.

1. Hastane kayıtları ICD9 verileri içerisinde 3310 Alzheimer's disease koduna göre 0 katılımcı bulunmuştur.

2. Hastane kayıtları ICD10 verileri içerisinde F00 Dementia in Alzheimer's disease ve G30 Alzheimer's disease koduna göre 283 katılımcı bulunmuştur.

3. İlk rapor verileri veri alanı içerisinde F00 Dementia in Alzheimer's disease alt başlığı altında 211 katılımcı bulunmuştur.

4. İlk rapor verileri veri alanı içerisinde G30 Alzheimer's disease alt başlığı altında 299 katılımcı bulunmuştur.

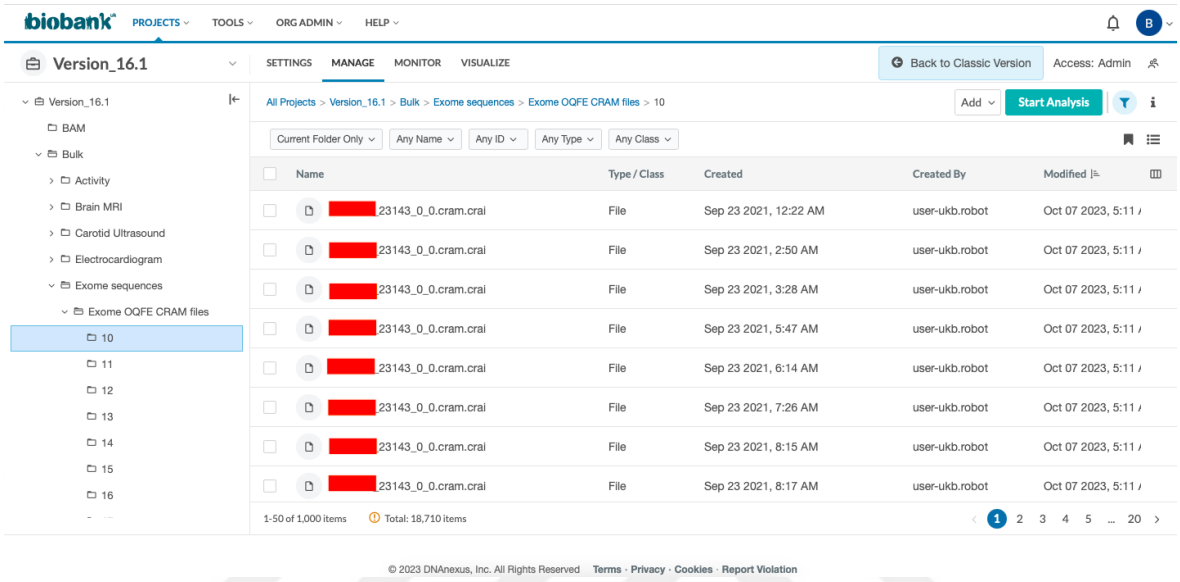
Bu 4 farklı veri alanındaki grup, CB’nin “birleştir” özelliği kullanılarak birleştirilmiş, toplamda Alzheimer Hastalığı tanısı almış 299 katılımcı bulunmuştur. Bu grubun CB üzerinde “Data Preview” bölümünden ID listesi, yaş ve cinsiyet verileri elde edilmiştir. Bu grup yaşa göre büyükten küçüğe doğru göre sıralanmış ilk 100 katılımcı **“hasta grubu”** olarak belirlenmiştir. Bu grup içerisinde Bulk data klasöründe CRAM dosyası bulunmayan katılımcılar gruptan çıkarılmış, sıraya göre bir diğer katılımcı gruba dahil edilmiştir.

“Cohort_ICD9/10EXCLUDEDandNOKINSHIP_final_without_APOE2/4” kohortu içerisinden, Hastane kayıt ICD9 ve ICD10, ilk rapor verileri veri alanlarına göre Alzheimer hastalığı tanısı almamış ve hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyete sahip olan ve de Bulk data içerisinde CRAM dosyasına sahip olan 100 katılımcı seçilerek **“kontrol grubu”** olarak belirlenmiştir.

4.2.2. WES VERİSİNİN ANALİZİ

4.2.2.1. WES Verisi

WES veri analizi için ham data olarak veri seti 16.1 içerisinde Bulk data klasöründeki, Exome sequences alt klasörünün içerisindeki CRAM dosyaları kullanılmıştır.



Şekil 4. 17. RAP üzerinde Exome sequences klasörünün gösterimi

Exome OQEF CRAM files klasörü sekans verilerinin içinde bulunduğu 60 farklı klasörden ve helper klasöründen oluşmaktadır. Dosya isimleri her katılımcıya için benzersiz (unique) olan 7 haneli sayıya ek olarak data alanı ismini (23143) de içermektedir. CRAM dosyaları, bu dosyaların index dosyaları olan CRAI dosyaları ile birlikte bulunmaktadır. Bu data alanı toplamda 469,901 katılımcının WES verisini içermektedir.

WES datasının oluşum aşaması, periferik kandan elde edilen genomik DNA örneklerinin UK Biobank'tan Regeneron Genetics Center'a gönderilmesi ve hazırlık aşamasına kadar -80 °C'de saklanması ile başlamıştır. Exome verileri, tamamlayıcı problar dahil olmak üzere IDT xGen Exome Research Panel v1.0 kullanılarak üretilmiştir. Bu panelde 19,396 gen = 39 Mbp (milyon baz çifti) hedeflenmiştir. DNA örnekleri enzimatik olarak 200 baz çifti büyüklüğünde fragmentlere kesilmiştir. Adaptör olarak Y-shaped adaptörler kullanılmıştır. DNA fragmentlerine 10 bazlık özgün, asimetrik barkodlar eklenmiştir. Overnight exome yakalama işleminden önce tüm örneklerden eşit miktarda alınarak pool oluşturulmuştur.

Yakalanan DNA'lar PCR işlemi ile amplifiye edilmiştir. Quantatif PCR ile miktarları ölçülmüştür (65).

Multiplekslenmiş örnekler, Illumina NovaSeq 6000 platformunda S2 (İlk 50.000 örnek) ve S4 (sonraki tüm örnekler) flow cell'leri kullanılarak dual-indexed 75x75 bp paired-end okuma yoluyla sekanslanmıştır (66).

CRAM dosyaları Original Quality Functionally Equivalent (OQFE) protokolü kullanılarak FASTQ dosyalarının orijinal kalite skorlarını koruyacak şekilde üretilmiştir. Bu protokolle, tüm ek hizalamalar korunarak ham data (FASTQ) BWA-MEM ile GRCh38 referansına deterministik bir şekilde hizalanmıştır (67).

4.2.2.2. WES Verisinin İşlenmesinde Kullanılan Araçlar

4.2.2.2.1. Swiss Army Knife (Version 4.9.1)

Swiss Army Knife (SAK) ortak dosya işlemlerini veya biyoinformatik manipülasyonları gerçekleştirmek için kullanılabilecek genel bir uygulamadır. Bu uygulama bir veya daha fazla giriş dosyası ile "komut satırına" karşılık gelen uygun bir komutun yazılmasıyla çalıştırılır. SAK çalıştığında, giriş dosyalarınızı sanal bir bulut bilgisayardaki geçici bir klasöre indirir, komut satırını çalıştırır ve klasör içinde oluşturulan tüm yeni dosyaları otomatik olarak geri yükler.

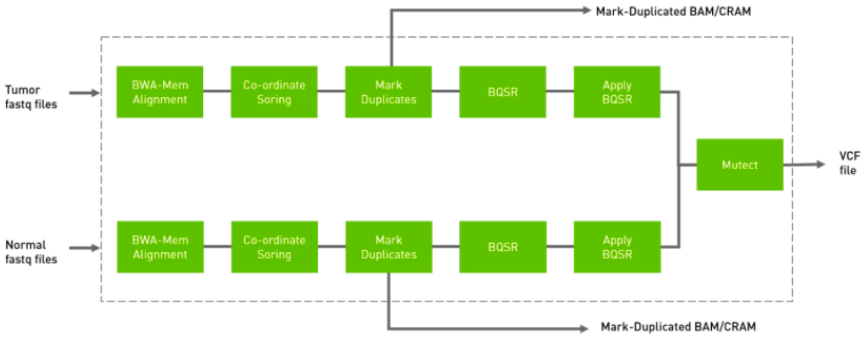
Bu uygulama ile Çizelge 4.6.'da belirtilen tüm biyoinformatik araçlar çalıştırılabilir.

Çizelge 4. 6. SAK içerisindeki araçlar

	Araç adı
1.	bcftools (v1.15.1)
2.	bedtools (v2.30.0)
3.	BGEN (v1.1.7)
4.	bgzip (v1.15.1)
5.	BOLT-LMM (v2.4)
6.	Picard (v2.27.1)
7.	Plato (2.1.0-beta4)
8.	plink (v1.90b6.26)
9.	plink2 (v2.00a3.1LM)
10.	QCTool (v2.2.0)
11.	REGENIE (v3.1.1)
12.	sambamba (v0.8.2)
13.	samtools (v1.15.1)
14.	seqtk (v1.3 r106)
15.	tabix (v1.15.1)
16.	vcflib (v1.0.3)
17.	vcftools (v0.1.16)

4.2.2.2.2. Mutectcaller (Parabricks Accelerated)

Mutectcaller uygulaması, SNV ve indelleri tespit edebilmek için kullanılan somatik varyant çağırıcı GATK Mutect2'nin NVIDIA tarafından GPU hızlandırılmış halidir. Şekil 4.18'de uygulamanın iş akışı gösterilmektedir.



Şekil 4. 18. Mutectcaller uygulamasının iş akışı

Bu uygulamanın çalışması için 3 girdi dosyası zorunludur.

1. BWA Reference Genome Index dosyası

2. BAM dosyası (Tumor input)

3. Input dosyasının ismi (Bu isim BAM dosyasının SM tag'ini içermek zorundadır.)

BWA Reference Genome Index dosyası aşağıda belirtilen 10 dosyadan .tar.gz dosyası yaratılmasıyla oluşturulmuştur. Bu dosyalar DNAnexus Community websayfasında paylaşılan link aracılığıyla elde edilmiştir. Link aşağıda belirtilmiştir. Bu dosya içerisinde yer alan 10 farklı dosyanın isimleri aşağıda belirtilmiştir.

https://s3.amazonaws.com/parabricks.sample/parabricks_sample.tar.gz

parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta.pac
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta.ann
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.known_indels.vcf.gz.tbi
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta.amb
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.dict
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta.fai
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.known_indels.vcf.gz
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta.bwt
parabricks_sample/Ref/Hxomo_sapiens_assembly38.fasta.sa

Parabricks_sample.tar.gz dosyası linkten indirildikten sonra, BWA Reference Genome Index dosyası Windows işletim sistemi kullanılarak terminal üzerinden oluşturulmuştur.

Dosya 4.09 GiB büyüklüğündedir. Oluşturulduktan sonra RAP içerisinde daha önce oluşturulan proje içerisine yüklenmiştir.

4.2.2.2.3. SnpEff Annotate

VCF dosyalarının anotasyonu için kullanılmıştır. Aracı çalıştırmak için anote edilecek VCF dosyasını ve referans genomu seçmek yeterlidir.

4.2.2.3. WES Verisinin İşlenme Basamakları

4.2.2.3.1. CRAM Dosyasının BAM Dosyasına Dönüştürülmesi

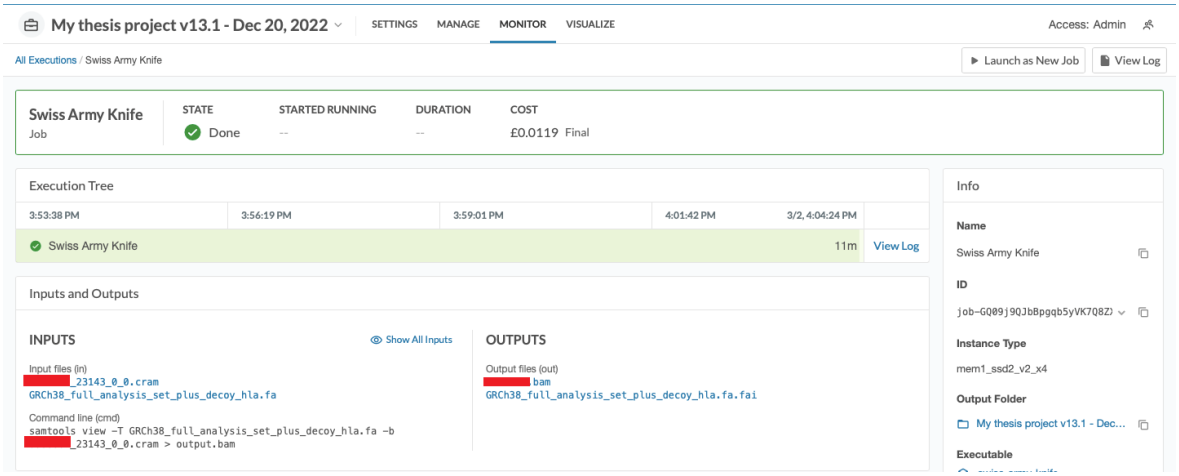
Bu işlem RAP içerisinde uygulamalar kütüphanesinde yer alan Swiss Army Knife (SAK) (Version 4.9.1) uygulaması içerisindeki samtools kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Girdi dosyası olarak CRAM dosyasına ek olarak helper klasörünün içerisinde yer alan GRCh38_full_analysis_set_plus_decoy_hla.fa dosyası kullanılmıştır.

Komut olarak;

"samtools view -T GRCh38_full_analysis_set_plus_decoy_hla.fa -b XXXXXXX_23143_0_0.cram > outputXXXXXXX.bam"

kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde RAP içerisinde Monitor bölümünde yapılan işe ait iş özetini gösteren ekran görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 4. 19. CRAM dosyasından BAM dosyasına dönüştürme işinin RAP içerisindeki görüntüsü

Bu uygulamada birden fazla girdi dosyası seçilebildiği için kullanılan komutta for döngüsü yaratılarak CRAM dosyaları BAM dosyalarına gruplar halinde dönüştürülmüştür. Aşağıda kullanılan komut gösterilmiştir.

*“for cram_file in *.cram; do samtools view -T GRCh38_full_analysis_set_plus_decoy_hla.fa -b "${cram_file}" > "output_${cram_file}.bam"; done”*

4.2.2.3.2. BAM Dosyalarının SM Taglerinin Bulunması

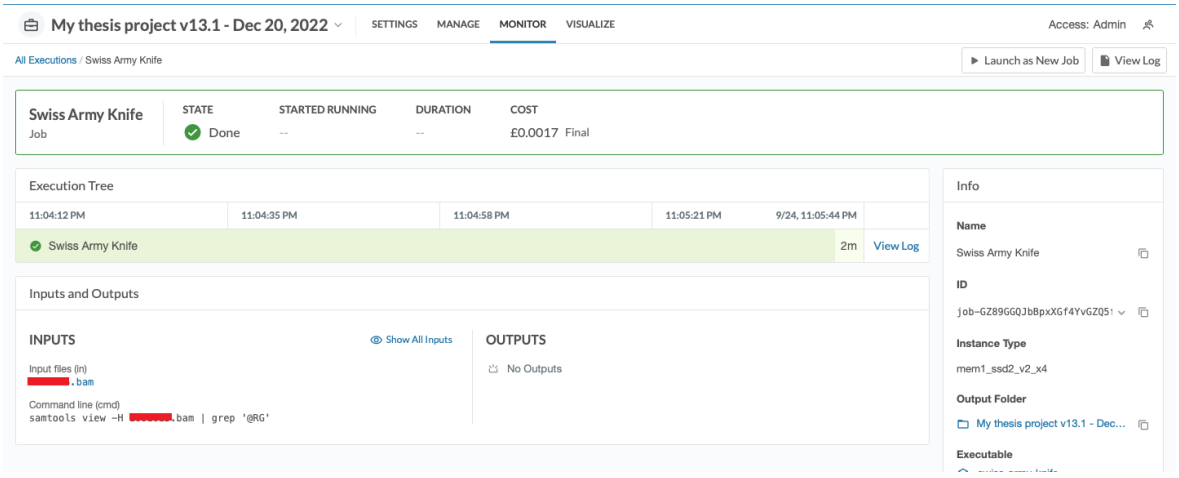
Bu işlem RAP içerisinde uygulamalar kütüphanesinde yer alan Swiss Army Knife (SAK) (Version 4.9.1) uygulaması içerisindeki samtools kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Girdi dosyası olarak BAM dosyası seçilmiştir.

Komut olarak;

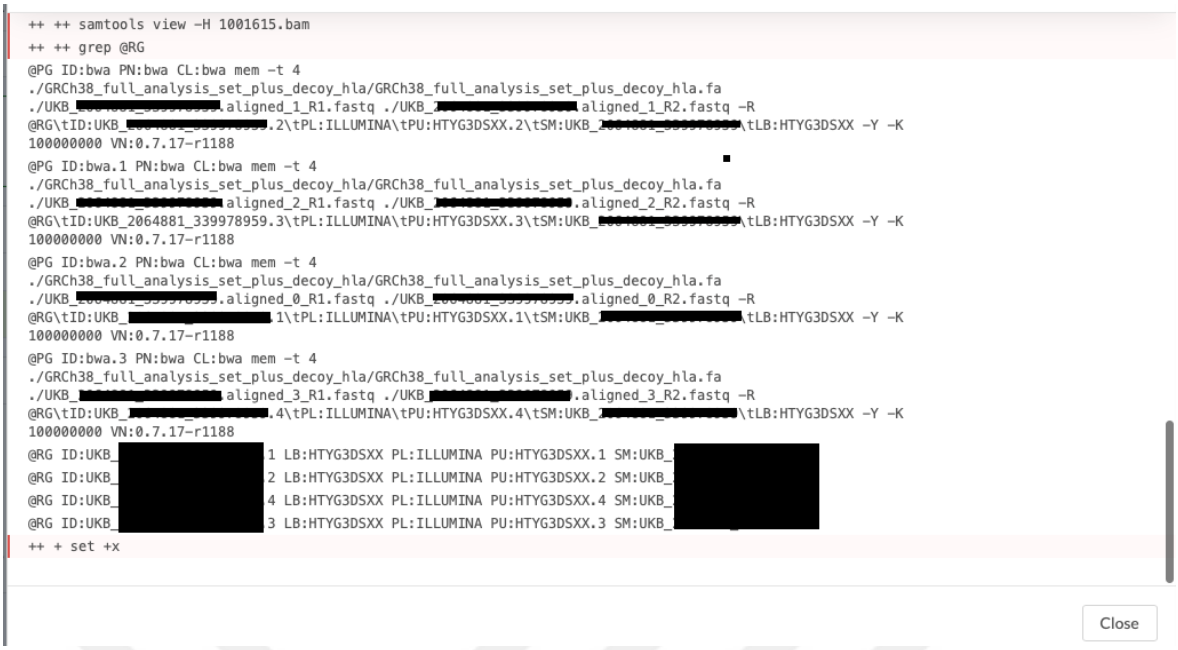
“samtools view -H XXXXXXX.bam | grep '@RG’”

kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde RAP içerisinde Monitor bölümünde yapılan işe ait iş özetini gösteren ekran görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 4. 20. BAM dosyasının SM tag’ini bulma işinin RAP içerisindeki görüntüsü

İş tamamlandıktan sonra SM tag, log dosyası görüntülenerek elde edilir. Aşağıda örnek bir log dosyası gösterilmiştir.



Şekil 4. 21. BAM dosyasına ait SM tag'in log dosyasındaki görüntüsü

Bu uygulama "Batch Run" özelliğine sahiptir. Bu işlem birden fazla input dosyası seçilerek aynı anda birden fazla run yapılarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.2.3.3. BAM Dosyasının VCF Dosyasına Dönüştürülmesi

Bu işlem RAP içerisinde uygulamalar kütüphanesinde yer alan Mutectcaller (Parabricks accelerated) (Version 4.1.0) uygulaması kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

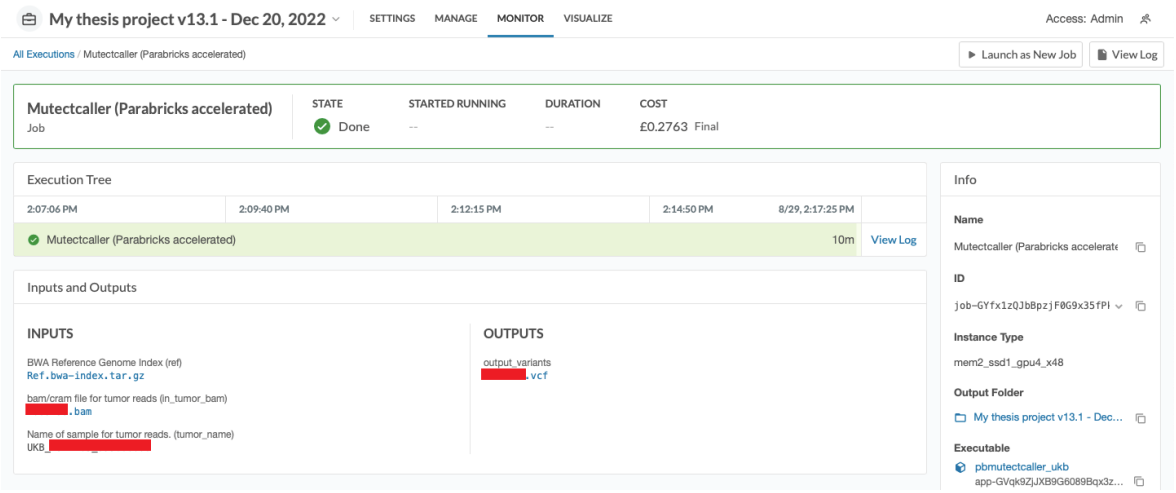
Girdi dosyası olarak:

1. BWA Reference Genome Index için; daha önce oluşturulmuş .bwa-index.tar.gz dosyası

2. bam/cram file for tumor reads için; CRAM dosyasının dönüştürmesi ile elde edilmiş BAM dosyası

3. Name of sample for tumor reads için; log dosyasından elde edilen SM tag

kullanılmıştır. Bu işlem sonunda VCF dosyası elde edilmiştir. Aşağıdaki şekilde RAP içerisinde Monitor bölümünde yapılan işe ait iş özetini gösteren ekran görüntüsü yer almaktadır.



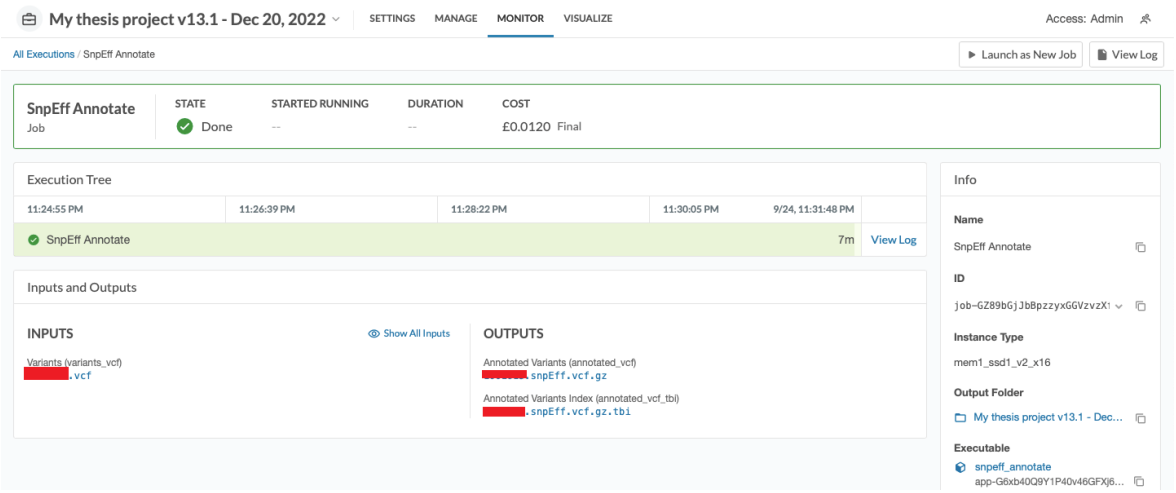
Şekil 4. 22. Mutectcaller uygulamasında BAM dosyasının VCF dosyasına dönüştürme işinin RAP içerisindeki görüntüsü

Bu uygulama "Batch Run" özelliğine sahiptir. Bu işlem birden fazla input dosyası seçilerek aynı anda birden fazla run yapılarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.2.3.4. VCF Dosyasının Anotasyonu

Bu işlem RAP içerisinde uygulamalar kütüphanesinde yer alan SnpEff Annotate (Version 2.1.2) uygulaması kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Girdi dosyası olarak VCF dosyası kullanılmıştır. Referans genome olarak default mode olan "GRCh38.p13 release from NCBI's RefSeq" seçilmiştir. Aşağıdaki şekilde RAP içerisinde Monitor bölümünde yapılan işe ait iş özetini gösteren ekran görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 4. 23. SnpEff Annotate uygulamasında VCF dosyasının anotasyonu işinin RAP içerisindeki görüntüsü

Bu uygulama "Batch Run" özelliğine sahiptir. Bu işlem birden fazla input dosyası seçilerek aynı anda birden fazla run yapılarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.2.3.5. Anote Edilen VCF Dosyalarının Filtrelenmesi

Bu işlem RAP içerisinde uygulamalar kütüphanesinde yer alan Swiss Army Knife (SAK) (Version 4.9.1) uygulaması içerisindeki bcftools kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İşlem sonucunda sadece incelenecek genlerdeki varyantları içeren bir VCF dosyası oluşturulmuştur.

Bu işlemde kullanılmak üzere incelenmek istenen genlerin lokasyonlarını içeren bir bed dosyası, IDT xGen Exome Araştırma Paneli v1.0 kapsamında kullanılan hedeflenen genlerin GRCh38'e göre koordinatlarını gösteren "xgen_plus_spikein.GRCh38.bed" dosyası modifiye edilerek yeniden oluşturulmuştur. İncelenecek genlerin isimleri ve GRCh38'e göre koordinatları Çizelge 4.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 7. İncelenen genler ve lokasyonları

	Gen adı	Kromozom numarası & Lokasyon
1	**GNB1**	Chr1: 1,785,286 - 1,891,087
2	**CSF3R**	Chr1: 36,466,043 - 36,483,314
3	**MPL**	Chr1: 43,337,818 - 43,354,466
4	**JAK1**	Chr1: 64,833,229 - 65,067,746
5	**NRAS**	Chr1: 114,704,469 - 114,716,771
6	**SETDB1**	Chr1: 150,926,263 - 150,964,737
7	**DNMT3A**	Chr2: 25,227,874 - 25,342,590
8	**ASXL2**	Chr2: 25,733,753 - 25,878,487
9	**SF3B1**	Chr2: 197,389,784 - 197,435,093
10	**IDH1**	Chr2: 208,236,227 - 208,255,071
11	**IKZF2**	Chr2: 212,999,698 - 213,152,456
12	**SETD2**	Chr3: 47,016,436 - 47,164,840
13	**CBLB**	Chr3: 105,655,461 - 105,869,449
14	**GATA2**	Chr3: 128,479,422 - 128,493,201
15	**STAG1**	Chr3: 136,336,236 - 136,752,378
16	**KIT**	Chr4: 54,657,957 - 54,740,715
17	**TET2**	Chr4: 105,145,875 - 105,279,803
18	**CSF1R**	Chr5: 150,053,295 - 150,113,365
19	**NPM1**	Chr5: 171,387,116 - 171,410,900
20	**PHIP**	Chr6: 78,934,419 - 79,078,254
21	**PDSS2**	Chr6: 107,152,562 - 107,459,564
22	**IKZF1**	Chr7: 50,303,455 - 50,405,101
23	**CUX1**	Chr7: 101,816,007 - 102,283,958
24	**LUC7L2**	Chr7: 139,340,472 - 139,423,454
25	**BRAF**	Chr7: 140,713,328 - 140,924,929
26	**EZH2**	Chr7: 148,807,383 - 148,884,291
27	**RAD21**	Chr8: 116,845,934 - 116,874,776
28	**JAK2**	Chr9: 4,984,390 - 5,129,948
29	**GATA3**	Chr10: 8,045,333 - 8,075,198
30	**PTEN**	Chr10: 87,863,625 - 87,971,930
31	**SMC3**	Chr10: 110,567,695 - 110,606,048
32	**WT1**	Chr11: 32,387,775 - 32,435,539

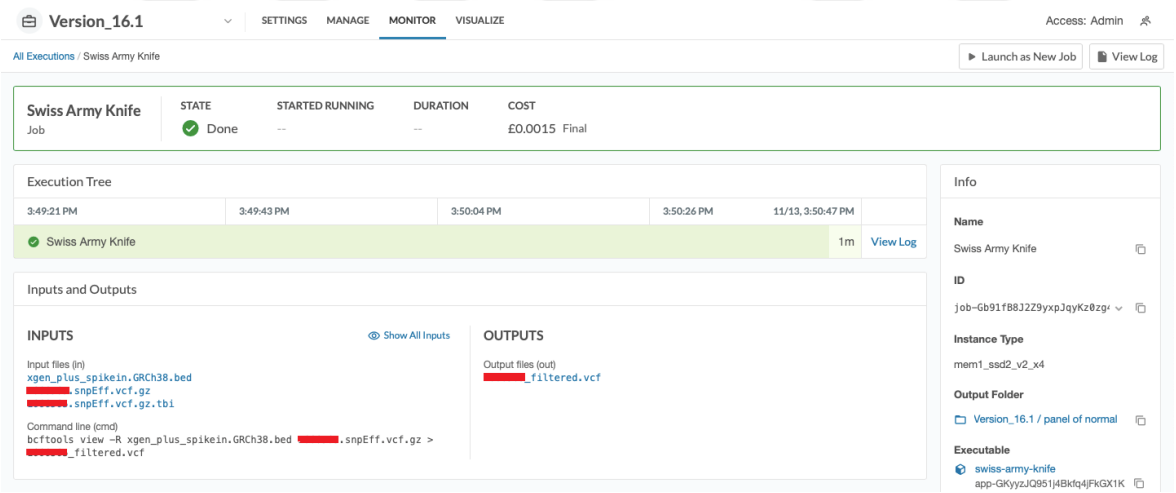
33	**SF1**	Chr11: 64,764,606 - 64,778,542
34	**EED**	Chr11: 86,244,753 - 86,287,615
35	**MLL / KMT2A**	Chr11: 118,436,492 - 118,526,832
36	**CBL**	Chr11: 119,206,339 - 119,308,149
37	**ETV6**	Chr12: 11,649,674 - 11,895,377
38	**ETNK1**	Chr12: 22,625,171 - 22,690,665
39	**KRAS**	Chr12: 25,205,246 - 25,250,929
40	**MLL2 / KMT2D**	Chr12: 49,018,978 - 49,060,794
41	**PRPF40B**	Chr12: 49,622,646 - 49,644,665
42	**PTPN11**	Chr12: 112,418,947 - 112,509,918
43	**FLT3**	Chr13: 28,003,274 - 28,100,576
44	**PDS5B**	Chr13: 32,586,452 - 32,778,019
45	**IDH2**	Chr15: 90,083,045 - 90,102,468
46	**CREBBP**	Chr16: 3,725,054 - 3,880,713
47	**CTCF**	Chr16: 67,562,526 - 67,639,185
48	**PRPF8**	Chr17: 1,650,629 - 1,684,867
49	**TP53**	Chr17: 7,668,421 - 7,687,490
50	**NF1**	Chr17: 31,094,927 - 31,377,677
51	**SUZ12**	Chr17: 31,937,007 - 32,001,038
52	**IKZF3**	Chr17: 39,757,715 - 39,864,312
53	**PPM1D**	Chr17: 60,600,193 - 60,666,280
54	**GNA13**	Chr17: 65,009,289 - 65,056,740
55	**SRSF2**	Chr17: 76,734,115 - 76,737,411
56	**SETBP1**	Chr18: 44,680,073 - 45,068,510
57	**JAK3**	Chr19: 17,824,782 - 17,847,982
58	**CEBPA**	Chr19: 33,299,934 - 33,302,534
59	**U2AF2**	Chr19: 55,655,035 - 55,674,716
60	**ASXL1**	Chr20: 32,358,331 - 32,439,319
61	**GNAS**	Chr20: 58,839,748 - 58,911,192
62	**RUNX1**	Chr21: 34,787,801 - 35,049,302
63	**U2AF1**	Chr21: 43,092,956 - 43,107,578
64	**SF3A1**	Chr22: 30,331,988 - 30,356,894
65	**EP300**	Chr22: 41,092,592 - 41,180,077
66	**ZRSR2**	ChrX: 15,790,484 - 15,823,260

67	**BCOR**	ChrX: 40,051,246 - 40,177,329
68	**KDM6A**	ChrX: 44,873,188 - 45,112,779
69	**GATA1**	ChrX: 48,786,590 - 48,794,311
70	**SMC1A**	ChrX: 53,374,149 - 53,422,728
71	**STAG2**	ChrX: 123,960,560 - 124,102,656
72	**BCORL1**	ChrX: 129,980,313 - 130,058,071
73	**PHF6**	ChrX: 134,373,312 - 134,428,790
74	**BRCC3**	ChrX: 155,071,508 - 155,123,077

Girdi dosyası olarak; .snpEff.vcf.gz, snpEff.vcf.gz.tbi ve bed dosyası seçilmiştir. Kullanılan komut aşağıda belirtilmiştir

"bcftools view -R xgen_plus_spikein.GRCh38.bed XXXXXXX.snpEff.vcf.gz > XXXXXXX_filtered.vcf"

Aşağıdaki şekilde RAP içerisinde Monitor bölümünde yapılan işe ait iş özetini gösteren ekran görüntüsü yer almaktadır.



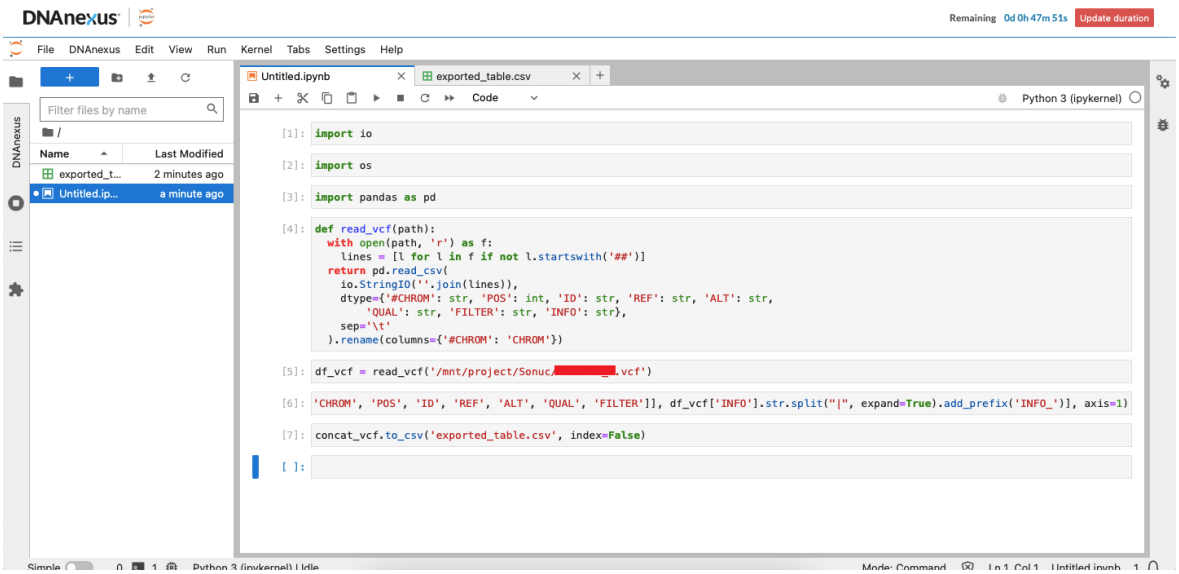
Şekil 4. 24. SAK uygulamasında anote edilmiş VCF dosyasının bed dosyası kullanılarak filtrelenmesi işinin RAP içerisindeki görüntüsü

Bu uygulamada birden fazla girdi dosyası seçilebildiği için kullanılan komutta for döngüsü yaratılarak anote edilmiş VCF dosyaları gruplar halinde filtrelenmiştir. Aşağıda kullanılan komut gösterilmiştir.

*“for file in *.snpEff.vcf.gz; do bcftools view -R xgen_plus_spikein.GRCh38.bed "${file}" > "output_${file}.vcf"; done”*

4.2.2.3.6. Anote Edilen Ve Filtrelenen VCF Dosyasının Tabular Veriye Dönüştürülmesi

Bu işlem RAP içerisinde Jupyterlab bölümünde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan komutlar şekil 4.25.’te gösterilmiştir. Bu işlem ile VCF dosyaları .csv dosyalarına dönüştürülmüş ve her örnek için bir varyant listesi elde edilmiştir.



Şekil 4. 25. Jupyterlab kod görüntüsü

4.2.3.3.7. Kodlanmayan bölgelerdeki varyantların çıkarılması

Son olarak Çizelge 4.7’deki 74 gene ait UTR, intronik ve intergenik bölgelerin pozisyonları belirlenerek filtrleme yapılmış, filtrelenen bölgeler EK-1’de gösterilmiştir.

4.2.3.3.8. İş Akışı Denemesi İçin Kullanılan Pozitif Örnekler

Kullanılan tüm biyoinformatik araçların doğruluğunu göstermek için, UKB RAP içerisinde CB’nin genomik filtreleme özelliği ile belirli rs kodlarının kullanılarak 7 farklı katılımcı seçilmiştir. Bu katılımcıların hangi SNP’lere sahip oldukları, bu SNP’lerin rs kodları çizelge 4.8’ de gösterilmiştir.

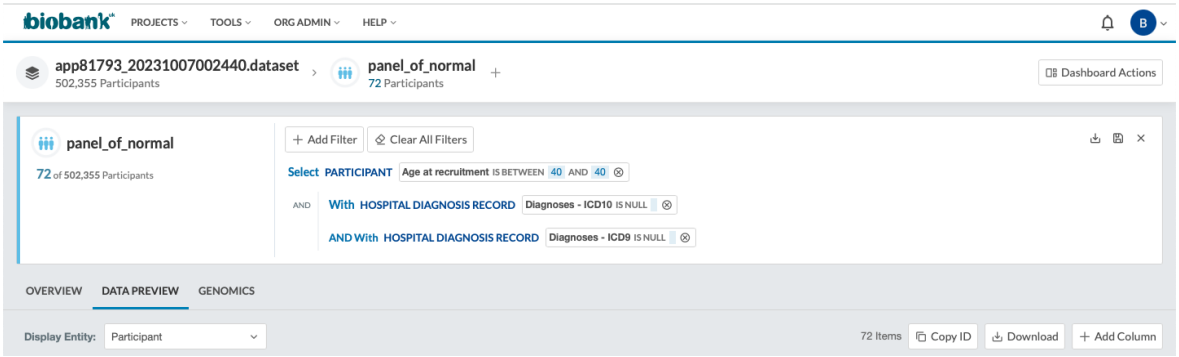
Çizelge 4. 8. Pozitif örneklerin rs kodları ve açıklamaları

	type	rs code	Chr	Position	REF	ALT	type	Class.	c.	p.	Gene
1.	homozygous	rs77375493	chr9	5073770	G	T	SNV	missense	c.1849 G>T	p. Val617Phe	JAK2
2.	heterozygous	rs147001633	chr2	25234373	C	T	SNV	missense	c.2645 G>A	p.Arg882His	DNMT3A
3.	heterozygous	rs141326438	chr1	1815790	T	C	SNV	missense	c.169 A>G	p.Lys57Glu	GNB1
4.	heterozygous	rs373145711	chr20	32433408	C	T	SNV	nonsense	c.1210 C>T	p.Arg404Ter	ASXL1
5.	heterozygous	rs371369583	chr20	32434485	C	A	SNV	nonsense	c.1773 C>G	p.Tyr591Ter	ASXL1
6.	heterozygous	rs1231721810	chr4	105242922	A	G	SNV	missense	c.3589A>G	p.Lys1197Glu	TET2
7.	heterozygous	rs762540407	chr17	7674299	T		del	non coding	c.673-9del		TP53

4.2.3.3.9. Sekans Artifaktlarının Çıkarılması İçin Kullanılan Negatif Örnekler

CB üzerinde Sağlıkla ilişkiler veriler başlığı altındaki Hastane tanı kayıt verileri kullanılarak dataseti içerisinde ICD-9 ve ICD-10 tanı kayıtına sahip olmayan en geç katılımcılar filtrelenmiş, 40 yaşında 72 katılımcı bulunmuştur. İşlem Şekil 4.26.'da gösterilmiştir. Bu 72 katılımcıdan 10 tanesinin CRAM dosyaları metod bölümünde kullanılan iş akışı ile analiz edilmiştir.

Bu işlemin yapılmasının temel amacı, değişken çağırma analizinin sonuçlarını iyileştirmek için tekrarlanan teknik artifaktları yakalayarak hasta ve kontrol grubunda tespit edilen potansiyel sekans artifaktlarını belirleyebilmek ve sonuçlardan çıkarmaktır.



Şekil 4. 26. CB üzerinde sağlıklı grubun gösterimi

4.2.3. VARYANTLARIN DEĞERLENDİRMESİ

Tüm ekzom sekans data analizini sonucu elde edilen .csv dosyaları kullanılarak örneklerin CHIP statüleri sahip oldukları varyantların Kanserde Somatik Mutasyon Kataloğu'nda yer alan (COSMIC, http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic) 74 gendeki varyantlardan en az bir tanesine, ≤ 0.02 VAF değerinde sahip olmak olarak belirlenmiştir (19). Kullanılan Liste Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir.

Ayrıca elde edilen varyantlar Varsome, Franklin, gnomAD veri tabanlarında taratılmış, değerlendirmede clinvar statüleri dikkate alınmıştır. Ek olarak daha önce UK Biobank WES verileri kullanılarak yapılan çalışmaların (68,69), bu veriler üzerinden tanımladıkları CHIP varyantları listesi ile karşılaştırma yapılmış, değerlendirme kriterleri göz önünde bulundurulmuştur.

Çizelge 4. 9. Sorgulanan Varyantların Listesi

Gene name	Reported mutations used for variant calling	Accession
ASXL1	Frameshift/nonsense/splice-site in exon 11-12	NM_015338
ASXL2	Frameshift/nonsense/splice-site in exon 11-12	NM_018263
BCOR	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_001123385
BCORL1	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_021946
BRAF	G464E, G464V, G466E, G466V, G469R, G469E, G469A, G469V, V471F, V472S, L485W, N581S, I582M, I592M, I592V, D594N, D594G, D594V, D594E, F595L, F595S, G596R, L597V, L597S, L597Q, L597R, A598V, V600M, V600L, V600K, V600R, V600E, V600A, V600G, V600D, K601E, K601N, R603*, W604R, W604G, S605G, S605F, S605N, G606E, G606A, G606V, H608R, H608L, G615R, S616P, S616F, L618S, L618W	NM_004333
BRCC3	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_024332
CBL	RING finger missense p.381-421	NM_005188
CBLB	RING finger missense p.372-412	NM_170662
CEBPA	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_004364
CREBBP	Frameshift/nonsense/splice-site, D1435E, R1446L, R1446H, R1446C, Y1450C, P1476R, Y1482H, H1487Y, W1502C, Y1503D, Y1503H, Y1503F, S1680del	NM_004380
CSF1R	L301F, L301S, Y969C, Y969N, Y969F, Y969H, Y969D	NM_005211
CSF3R	T615A, T618I, truncating c.741-791	NM_000760
CTCF	Frameshift/nonsense, R377C, R377H, P378A, P378L	NM_006565
CUX1	Frameshift/nonsense	NM_181552
DNMT3A	Frameshift/nonsense/splice-site, F290I, F290C, V296M, P307S, P307R, R326H, R326L, R326C, R326S, G332R, G332E, V339A, V339M, V339G, L344Q, L344P, R366P, R366H, R366G, A368T, A368V, R379H, R379C, I407T, I407N, I407S, F414L, F414S, F414C, A462V, K468R, C497G, C497Y, Q527H, Q527P, Y533C, S535F, C537G, C537R, G543A, G543S, G543C, L547H, L547P, L547F, M548I, M548K, G550R, W581R, W581G, W581C, R604Q, R604W, R635W, R635Q, S638F, G646V, G646E, L653W, L653F, I655N, V657A, V657M, R659H, Y660C, V665G, V665L, M674V, R676W, R676Q, G685R, G685E, G685A, D686Y, D686G, R688H, G699R, G699S, G699D, P700L, P700S, P700R, P700Q, P700T, P700A, D702N, D702Y, V704M, V704G, I705F, I705T, I705S, I705N, G707D, G707V, C710S, C710Y, S714C, V716D, V716F, V716I, N717S, N717I, P718L, R720H, R720G, K721R, K721T, Y724C, R729Q, R729W, R729G, F731C, F731L, F731Y, F731I, F732del, F732C, F732S, F732L, E733G, E733A, F734L, F734C, Y735C, Y735N, Y735S, R736H, R736C, R736P, L737H, L737V, L737F, L737R, A741V, P742P, P743R, P743L, R749C, R749L, R749H, R749G, F751L, F751C, F752del, F752C, F752L, F752I, F752V, W753G, W753C, W753R, L754P, L754R, L754H, F755S, F755I, F755L, M761I, M761V, G762C, V763I, S770L, S770W, S770P, R771Q, F772I, F772V, L773R, L773V, E774K, E774D, E774G, I780T, D781G, R792H, W795C, W795L, G796D, G796V, N797Y, N797H, N797S, P799S, P799R, P799H, R803S, R803W, P804L, P804S, K826R, S828N, K829R, T835M, N838D, K841Q, Q842E, P849L, D857N, W860R, E863D, F868S, G869S, G869V, M880V, S881R, S881I, R882H, R882P, R882C, R882G, A884P, A884V, Q886R, L889P, L889R, G890D, G890R, G890S, V895M, P896L, V897G, V897D, R899L, R899H, R899C, L901R, L901H, P904L, F909C, P904Q, A910P, C911R, C911Y	NM_022552
EED	Frameshift/nonsense/splice-site, L240Q, I363M	NM_003797
EP300	Frameshift/nonsense/splice_site, VF1148_1149del, D1399N, D1399Y, P1452L, Y1467N, Y1467H, Y1467C, R1627W, A1629V	NM_001429
ETNK1	N244S, N244T, N244K	NM_018638
ETV6	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_001987
EZH2	Frameshift/nonsense/splice-site, Q62R, N102S, F145S, F145C, F145Y, F145L, G159R, E164D, R202Q, K238E, E244K, R283Q, H292R, P488S, R497Q, R561H, T568I, K629E, Y641N, Y641H, Y641S, Y641C, Y641F, D659Y, D659G, V674M, A677G, A677V, R679C, R679H, R685C, R685H, A687V, N688I, N688K, H689Y, S690P, I708V, I708T, I708M, E720K, E740K	NM_001203247
FLT3	V579A, V592A, V592I, F594L, FY590-591GD, D835Y, D835H, D835E, del835	NM_004119
GATA1	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_002049
GATA2	Frameshift/nonsense/splice-site, R293Q, N317H, A318T, A318V, A318G, G320D, L321P, L321F, L321V, Q328P, R330Q, R361L, L359V, A372T, R384G, R384K	NM_001145661
GATA3	Frameshift/nonsense/splice-site ZNF domain, R276W, R276Q, N286T, L348V,	NM_001002295
GNA13	I34T, G57S, S62F, M68K, Q134R, Y145F, L152F, E167D, Q169H, R264H, E273K, V322G, V362G, L371F	NM_006572
GNAS	R201(844)S, R201(844)C, R201(844)H, R201(844)L, Q227(870)K, Q227(870)R, Q227(870)L, Q227(870)H, R374(1017)C	NM_016592
GNB1	K57N, K57M, K57E, K57T, I80T, I80N	NM_002074
IDH1	R132C, R132G, R132H, R132L, R132P, R132V, V178I	NM_005896
IDH2	R140W, R140Q, R140L, R140G, R172W, R172G, R172K, R172T, R172M, R172N, R172S	NM_002168
IKZF1	Frameshift/nonsense	NM_006060
IKZF2	Frameshift/nonsense	NM_016260
IKZF3	Frameshift/nonsense	NM_012481
JAK1	T478A, T478S, V623A, A634D, L653F, R724H, R724Q, R724P, T782M, L783F	NM_002227
JAK2	N533D, N533Y, N533S, H538R, K539E, K539L, I540T, I540V, V617F, R683S, R683G, del/ins537-539L, del/ins538-539L, del/ins540-543MK, del/ins540-544MK, del/ins541-543K, del542-543, del543-544, ins11546-547	NM_004972
JAK3	M511T, M511I, A572V, A572T, A573V, R657Q, V715I, V715A	NM_000215
KDM6A	Frameshift/nonsense/splice-site, del419	NM_021140
KIT	ins503, V559A, V559D, V559G, V559I, V560D, V560A, V560G, V560E, del560, E561K, del579, P627L, P627T, R634W, K642E, K642Q, V654A, V654E, H697Y, H697D, E761D, K807R, D816H, D816Y, D816F, D816I, D816V, D816H, del551-559	NM_000222
KRAS	G12D, G12A, G12E, G12V, G13D, G13C, G13Y, G13F, G13R, G13A, G13V, G13E, V14I, T58I, G60D, G60A, G60V, Q61K, Q61E, Q61P, Q61R, Q61L, Q61H, K117E, K117N, A146T, A146P, A146V	NM_033360
LUC7L2	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_016019

Çizelge 4.9. (devam)

MLL	Frameshift/nonsense	NM_005933
MLL2	Frameshift/nonsense	NM_003482
MPL	S505G, S505N, S505C, L510P, del513, W515A, W515R, W515K, W515S, W515L, A519T, A519V, Y591D, W515-518KT	NM_005373
NF1	Frameshift/nonsense	NM_000267
NPM1	Frameshift p.W288fs (insertion at c.859_860, 860_861, 862_863, 863_864)	NM_002520
NRAS	G12S, G12R, G12C, G12N, G12P, G12Y, G12D, G12A, G12V, G12E, G13S, G13R, G13C, G13N, G13P, G13Y, G13D, G13A, G13V, G13E, G60E, G60R, Q61R, Q61L, Q61K, Q61P, Q61H, Q61Q	NM_002524
PDS5B	Frameshift/nonsense/splice-site, R1292Q	NM_015032
PDSS2	Frameshift/nonsense	NM_020381
PHF6	Frameshift/nonsense/splice-site, A40D, M125I, S246Y, F263L, R274Q, C297Y, H302Y, H329L	NM_001015877
PHIP	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_017934
PPM1D	Frameshift/nonsense, exon 5 or 6	NM_003620
PRPF40B	Frameshift/nonsense/splice-site, P15H, M58I, P405L, P562S,	NM_001031698
PRPF8	M1307I, C1594W, D1598Y, D1598N, D1598V (ADD MORE VARS)	NM_006445
PTEN	Frameshift/nonsense/splice-site, D24G, R47G, F56V, L57W, H61R, K66N, Y68H, C71Y, F81C, Y88C, D92G, D92V, D92E, H93Y, H93D, H93Q, N94I, P95L, I101T, C105F, C105S, D107Y, L112V, H123Y, C124R, C124S, K125E, A126D, K128N, R130G, R130Q, R130L, G132D, I135V, I135K, C136R, C136F, K144Q, A151T, D153Y, D153N, Y155H, Y155C, R159K, R159S, R161K, R161I, G165R, G165E, S170N, S170I, R173C, Y174D, Y177C, H196Y, R234W, G251C, D252Y, F271S, D326G	NM_000314
PTPN11	G60V, G60R, G60A, D61Y, D61V, D61G, Y63C, E69K, E69G, E69D, E69Q, F71L, F71K, A72T, A72V, A72D, T73I, E76K, E76Q, E76M, E76A, E76G, E139G, E139D, N308D, N308T, N339S, P491L, S502P, S502A, S502L, G503V, G503G, G503A, G503E, Q506P, T507A, T507K	NM_002834
RAD21	Frameshift/nonsense/splice-site, R65Q, H208R, Q474R	NM_006265
RUNX1	Frameshift/nonsense/splice-site, S73F, H78Q, H78L, R80C, R80P, R80H, L85Q, P86L, P86H, S114L, D133Y, L134P, R135G, R135K, R135S, R139Q, R142S, A165V, R174Q, R177L, R177Q, A224T, D171G, D171V, D171N, R205W, R223C	NM_001001890
SETBP1	D868N, D868T, S869N, G870S, I871T, D880N, D880Q	NM_015559
SETD2	Frameshift/nonsense, V1190M	NM_014159
SETDB1	Frameshift/nonsense, K715E	NM_001145415
SF1	Frameshift/nonsense/splice-site, T454M, Y476C, A508G	NM_004630
SF3A1	Frameshift/nonsense/splice-site, A57S, M117I, K166T, Y271C	NM_005877
SF3B1	G347V, R387W, R387Q, E592K, E622D, Y623C, R625L, R625C, R625G, H662Q, H662D, T663I, K666N, K666T, K666E, K666R, K700E, V701F, A708T, G740R, G740E, A744P, D781G, E783K, R831Q, L833F, E862K, R957Q	NM_012433
SFRS2	Y44H, P95H, P95L, P95T, P95R, P95A, P107H, P95fs	NM_003016
SMC1A	K190T, R586W, M689V, R807H, R1090H, R1090C	NM_006306
SMC3	Frameshift/nonsense, R155I, Q367E, D392V, K571R, R661P, G662C	NM_005445
STAG1	Frameshift/nonsense/splice-site, H1085Y	NM_005862
STAG2	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_006603
SUZ12	Frameshift/nonsense	NM_015355
TET2	Frameshift/nonsense/splice-site, missense mutations in catalytic domains (p.1104-1481 and 1843-2002)	NM_001127208
TP53	Frameshift/nonsense/splice-site, S46F, G105C, G105R, G105D, G108S, G108C, R110L, R110C, T118A, T118R, T118I, S127F, S127Y, L130V, L130F, K132Q, K132E, K132W, K132R, K132M, K132N, F134V. F134L, F134S, C135W, C135S, C135F, C135G, C135Y, Q136K, Q136E, Q136P, Q136R, Q136L, Q136H, A138P, A138V, A138A, A138T, T140I, C141R, C141G, C141A, C141Y, C141S, C141F, C141W, V143M, V143A, V143E, L145Q, W146C, W146L, L145R, V147G, P151T, P151A, P151S, P151H, P151R, P152S, P152R, P152L, T155P, T155A, V157F, R158H, R158L, A159V, A159P, A159S, A159D, A161T, A161D, Y163N, Y163H, Y163D, Y163S, Y163C, K164E, K164M, K164N, K164P, H168Y, H168P, H168R, H168L, H168Q, M169I, M169T, M169V, E171K, E171Q, E171G, E171A, E171V, E171D, V172D, V173M, V173L, V173G, R174W, R175G, R175C, R175H, C176R, C176G, C176Y, C176F, C176S, P177R, P177R, P177L, H178D, H178P, H178Q, H179Y, H179R, H179Q, R181C, R181Y, D186G, G187S, P190L, P190T, H193N, H193P, H193L, H193R, L194F, L194R, I195F, I195N, I195T, R196P, V197L, G199V, Y205N, Y205C, Y205H, D208V, R213Q, R213P, R213L, R213Q, H214D, H214R, S215G, S215I, S215R, V216M, V217G, Y220N, Y220H, Y220S, Y220C, E224D, I232F, I232N, I232T, I232S, Y234N, Y234H, Y234S, Y234C, Y236N, Y236H, Y236C, M237V, M237K, M237I, C238R, C238G, C238Y, C238W, N239T, N239S, S241Y, S241C, S241F, C242G, C242Y, C242S, C242F, G244S, G244C, G244D, G245S, G245R, G245C, G245D, G245A, G245V, G245S, M246V, M246K, M246R, M246I, N247I, R248W, R248G, R248Q, R249G, R249W, R249T, R249M, P250L, I251N, L252P, I254S, I255F, I255N, I255S, L257Q, L257P, E258K, E258Q, D259Y, S261T, G262D, G262V, L265P, G266R, G266E, G266V, R267W, R267Q, R267P, E271K, V272M, V272L, R273S, R273G, R273C, R273H, R273P, R273L, V274F, V274D, V274A, V274G, V274L, C275Y, C275S, C275F, A276P, C277F, C277Y, P278T, P278A, P278S, P278H, P278R, P278L, G279E, R280G, R280K, R280T, R280I, R280S, D281N, D281H, D281Y, D281G, D281E, R282G, R282W, R282Q, R282P, E285K, E285V, E286G, E286V, E286K, K320N, L330R, G334V, R337C, R337L, A347T, L348F, T377P	NM_001126112
U2AF1	D14G, S34F, S34Y, R35L, R156H, R156Q, Q157R, Q157P	NM_006758
U2AF2	R18W, Q143L, M144I, L187V, Q190L	NM_007279
WT1	Frameshift/nonsense/splice-site	NM_024426
ZRSR2	Frameshift/nonsense, R126P, E133G, C181F, H191Y, I202N, F239V, F239Y, N261Y, C280R, C302R, C326R, H330R, N382K	NM_005089

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bulgular aşağıdaki başlıklarda gösterilmiştir.

5.1. POZİTİF ÖRNEKLERİN MUTASYON PROFİLİ

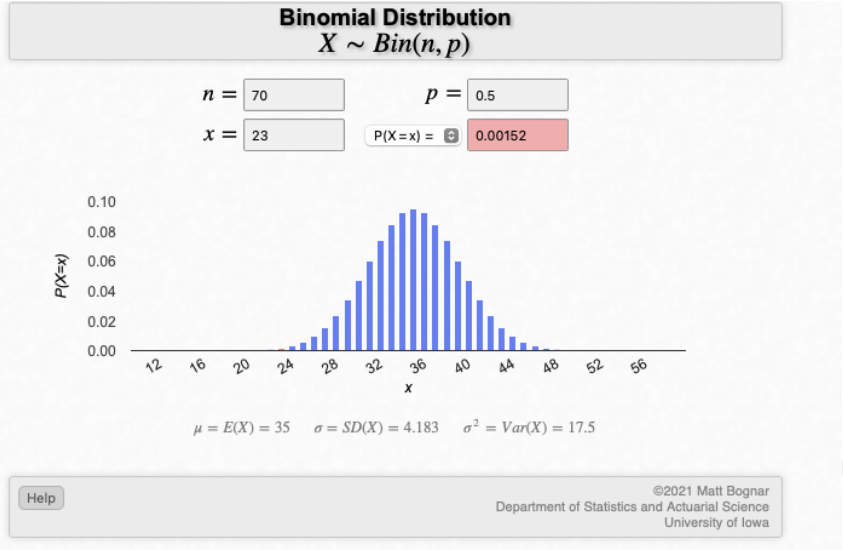
Dataseti içerisinde rs kodları kullanılarak bulunan pozitif örneklerin CRAM verileri, oluşturulan iş akışı ile analiz edildiğinde Çizelge 5.1.'deki varyantlar tespit edilmiştir. Bu varyantlar materyal ve metod bölümünde "pozitif kontroller" başlığı altında belirtilen rs kodlarıyla uyumludur. 7. örnekte tespite edilmesi beklenen varyant, intronik bölgede olduğu için tespit edilmemiştir.

Çizelge 5.1'de AF sütununa bakıldığında homozigotik olan varyantın beklendiği gibi VAF değerinin 1'e yakın (%100) heterozigotik varyantlar içinse VAF değerinin beklenen değer 0.5'ten (%50) görece düşük olduğu görülmektedir. Şekil 5.1-5.'de heterozigotik olduğu bilinen bu varyantların altAD (alternatif alel derinliği) ve DP (okuma derinliği) değerleri kullanılarak binomial dağılımları gösterilmektedir. Dağılım için başarı oranı (p) 0.5 seçilmiştir. Deneme sayısı (n) için DP değeri, gözlenen durum sayısı (x) için de altAD değeri kullanılmıştır. Şekillerde altAD değerleri dağılım içerisinde olsa da ihtimallerin çok düşük olduğu görülmektedir. Bu varyantların popülasyon alel frekanslarına, dataseti içerisindeki allel frekanslarına ve klinik anlamlılıkları bakıldığında popülasyonda alel frekanslarının çok düşük olduğu ve de klinik olarak patojenik oldukları görülmüştür. Çizelge 5.2.'de gösterilmektedir. Bu sebeple bu varyantların germline bir heterozigotik varyant olmak yerine, somatik bir varyant olma ihtimalinin daha yüksek olduğu bu nedenle AF değerlerlerinin beklenenden görece düşük olduğu düşünülmektedir.

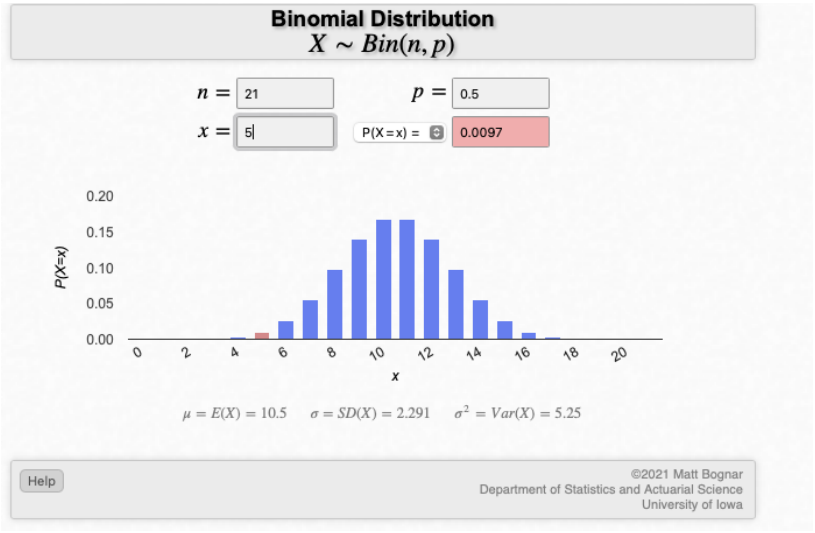
Aynı poztif kontrollerde tespit edilmiş benign heterozigotik varyantların VAF değerlerine bakıldığında bu değerlerin beklenen değer aralığında olduğu görülmüştür. Çizelge 5.3.'te bu benign varyantlar ve rs kodları gösterilmiştir.

Çizelge 5. 1. Pozitif örneklerde tespit edilen varyantlar

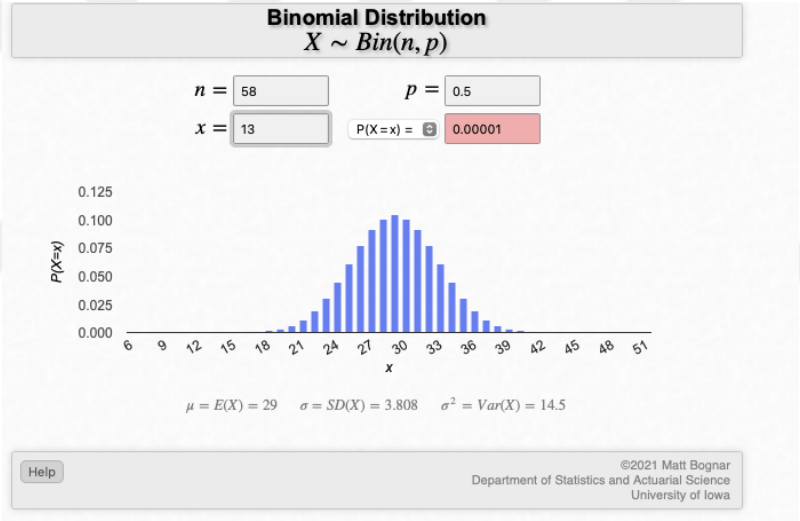
ID	chr	position	ref	alt	gen	type	c.	p.	NM	AD	AF	DP
1.	9	5073770	G	T	JAK2	missense_variant	c.1849G>T	p.Val617Phe	NM_004972	0,32	0.967	32
2.	2	25234373	C	T	DNMT3A	missense_variant	c.2645G>A	p.Arg882His	NM_022552	47,23	0.315	70
3.	1	1815790	T	C	GNB1	missense_variant	c.169A>G	p.Lys57Glu	NM_002074	16,5	0.237	21
4.	20	32433408	C	T	ASXL1	stop_gained	c.1210C>T	p.Arg404*	NM_015338	45,13	0.207	58
5.	20	32434485	C	A	ASXL1	stop_gained	c.1773C>A	p.Tyr591*	NM_015338	61,20	0.243	81
6.	4	105242922	A	G	TET2	missense_variant	c.3589A>G	p.Lys1197Glu	NM_001127208	17,6	0.281	23
7.	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na



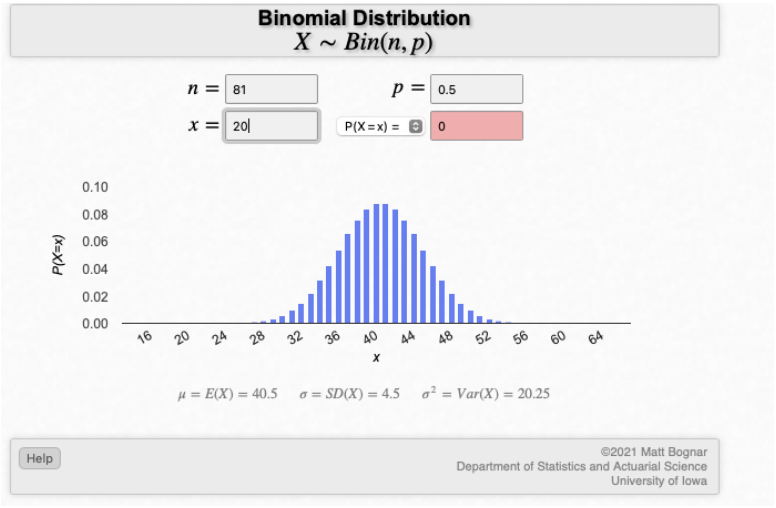
Şekil 5. 1. İkinci örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı



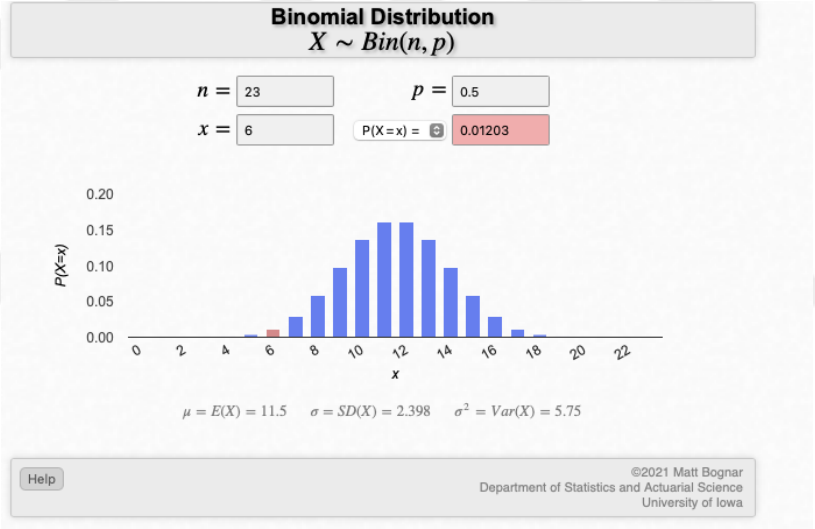
Şekil 5. 2. Üçüncü örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı



Şekil 5. 3. Dördüncü örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı



Şekil 5. 4. Beşinci örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı



Şekil 5. 5. Altıncı örnekte tespit edilen varyant için binom dağılımı

Çizelge 5. 2. Tespit edilen varyantların popüslayon frekansları ve klinik önemleri

ID	Zygosity	rs ID	Allelle Frequency (Total)(gnomAD)	Data seti içerisindeki frekansı	Clinical significance (Clinvar)
2.	heterozygous	rs147001633	0.0002681	0.00062705	Pathogenic Likely pathogenic
3.	heterozygous	rs141326438	0.0001127	0.00382199	Uncertain significance
4.	heterozygous	rs373145711	0.00002416	0.00004578	Pathogenic
5.	heterozygous	rs371369583	0.00001363	0.00004379	Likely pathogenic
6.	heterozygous	rs1231721810	0.000005160	0.000007657	Pathogenic

Çizelge 5. 3. Pozitif kontrollerde tespit edilen benign varyantlar

ID	rs	chr	position	ref	alt	gen	c.	p.	Allelle Frequency (Total)	Clinical significance (Clinvar)	AD	AF	DP
2.	rs4685	chr2	197393071	T	C	SF3B1	c.3657A>G	p.Val1219=	0.6789	Benign	10,10	0.524	20
3.	rs3822214	chr4	54727298	A	C	KIT	c.1624A>C	p.Met542Leu	0.09531	Benign Likely Benign	32,35	0.483	67
4.	rs2285892	chr17	31226467	G	A	NF1	c.2034G>A	p.Pro678Pro	0.3362	Benign	19,18	0.486	37
5.	rs1042522	chr17	7676154	G	C	TP53	c.215C>G	p.Pro72Arg	0.7079	Benign	33,35	0.521	68
6.	rs61744960	chr4	105235006	G	A	TET2	c.1064G>A	p.Gly355Asp	0.03745	Benign	28,28	0.502	56

5.2. KOHORTUN ÖZELLİKLERİ

Kohort, UKB katılımcılarından materyal ve yöntem bölümünde belirtilen data alanları kullanılarak uygun filtreleme kriterleri eklenerek istenen kriterleri sağlayan AH tanısı almış hastalardan oluşan "hasta grubu" (N=100) ve bu grup ile benzer yaş ve cinsiyete sahip "kontrol grubu" (N=100) olmak üzere 200 örnekten oluşmaktadır. Kohortun yaş ve cinsiyet dağılımları Çizelge 5.1'de özetlenmiştir. Yaş için ortalama değerler ve minimum-maximum değerler gösterilmiştir.

Çizelge 5. 4. Örneklemin sosyodemografik özellikleri

	Kontrol (N=100)	Hasta (N=100)
Yaş	68,06 [67-70]	68,17 [66-70]
Kadın	68 (%68)	68 (%68)
Erkek	32 (%33)	32 (%32)

5.3. ÖRNEKLEMİN MUTASYON PROFİLİ

Metod bölümünde belirtilen .csv dosyaları kullanılarak örneklem içerisinde CHIP varyantları materyal ve metod bölümünde belirtilen varyant listesine göre belirlenmiştir. Bu varyantların yanlış pozitifliği (false positive) aşağıdaki başlıklara göre incelenerek sorgulanmış ve nihayetinde bona fide (gerçek) varyantlar belirlenmiştir.

5.3.1. OKUMA DERİNLİĞİ DEĞERLERİ KULLANILARAK VARYANTLARIN FİLTRELENMESİ

Tespit edilen varyantların gerçek varyant olarak kabul edilmesi için aşağıda maddeler halinde yazılan yeterlilikleri sağlaması gerekmektedir.

- DP değeri (okuma derinliği) ≥ 20 olması
- altAD değeri (alternatif alel için okuma derinliği) ≥ 3 olması
- altAD değerinin her iki yönle de desteklenmesi yani Forward Read (İleri Okuma) ya da Reverse Read (Geri Okuma) değerlerinden herhangi birisinin 0 olmaması
- VAF değeri ≥ 0.02 olması

Aşağıdaki alt başlıklarda belirtilen yeterlilikleri sağlamayan ve çıkarılan varyantlar gösterilmiştir.

5.3.1.1. Her İki Yönde Okuması Olmadığı İçin Sonuçlardan Çıkarılan Varyantlar

CHIP varyantı olarak tespit edilen ancak FR ya da RR değerlerinden herhangi birisi 0 olduğu için sonuçlardan çıkarılan varyantlar Çizelge 5.5.'te gösterilmiştir. Çizelgede varyantların 200 örnek içerisinde kaç örnekte tespit edildiği görülme sıklığı sütununda gösterilmiştir. Varyantların tespit edildiği gen isimleri, varyant tipleri, GRCh38'e göre kodlayıcı DNA referans dizisi (c.), protein değişimleri ve NM (RefSeq gen transkript sekansları) kodları gösterilmiştir.

Çizelge 5. 5. FR ya da RR değerlerinden herhangi biri 0 olan varyantlar

Görülme sıklığı	Gen	Mutasyon türü	c.	p.	NM
%9,5	SETDBP1	stop_gained	c.3022G>T	p.Glu1008*	NM_001145415
%2,5	SETDBP1	stop_gained	c.3005C>A	p.Ser1002*	NM_001145415
%0,5	SETDBP1	frameshift_variant	c.2394delA	p.Gln798fs	NM_001145415
%0,5	GATA3	stop_gained	c.666C>A	p.Tyr222*	NM_001002295
%0,5	GATA3	stop_gained	c.675C>A	p.Tyr225*	NM_001002295
%0,5	GATA3	frameshift_variant	c.1307_1311delCCTCC	p.Pro436fs	NM_001002295
%0,5	KMT2A	stop_gained	c.2998A>T	p.Lys1000*	NM_005933
%0,5	KMT2A	stop_gained	c.7679C>A	p.Ser2560*	NM_005933
%0,5	SF1	frameshift_variant& splice_donor_variant& splice_region_variant& intron_variant	c.859_887+13del CACATTGCTTCAG ACTGTAAATTCCA AAGGTGAGGGGC TGGC	p.His287fs	NM_004630
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.15431_15432dupAA	p.Glu5145fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.14755_14756insA	p.Ser4919fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	frameshift_variant& splice_donor_variant& splice_region_variant& intron_variant	c.13840-4_13889delTCAGAATA ACCTGAGTAACCCGCCGACACCA CCCTCGTCGCTGCCCCCCACCCC	p.Asn4614fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	stop_gained	c.8906C>A	p.Ser2969*	NM_003482
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.610_611delTT	p.Phe204fs	NM_003482
%5	STAG2	stop_gained	c.1024G>T	p.Glu342*	NM_006603
%0,5	STAG2	frameshift_variant& splice_acceptor_variant& splice_region_variant& intron_variant	c.1535-1_1535delGC	p.Ala512fs	NM_006603
%0,5	STAG2	frameshift_variant& splice_region_variant	c.1536_1537insAAAAAAGTAAAG AAAAATAGTT	p.Leu513fs	NM_006603
%0,5	STAG2	frameshift_variant& stop_gained	c.1538_1539insTGGGGGTTTTTAAA	p.Thr514fs	NM_006603
%0,5	STAG2	frameshift_variant& stop_gained	c.1538_1539insTTGAAAA	p.Thr514fs	NM_006603
%0,5	STAG2	stop_gained	c.1552G>T	p.Glu518*	NM_006603
%2,5	STAG2	stop_gained	c.1567G>T	p.Glu523*	NM_006603
%4	STAG2	stop_gained	c.2111C>A	p.Ser704*	NM_006603
%0,5	STAG2	stop_gained	c.3283G>T	p.Glu1095*	NM_006603
%0,5	CREBBP	stop_gained	c.4446C>A	p.Tyr1482*	NM_004380
%0,5	CREBBP	stop_gained	c.2535C>A	p.Cys845*	NM_004380
%0,5	CREBBP	stop_gained	c.1156C>T	p.Arg386*	NM_004380
%0,5	CREBBP	stop_gained	c.1142C>A	p.Ser381*	NM_004380
%0,5	CREBBP	frameshift_variant	c.78_79insCGCACCGGTGTGGTCAC	p.Ser27fs	NM_004380
%0,5	ETV6	stop_gained	c.89C>A	p.Ser30*	NM_001987
%1	CTCF	frameshift_variant& splice_region_variant	c.950_951delCA	p.Thr317fs	NM_006565
%0,5	NF1	frameshift_variant& stop_gained	c.138_139insAAACCCTGCTAATGCT AACAGAGAAACCTAGCAA	p.Ser47fs	NM_000267
%0,5	NF1	frameshift_variant	c.3200_3201insCTAT	p.Leu1068fs	NM_000267
%0,5	NF1		c.3203_3204insTTGACA	p.Leu1068 delins PheTerGln	NM_000267
%1	NF1	stop_gained	c.3233C>A	p.Ser1078*	NM_000267
%0,5	SUZ12	splice_donor_variant &intron_variant	c.1293_1293+1insCTAT		NM_015355
%0,5	IKZF3	stop_gained	c.381C>A	p.Cys127*	NM_012481
%0,5	PPM1D	stop_gained	c.1073G>A	p.Trp358*	NM_003620
%0,5	SETD2	stop_gained	c.5298C>A	p.Cys1766*	NM_014159
%0,5	SETD2	frameshift_variant	c.2808dupT	p.Pro937fs	NM_014159
%0,5	SETD2	stop_gained	c.1565C>A	p.Ser522*	NM_014159
%0,5	SETD2	stop_gained	c.335C>A	p.Ser112*	NM_014159
%0,5	PHIP	stop_gained	c.705T>G	p.Tyr235*	NM_017934
%0,5	CUX1	frameshift_variant& splice_region_variant	c.1124_1125delAG	p.Gln375fs	NM_181552
%0,5	LUC7L2	stop_gained	c.1073C>A	p.Ser358*	NM_016019
%0,5	RAD21	stop_gained	c.219C>A	p.Tyr73*	NM_006265

%0,5	BCOR	frameshift_variant& splice_region_variant	c.3849delC	p.Leu1284fs	NM_001123385
%0,5	BCOR	stop_gained	c.756C>A	p.Tyr252*	NM_001123385
%0,5	BCOR	stop_gained	c.612C>A	p.Tyr204*	NM_001123385
%0,5	GATA1	stop_gained	c.783C>A	p.Cys261*	NM_002049
%1	TET2	stop_gained	c.3882C>A	p.Tyr1294*	NM_001127208
%0,5	TET2	stop_gained	c.5081T>A	p.Leu1694*	NM_001127208
%0,5	TET2	stop_gained	c.5824C>T	p.Gln1942*	NM_001127208
%0,5	GNB1	missense_variant	c.169A>G	p.Lys57Glu	NM_002074
%1,5	MPL	conservative_inframe_deletion	c.1537_1539delCTG	p.Leu513del	NM_005373
%0,5	TP53	missense_variant	c.800G>A	p.Arg267Gln	NM_001126112
%0,5	TET2	missense_variant	c.3464C>A	p.Pro1155His	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.3636G>T	p.Leu1212Phe	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.3650C>A	p.Ala1217Asp	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.3821A>G	p.Gln1274Arg	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.3906A>T	p.Arg1302Ser	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.3946C>A	p.Pro1316Thr	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.4427C>A	p.Ala1476Asp	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.4435C>A	p.Leu1479Ile	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.5550C>A	p.Ser1850Arg	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.5720T>A	p.Met1907Lys	NM_001127208
%0,5	TET2	missense_variant	c.5744C>A	p.Ala1915Asp	NM_001127208

5.3.1.1. Her İki Yönde Okuması 3'den Az Olduğu İçin Sonuçlardan Çıkarılan Varyantlar

CHIP varyantı olarak tespit edilen ancak bu varyantın FR değeri=1, RR değeri=1 olup bu değerlerin toplamı olan altAD değeri 3'ten az olması sebebiyle çıkarılan varyantlar Çizelge 5.6.'te gösterilmiştir. Çizelgede varyantların 200 örnek içerisinde kaç örnekte tespit edildiği görülme sıklığı sütununda gösterilmiştir. Varyantların tespit edildiği gen isimleri, varyant tipleri, GRCh38'e göre kodlayıcı DNA referans dizisi (c.), protein değişimleri ve NM (RefSeq gen transkript sekansları) kodları gösterilmiştir.

Çizelge 5. 6. AltAD değeri 3'den küçük olan varyantlar

Görülme sıklığı	Gen	type	c.	p.	NM
%0,5	SETDBP1	stop_gained	c.3011_3012delTCinsAA	p.Phe1004*	NM_001145415
%0,5	GATA3	stop_gained	c.675C>A	p.Tyr225*	NM_001002295
%0,5	GATA3	frameshift_variant	c.1307_1311delCCTCC	p.Pro436fs	NM_001002295
%0,5	KMT2A	frameshift_variant	c.127_172delGGGCCC CCGGTCGGCGGTGGC GGCCCCGGGGCGCCCC CCTCCCCCC	p.Gly43fs	NM_005933
%0,5	KMT2A	frameshift_variant	c.1432_1433delCG	p.Arg478fs	NM_005933
%0,5	KMT2A	frameshift_variant	c.1435delT	p.Ser479fs	NM_005933
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.13890_13894delACCCC	p.Pro4631fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.13450_13456delCGAGCTG	p.Ala4485fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.9872_9882delCTGCCCAGGCC	p.Pro3291fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	stop_gained	c.8804C>A	p.Ser2935*	NM_003482
%0,5	KMT2D	frameshift_variant	c.7437_7447delTAAGGCTGGGT	p.Lys2480fs	NM_003482
%0,5	KMT2D	stop_gained	c.7313C>A	p.Ser2438*	NM_003482
%0,5	STAG2	frameshift_variant	c.763delA|p.Met255fs	p.Met255fs	NM_006603
%0,5	CREBBP	frameshift_variant	c.7129_7148delTCACCCCAGACTGGTTCCCC	p.Ser2377fs	NM_004380
%0,5	CREBBP	frameshift_variant	c.5156delA	p.His1719fs	NM_004380
%0,5	CREBBP	frameshift_variant	c.3942_3943delAA	p.Lys1314fs	NM_004380
%0,5	CREBBP	stop_gained	c.3940A>T	p.Lys1314*	NM_004380
%0,5	CREBBP	frameshift_variant	c.3638delG	p.Cys1213fs	NM_004380
%0,5	CREBBP	frameshift_variant	c.3636delC	p.Cys1213fs	NM_004380
%1	CTCF	frameshift_variant& splice_region_variant	c.950_951delCA	p.Thr317fs	NM_006565
%0,5	CEBPA	stop_gained	c.830C>A	p.Ser277*	NM_004364
%0,5	ASXL1	frameshift_variant	c.1218delG	p.His407fs	NM_015338
%0,5	EP300	stop_gained	c.35C>A	p.Ser12*	NM_001429
%0,5	EP300	stop_gained	c.925C>T	p.Gln309*	NM_001429
%0,5	EP300	frameshift_variant	c.1085_1086insTT	p.Arg362fs	NM_001429
%0,5	EP300	frameshift_variant	c.1093_1094delAA	p.Asn365fs	NM_001429
%0,5	STAG1	stop_gained& splice_region_variant	c.2035G>T	p.Glu679*	NM_005862
%0,5	CUX1	stop_gained	c.85C>T	p.Gln29*	NM_181552
%0,5	BCORL1	frameshift_variant	c.2574_2577delGCCC	p.Pro859fs	NM_021946
%0,5	BCOR	frameshift_variant	c.1701_1720delAGCCTCCGCATCACCCGCCC	p.Ala568fs	NM_001123385
%0,5	BCOR	frameshift_variant	c.1224_1233delGCATGCCCGG	p.His409fs	NM_001123385
%0,5	KDM6A	stop_gained	c.968C>A	p.Ser323*	NM_021140
%0,5	KDM6A	frameshift_variant	c.2211_2212delAC	p.Pro738fs	NM_021140
%0,5	TET2	frameshift_variant	c.803_807delCGCAT	p.Ser268fs	NM_001127208
%1	TET2	stop_gained	c.3882C>A	p.Tyr1294*	NM_001127208
%0,5	TET2	frameshift_variant	c.5888_5889delCT	p.Thr1963fs	NM_001127208
%1,5	MPL	conservative_inframe_deletion	c.1537_1539delCTG	p.Leu513del	NM_005373
%0,5	DNMT3A	missense_variant	c.1097G>A	p.Arg366His	NM_022552
%0,5	TET2	missense_variant	c.4405C>A	p.Leu1469Ile	NM_001127208
%0,5	EZH2	missense_variant	c.435C>A	p.Phe145Leu	NM_001203247

5.3.2. SEKANS ARTİFAKTLARININ BELİRLENEREK FİLTRELENMESİ

Örneklem içerisinde aynı kromozomal pozisyonda en az 8 örnekte (%4) tespit edilen, çizelge 5.7.'de gösterilen varyantlar sekans artifaktı potansiyelleri açısından değerlendirilmiş, varyant tipleri, görülme sıklıkları ve UK Biobank Exome veri seti kullanılarak oluşturulan sekans artifaktları listesi (70) kullanılarak sekans artifaktı olarak kabul edilmiş ve sonuçlardan çıkarılmıştır. Çıkarılan varyantların IGV görüntüleri Şekil 5.6-8.'de gösterilmiştir.

Ayrıca sekans artifaktlarının belirlenebilmesi için oluşturulan negatif grupta bu varyantarın varlığı araştırılmış, negatif grup içerisinde görülme yüzdeleri çizelgede N sütununa eklenmiştir. Artifakt olarak belirlenen varyantların kohort içerisindeki görülme sıklıkları ile negatif grupta görülme sıklıkları benzerdir.

Çizelge 5. 7. Sekans artifaktı olarak değerlendirilen varyantlar

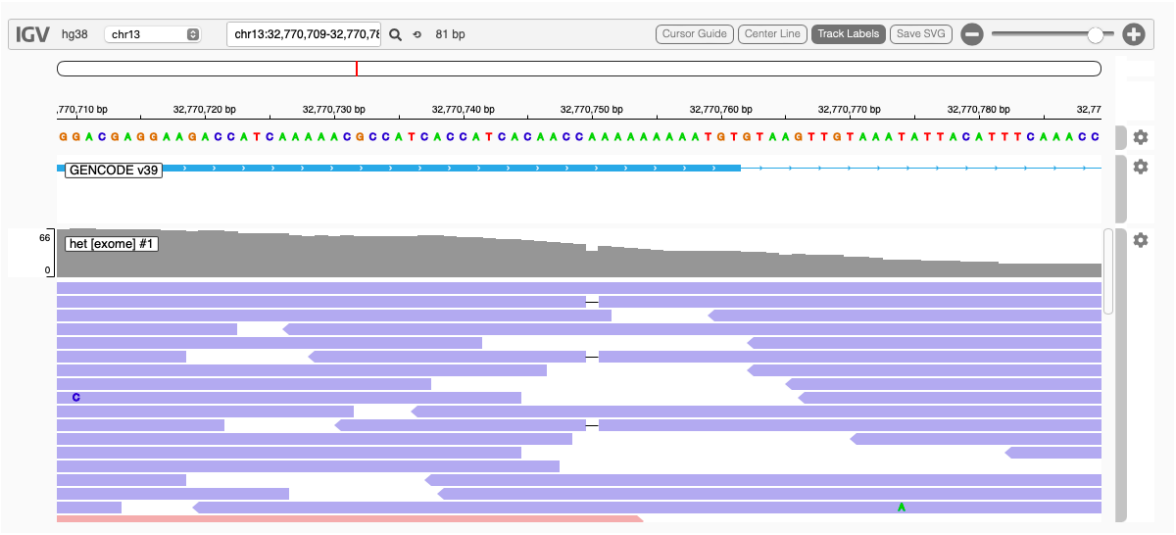
Görülme sıklığı	N	Chr	Position	ref	alt	Gen	type	c.	p.	NM
%61,5	%60	7	139409618	AAG	A	LUC7L2	frameshift_variant	c.757_758delGA	p.Glu253fs	NM_016019
%4	%0	7	139409618	AAGAG	A,AAG	LUC7L2	frameshift_variant	c.755_758delGAGA	p.Arg252fs	NM_016019
%0,5	%0	7	139409618	AAG	A,AAGAG	LUC7L2	frameshift_variant	c.757_758dupGA	p.Glu254fs	NM_016019
%0	%10	7	139409618	AAGAG	A	LUC7L2	frameshift_variant	c.755_758delGAGA	p.Arg252fs	NM_016019
%1	-	13	32770441	C	CA	PDS5B	frameshift_variant	c.3954dupA	p.Ser1319fs	NM_015032
%2,5	-	13	32770441	CA	C	PDS5B	frameshift_variant	c.3954delA	p.Lys1318fs	NM_015032
%1,5	%10	13	32770749	CA	C	PDS5B	frameshift_variant	c.4169delA	p.Asn1390fs	NM_015032
%4	-	20	32434638	AG	A	ASXL1	frameshift_variant	c.1934delG	p.Gly645fs	NM_15338



Şekil 5. 6. LUC7L2 geninde aranan pozisyonun IGC'deki görünümü



Şekil 5. 7. PDS5B geninde tespit edilen ilk varyantın IGV'deki görünümü



Şekil 5. 8. PDS5B geninde tespit edilen ikinci varyantın IGV'deki görünümü



Şekil 5. 9. ASXL1 geninde tespit edilen varyantın IGV'deki görünümü

5.3.3. GERMLİNE OLDUĞU VARSAYILAN VARYANTLARIN ÇIKARILMASI

VAF değeri görece yüksek olan ve kohort içerisinde görülme sıklığı yüksek olan varyantlar potansiyel germline varyant olduğu düşünülmüş ve bu varyantlar gruplar halinde incelenmiştir. Çizelge 5.8'de gösterilen IDH1 geni V178I varyantı kohort içerisinde %10 oranında görülmüştür. Negatif grup içerisinde de görülme sıklığı %20'dir. Bu varyant için altAD ve DP değerleri kullanılarak binom testi uygulandığında p değerlerinin <0.01 olmadığı görülmüş, bu sebeple bu varyantlar germline olarak kabul edilerek sonuçlardan çıkarılmıştır. Çizelge 5.8'de sadece 113 ID'li IDH1 V178I varyantı için p değeri <0.01'dir ve bu varyant somatik olarak değerlendirilebilir. Ancak bu varyatın DP değeri < 20 olduğu için gerçek varyant olarak kabul edilmeyerek sonuçlardan çıkarılmıştır.

Çizelge 5. 8. Germline olarak değerlendirilen varyantlar

ID	chr	position	ref	alt	gen	type	c.	p.	NM	AD	AF	DP	p
152	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	7,4	0.415	11	0.16113
31	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	8,16	0.588	24	0.04384
149	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	25,10	0.298	35	0.00534
65	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	37,35	0.467	72	0.09117
57	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	10,7	0.421	17	0.14838
172	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	11,18	0.572	29	0.06444
10	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	14,14	0.48	28	0.14945
124	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	14,14	0.556	28	0.14945
113	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	16,3	0.176	19	0.00185
154	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	16,25	0.595	41	0.04687
8	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	13,9	0.429	22	0.11859
150	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	16,6	0.349	22	0.01779
79	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	16,11	0.5	27	0.09714
80	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	13,12	0.482	25	0.15498
72	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	18,15	0.467	33	0.12074
184	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	14,9	0.391	23	0.09742
109	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	18,9	0.291	27	0.03492
61	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	21,10	0.339	31	0.02065
15	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	20,22	0.543	42	0.11682
54	2	208243593	C	T	IDH1	missense_variant	c.532G>A	p.Val178Ile	NM_005896	17,13	0.464	30	0.11154

5.3.4. YANLIŞ ANLAM MUTASYONLARI DIŞINDAKİ MUTASYONLARA UYGULANAN EK FİLTRELEME

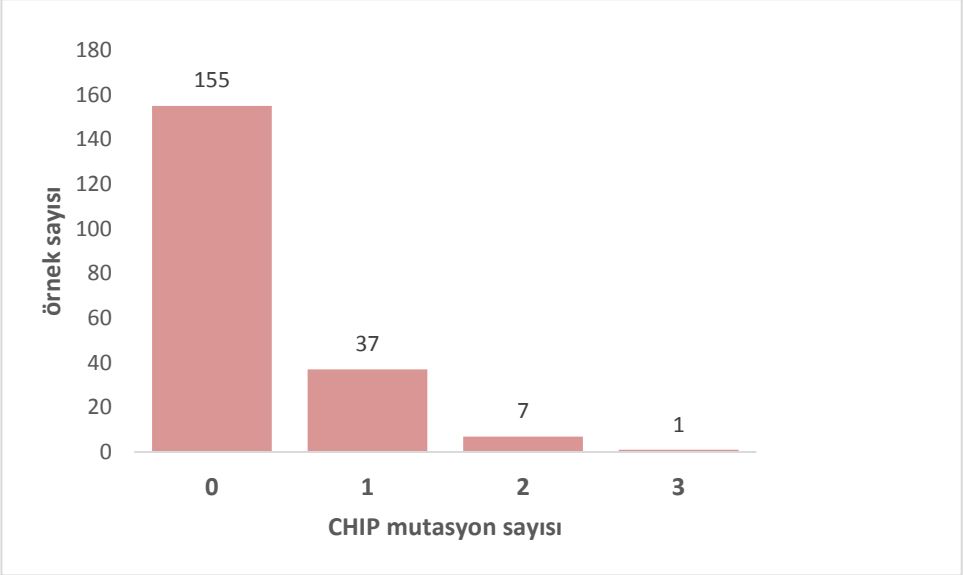
Tespit edilen varyantlar yukarıdaki başlıklarda belirtilen filtrelemelerden geçtikten sonra missense (yanlış anlam) mutasyonları dışında kalan frameshift (çerçeve kayması) / nonsense (anlamsız ya da durma) / splice-site (kesim bölgesi) olan varyantlar için eğer daha önce hiç tanımlanmadıysa ve mutasyonun meydana geldiği bölge open reading frame (açık okuma çerçevesi-ORF)'in ilk ya da son %10'unun içindeyse bu varyantlar sonuçlardan çıkarılmıştır. Çıkarılan varyantlar çizelgede gösterilmiştir. Çizelgede COSMIC'teki bulguları son sütuna eklenmiştir.

Çizelge 5. 9. ORF'nin ilk ya da son %10'ununda yer alan varyantlar

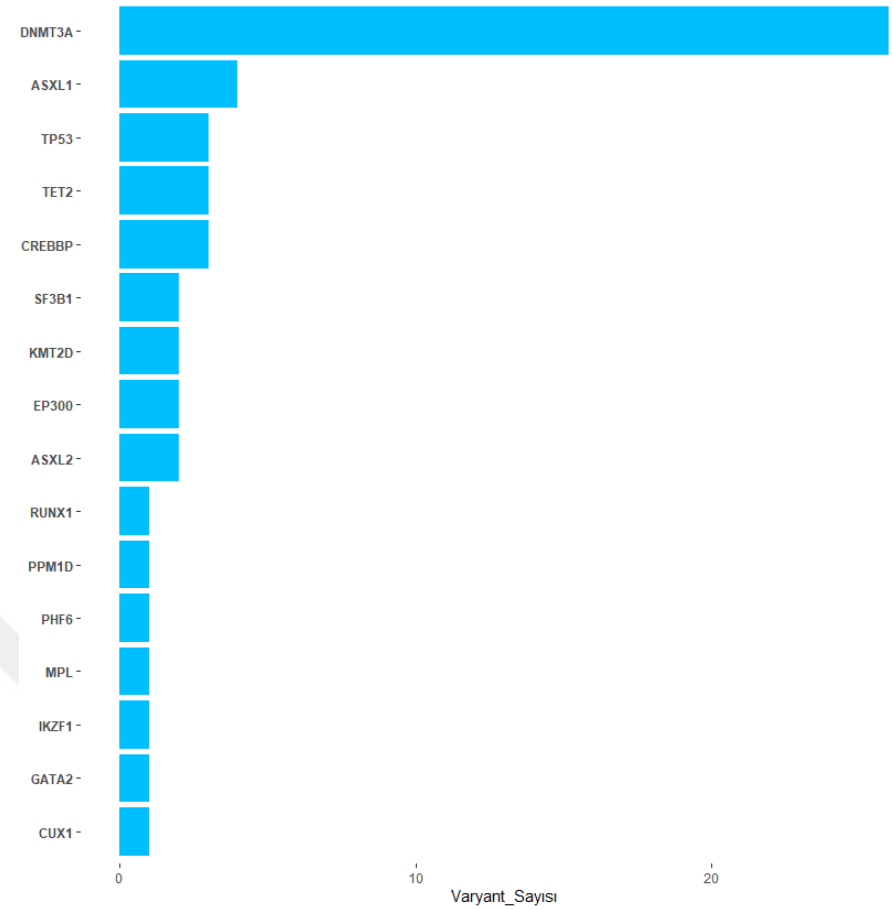
ID	chr	pos	ref	alt	gen	type	c.	p.		NM	AD	AF	DP	Primary Tissue	Histology
58	11	86245249	C	A	EED	stop_gained	c.20C>A	p.Ser7*	S7*	NM_003797	27,9	0.235	36	Skin	Malignant Melanoma
151	6	79078043	G	T	PHIP	stop_gained	c.26C>A	p.Ser9*	S9*	NM_017934	59,3	0.063	62	Skin	Malignant Melanoma
42	X	124100579	T	TG	STAG2	frameshift_ variant	c.3680dupG	p.Val1228fs	V1228Sfs*11	NM_006603	31,7	0.185	38	-	-

5.3.5. CHIP VARYANTLARI

Tüm filteleme işlemleri sonrasında toplamda 200 örnek içerisinden 45 örnekte 54 CHIP varyantı tespit edilmiştir. Örneklem içerisinde CHIP pozitiflik oranı %22,5'tur. Varyantlar Çizelge 5.3.'de gösterilmiştir. En fazla DNMT3A ve ASXL1 genlerinde CHIP varyantları tespit edilmiştir. Tüm CHIP varyantlarının ortalama alel fraksiyonu (VAF) değeri 0,10 (%10)'dur. Ortalama okuma derinliği (DP (read depth)) 73'tür.



Şekil 5. 10. Tespit edilen varyantların sayısı



Şekil 5.10. Genlerde bulunan varyant sayısı grafiği

CHIP taşıyıcılığı oranlarına bakıldığında Kontrol grubunda daha fazla CHIP taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 5.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 5. 10. CHIP varyantı taşıyıcılık oranı

	Kontrol (N=100)	**Hasta (N=100)**
APOE statüsü	ε3ε3	ε3ε3
CHIP taşıyıcılığı (VAF>0.02)	%24	%21

Çizelge 5. 11. Kohortun CHIP varyant profili

ID	Chr	Position	Ref	Alt	Gene	Class.	c.	p.	NM code	AD	AF	DP
62	20	32433732	C	T	ASXL1	stop_gained	c.1534C>T	p.Gln512*	NM_015338	77,3	0.056	80
173	20	32434486	C	T	ASXL1	stop_gained	c.1774C>T	p.Gln592*	NM_015338	61,24	0.275	85
49	20	32434599	TCACCACTGCCATAGAGAGGCGGC	T	ASXL1	frameshift_variant	c.1900_1922delAGAGAGGCGGCCACCACTGCCAT	p.Glu635fs	NM_015338	64,1	0.157	74
167	20	32434611	TAG	T	ASXL1	frameshift_variant	c.1904_1905delAG	p.Glu635fs	NM_015338	79,5	0.062	84
137	2	25744311	C	CT	ASXL2	frameshift_variant	c.2025_2026insA	p.Ala676fs	NM_018263	48,3	0.077	51
137	2	25744312	G	GCCGCTGCCGCC	ASXL2	frameshift_variant	c.2024_2025insGGCGGCAGCGG	p.Ala680fs	NM_018263	48,3	0.077	51
103	16	3729692	G	T	CREBBP	stop_gained	c.5355C>A	p.Cys1785*	NM_004380	103,3	0.03	106
151	16	3731210	C	T	CREBBP	stop_gained	c.5154G>A	p.Trp1718*	NM_004380	69,3	0.048	72
144	16	3767774	T	TAA	CREBBP	frameshift_variant	c.3195_3196insTT	p.Ser1066fs	NM_004380	42,6	0.138	48
177	7	102196693	GC	G	CUX1	frameshift_variant	c.1289delC	p.Pro430fs	NM_181552	45,3	0.083	48
16	2	25234374	G	A	DNMT3A	missense_variant	c.2644C>T	p.Arg882Cys	NM_022552	68,6	0.101	74
82	2	25234374	G	A	DNMT3A	missense_variant	c.2644C>T	p.Arg882Cys	NM_022552	78,3	0.051	81
97	2	25239142	G	C	DNMT3A	missense_variant	c.2396C>G	p.Pro799Arg	NM_022552	65,7	0.097	72
147	2	25240379	G	C	DNMT3A	missense_variant	c.2245C>G	p.Arg749Gly	NM_022552	52,5	0.095	57
29	2	25240402	G	A	DNMT3A	missense_variant	c.2222C>T	p.Ala741Val	NM_022552	83,4	0.053	87
120	2	25240420	T	C	DNMT3A	missense_variant	c.2204A>G	p.Tyr735Cys	NM_022552	69,3	0.048	72
135	2	25240420	T	C	DNMT3A	missense_variant	c.2204A>G	p.Tyr735Cys	NM_022552	70,3	0.045	73
115	2	25240428	AAAG	A	DNMT3A	disruptive_inframe_deletion	c.2193_2195delCTT	p.Phe732del	NM_022552	71,6	0.087	77
120	2	25240439	G	A	DNMT3A	missense_variant	c.2185C>T	p.Arg729Trp	NM_022552	90,6	0.065	96
79	2	25240685	A	T	DNMT3A	missense_variant	c.2128T>A	p.Cys710Ser	NM_022552	101,7	0.057	108
147	2	25240693	C	T	DNMT3A	missense_variant	c.2120G>A	p.Gly707Asp	NM_022552	58,3	0.063	61
27	2	25246659	A	G	DNMT3A	missense_variant	c.1240T>C	p.Phe414Leu	NM_022552	69,6	0.099	75
105	2	25247629	G	A	DNMT3A	missense_variant	c.976C>T	p.Arg326Cys	NM_022552	113,7	0.059	120
28	2	25235757	AG	A	DNMT3A	frameshift_variant	c.2546delC	p.Pro849fs	NM_022552	36,6	0.152	42
110	2	25236968	G	A	DNMT3A	stop_gained	c.2446C>T	p.Gln816*	NM_022552	47,3	0.066	50
195	2	25239163	CG	C	DNMT3A	frameshift_variant	c.2374delC	p.Arg792fs	NM_022552	77,3	0.058	80
195	2	25240692	GCC	G	DNMT3A	frameshift_variant	c.2119_2120delGG	p.Gly707fs	NM_022552	112,7	0.078	119
30	2	25241567	T	A	DNMT3A	stop_gained	c.2077A>T	p.Lys693*	NM_022552	80,5	0.073	85
44	2	25241606	T	A	DNMT3A	stop_gained	c.2038A>T	p.Lys680*	NM_022552	84,4	0.049	88

21	2	25243949	CAG	C	DNMT3A	frameshift_variant	c.1883_1884 delCT	p.Ala628fs	NM_022552	46,6	0.139	52
21	2	25246052	T	TA	DNMT3A	frameshift_variant	c.1441dupT	p.Tyr481fs	NM_022552	71,5	0.059	76
196	2	25246163	T	A	DNMT3A	stop_gained	c.1426A>T	p.Arg476*	NM_022552	91,8	0.10	99
122	2	25246300	T	TTCTTC	DNMT3A	frameshift_variant	c.1284_1288 dupGAAGA	p.Asn430fs	NM_022552	52,24	0.32	76
149	2	25246672	C	T	DNMT3A	stop_gained	c.1227G>A	p.Trp409*	NM_022552	55,5	0.101	60
25	2	25247615	C	T	DNMT3A	stop_gained	c.990G>A	p.Trp330*	NM_022552	64,3	0.062	67
10	2	25247690	C	T	DNMT3A	stop_gained	c.915G>A	p.Trp305*	NM_022552	68,14	0.174	82
50	22	41131588	C	T	EP300	stop_gained	c.1483C>T	p.Gln495*	NM_001429	82,3	0.038	85
2	22	41150080	C	A	EP300	stop_gained	c.2699C>A	p.Ser900*	NM_001429	49,3	0.085	52
199	3	128483911	G	T	GATA2	stop_gained	c.966C>A	p.Tyr322*	NM_001145661	57,3	0.053	60
2	7	50400459	C	A	IKZF1	stop_gained	c.1392C>A	p.Cys464*	NM_006060	85,3	0.037	88
161	12	49039587	G	A	KMT2D	stop_gained	c.8077C>T	p.Gln2693*	NM_003482	83,3	0.039	86
5	12	49039605	G	A	KMT2D	stop_gained	c.8059C>T	p.Arg2687*	NM_003482	81,3	0.042	84
70	1	43349321	CCTG	C	MPL	conservative_in frame_deletion	c.1537_1539 delCTG	p.Leu513del	NM_005373	59,3	0.052	62
189	X	134417237	C	A	PHF6	stop_gained	c.903C>A	p.Tyr301*	NM_001015877	41,3	0.072	44
150	17	60663015	G	A	PPM1D	stop_gained	c.1281G>A	p.Trp427*	NM_003620	38,13	0.288	51
30	21	34886874	C	T	RUNX1	missense_variant	c.239G>A	p.Arg80His	NM_001001890	78,3	0.04	81
105	2	197402110	T	C	SF3B1	missense_variant	c.2098A>G	p.Lys700Glu	NM_012433	76,3	0.059	79
157	2	197402635	C	G	SF3B1	missense_variant	c.1998G>C	p.Lys666Asn	NM_012433	43,4	0.114	47
99	4	105259635	C	A	TET2	missense_variant	c.3820C>A	p.Gln1274Lys	NM_001127208	86,3	0.039	89
30	4	105276427	G	A	TET2	missense_variant	c.5917G>A	p.Glu1973Lys	NM_001127208	43,43	0.506	86
178	4	105234745	C	A	TET2	stop_gained	c.803C>A	p.Ser268*	NM_001127208	66,4	0.044	70
55	17	7674214	G	A	TP53	missense_variant	c.749C>T	p.Pro250Leu	NM_001126112	24,3	0.19	27
47	17	7674891	G	C	TP53	missense_variant	c.640C>G	p.His214Asp	NM_001126112	71,6	0.08	77
118	17	7675185	C	T	TP53	missense_variant	c.427G>A	p.Val143Met	NM_001126112	39,15	0.299	54

5.3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

CHIP ve AH arasındaki ilişki lojistik regresyon analizi ile incelenmiştir. Lojistik regresyon modeline Cinsiyet ve Yaş dahil edilmeden ve dahil edildikten sonraki Odds Oranı ve % 95 güven aralığı değerleri Çizelge 5.11'de sunulmuştur. Analizler SPSS 11.5 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. P<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 5. 12.İstatistiksel bulgular

	Odds Oranı (%95GA)	**p**	**Odds Oranı (%95GA)***	**p**
CHIP (taşıyıcı)	0.842 (0.433-1.637)	0.612	0.823 (0.421-1.610)	0.570
Cinsiyet (Kadın)	-		0.994 (0.547-1.809)	0.985
Yaş (1 yıl artış)	-		1.134 (0.848-1.517)	0.397

GA: Güven Aralığı, *: Cinsiyet ve Yaş düzeltilmiş Odds Oranı.

Cinsiyet ve yaş düzeltmesi yapılmadan CHIP taşıyıcısı olmanın AH olma üzerine etkisi incelendiğinde, CHIP taşıyıcısı olmanın Alzheimer riskini 0.842 katı oranında (%95 GA: 0.433-1.637) azalttığı bulunmuştur. Diğer bir deyişle, 100*(1-0.842)=%15.8 düşürdüğü söylenebilir. Ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.612). Cinsiyet ve yaş düzeltmesi yapıldıktan sonra CHIP taşıyıcısı olmanın AH olma üzerine etkisi incelendiğinde, CHIP taşıyıcısı olmanın Alzheimer riskini 0.823 katı oranında (%95 GA: 0.421-1.610) azalttığı bulunmuştur. Diğer bir deyişle, 100*(1-0.823)=%17.7 düşürdüğü söylenebilir. Ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.570).

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

6.1. TARTIŞMA

Yaşlanma sürecinde normal dokulardaki bazı hücreler o hücreye içinde bulunduğu ortamda daha fazla çoğalabilmesi için avantaj sağlayan mutasyonlar kazanabilirler ve bu mutant hücreler klon haline gelebilir. Eğer bu süreç, hematopoetik kök hücrelerde meydana gelirse bu durum klonal hematopoez olarak adlandırılır. Klonal hematopoez periferik kan örneklerinden izole edilen DNA'nın sekanslanması yolu ile tespit edilebilir. Eğer bu mutasyonlar hematolojik kanser tanısı almamış bireylerde tespit edilirse bu durum CHIP olarak adlandırılır.

CHIP akut myeloid lösemi (AML), myelodisplastik sendrom (MDS), myeloproliferatif sendrom (MPN) gibi hematolojik kanserler için ilk basamak olabilir (31). Ancak kazanılan her mutasyon kanserle sonuçlanmaz.

CHIP, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar ve myekord enfarktüsü için arttırcı etkiye sahiptir (19,20). Aynı zamanda son yıllarda CHIP ile kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) (46), kronik karaciğer hastalığı (49), osteoporoz (48) ve gut hastalığı (45) arasında ilişki incelediğinde yine arttırıcı etki görülmüştür. Çoğu hastalıkla pozitif bir ilişkiye sahip olan CHIP, AH ile ilişkisi incelendiğinde ilginç bir şekilde negatif bir ilişki görülmüş, CHIP taşıyıcılığının AH üzerinde %36 oranında koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (63).

CHIP ile AH arasındaki ilişkinin nedenselliği araştırıldığında, bu ilişkiyi inceleyen tek yayında CHIP taşıyıcılarının otopsi sonrası beyin dokusunun oksipital kortex, serebellum, putamen bölgelerinden alınan örnekler incelendiğinde, 8 örneğin 6'sında CHIP varyantlarına rastlanmış, mutant mikroglia-benzeri hücrelerin oranının %30 - %95 olduğu bulunmuştur. Bu durum, beyinde yerleşik endojen mikrogliaların, kemik iliği kaynaklı mutant hücrelerle değişmesinin AH'ye karşı koruma için nedensel bir mekanizma olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca CHIP taşıyıcı bireyler ve taşıyıcı olmayanların beyin dokuları CERAD (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease) tarafından geliştirilen nörotik plak yoğunluğu ve nörofibriler yumak dağılımı göstergesi olan Braak evrelemesi ile ölçüldüğünde CHIP taşıyıcılarının daha düşük skorlar elde ettiği bulunmuştur.

Bu tez çalışması, Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez ile Alzheimer Hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmalardan biridir. Bu doktora tez çalışması ile uluslararası alanda ilk kez UK Biobank WES datası, hematolojik malignitelerle ilişkilendirilmiş genlerdeki somatik mutasyonların Alzheimer hastalığı üzerine etkisini incelemek amacıyla kullanılmıştır. İlk kez UK Biobank WES verileri, 2021 yılında DNAnexus tarafından UK Biobank araştırmacılarının kullanımına sunulan, bulut tabanlı veri analiz platformu olan, Research Analysis Platform içerisinde, NVIDIA tarafından geliştirilen somatik mutasyon analiz aracı olan Mutectcaller (Parabricks accelerated) ile analiz edilmiştir. Bu çalışma ile RAP içerisinde ham veri dosyası olan CRAM dosyasından başlanarak, sadece ilişkili 74 gen için filtrelenmiş ve anote edilmiş VCF dosyalarının elde edildiği bir iş akışı oluşturulmuş, UK Biobank genotypes verileri kullanılarak belirlenen pozitif örnekler, bu iş akışında denenerek iş akışının doğruluğu gösterilmiştir.

Bu çalışma ile ilk kez, Türkiye'deki araştırmacıların, UK Biobank genomik verilerine erişim için yaptıkları proje başvurusu kabul edilmiş ve genomik verilerle somatik mutasyon incelemesi yapılmıştır. Bu çalışma ülkemizde Önemi Belirsiz Klonal Hematopoez ve Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır.

RAP içerisinde gerçekleştirilen inceleme sonucunda bulgular, literatürdeki tek yayından (63) farklı olarak CHIP taşıyıcılığının AH üzerinde koruyucu bir etkisi olduğunu göstermemiştir. CHIP ve AH ilişkisini, 3 farklı proje (FHS, CHS, ADSP) verileri ile inceleyen literatürdeki çalışma ile bu çalışma, örneklem büyüklükleri açısından karşılaştırıldığında; (sırasıyla N=2437, N=743, N=2550) bu çalışma (N=200) daha küçük bir örneklem büyüklüğüne sahiptir. Ancak örneklem içerisindeki AH tanısı alan hasta grubunun büyüklüklükleri karşılaştırıldıklarında (sırasıyla %3.77, %22.34, %43.29) bu çalışmanın örnekleminde daha fazla AH tanılı katılımcıdan (%50) oluştuğu görülmektedir. Yaşın CHIP ile pozitif bir ilişkide olduğu, yaş arttıkça CHIP pozitiflik oranının arttığı bilinmektedir. Yaş açısından projelerdeki hasta - kontrol grubu dağılımları incelendiğinde, bu çalışmada CHS ve ADSP projelerindeki gibi hasta ve kontrol grupları benzer yaş ortalamasına sahiptir. APOE geni statüsünün AH üzerinde direkt etkili olduğu bilinmektedir. Bu yüzden bu çalışmada da diğer iki projeden (FHS, CHS) farklı olarak, ADSP projesinde incelendiği gibi sadece hastalık üzerine etkisi olmadığı bilinen APOE3 alleline sahip kişiler çalışmaya dahil edilmiştir. Somatik mutasyon analizinde kullanılan sekans verileri, okuma derinliği (read depth)

açısından karşılaştırıldığında; (sırasıyla WGS ~38×, WGS ~38×, WES~80×) UK Biobank verilerinin diğer projelerdeki sekans verilerinin okuma derinliğinden daha düşük (WES ~20×) okuma derinliğine sahip olduğu görülmüştür. Okuma derinliği küçük klonların tespiti için önemlidir. Okuma derinliğinin düşük olması, CHIP pozitiflik oranını düşürmektedir.

Somatik varyantları tanımlamak için kullanılan analiz araçları karşılaştırıldıklarında, 3 projenin (FHS, CHS, ADSP) sekans verilerinin analiz edildiği Mutect2, Mutect/Indelocator araçları ile bu çalışmada CHIP varyantlarının belirlenmesinde kullanılan Mutectcaller aracı aynı çalışma algoritmalarına sahiptir. Bu çalışmada gerçek varyantları belirlemede kullanılan sekans filtreleme kriterleri ve eşik değerleri, 3 projenin (FHS, CHS, ADSP) sekans verilerinin analizinde kullanılan kriterler ve değerlerle aynıdır. Sonuçlardan her iki çalışmada da germline veritabanlarında bulunan yaygın polimorfizmler hariç tutulmuştur. RAP içerisinde bulunan Mutectcaller, Mutect2'de var olan sekans artifaktlarının filtrenmesini sağlayan "Panel of Normals" özelliğine sahip değildir. Bu sebeple bu çalışmada ayrıca negatif bir grup oluşturularak sekans artifaktları belirlenmiş, bu varyantlar sonuçlardan hariç tutulmuştur.

UK Biobank, 500,000 katılımcının 2006-2010 yılları arasında kan, idrar ve tükürük örneklerinin toplandığı boylamsal bir çalışmadır. Katılımcıların 30 yıl boyunca takibi hedeflenmektedir. UK Biobank, araştırmacılarına katılımcılara ait genetik (Genotypes, WES, WGS) görüntüleme (beyin, kalp ve tüm vücut MR), sağlık kayıtları, alınan biyolojik örneklerdeki biyomarker verileri, hayat tarzı (beslenme, fiziksel aktivite, çalışma geçmişi, bilişsel aktivite, zihinsel sağlık) verileri sunmaktadır. Bu veriler; hastalanan insanları neyin hasta ettiğini bulmaya yarayan retrospektif çalışmalardan ziyade, sağlıklı insanları takip ederek hastalık durumunda onları neyi hasta ettiklerini bulmayı amaçlamaktadır.

CHIP çalışmalarına uygunluğu açısından açısından UK Biobank WES verileri değerlendirildiğinde, CHIP'in yaşlanmayla birlikte ortaya çıktığı ve yaş arttıkça görülme sıklığının artması durumu göz önünde bulundurulduğunda, UK Biobank katılımcılarının kan alınma yaşının 40-69 arasında olması sebebiyle CHIP taşıyıcılık oranının görece daha düşük olması, sonuçları değerlendirme aşamasında oluşabilecek güçlüklerden biridir. Literatürdeki yayınlarda UK Biobank kohortu içerisinde CHIP taşıyıcılık oranı %3.4 - 5.8 olarak bildirilmiştir (68,71–73). Ancak data erişimi sağlanan verinin neredeyse yarım milyona

ulaşması araştırmalar için yeterli katılımcı sayısını elde etmeyi olanaklı kılmaktadır. UK Biobank boylamsal çalışması, ileri yaşta ortaya çıkan Demans gibi hastalıklar için hastalık ortaya çıkmadan kan alındığından, ileriye yönelik araştırmalar için uygun bir desen oluşturmaktadır. Ancak takip süresi boyunca tekrar kan örneği alınıp sekans verisi elde edilmediğinden, tanı öncesi ve sonrası karşılaştırma yapmak mümkün değildir.

UK Biobank WES data seti 469,901 katılımcının WES datasını içermektedir. Data seti içerisinde hematolojik malignite, kardiyovasküler hastalıklar, AH dışı demans, genetik akrabalık ve APOE2/4 statüsünün dışlanması sonucunda, AH tanısı alan katılımcı sayısı 262 olarak bulunmuştur. UK Biobank dataseti içerisindeki kohortun yaklaşık %1'i AH tanısı almış katılımcılardan oluşsa da, bu katılımcıların %81'i ICD-10 hastane kayıtları verilerine göre en az bir kardiyovasküler sistem hastalığı tanısı almıştır. AH tanılı bireylerin kohort içerisinde beklenenden az olması, bu kohortun kardiyovasküler hastalık bakımından yüksek bir orana sahip olması ile açıklanmaktadır. Ayrıca dataseti içerisinde kohortun %32'si arasında genetik akrabalık mevcuttur. Genetik akrabalık, araştırma sonuçlarının genel geçerliliği kısıtladığı için genetik akrabalığa sahip bireyler çalışmalara dahil edilmez ya da sadece 1 katılımcı seçilir. Bu çalışmada, UK Biobank kohortunun içerisinde görece daha düşük sayıda AH tanılı katılımcının olması, genetik akrabalığa sahip tüm katılımcılar dışlanması ile de ilişkilidir.

Bu çalışmada; UKB WES datası kullanılarak AH tanısı almış ve almamış bireylerde CHIP varyantları araştırılmış, 45 bireyde 54 CHIP varyantı tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak CHIP taşıyıcısı olmanın AH üzerinde azaltıcı bir etkisi olduğu gösterilmemiştir. Bu çalışmada örneklem büyüklüğünün görece daha küçük olması ve WES verilerinin daha düşük okuma derinliğine sahip olması, elde edilen sonucun istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmaması üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

6.2. SONUÇ

Bu tez çalışmasında CHIP'in Alzheimer Hastalığı için bir risk faktörü olduğu hipotezinden yola çıkılarak;

- ✓ Hipotezi test etmek için UK Biobank dataseti Version 16.1 kullanılmış, belirli dışlama ve içerme kriterleri veriseti içerisinde uygulanmış ve hasta & kontrol grubundan oluşan en uygun kohort yaratılmış,
- ✓ UK Biobank data alanı 23143 içerisindeki ham tüm ekzom sekans dosyası olan CRAM dosyalarının, Researh Analysis Platform içerisindeki araçlar kullanılarak somatik mutasyon analizi gerçekleştirilmiş,
- ✓ Somatik mutasyon analizi sonrasında tespit edilen varyantların CHIP için belirlenen kriterleri sağlayıp sağlamadığı literatür verileri ve genomik veri tabanları kullanılarak uygun olmayanlar filtrelenmiş ve gerçek varyantlar belirlenmiş,
- ✓ İlk kez UK Biobank WES verileri kullanılarak CHIP ve AH ilişkisi incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte CHIP taşıyıcılığının %17,7 oranında AH için koruyucu olduğu bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. WHO. Global health estimates 2000-2019. 2019.

2. 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*. 2023;19(4):1598-1695. doi:10.1002/alz.13016.

3. Selkoe DJ. Normal and abnormal biology of the ß -amyloid precursor protein. *Annu Rev Neurosci*. 1994;17:489-517. doi:10.4324/9780203978146-16.

4. Del C. Alonso A, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat Med*. 1996;2(7):783-787. doi:10.1038/nm0796-783.

5. Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv*. 2018;4:575-590. doi:10.1016/j.trci.2018.06.014.

6. Duff K, Eckman C, Zehr C, et al. Increased amyloid-β42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature*. 1996;383(6602):710-713. doi:10.1038/383710a0.

7. Levy-lahad AE, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate Gene for the Chromosome 1 Familial Alzheimer's Disease Locus. *Science (80-)*. 1995;269(973-977).

8. Chartier-Harlin M-C, Crawford F, Houlden H, et al. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the β-amyloid precursor protein gene. *Nature*. 1991;353(6347):844-846.

9. Bird TD. Alzheimer Disease Overview. *Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, al, Ed GeneReviews® [Internet] Seattle Univ Washington, Seattle; 1993-2021*. 2018:1-12. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1161/. Accessed December 20, 2018.

10. Zannis VI, Just PW, Breslow JL. Human apolipoprotein E isoprotein subclasses are genetically determined. *Am J Hum Genet*. 1981;33(1):11-24.

11. Strittmatter WJ, Roses AD. Apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Annu Rev*

Neurosci. 1996;19:53-77. doi:10.1212/01.wnl.0000192102.41141.9e.

12. Michaelson DM. APOE ε4: The most prevalent yet understudied risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2014;10(6):861-868. doi:10.1016/j.jalz.2014.06.015.

13. Yamazaki Y, Zhao N, Caulfield TR, Liu CC, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(9):501-518. doi:10.1038/s41582-019-0228-7.

14. Iadecola C. The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease. *Neuron*. 2017;96(1):17-42. doi:10.1016/j.neuron.2017.07.030.

15. Iadecola C, Gottesman RF. Cerebrovascular alterations in Alzheimer disease incidental or pathogenic? *Circ Res*. 2018;123(4):406-408. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.313400.

16. Chi N, Chien L, Ku H, Hu C, Chiou H. Alzheimer disease and risk of stroke. *Neurology*. 2013;80(Feb 19):705-711.

17. Iadecola C, Duering M, Hachinski V, et al. Vascular Cognitive Impairment and Dementia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(25):3326-3344. doi:10.1016/j.jacc.2019.04.034.

18. Arvanitakis Z, Capuano AW, Leurgans SE, Bennett DA, Schneider JA. Relation of cerebral vessel disease to Alzheimer's disease dementia and cognitive function in elderly people: a cross-sectional study. *Lancet Neurol*. 2016;15(9):934-943. doi:10.1016/S1474-4422(16)30029-1.

19. Jaiswal S, Natarajan P, Silver AJ, Gibson CJ, Kathiresan S, Ebert BL. Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017;377(2):111-121. doi:10.1056/NEJMoa1701719.

20. Fuster JJ, MacLauchlan S, Zuriaga MA, et al. Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science (80-)*.

2017;355(6327):842-847.

21. Jaiswal S, Ebert BL. Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science (80-)*. 2019;366(6465). doi:10.1126/science.aan4673.

22. Jaiswal S. Clonal hematopoiesis and non-hematologic disorders. *Blood*. 2020;1(36):1606-1614.

23. Hammond D, Loghavi S. Clonal haematopoiesis of emerging significance. *Pathology*. 2021;53(3):300-311. doi:10.1016/j.pathol.2021.02.005.

24. Cavillo-Argüelles O, Jaiswal S, Shlush LI, et al. Connections Between Clonal Hematopoiesis, Cardiovascular Disease, and Cancer. *JAMACardiology*. 2019.

25. Busque L, Mio R, Mattioli J, et al. Nonrandom X-inactivation patterns in normal females: Lyonization ratios vary with age. *Blood*. 1996;88(1):59-65. doi:10.1182/blood.v88.1.59.bloodjournal88159.

26. Fey MF, Liechti-Gallati S, Von Rohr A, et al. Clonality and X-inactivation patterns in hematopoietic cell populations detected by the highly informative M27β DNA probe. *Blood*. 1994;83(4):931-938. doi:10.1182/blood.v83.4.931.931.

27. Gale RE, Fielding AK, Harrison CN, Linch DC. Acquired skewing of X-chromosome inactivation patterns in myeloid cells of the elderly suggests stochastic clonal loss with age. *Br J Haematol*. 1997;98(3):512-519. doi:10.1046/j.1365-2141.1997.2573078.x.

28. Natarajan P, Jaiswal S, Kathiresan S. Clonal Hematopoiesis: Somatic Mutations in Blood Cells and Atherosclerosis. *Circ Genomic Precis Med*. 2018;11(7):e001926. doi:10.1161/CIRCGEN.118.001926.

29. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2477-2487. doi:10.1056/NEJMoa1409405.

30. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated

with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2488-2498. doi:10.1056/NEJMoa1408617.

31. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015;126(1):9-16. doi:10.1182/blood-2015-03-631747.

32. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703-1719. doi:10.1038/s41375-022-01613-1.

33. Loghavi S, Kanagal-Shamanna R, Khoury JD, et al. 5Th Edition of the World Health Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Mod Pathol*. 2024:100397. doi:10.1016/j.modpat.2023.100397.

34. McKerrell T, Park N, Moreno T, et al. Leukemia-Associated Somatic Mutations Drive Distinct Patterns of Age-Related Clonal Hemopoiesis. *Cell Rep*. 2015;10(8):1239-1245. doi:10.1016/j.celrep.2015.02.005.

35. Xie M, Lu C, Wang J, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med*. 2014;20(12):1472-1478. doi:10.1038/nm.3733.

36. Hoermann G. Clinical Significance of Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential in Hematology and Cardiovascular Disease. *Diagnostics*. 2022;12(7). doi:10.3390/diagnostics12071613.

37. Weeks LD, Niroula A, Neuberg D, et al. Prediction of Risk for Myeloid Malignancy in Clonal Hematopoiesis. *NEJM Evid*. 2023;2(5). doi:10.1056/evidoa2200310.

38. Sikking MA, Stroeks SLVM, Waring OJ, et al. Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential From a Heart Failure Specialist's Point of View. *J Am Heart Assoc*. 2023;12(15). doi:10.1161/JAHA.123.030603.

39. Sano S, Oshima K, Wang Y, Katanasaka Y, Sano M, Walsh K. CRISPR-mediated

gene editing to assess the roles of TET2 and DNMT3A in clonal hematopoiesis and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2018;123(3):335-341. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.313225.

40. Sano S, Oshima K, Wang Y, et al. Tet2-mediated Clonal Hematopoiesis Accelerates Heart Failure through a Mechanism Involving the IL-1β/NLRP3 Inflammasome. *J Am Coll Cardiol*. 2019;71(8):875-886. doi:10.1016/j.jacc.2017.12.037.Tet2-mediated.

41. Cull AH, Snetsinger B, Buckstein R, Wells RA, Rauh MJ. Tet2 restrains inflammatory gene expression in macrophages. *Exp Hematol*. 2017;55:56-70.e13. doi:10.1016/j.exphem.2017.08.001.

42. Cook EK, Izukawa T, Young S, et al. Comorbid and inflammatory characteristics of genetic subtypes of clonal hematopoiesis. *Blood Adv*. 2019;3(16):2482-2486. doi:10.1182/bloodadvances.2018024729.

43. Bick AG, Pirruccello JP, Griffin GK, et al. Genetic Interleukin 6 Signaling Deficiency Attenuates Cardiovascular Risk in Clonal Hematopoiesis. *Circulation*. 2020;141(2):124-131. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044362.

44. Bolton KL, Koh Y, Foote MB, et al. Clonal hematopoiesis is associated with risk of severe Covid-19. *Nat Commun*. 2021;12(1):1-8. doi:10.1038/s41467-021-26138-6.

45. Agrawal M, Niroula A, Cunin P, et al. TET2-mutant clonal hematopoiesis and risk of gout. *Blood*. 2022;140(10):1094-1103. doi:10.1182/blood.2022015384.

46. Miller PG, Qiao D, Rojas-Quintero J, et al. Association of clonal hematopoiesis with chronic obstructive pulmonary disease. *Blood*. 2022;139(3):357-368. doi:10.1182/blood.2021013531.

47. Vlasschaert C, McNaughton AJM, Chong M, et al. Association of Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential with Worse Kidney Function and Anemia in Two Cohorts of Patients with Advanced Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. 2022;33(5):985-995. doi:10.1681/ASN.2021060774.

48. Kim PG, Niroula A, Shkolnik V, et al. Dnmt3a-mutated clonal hematopoiesis promotes osteoporosis. *J Exp Med*. 2021;218(12). doi:10.1084/jem.20211872.

49. Wong WJ, Emdin C, Bick AG, et al. Clonal haematopoiesis and risk of chronic liver disease. *Nature*. 2023;616(7958):747-754. doi:10.1038/s41586-023-05857-4.

50. Beeler JS, Bick AG, Bolton KL. Genetic causes and cardiovascular consequences of clonal hematopoiesis in the UK Biobank. *Nat Cardiovasc Res*. 2023;2(1):13-15. doi:10.1038/s44161-022-00198-3.

51. Banks WA. The Blood-Brain Barriers. In: *Neuroimmune Pharmacology*. Vol ; 2016:5-25. doi:10.1007/978-3-319-44022-4.

52. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: Ageing and microvascular disease - systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging*. 2009;30(3):337-352. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.07.015.

53. Fiala M, Liu QN, Sayre J, et al. Cyclooxygenase-2-positive macrophages infiltrate the Alzheimer's disease brain and damage the blood-brain barrier. *Eur J Clin Invest*. 2002;32(5):360-371. doi:10.1046/j.1365-2362.2002.00994.x.

54. Cullen KM, Kócsi Z, Stone J. Pericapillary haem-rich deposits: Evidence for microhaemorrhages in aging human cerebral cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(12):1656-1667. doi:10.1038/sj.jcbfm.9600155.

55. Hultman K, Strickland S, Norris EH. The APOE ε4/ε4 genotype potentiates vascular fibrin(ogen) deposition in amyloid-laden vessels in the brains of Alzheimer's disease patients. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33(8):1251-1258. doi:10.1038/jcbfm.2013.76.

56. Zenaro E, Pietronigro E, Bianca V Della, et al. Neutrophils promote Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline via LFA-1 integrin. *Nat Med*. 2015;21(8):880-886. doi:10.1038/nm.3913.

57. Banks WA, Kastin AJ, Broadwell RD. Passage of cytokines across the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation*. 1995;2:241-248.

58. Halle A, Hornung V, Petzold GC, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-β. *Nat Immunol*. 2008;9(8):857-865. doi:10.1038/ni.1636.

59. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(6):719-732. doi:10.1016/j.jalz.2016.02.010.

60. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Wyss-Coray T. Inflammation and Alzheimer's disease Neuroinflammation. *Neurobiol Aging*. 2000;21(2):383-341. doi:10.1097/PSY.0b013e31828233bf.Low.

61. Hayden KM, Leng XI, Manson JE, et al. Clonal Hematopoiesis of indeterminate potential and the risk of mild cognitive impairment or probable dementia in the Women's Health Initiative Memory Study. *Alzheimer's Dement*. 2020;16(S10):2-3. doi:10.1002/alz.039121.

62. Bouzid H, Belk J, Jan M, et al. Clonal Hematopoiesis is Associated with Reduced Risk of Alzheimer's Disease. *Blood*. 2021;138(Supplement 1):5-5. doi:10.1182/blood-2021-151064.

63. Bouzid H, Belk JA, Jan M, et al. Clonal hematopoiesis is associated with protection from Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2023;29(7):1662-1670. doi:10.1038/s41591-023-02397-2.

64. Sudlow C, Gallacher J, Allen N, et al. UK Biobank: An Open Access Resource for Identifying the Causes of a Wide Range of Complex Diseases of Middle and Old Age. *PLoS Med*. 2015;12(3):1-10. doi:10.1371/journal.pmed.1001779.

65. Backman JD, Li AH, Marcketta A, et al. Exome sequencing and analysis of 454,787 UK Biobank participants. *Nature*. 2021;599(7886):628-634. doi:10.1038/s41586-021-04103-z.

66. Van Hout C V., Tachmazidou I, Backman JD, et al. Exome sequencing and characterization of 49,960 individuals in the UK Biobank. *Nature*. 2020;586(7831):749-756. doi:10.1038/s41586-020-2853-0.

67. Szustakowski JD, Balasubramanian S, Sasson A, et al. Advancing Human Genetics Research and Drug Discovery through Exome Sequencing of the UK Biobank. *medRxiv*. 2020.

68. Kar SP, Quiros PM, Gu M, et al. Genome-wide analyses of 200,453 individuals yield new insights into the causes and consequences of clonal hematopoiesis. *Nat Genet*. 2022;54(8):1155-1166. doi:10.1038/s41588-022-01121-z.

69. Niroula A, Sekar A, Murakami MA, et al. Distinction of lymphoid and myeloid clonal hematopoiesis. *Nat Med*. 2021;27(11):1921-1927. doi:10.1038/s41591-021-01521-4.

70. Vlasschaert C, Mack T, Heimlich JB, et al. A practical approach to curate clonal hematopoiesis of indeterminate potential in human genetic datasets. *medRxiv*. 2022.

71. Gumuser ED, Schuermans A, Cho SMJ, et al. Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential Predicts Adverse Outcomes in Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2023;81(20):1996-2009. doi:10.1016/j.jacc.2023.03.401.

72. Zekavat SM, Viana-huete V, Matesanz N, et al. TP53-mediated clonal hematopoiesis confers increased risk for incident atherosclerotic disease. *Nat Cardiovasc Res*. 2023;(2):144-158. doi:10.1038/s44161-022-00206-6.TP53-.

73. Kessler MD, Damask A, O'Keeffe S, et al. Common and rare variant associations with clonal haematopoiesis phenotypes. *Nature*. 2022;612(7939):301-309. doi:10.1038/s41586-022-05448-9.

EKLER

EK-1 Filtrelenen varyantların bed dosyasınındaki pozisyonları

chr2	25252201	25252201	Intron 6 7	DNMT3A
chr2	25252264	25252264	Intron 6 7	DNMT3A
chr2	25252282	25252282	Intron 6 7	DNMT3A
chr2	25252288	25252288	Intron 6 7	DNMT3A
chr2	25252305	25252305	Intron 6 7	DNMT3A
chr2	25281502	25281502	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25281626	25281626	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25281896	25281896	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25282281	25282281	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25282320	25282320	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25282323	25282323	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25282337	25282337	Intron 4 5	DNMT3A
chr2	25314005	25314005	Intron 1 2	DNMT3A
chr2	25314054	25314054	Intron 1 2	DNMT3A
chr2	25314105	25314105	Intron 1 2	DNMT3A
chr2	25314118	25314118	Intron 1 2	DNMT3A
chr2	25314146	25314146	Intron 1 2	DNMT3A
chr2	213150157	213150157	intronic	IKZF2
chr3	105868246	105868246	Intron 1 2	CBLB
chr3	105868791	105868791	UTR	CBLB
chr3	105868810	105868810	UTR	CBLB
chr3	105868813	105868813	UTR	CBLB
chr3	105868826	105868826	UTR	CBLB
chr3	105868861	105868861	UTR	CBLB
chr3	105868880	105868880	UTR	CBLB
chr3	105868882	105868882	UTR	CBLB
chr3	105868903	105868903	UTR	CBLB
chr3	105869001	105869001	UTR	CBLB
chr3	105869019	105869019	UTR	CBLB
chr3	105869032	105869032	UTR	CBLB
chr3	105869035	105869035	UTR	CBLB
chr3	105869035	105869035	UTR	CBLB
chr3	105869037	105869037	UTR	CBLB
chr4	105237535	105237535	Intron 3 4	TET2
chr4	105237581	105237581	Intron 3 4	TET2
chr4	105237698	105237698	Intron 3 4	TET2
chr4	105237842	105237842	Intron 3 4	TET2

chr4	105240337	105240337	Intron 3 4	TET2
chr4	105240465	105240465	Intron 3 4	TET2
chr4	105240699	105240699	Intron 3 4	TET2
chr4	105240987	105240987	Intron 3 4	TET2
chr4	105241003	105241003	Intron 3 4	TET2
chr4	105241022	105241022	Intron 3 4	TET2
chr4	105241026	105241026	Intron 3 4	TET2
chr4	105241054	105241054	Intron 3 4	TET2
chr4	105241497	105241497	Intron 4 5	TET2
chr4	105241591	105241591	Intron 4 5	TET2
chr4	105241649	105241649	Intron 4 5	TET2
chr4	105241654	105241654	Intron 4 5	TET2
chr4	105241736	105241736	Intron 4 5	TET2
chr4	105241765	105241765	Intron 4 5	TET2
chr4	105241817	105241817	Intron 4 5	TET2
chr4	105241876	105241876	Intron 4 5	TET2
chr4	105241935	105241935	Intron 4 5	TET2
chr4	105241938	105241938	Intron 4 5	TET2
chr4	105241943	105241943	Intron 4 5	TET2
chr4	105241951	105241951	Intron 4 5	TET2
chr4	105241952	105241952	Intron 4 5	TET2
chr4	105241953	105241953	Intron 4 5	TET2
chr4	105241960	105241960	Intron 4 5	TET2
chr4	105241966	105241966	Intron 4 5	TET2
chr4	105241980	105241980	Intron 4 5	TET2
chr4	105241981	105241981	Intron 4 5	TET2
chr4	105241984	105241984	Intron 4 5	TET2
chr4	105242067	105242067	Intron 4 5	TET2
chr4	105242169	105242169	Intron 4 5	TET2
chr4	105242453	105242453	Intron 4 5	TET2
chr4	105242517	105242517	Intron 4 5	TET2
chr4	105242520	105242520	Intron 4 5	TET2
chr4	105242589	105242589	Intron 4 5	TET2
chr4	105242606	105242606	Intron 4 5	TET2
chr4	105242733	105242733	Intron 4 5	TET2
chr4	105242752	105242752	Intron 4 5	TET2
chr7	101817081	101817081	5' upstream	CUX1
chr7	101817086	101817086	5' upstream	CUX1
chr7	101817135	101817135	5' upstream	CUX1
chr7	101817173	101817173	5' upstream	CUX1

chr7	102249044	102249044	3' UTR	CUX1
chr7	102249048	102249048	3' UTR	CUX1
chr7	102249056	102249056	3' UTR	CUX1
chr7	102249113	102249113	3' UTR	CUX1
chr7	102249172	102249172	3' UTR	CUX1
chr7	102249243	102249243	3' UTR	CUX1
chr7	102249254	102249254	3' UTR	CUX1
chr7	102249337	102249337	3' UTR	CUX1
chr7	102249371	102249371	3' UTR	CUX1
chr7	102249380	102249380	3' UTR	CUX1
chr7	102249483	102249483	3' UTR	CUX1
chr7	102249527	102249527	3' UTR	CUX1
chr7	102249553	102249553	3' UTR	CUX1
chr7	102249707	102249707	3' UTR	CUX1
chr7	102249713	102249713	3' UTR	CUX1
chr7	102249716	102249716	3' UTR	CUX1
chr7	102249723	102249723	3' UTR	CUX1
chr7	102249725	102249725	3' UTR	CUX1
chr7	102249729	102249729	3' UTR	CUX1
chr7	102249733	102249733	3' UTR	CUX1
chr7	102249739	102249739	3' UTR	CUX1
chr7	102249741	102249741	3' UTR	CUX1
chr7	102249744	102249744	3' UTR	CUX1
chr7	102249745	102249745	3' UTR	CUX1
chr7	102249746	102249746	3' UTR	CUX1
chr7	102249747	102249747	3' UTR	CUX1
chr7	102249748	102249748	3' UTR	CUX1
chr7	102249758	102249758	3' UTR	CUX1
chr7	102249761	102249761	3' UTR	CUX1
chr7	102249835	102249835	3' UTR	CUX1
chr7	102249971	102249971	3' UTR	CUX1
chr7	102250018	102250018	3' UTR	CUX1
chr7	102250042	102250042	3' UTR	CUX1
chr7	102250043	102250043	3' UTR	CUX1
chr7	102250052	102250052	3' UTR	CUX1
chr7	102250060	102250060	3' UTR	CUX1
chr7	102250062	102250062	3' UTR	CUX1
chr7	102250285	102250285	3' UTR	CUX1
chr7	102250366	102250366	3' UTR	CUX1
chr7	102250516	102250516	3' UTR	CUX1

chr7	102250597	102250597	3' UTR	CUX1
chr7	102250793	102250793	3' UTR	CUX1
chr7	102250814	102250814	3' UTR	CUX1
chr7	102250839	102250839	3' UTR	CUX1
chr7	102250957	102250957	3' UTR	CUX1
chr7	102250962	102250962	3' UTR	CUX1
chr7	102250974	102250974	3' UTR	CUX1
chr7	102250975	102250975	3' UTR	CUX1
chr7	102250976	102250976	3' UTR	CUX1
chr7	102251106	102251106	3' UTR	CUX1
chr7	102251111	102251111	3' UTR	CUX1
chr7	102251217	102251217	3' UTR	CUX1
chr7	102251222	102251222	3' UTR	CUX1
chr7	102251232	102251232	3' UTR	CUX1
chr7	102251246	102251246	3' UTR	CUX1
chr7	102251253	102251253	3' UTR	CUX1
chr7	102251257	102251257	3' UTR	CUX1
chr7	102251260	102251260	3' UTR	CUX1
chr7	102251512	102251512	3' UTR	CUX1
chr7	102251628	102251628	3' UTR	CUX1
chr7	102251676	102251676	3' UTR	CUX1
chr7	102251792	102251792	3' UTR	CUX1
chr7	102251891	102251891	3' UTR	CUX1
chr7	102251962	102251962	3' UTR	CUX1
chr7	102252005	102252005	3' UTR	CUX1
chr7	102252044	102252044	3' UTR	CUX1
chr7	102252100	102252100	3' UTR	CUX1
chr7	102252129	102252129	3' UTR	CUX1
chr7	102252218	102252218	3' UTR	CUX1
chr7	102252239	102252239	3' UTR	CUX1
chr7	102252332	102252332	3' UTR	CUX1
chr7	102252571	102252571	3' UTR	CUX1
chr7	102252576	102252576	3' UTR	CUX1
chr7	102252584	102252584	3' UTR	CUX1
chr7	102252632	102252632	3' UTR	CUX1
chr7	102252691	102252691	3' UTR	CUX1
chr7	102252810	102252810	3' UTR	CUX1
chr7	102252941	102252941	3' UTR	CUX1
chr7	102252943	102252943	3' UTR	CUX1
chr7	102252952	102252952	3' UTR	CUX1

chr7	102253037	102253037	3' UTR	CUX1
chr7	102253052	102253052	3' UTR	CUX1
chr7	102253073	102253073	3' UTR	CUX1
chr7	102253109	102253109	3' UTR	CUX1
chr7	102253153	102253153	3' UTR	CUX1
chr7	102253339	102253339	3' UTR	CUX1
chr7	102253445	102253445	3' UTR	CUX1
chr7	102253456	102253456	3' UTR	CUX1
chr7	102253488	102253488	3' UTR	CUX1
chr7	102253664	102253664	3' UTR	CUX1
chr7	102253703	102253703	3' UTR	CUX1
chr7	102253789	102253789	3' UTR	CUX1
chr7	102253885	102253885	3' UTR	CUX1
chr7	102253910	102253910	3' UTR	CUX1
chr7	102253947	102253947	3' UTR	CUX1
chr7	102254139	102254139	3' UTR	CUX1
chr7	102254164	102254164	3' UTR	CUX1
chr7	102254280	102254280	3' UTR	CUX1
chr7	102254383	102254383	3' UTR	CUX1
chr7	102254402	102254402	3' UTR	CUX1
chr7	102254477	102254477	3' UTR	CUX1
chr7	102254551	102254551	3' UTR	CUX1
chr7	102254647	102254647	3' UTR	CUX1
chr7	102254665	102254665	3' UTR	CUX1
chr7	102254671	102254671	3' UTR	CUX1
chr7	102254687	102254687	3' UTR	CUX1
chr7	102254702	102254702	3' UTR	CUX1
chr7	102254757	102254757	3' UTR	CUX1
chr7	102254792	102254792	3' UTR	CUX1
chr7	102254845	102254845	3' UTR	CUX1
chr7	102254845	102254845	3' UTR	CUX1
chr7	102254917	102254917	3' UTR	CUX1
chr7	102254968	102254968	3' UTR	CUX1
chr7	102255040	102255040	3' UTR	CUX1
chr7	102255100	102255100	3' UTR	CUX1
chr7	102255167	102255167	3' UTR	CUX1
chr7	102255259	102255259	3' UTR	CUX1
chr7	102255366	102255366	3' UTR	CUX1
chr7	102255376	102255376	3' UTR	CUX1
chr7	102255384	102255384	3' UTR	CUX1

chr7	102255385	102255385	3' UTR	CUX1
chr7	102255400	102255400	3' UTR	CUX1
chr7	102255401	102255401	3' UTR	CUX1
chr7	102255441	102255441	3' UTR	CUX1
chr7	102255469	102255469	3' UTR	CUX1
chr7	102255469	102255469	3' UTR	CUX1
chr7	102255626	102255626	3' UTR	CUX1
chr7	102255954	102255954	3' UTR	CUX1
chr7	102256035	102256035	3' UTR	CUX1
chr7	102256062	102256062	3' UTR	CUX1
chr7	102256062	102256062	3' UTR	CUX1
chr7	102256094	102256094	3' UTR	CUX1
chr7	102256094	102256094	3' UTR	CUX1
chr7	102256103	102256103	3' UTR	CUX1
chr7	102256110	102256110	3' UTR	CUX1
chr7	102256127	102256127	3' UTR	CUX1
chr7	102256132	102256132	3' UTR	CUX1
chr7	102256132	102256132	3' UTR	CUX1
chr7	102256133	102256133	3' UTR	CUX1
chr7	102256133	102256133	3' UTR	CUX1
chr7	102256139	102256139	3' UTR	CUX1
chr7	102256139	102256139	3' UTR	CUX1
chr7	102256149	102256149	3' UTR	CUX1
chr7	102256196	102256196	3' UTR	CUX1
chr7	102256196	102256196	3' UTR	CUX1
chr7	102256272	102256272	3' UTR	CUX1
chr7	102256314	102256314	3' UTR	CUX1
chr7	102256361	102256361	3' UTR	CUX1
chr7	102256427	102256427	3' UTR	CUX1
chr7	102256470	102256470	3' UTR	CUX1
chr7	102256686	102256686	3' UTR	CUX1
chr7	102256766	102256766	3' UTR	CUX1
chr7	102256767	102256767	3' UTR	CUX1
chr7	102256830	102256830	3' UTR	CUX1
chr7	102256842	102256842	3' UTR	CUX1
chr7	102256867	102256867	3' UTR	CUX1
chr7	102256890	102256890	3' UTR	CUX1
chr7	102257007	102257007	3' UTR	CUX1
chr7	102257014	102257014	3' UTR	CUX1
chr7	102257055	102257055	3' UTR	CUX1

chr7	102257101	102257101	3' UTR	CUX1
chr7	102257178	102257178	3' UTR	CUX1
chr7	102257186	102257186	3' UTR	CUX1
chr7	102257191	102257191	3' UTR	CUX1
chr7	102257194	102257194	3' UTR	CUX1
chr7	102257200	102257200	3' UTR	CUX1
chr7	102257233	102257233	3' UTR	CUX1
chr7	102257306	102257306	3' UTR	CUX1
chr7	102257324	102257324	3' UTR	CUX1
chr7	102257421	102257421	3' UTR	CUX1
chr7	102257433	102257433	3' UTR	CUX1
chr7	102257435	102257435	3' UTR	CUX1
chr7	102257706	102257706	3' UTR	CUX1
chr7	102257711	102257711	3' UTR	CUX1
chr7	102257716	102257716	3' UTR	CUX1
chr7	102257724	102257724	3' UTR	CUX1
chr7	102257726	102257726	3' UTR	CUX1
chr7	102257731	102257731	3' UTR	CUX1
chr7	102257735	102257735	3' UTR	CUX1
chr7	102257737	102257737	3' UTR	CUX1
chr7	102257739	102257739	3' UTR	CUX1
chr7	102257746	102257746	3' UTR	CUX1
chr7	102257748	102257748	3' UTR	CUX1
chr7	102257753	102257753	3' UTR	CUX1
chr7	102257803	102257803	3' UTR	CUX1
chr7	102257873	102257873	3' UTR	CUX1
chr7	102257880	102257880	3' UTR	CUX1
chr7	102257881	102257881	3' UTR	CUX1
chr7	102257898	102257898	3' UTR	CUX1
chr7	102257915	102257915	3' UTR	CUX1
chr7	102257918	102257918	3' UTR	CUX1
chr7	102257922	102257922	3' UTR	CUX1
chr7	102257923	102257923	3' UTR	CUX1
chr7	102257929	102257929	3' UTR	CUX1
chr7	102257930	102257930	3' UTR	CUX1
chr7	102257931	102257931	3' UTR	CUX1
chr7	102257932	102257932	3' UTR	CUX1
chr7	102257934	102257934	3' UTR	CUX1
chr7	102257935	102257935	3' UTR	CUX1
chr7	102257937	102257937	3' UTR	CUX1

chr7	102257939	102257939	3' UTR	CUX1
chr7	102257947	102257947	3' UTR	CUX1
chr7	102257955	102257955	3' UTR	CUX1
chr7	102258006	102258006	3' UTR	CUX1
chr7	102258044	102258044	3' UTR	CUX1
chr7	102258115	102258115	3' UTR	CUX1
chr7	102258150	102258150	3' UTR	CUX1
chr7	139374921	139374921	Intron 1 2	LUC7L2
chr7	139375146	139375146	Intron 1 2	LUC7L2
chr7	139375218	139375218	Intron 1 2	LUC7L2
chr7	139375255	139375255	Intron 1 2	LUC7L2
chr7	139375422	139375422	Intron 1 2	LUC7L2
chr7	139375581	139375581	Intron 1 2	LUC7L2
chr7	140719342	140719342	intergenic	
chr7	140719370	140719370	intergenic	
chr7	140719517	140719517	intergenic	
chr7	140719517	140719517	intergenic	
chr7	140719521	140719521	intergenic	
chr7	140719573	140719573	intergenic	
chr7	140719619	140719619	intergenic	
chr7	140719759	140719759	intergenic	
chr7	140719833	140719833	intergenic	
chr7	140719946	140719946	intergenic	
chr7	140719946	140719946	intergenic	
chr7	140719993	140719993	intergenic	
chr7	140720013	140720013	intergenic	
chr7	140720060	140720060	intergenic	
chr7	140720151	140720151	intergenic	
chr7	140720321	140720321	intergenic	
chr7	140720368	140720368	intergenic	
chr7	140720709	140720709	intergenic	
chr7	140720919	140720919	intergenic	
chr7	140721075	140721075	intergenic	
chr7	140721093	140721093	intergenic	
chr7	140721120	140721120	intergenic	
chr7	140721212	140721212	intergenic	
chr7	140721227	140721227	intergenic	
chr7	140721268	140721268	intergenic	
chr7	140721285	140721285	intergenic	
chr7	140721295	140721295	intergenic	

chr7	140721308	140721308	intergenic	
chr7	140721449	140721449	intergenic	
chr7	140721553	140721553	intergenic	
chr7	140721652	140721652	intergenic	
chr7	140721668	140721668	intergenic	
chr7	140721690	140721690	intergenic	
chr7	140721741	140721741	intergenic	
chr7	140721746	140721746	intergenic	
chr7	140721808	140721808	intergenic	
chr7	140721890	140721890	intergenic	
chr7	140721903	140721903	intergenic	
chr7	140722072	140722072	intergenic	
chr7	140722304	140722304	intergenic	
chr7	140722316	140722316	intergenic	
chr7	140722318	140722318	intergenic	
chr7	140722322	140722322	intergenic	
chr7	140722500	140722500	intergenic	
chr7	140722685	140722685	intergenic	
chr7	140722779	140722779	intergenic	
chr7	140722784	140722784	intergenic	
chr7	140722785	140722785	intergenic	
chr7	140722792	140722792	intergenic	
chr7	140722793	140722793	intergenic	
chr7	140722796	140722796	intergenic	
chr7	140722798	140722798	intergenic	
chr7	140722805	140722805	intergenic	
chr7	140723023	140723023	intergenic	
chr7	140723147	140723147	intergenic	
chr7	140723244	140723244	intergenic	
chr7	140723250	140723250	intergenic	
chr7	140723453	140723453	intergenic	
chr7	140723672	140723672	intergenic	
chr7	140723766	140723766	intergenic	
chr7	140723790	140723790	intergenic	
chr7	140723794	140723794	intergenic	
chr7	140723874	140723874	intergenic	
chr7	140724097	140724097	intergenic	
chr7	140724157	140724157	intergenic	
chr7	140724245	140724245	intergenic	
chr7	140724261	140724261	intergenic	

chr7	140724299	140724299	intergenic	
chr7	140724305	140724305	intergenic	
chr7	140724308	140724308	intergenic	
chr7	140724310	140724310	intergenic	
chr7	140724500	140724500	intergenic	
chr7	140724782	140724782	intergenic	
chr7	140724788	140724788	intergenic	
chr7	140724870	140724870	intergenic	
chr7	140724912	140724912	intergenic	
chr7	140724924	140724924	intergenic	
chr7	140724935	140724935	intergenic	
chr7	140725168	140725168	intergenic	
chr7	140725204	140725204	intergenic	
chr7	140725302	140725302	intergenic	
chr7	140725351	140725351	intergenic	
chr7	140725418	140725418	intergenic	
chr7	140725699	140725699	intergenic	
chr7	140725714	140725714	intergenic	
chr7	140725718	140725718	intergenic	
chr7	140725725	140725725	intergenic	
chr7	140725728	140725728	intergenic	
chr7	140725732	140725732	intergenic	
chr7	140725763	140725763	intergenic	
chr7	140725813	140725813	intergenic	
chr7	140725853	140725853	intergenic	
chr7	140725920	140725920	intergenic	
chr7	140725920	140725920	intergenic	
chr7	140725973	140725973	intergenic	
chr7	140725994	140725994	intergenic	
chr7	140726173	140726173	intergenic	
chr7	140726223	140726223	intergenic	
chr7	140726342	140726342	intergenic	
chr7	140726356	140726356	intergenic	
chr7	140726370	140726370	intergenic	
chr7	140726444	140726444	intergenic	
chr7	140726453	140726453	intergenic	
chr7	140726457	140726457	intergenic	
chr7	140734210	140734210	3' UTR	BRAF
chr7	140734293	140734293	3' UTR	BRAF
chr7	140734300	140734300	3' UTR	BRAF

chr7	140734334	140734334	3' UTR	BRAF
chr7	140734438	140734438	3' UTR	BRAF
chr7	140734494	140734494	3' UTR	BRAF
chr11	32430694	32430694	Intron 1 2	WT1
chr11	64765663	64765663	3' UTR	SF1
chr11	64765679	64765679	3' UTR	SF1
chr11	64765685	64765685	3' UTR	SF1
chr11	64765689	64765689	3' UTR	SF1
chr11	64765691	64765691	3' UTR	SF1
chr11	64765695	64765695	3' UTR	SF1
chr11	64765701	64765701	3' UTR	SF1
chr11	64765724	64765724	3' UTR	SF1
chr11	64765747	64765747	3' UTR	SF1
chr11	64765786	64765786	3' UTR	SF1
chr11	64771588	64771588	Intron 3 4	SF1
chr11	64771636	64771636	Intron 3 4	SF1
chr11	64771866	64771866	Intron 3 4	SF1
chr11	64772129	64772129	Intron 3 4	SF1
chr11	64772163	64772163	Intron 3 4	SF1
chr11	64772185	64772185	Intron 3 4	SF1
chr11	64772246	64772246	Intron 3 4	SF1
chr11	64772323	64772323	Intron 3 4	SF1
chr11	64772339	64772339	Intron 3 4	SF1
chr11	64772783	64772783	Intron 3 4	SF1
chr11	64772803	64772803	Intron 3 4	SF1
chr11	64772814	64772814	Intron 3 4	SF1
chr11	64772920	64772920	Intron 3 4	SF1
chr11	64772987	64772987	Intron 3 4	SF1
chr11	64773030	64773030	Intron 3 4	SF1
chr11	64773081	64773081	Intron 3 4	SF1
chr11	64773095	64773095	Intron 3 4	SF1
chr11	64773127	64773127	Intron 3 4	SF1
chr11	64773316	64773316	Intron 3 4	SF1
chr11	64773328	64773328	Intron 3 4	SF1
chr11	64777591	64777591	Intron 1 2	SF1
chr11	64777653	64777653	Intron 1 2	SF1
chr11	64777654	64777654	Intron 1 2	SF1
chr11	64777737	64777737	Intron 1 2	SF1
chr11	64777743	64777743	Intron 1 2	SF1
chr11	64778405	64778405	5' Upstream	SF1

chr11	64778441	64778441	5' Upstream	SF1
chr11	64778500	64778500	5' Upstream	SF1
chr11	64778519	64778519	5' Upstream	SF1
chr11	64778545	64778545	İntergenic	
chr11	64778551	64778551	İntergenic	
chr11	64778576	64778576	İntergenic	
chr12	25209531	25209531	3' UTR	KRAS
chr12	25209540	25209540	3' UTR	KRAS
chr12	25209618	25209618	3' UTR	KRAS
chr12	25209622	25209622	3' UTR	KRAS
chr12	25209843	25209843	3' UTR	KRAS
chr12	25215150	25215150	Intron	KRAS
chr12	25215154	25215154	Intron	KRAS
chr12	25215160	25215160	Intron	KRAS
chr12	25215162	25215162	Intron	KRAS
chr12	25215163	25215163	Intron	KRAS
chr12	25215165	25215165	Intron	KRAS
chr12	49623649	49623649	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623658	49623658	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623750	49623750	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623767	49623767	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623837	49623837	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623853	49623853	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623859	49623859	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49623861	49623861	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624102	49624102	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624119	49624119	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624123	49624123	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624134	49624134	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624136	49624136	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624138	49624138	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624140	49624140	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624141	49624141	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624144	49624144	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624149	49624149	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624150	49624150	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	49624151	49624151	Intron 1 2	PRPF40B
chr12	112486642	112486642	Intron 11 12	PTPN11
chr12	112486684	112486684	Intron 11 12	PTPN11
chr12	112486858	112486858	Intron 11 12	PTPN11

chr12	112486892	112486892	Intron 11 12	PTPN11
chr12	112486902	112486902	Intron 11 12	PTPN11
chr17	7675261	7675261	Intron	TP53
chr17	7675322	7675322	Intron	TP53
chr17	7675327	7675327	Intron	TP53
chr17	7675337	7675337	Intron	TP53
chr17	7675340	7675340	Intron	TP53
chr17	7675353	7675353	Intron	TP53
chr17	7675358	7675358	Intron	TP53
chr17	7675361	7675361	Intron	TP53
chr17	7675393	7675393	Intron	TP53
chr17	7675396	7675396	Intron	TP53
chr17	7675397	7675397	Intron	TP53
chr17	7675411	7675411	Intron	TP53
chr17	7675432	7675432	Intron	TP53
chr17	7675479	7675479	Intron	TP53
chr17	7676460	7676460	Intron	TP53
chr17	7676464	7676464	Intron	TP53
chr17	7676477	7676477	Intron	TP53
chr17	7676483	7676483	Intron	TP53
chr17	7676487	7676487	Intron	TP53
chr17	7676493	7676493	Intron	TP53
chr17	39778096	39778096	Intron 6 7	IKZF3
chr17	39778178	39778178	Intron 6 7	IKZF3
chr17	60656962	60656962	Intron 5 6	PPM1D
chr17	60657015	60657015	Intron 5 6	PPM1D
chr17	65055628	65055628	Intron 1 2	GNA13
chr17	65055646	65055646	Intron 1 2	GNA13
chr18	44876688	44876688	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876705	44876705	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876789	44876789	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876853	44876853	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876865	44876865	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876887	44876887	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876939	44876939	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876966	44876966	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876969	44876969	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44876980	44876980	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44877011	44877011	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44877087	44877087	Intron 3 4	SETBP1

chr18	44877141	44877141	Intron 3 4	SETBP1
chr18	44877388	44877388	Intron 3 4	SETBP1
chr20	32372271	32372271	Intron 4 5	ASXL1
chr20	32372310	32372310	Intron 4 5	ASXL1
chr20	58841631	58841631	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841634	58841634	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841676	58841676	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841688	58841688	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841689	58841689	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841698	58841698	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841705	58841705	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841740	58841740	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841773	58841773	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841789	58841789	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841802	58841802	Intron 1 2	GNAS
chr20	58841838	58841838	Intron 1 2	GNAS
chr20	58853106	58853106	Intron 1 2	GNAS
chr20	58853160	58853160	Intron 1 2	GNAS
chr20	58853232	58853232	Intron 1 2	GNAS
chr20	58889219	58889219	Intron 1 2	GNAS
chr20	58889222	58889222	Intron 1 2	GNAS
chr20	58889233	58889233	Intron 1 2	GNAS
chr20	58889296	58889296	Intron 1 2	GNAS
chr20	58889302	58889302	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891488	58891488	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891555	58891555	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891624	58891624	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891659	58891659	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891679	58891679	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891700	58891700	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891706	58891706	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891753	58891753	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891808	58891808	Intron 1 2	GNAS
chr20	58891852	58891852	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892146	58892146	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892148	58892148	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892149	58892149	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892152	58892152	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892153	58892153	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892154	58892154	Intron 1 2	GNAS

chr20	58892159	58892159	Intron 1 2	GNAS
chr20	58892182	58892182	Intron 1 2	GNAS
chr21	34821290	34821290	intronic	RUNX1
chr21	34821346	34821346	intronic	RUNX1
chr21	34821574	34821574	intronic	RUNX1
chr21	34821641	34821641	intronic	RUNX1
chr21	34887242	34887242	5' UTR	RUNX1
chr21	34887252	34887252	5' UTR	RUNX1
chr21	34887258	34887258	5' UTR	RUNX1
chr21	34887260	34887260	5' UTR	RUNX1
chr21	34887261	34887261	5' UTR	RUNX1
chr21	34887263	34887263	5' UTR	RUNX1
chr21	34887312	34887312	5' UTR	RUNX1
chr21	34887489	34887489	5' UTR	RUNX1
chr21	34887568	34887568	5' UTR	RUNX1
chr21	34887636	34887636	5' UTR	RUNX1
chr21	34887693	34887693	5' UTR	RUNX1
chr21	34887694	34887694	5' UTR	RUNX1
chr21	34887754	34887754	5' UTR	RUNX1
chr21	34887787	34887787	5' UTR	RUNX1
chr21	34887917	34887917	5' UTR	RUNX1
chr21	34887970	34887970	5' UTR	RUNX1
chr21	34888052	34888052	5' UTR	RUNX1
chr21	34888114	34888114	5' UTR	RUNX1
chr21	34888270	34888270	5' UTR	RUNX1
chr21	34888310	34888310	5' UTR	RUNX1
chr21	34888315	34888315	5' UTR	RUNX1
chr21	34888325	34888325	5' UTR	RUNX1
chr21	34888332	34888332	5' UTR	RUNX1
chr21	34888335	34888335	5' UTR	RUNX1
chr21	34888346	34888346	5' UTR	RUNX1
chr21	34888368	34888368	5' UTR	RUNX1
chr21	34888505	34888505	5' UTR	RUNX1
chr21	34888612	34888612	5' UTR	RUNX1
chr21	34888617	34888617	5' UTR	RUNX1
chr21	34888619	34888619	5' UTR	RUNX1
chr21	34888656	34888656	5' UTR	RUNX1
chr21	34889795	34889795	intronic	RUNX1
chr21	34889820	34889820	intronic	RUNX1
chr21	34889823	34889823	intronic	RUNX1

ÖZGEÇMİŞ

TEZDEN ÇIKAN YAYINLAR

Journal of Psychiatric Research 111 (2019) 169–185

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Psychiatric Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jpsychires

Psychometric liability to psychosis and childhood adversities are associated with shorter telomere length: A study on schizophrenia patients, unaffected siblings, and non-clinical controls

Burcu Çevik[a,b], Öykü Mançe-Çalışır[a], Eşref Cem Atbaşoğlu[c], Meram Can Saka[c], Köksal Alptekin[d], Alp Üçok[e], Burcu Sırmatel[f], Sinan Gülöksüz[g,h], Ajlan Tükün[i], Jim van Os[j,k,l], Güvem Gümüş-Akay[a,*]

[a] Brain Research Center, Ankara University, Ankara, Turkey
[b] Biotechnology Institute, Ankara University, Ankara, Turkey
[c] Department of Psychiatry, Ankara University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey
[d] Department of Psychiatry, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Izmir, Turkey
[e] Department of Psychiatry, Istanbul University Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey
[f] Department of Physiology, Gazi University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey
[g] Department of Psychiatry and Neuropsychology Maastricht University Medical Center, Maastricht, the Netherlands
[h] Department of Psychiatry, Yale School of Medicine, New Haven, USA
[i] Center of Genetic Diagnosis, Duzen Laboratories Group, Ankara, Turkey
[j] Maastricht University Medical Centre, Maastricht, the Netherlands
[k] Brain Centre Rudolf Magnus, Utrecht University Medical Centre, Utrecht, the Netherlands
[l] King's College London, Department of Psychosis Studies, Institute of Psychiatry, London, UK

ARTICLE INFO

Keywords:
Telomere length
Schizophrenia
Healthy siblings
Psychometric liability to psychosis
Childhood trauma
Resilience

ABSTRACT

Compared to the general population, individuals diagnosed with Schizophrenia (SCZ) experience a higher frequency and an earlier onset of chronic medical disorders, resulting in a reduction in life expectancy by an average of 15–25 years. Recently, it has been hypothesized that SCZ is a syndrome of accelerated aging. Childhood adversity was also associated with the pathogenesis and course of SCZ. Our hypothesis was that both SCZ patients and their unaffected siblings would have shorter telomere length (TL) compared to of non-clinical controls. Our additional goals were to determine (1) whether shorter TL correlates with intermediate phenotypes of SCZ (i.e. Psychosis-like symptoms and schizotypal traits); and (2) whether childhood adversities have a moderating role in TL shortening among SCZ and their unaffected siblings. To this end, SCZ patients (n = 100), their unaffected siblings (n = 100) and non-clinical controls (n = 100) were enrolled. The main variables were TL, measured by aTL-qPCR; psychotic-like and schizotypal symptoms, assessed by The Community Assessment of Psychic Experience (CAPE) and the Structured Interview for Schizotypy-Revised (SIS-R), respectively; and childhood adversities evaluated by the Childhood Experience of Care and Abuse (CECA)-*Interview*. Potentially relevant variables also included in the analyses were: Global Assessment of Functioning (GAF) scores, cognitive performance, and socio-demographic features. In contrast to our hypothesis patients had similar TL when compared to the non-clinical controls. Interestingly, unaffected siblings had longer TL compared to both patients and controls ($p < 0.001$). Independent from group status a negative correlation was observed between TL and psychotic-like symptoms as rated by the CAPE ($p < 0.01$). Childhood adversities, especially loneliness between ages 0 and 11 were also negatively associated with TL ($p < 0.05$). Our findings suggest that psychometric liability to psychosis and childhood adversities may be associated with shorter TL. Unaffected siblings had longer TL, suggesting the potential role of resilience on both the TL and the clinical presentation. These findings must be considered preliminary, calling for larger-scale replication efforts.

* Corresponding author. Ankara University Brain Research Center, Mamak Cad. No.33 06100 Demirlibahçe, Ankara, Turkey.
E-mail address: [redacted] (G. Gümüş-Akay).

https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.01.022
Received 4 September 2018; Received in revised form 20 December 2018; Accepted 27 January 2019
0022-3956/ © 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

The exclusion criteria were the same as with the *Sibs*. Non-clinical controls with any serious comorbid medical condition were also excluded.

Sociodemographic, clinical, and psychosocial information were obtained via face-to-face interviews at the research site for the sib-pairs, and at home for the *Cnt*. All interviews were conducted by a research team who received specific training for the use of standardized assessments. Blood samples were taken and transferred immediately to the Biobank Facility of Ankara University Brain Research Center (AUBRC) for DNA isolation. The complete details of the entire study and procedures were in accordance with the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from each participant. This study was approved by the Medical Ethics Committee of Ankara University, Ankara, Turkey (approval #07-302-15).

2.2. Measures

All the measures were applied to all groups, except for the *Structured Interview for Schizotypy–Revised (SIS-R)* and Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS)/the Scale for the Assessment of Positive Symptoms (SAPS). SIS-R was given only to *Sibs* and *Cnt*, SANS/SAPS were applied only to *SCZ*.

2.3. Symptoms and functioning

Self-reported subclinical psychotic experiences in the affective and non-affective domains were evaluated by the *Community Assessment of Psychic Experiences (CAPE)* (Konings et al., 2006) in all groups. Clinical assessment of subclinical SCZ symptoms was completed in the *Sibs* and *Cnt* with the *SIS-R*, a semi-structured interview originally developed by Kendler et al. (1989), and revised by Vollema and Ormel (1997). Psychosocial functioning was examined in all groups using the *Global Assessment of Functioning (GAF)* Scale, as described in the DSM-IV-TR Axis 4, yielding scores in the range of 0–100. SANS/SAPS were used to rate the severity of SCZ symptoms only in the patient group (Andreasen, 1984, 1981). Descriptions of the CAPE, SIS-R and SANS/SAPS are provided in the Supplemental Methods (available at journal's web site).

2.4. Cognitive assessment

The brief version of the Wechsler Adult Intelligence Scale-Third Edition (Brief WAIS-III R), including the subscales of Arithmetic, General Information, Digit-Symbol Coding, and Block Design was used for the estimation of global IQ (Wechsler, 1997). As the reliability and validity of WAIS-III R in Turkey are in progress, age-adjusted Z-scores - based on the present sample - were used in the statistical analyses, since normative data for WAIS-III R are not available from any other study.

2.5. Childhood adversity

Information about childhood adversity experiences of the study groups was obtained via the *Childhood Experience of Care and Abuse-Interview* (CECA-*Interview*), which was designed to assess a wide range of negative childhood experiences up to the age of 17 in adolescents or adults and covers four main type of childhood trauma: household discord, physical abuse, psychological abuse and sexual abuse (Bifulco et al., 1994). CECA-*Interview* was applied as semi-structured interview and all the items were asked twice retrospectively for the age periods of both 0–11 and 12–17 by dichotomous yes/no responses. These age ranges were defined according to EU-GEI protocol to see the effects of trauma exposure during early childhood and adolescence, separately. Scoring of each item was done where (0) was adversity "absent (no)", and (1) was adversity "present (yes)". Global adversity score for up to the age of 17 was calculated as a numerical variable and equals the sum of all item's scores. To this end, each item was scored as (1), if the individual responded "yes" to that item for at least one of the two age ranges.

2.6. Telomere length measurement: aTL-qPCR

Telomere length was measured by aTL-qPCR method developed by O'Callaghan and Fenech (2011). For details about the aTL-qPCR protocol, see Supplemental Methods and Supplementary Table 1 (available at journal's web site).

2.7. Statistical analyses

Statistical analyses were performed with the IBM SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Graphs were drawn by GraphPad Prism 8.0.1. Data were presented both as mean ± standard deviation (SD) and median (minimum-maximum). Three groups (*SCZ*, *Sibs* and *Cnt*) were compared in terms of TL, age, CAPE, SIS-R, GAF, and estimated IQ scores first by Kruskal Wallis test. Since our variables were not normally distributed, pair-wise comparisons were conducted by the Mann-Whitney *U* test (*SCZ* vs. *Sibs*, *SCZ* vs. *Cnt*, *Sibs* vs. *Cnt*). Pearson $\chi 2$ test was used to compare these three groups in terms of categorical variables including gender, obesity, education, smoking, and childhood adversity. Post hoc Bonferroni correction was applied to all multiple comparisons. Comparative analyses of TL of independent groups were conducted by Mann-Whitney *U* test both in subsamples of *SCZ*, *Sibs*, and *Cnt* and in the whole sample. Independent from group status association between TL and other continuous variables including age, CAPE scores, SIS-R scores, WAIS-III R sub-test scores, and SANS/SAPS scores were tested by non-parametric Spearman's rho test. The predictors of TL were analyzed by bivariate logistic regression where longer or shorter than median TL was the dependent variable. Statistical significance was set at $p < 0.05$, otherwise indicated.

3. Results

3.1. Demographic, (sub)clinical and cognitive characteristics of the study population

Demographic, subclinical, and cognitive characteristics of the study sample are summarized in Table 1. Because of an unidentified technical problem in the aTL-qPCR, TL could not be measured in one participant in the *Sibs* group, who was excluded from the analyses. The three groups were similar in terms of age, gender, and the frequency of obesity (i.e. body mass index [BMI] ≥30) distribution. There were significant differences across groups in terms of education level and smoking. *Sibs* were more educated ($p = 0.002$) compared to the *SCZ* and *Cnt* groups. The frequency of smoking was significantly higher in *SCZ* ($p < 0.001$).

The *SCZ* group showed the highest score of psychotic-like symptoms for all CAPE sub-scores and CAPE total score when compared to both *Sibs* ($p < 0.001$) and *Cnt* ($p < 0.001$) (Table 1, Fig. 1). *Sibs* displayed significantly more positive and negative schizotypal symptoms than the *Cnt* ($p < 0.001$) (Table 1, Fig. 2). Functionality as assessed by the GAF scale differed across groups ($p < 0.001$). The *SCZ* group displayed significantly decreased functioning compared to both *Sibs* ($p < 0.001$) and *Cnt* ($p < 0.001$). *Sibs* had significantly higher levels of subclinical psychotic symptoms compared to *Cnt* ($p < 0.001$), however, their level of functioning was found to be closer to that of *Cnt* (Table 1, Fig. 3).

Age-adjusted Z-scores of cognitive WAIS-III R subtests in each group are presented in Table 1. Cognitive performances significantly differed across groups with the exception of General Information. *SCZ* had the lowest scores for all subtests, whereas *Sibs* showed the best cognitive performance.

3.2. Childhood adversity experiences of the study population

The relationship between childhood adversity and group status was

Table 1
Demographic, (sub)clinical and cognitive characteristics of the study population.

	SCZ	*Sibs*	*Cnt*	**Statistical Comparison**	**Effect size**
Age (Years)					
Mean (SD)					
Median (Min-Max)					
Male	n = 68	n = 57	n = 67	n = 192	
	31.03 (7.51)	31.61 (8.01)	31 (7.56)	H(2) = 0.12, p = 0.941*	
	30 (18–51)	31 (18–47)	31 (18–52)		
Female	n = 32	n = 42	n = 33	n = 107	
	33.09 (8.95)	31.98 (8.18)	32.91 (8.79)	H(2) = 0.59, p = 0.746*	
	34.50 (17–49)	31 (18–50)	34 (18.48)		
General	n = 100	n = 99	n = 100	n = 299	
	31.69 (8.01)	31.77 (8.04)	31.63 (7.99)	H(2) = 0.003, p = 0.999*	
	31.50 (17–51)	31 (18–50)	32 (18–52)		
Gender					
n (%)					
Male	68 (68)	57 (57.6)	67 (67)	p = 0.24 ¥	
Female	32 (32)	42 (42.4)	33 (33)	X^2 = 2.86, df = 2	
Obesity					
n (%)					
BMI < 30	73 (73)	84 (84.8)	88 (88)	p = 0.015 ¥	
BMI ≥ 30	27 (27)	15 (15.2)	12 (12)	X^2 = 8.45, df = 2	Cramér's V = 0.2
Education					
n (%)					
≤ *High school*	85 (85)	63 (65.6)	82 (82.8)	**p = 0.002 ¥¥**	
≥ *University*	15 (15)	33 (34.4)	17 (17.2)	X^2 = 12.75, df = 2	Cramér's V = 0.2
Smoking					
n (%)					
Non-smoker	33 (33)	50 (50.5)	63 (66.3)	**p < 0.001 ¥¥**	
Smoker	19 (19)	28 (28.9)	3 (3.1)	X^2 = 40.30, df = 4	Cramér's V = 0.3
Heavy smoker	48 (48)	21 (21.2)	29 (30.5)		
CAPE score					
Mean (SD)					
Median (Min-Max)					
Depression	n = 78	n = 92	n = 96	**H(2) = 25.28, p < 0.001***	
	14.78 (4.96)	11.96 (2.92)	11.58(2.91)	**SCZ vs. Sibs: U = 2350.50, p < 0.001 ¥**	r = 0.3
	13.5 (8–29)	11.5 (8–23)	11 (8–23)	**SCZ vs. Cnt: U = 2182.00, p < 0.001 ¥**	r = 0.4
				Sibs vs. Cnt: U = 4041.00, p = 0.998 ¥	
Negative symptoms	n = 79	n = 91	n = 93	**H(2) = 35.94, p < 0.001***	
	25.99 (7.87)	20.93 (4.80)	19.81 (4.41)	**SCZ vs. Sibs: U = 2130.00, p < 0.001 ¥**	r = 0.4
	24 (14–52)	20 (14–37)	20(14–32)	**SCZ vs. Cnt: U = 1833.50, p < 0.001 ¥**	r = 0.4
				Sibs vs. Cnt: U = 3737.50, p = 0.592¥	
Positive symptoms	n = 74	n = 89	n = 94	**H(2) = 40.17, p < 0.001***	
	33.47(10.62)	26.09 (4.67)	26.07 (6.30)	**SCZ vs. Sibs: U = 1668.00, p < 0.001 ¥**	r = 0.4
	31 (20–67)	25 (20–40)	24.50 (20–63)	**SCZ vs. Cnt: U = 1711.00, p < 0.001¥**	r = 0.4
				Sibs vs. Cnt: U = 3858.50, p = 1.000 ¥	
Total	n = 62	n = 84	n = 87	**H(2) = 35.71, p < 0.001***	
	72.82 (20.11)	58.71 (11.02)	56.10 (10.62)	**SCZ vs. Sibs: U = 1443.50, p < 0.001 ¥**	r = 0.4
	69 (43–142)	56.50 (43–87)	54 (42–80)	**SCZ vs. Cnt: U = 1231.00, p < 0.001¥**	r = 0.5
				Sibs vs. Cnt: U = 3426.00, p = 0.385 ¥	
SIS-R score					
Mean (SD)					
Median (Min-Max)					
Positive	na	n = 83	n = 91		
		3.33 (2.60)	0.78 (1.42)	SCZ vs. Sibs: nc	
		3 (0–11)	0 (0–6)	SCZ vs. Cnt: nc	
				Sibs vs. Cnt: U = 1384.50, p < 0.001 ¥	r = 0.6
Negative	na	n = 95	n = 98		
		1.76 (1.71)	0.31 (0.61)	SCZ vs. Sibs: nc	
		1 (0–7)	0 (0–3)	SCZ vs. Cnt: nc	
				Sibs vs. Cnt: U = 2241.00, p < 0.001 ¥	r = 0.5

(*continued on next page*)

Table 1 (continued)

	SCZ	Sibs	Cnt	Statistical Comparison	Effect size
Total	na	n = 80 5.09 (3.58) 5 (0–13)	n = 89 1.09 (1.81) 0 (0–6)	SCZ vs. Sibs: nc SCZ vs. Cnt: nc **Sibs vs. Cnt: U = 1086.00, p < 0.001** ▼	r = 0.6
SCZ symptom scores Mean (SD) Median (Min-Max)					
SANS-Negative symptoms					
Affective flattening or blunting	n = 71 14.54 (8.52) 16 (0–32)	na	na	nc	
Alogia	n = 71 7.44 (4.97) 8 (0–21)	na	na	nc	
Avolition-apathy	n = 71 10.34 (4.36) 11 (0–19)	na	na	nc	
Anhedonia	n = 71 12.92 (5.33) 14 (0–25)	na	na	nc	
Attention	n = 71 5.21 (3.27) 6 (0–15)	na	na	nc	
SANS total	n = 71 50.44 (21.60) 52 (2–108)	na	na	nc	
SAPS-Positive symptoms					
Hallucinations	n = 71 10.99 (7.08) 11 (0–29)	na	na	nc	
Delusions	n = 71 21.45 (10.32) 20 (1–48)	na	na	nc	
Bizzare behaviour	n = 71 7.49 (4.30) 7 (0–17)	na	na	nc	
Positive formal thought disorder	n = 71 8.87 (6.74) 9 (0–28)	na	na	nc	
SAPS total	n = 71 48.80 (19.49) 46 (7–95)	na	na	nc	
GAF score Mean (SD) Median (Min-Max)					
Symptom	n = 94 46.19 (15.38) 40.50 (25–87)	n = 97 78.99 (10.47) 80 (50–100)	n = 100 87.34 (1.51) 87 (82–92)	**H(2) = 189.62, p < 0.001*** **SCZ vs. Sibs: U = 449.00, p < 0.001** ▼ **SCZ vs. Cnt: U = 44.50, p < 0.001**▼ **Sibs vs. Cnt: U = 2517.00, p < 0.001** ▼	r = 0.8 r = 0.9 r = 0.4
Functioning	n = 94 49.62 (16.21) 50 (15–87)	n = 96 81.33 (9.22) 81 (55–100)	n = 100 87.37 (1.50) 87 (82–91)	**H(2) = 182.27, p < 0.001*** **SCZ vs. Sibs: U = 501.50, p < 0.001** ▼ **SCZ vs. Cnt: U = 106.00, p < 0.001**▼ **Sibs vs. Cnt: U = 2659.50, p < 0.001** ▼	r = 0.8 r = 0.8 r = 0.4
Age adjusted WAIS-III R Z scores Mean (SD) Median (Min-Max)					

(continued on next page)

Table 1 (*continued*)

	SCZ	*Sibs*	*Cnt*	Statistical Comparison	Effect size
General information	n = 89 −0.009 (0.99) −0.32 (−1.60–6.15)	n = 91 0.001 (1.24) −0.32 (−1.42–9.14)	n = 100 0.07 (0.71) −0.004 (−0.93–1.87)	H(2) = 5.99, p = 0.05* SCZ vs. Sibs: U = 3949.5 p = 1.000 ¥ **SCZ vs. Cnt: U = 3562.00, p = 0.069** ¥ Sibs vs. Cnt: U = 3873.00, p = 0.181 ¥	
Arithmetic	n = 88 −0.35 (1.03) −0.43 (−2.63–2.21)	n = 91 0.25 (1.13) 0.45 (−1.97–2.45)	n = 100 0.08 (0.71) 0.01 (−1.19–2.45)	**H(2) = 19.38, p < 0.001*** **SCZ vs. Sibs: U = 2797.50, p < 0.001** ¥ **SCZ vs. Cnt: U = 2888.50, p = 0.001**¥ Sibs vs. Cnt: U = 4078.50, p = 1.000 ¥	r = 0.3 r = 0.3
Block design	n = 89 −0.28 (1.03) −0.59 (−2.03–2.53)	n = 90 0.59 (1.03) 0.54 (−1.34–2.53)	n = 100 −0.28 (0.65) −0.20 (−1.31–1.82)	**H(2) = 43.18, p < 0.001*** **SCZ vs. Sibs: U = 2157.50, p < 0.001** ¥ SCZ vs. Cnt: U = 4065.00, p = 1.000 ¥ **Sibs vs. Cnt: U = 2224.00, p < 0.001** ¥	r = 0.4 r = 0.4
Digit-Symbol coding	n = 84 −0.39 (0.82) −0.40 (−2.13–1.48)	n = 93 0.66 (0.89) 0.77 (−1.07–2.30)	n = 100 −0.26 (0.92) −0.37 (−1.91–2.36)	**H(2) = 24.40, p < 0.001*** **SCZ vs. Sibs: U = 2298.00, p < 0.001** ¥ **SCZ vs. Cnt: U = 2982.00, p < 0.001**¥ Sibs vs. Cnt: U = 3916.50, p = 1.000 ¥	r = 0.5 r = 0.2

* Kruskal Wallis test. Significance values were adjusted by Bonferroni correction for multiple tests.
¥ Mann-Whitney *U* test.
¤ Pearson's chi square test. Significance values were adjusted by Bonferroni correction. p values less than 0.008 were considered significant.
na: not applicable.
nc: not calculated.

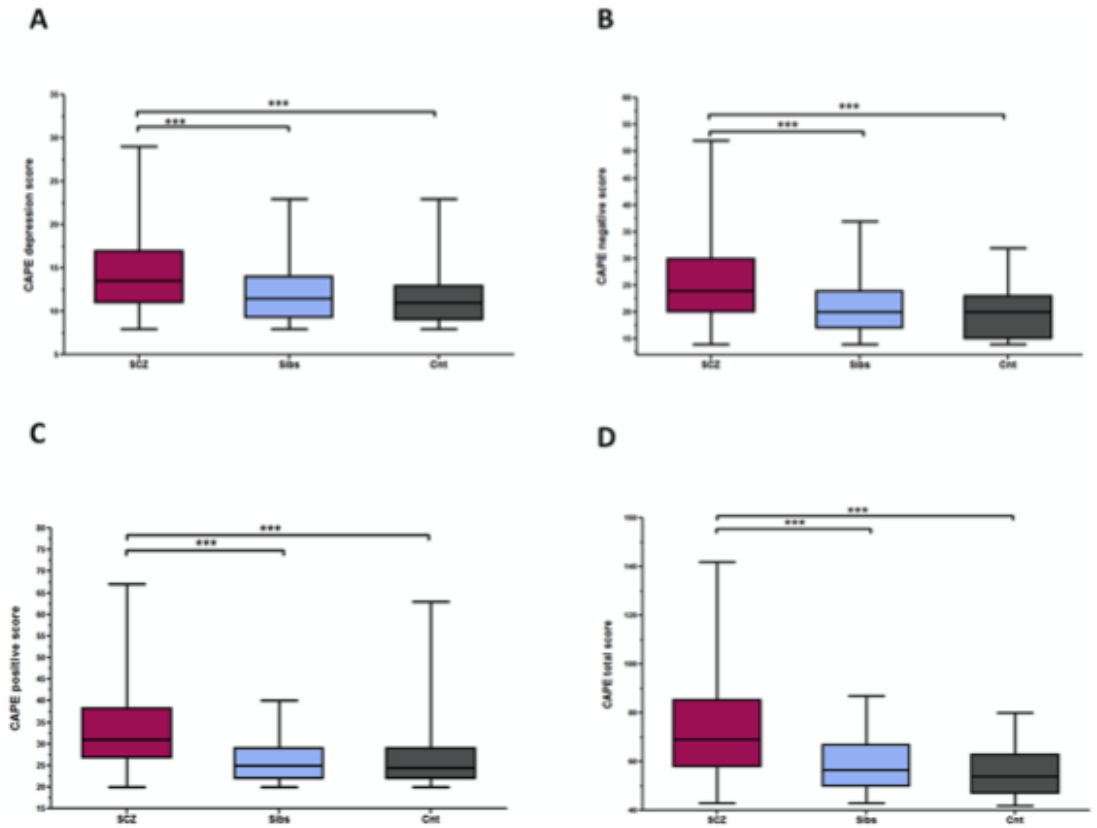


Fig. 1. Box plot representation of CAPE subscale comparisons of the *SCZ*, *Sibs* and *Cnt* groups. (**A**) Depression, (**B**) Negative symptoms, (**C**) Positive symptoms, and (**D**) Total symptom score. Data are presents as median (min-max). ***p < 0.001, Mann Whitney *U* test. CAPE: The Community Assessment of Psychic Experience; SCZ: Schizophenia patients; Sibs: Unaffected siblings; Cnt: Non-clinical controls.

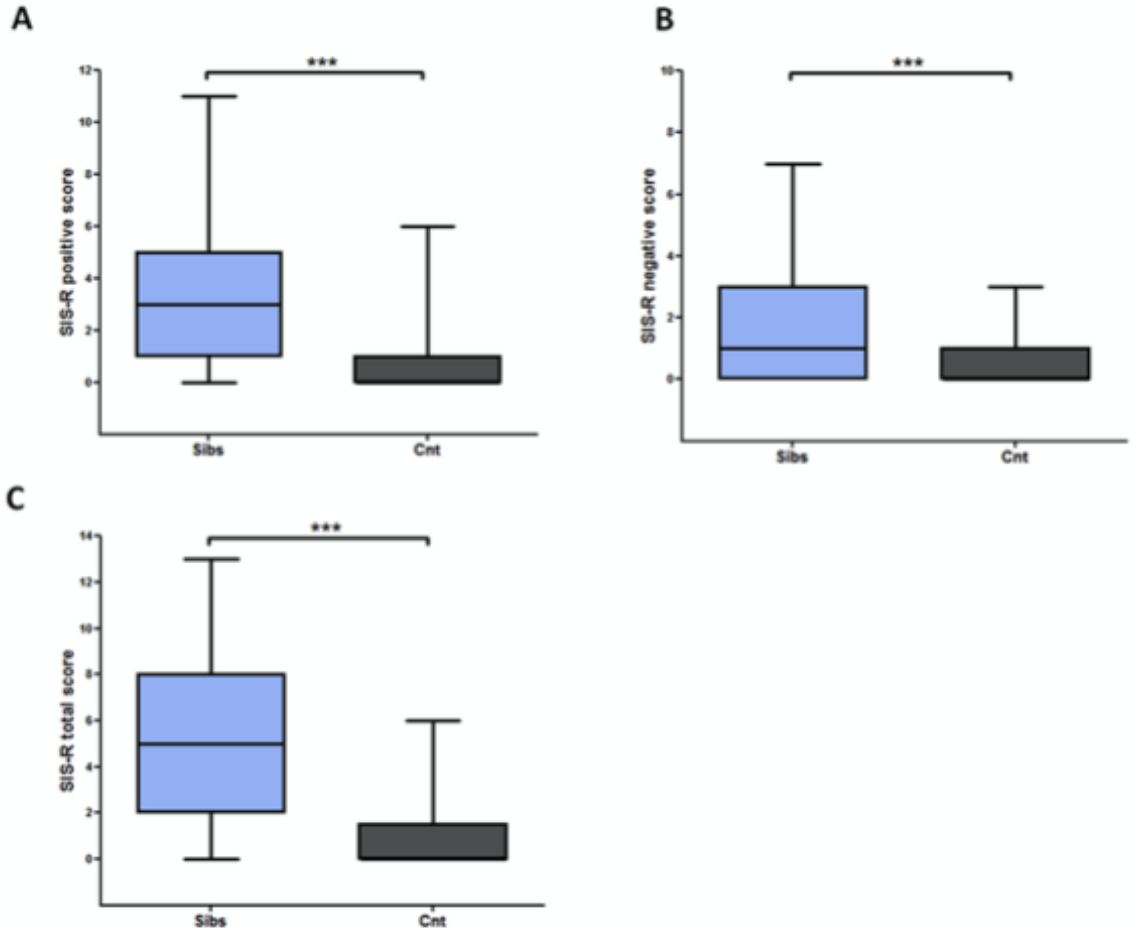


Fig. 2. Box plot representation of SIS-R subscale comparisons of the *SCZ*, *Sibs* and *Cnt* groups. **(A)** Positive **(B)** Negative **(C)** Total score. Data are presents as median (min-max). ***p < 0.001, Mann Whitney *U* test. SIS-R: Structured Interview for Schizotypy-Revised; Sibs: Unaffected siblings; Cnt: Non-clinical controls.

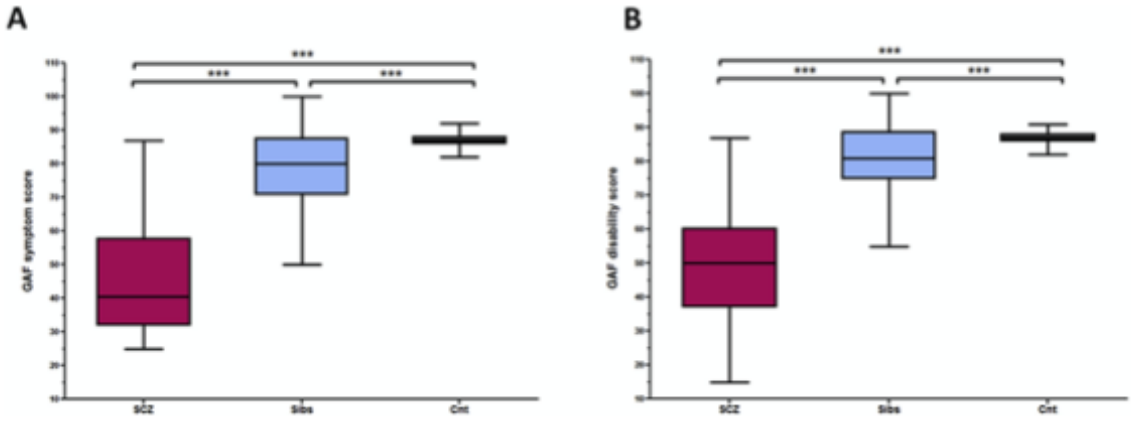


Fig. 3. Box plot representation of GAF symptom **(A)** and disability **(B)** score comparisons of the *SCZ*, *Sibs* and *Cnt* groups. Data are presents as median (min-max). *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, Mann Whitney *U* test. GAF: Global Assessment of Functioning; SCZ: Schizophenia patients; Sibs: Unaffected siblings; Cnt: Non-clinical controls.

Table 2
Childhood care and abuse experiences of the study population (%).

CECA item	*SCZ* n (%)	*Sibs* n (%)	Cnt n (%)	p ††	χ 2 (df)	Cramér's V
Death of mother before age 17						
No	93 (93)	92 (93.9)	96 (96)	0.643	0.884 (2)	
Yes	7 (7)	6 (6.1)	4 (4)			
Total	100 (100)	98 (100)	100 (100)			
Death of father before age 17						
No	90 (90)	90 (91.8)	96 (96)	0.251	2.263 (2)	
Yes	10 (10)	8 (8.2)	4 (4)			
Total	100 (100)	98 (100)	100 (100)			
Being separated from mother more than 6 months before age 17						
No	87 (87.9)	81 (83.5)	98 (98)	**0.002**	12.003 (2)	0.2
Yes	12 (12.1)	16 (16.5)	2 (2)			
Total	99 (100)	97 (100)	100 (100)			
Being separated from father more than 6 months before age 17						
No	80 (81.6)	76 (78.4)	98 (98)	**< 0.001**	18.336 (2)	0.3
Yes	18 (18.4)	21 (21.6)	2 (2)			
Total	98 (100)	97 (100)	100 (100)			
Change of school						
0-11 years age						
No	74 (74.7)	68 (68.7)	99 (99)	**< 0.001**	33.147 (2)	0.3
Yes	25 (25.3)	31 (31.3)	1 (1)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	77 (78.6)	75 (77.3)	100 (100)	**< 0.001**	25.875 (2)	0.3
Yes	21 (21.4)	22 (22.7)	0 (0)			
Total	98 (100)	97 (100)	100 (100)			
Being expeled from school						
0-11 years age						
No	98 (99)	96 (97)	100 (100)	0.168	3.573 (2)	
Yes	1 (1)	3 (3)	0 (0)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	95 (96)	96 (98)	99 (99)	0.357	2.062 (2)	
Yes	4 (4)	2 (2)	1 (1)			
Total	99 (100)	98 (100)	100 (100)			
Being taken into care						
0-11 years age						
No	98 (99)	99 (100)	100 (100)	0.365	2.017 (2)	
Yes	1 (1)	0 (0)	0 (0)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	98 (99)	98 (100)	100 (100)	0.367	2.007 (2)	
Yes	1 (1)	0 (0)	0 (0)			
Total	99 (100)	98 (100)	100 (100)			
Run away from home						
0-11 years age						
No	97 (98)	99 (100)	99 (99)	0.363	2.027 (2)	
Yes	2 (2)	0 (0)	1 (1)			
Total	100 (100)	100 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	92 (92.9)	94 (94.9)	99 (99)	0.102	4.563 (2)	
Yes	7 (7.1)	5 (5.1)	1 (1)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
Significantly short of money						
0-11 years age						
No	69 (69.7)	69 (69.7)	99 (99)	**< 0.001**	35.045 (2)	0.3
Yes	30 (30.3)	30 (30.3)	1 (1)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	65 (65.7)	66 (66.7)	99 (99)	**< 0.001**	40.711 (2)	0.4
Yes	34 (34.3)	33 (33.3)	1 (1)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
Neglect of basic needs						
0-11 years age						
No	88 (88.9)	87 (87.9)	100 (100)	**0.002**	12.659 (2)	0.2
Yes	11 (11.1)	12 (12.1)	0 (0)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						

(continued on next page)

Table 2 (*continued*)

CECA item	*SCZ* n (%)	*Sibs* n (%)	*Cnt* n (%)	p ‡‡	χ 2 (df)	Cramér's V
No	86 (86.9)	90 (90.9)	100 (100)	**0.001**	13.179 (2)	0.2
Yes	13 (13.1)	9 (9.1)	0 (0)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
Frequent arguments in the family						
0-11 years age						
No	52 (53.6)	62 (62.6)	97 (98)	< **0.001**	53.157 (2)	0.4
Yes	45 (46.4)	37 (37.4)	2 (2)			
Total	99 (100)	98 (100)	99 (100)			
12-17 years age						
No	52 (53.1)	50 (50.5)	97 (97)	< **0.001**	61.503 (2)	0.5
Yes	46 (46.9)	49 (49.5)	3 (3)			
Total	98 (100)	99 (100)	100 (100)			
Treated cruelly						
0-11 years age						
No	91 (91.9)	89 (89.9)	99 (99)	0.022	7.625 (2)	
Yes	8 (9.1)	10 (10.1)	1 (1)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	89 (89.9)	89 (89.9)	99 (99)	0.015	8.402 (2)	
Yes	10 (10.1)	10 (10.1)	1 (1)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
Experience of slap/hit						
0-11 years age						
No	64 (64.6)	69 (69.7)	98 (98)	< **0.001**	36.957 (2)	0.4
Yes	35 (35.4)	30 (30.3)	2 (2)			
Total	99 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	59 (59.6)	68 (69.4)	97 (97)	< **0.001**	40.418 (2)	0.4
Yes	40 (40.4)	30 (30.6)	3 (3)			
Total	99 (100)	98 (100)	100 (100)			
Unwanted sexual experience						
0-11 years age						
No	95 (99)	97 (98)	100 (100)	0.365	2018 (2)	
Yes	1 (1)	2 (2)	0 (0)			
Total	96 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	90 (94.7)	96 (97)	100 (100)	0.076	5.152 (2)	
Yes	5 (5.3)	3 (3)	0 (0)			
Total	95 (100)	99 (100)	100 (0)			
Having adults to go to with problems or to discuss feelings						
0-11 years age						
No	45 (45.9)	36 (36.4)	91 (91)	< **0.001**	69.561 (2)	0.5
Yes	53 (54.1)	63 (63.6)	9 (9)			
Total	98 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	44 (44.9)	34 (34.7)	89 (89)	< **0.001**	62.274 (2)	0.5
Yes	54 (55.1)	64 (65.3)	11 (11)			
Total	98 (100)	98 (100)	100 (100)			
Having others your age to go to with problems or to discuss feelings						
0-11 years age						
No	41 (41.9)	22 (22.1)	92 (92)	< **0.001**	105.348 (2)	0.6
Yes	57 (57.1)	77 (77.9)	8 (8)			
Total	98 (100)	99 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	35 (36.1)	20 (20.4)	90 (90)	< **0.001**	108.106 (2)	0.6
Yes	62 (63.9)	78 (79.6)	10 (10)			
Total	97 (100)	98 (100)	100 (100)			
Loneliness						
0-11 years age						
No	83 (85.6)	91 (92.9)	100 (100)	< **0.001**	15.513 (2)	0.2
Yes	14 (14.4)	7 (7.1)	0 (0)			
Total	97 (100)	98 (100)	100 (100)			
12-17 years age						
No	75 (77.3)	82 (84.5)	98 (100)	< **0.001**	23.685 (2)	0.3
Yes	22 (22.7)	15 (15.5)	0 (0)			
Total	97 (100)	97 (100)	98 (100)			

‡‡ Pearson's Chi square test. Significance values were adjusted by Bonferroni correction. p values less than 0.008 were considered significant.

Table 3
Telomere length comparisons of the groups.

	SCZ	*Sibs*	*Cnt*	*All subjects*
Telomere Length (kbp/diploid genome)				
Mean (*SD*)	77.42 (31.09)	97.63 (29.19)	82.63 (50.75)	85.85 (39.12)
Median (Min-Max)	72.43 (25.99–93.45)	94.98 (16.29–214.48)	74.77 (21.90–260.99)	82.93 (16.29–260.99)
	n = 100	n = 99	n = 100	n = 299
Multiple comparison test	**H(2) = 28.265, p < 0.001***			
SCZ vs. Sibs	**U = 2573, p < 0.001¥**	**r = 0.4**		
SCZ vs. Cnt	U = 4928, p = 1.000 ¥			
Sibs vs. Cnt	**U = 3623, p = 0.001¥**	**r = 0.2**		
Gender				
Male	n = 68	n = 57	n = 67	n = 192
	77.15 (33.16)	96.05 (28.12)	88.10 (48.39)	86.68 (38.59)
	69.22 (25.99–193.45)	92.75 (16.29–171.93)	85.95 (21.90–220.57)	83.79 (16.29–220.57)
Female	n = 32	n = 42	n = 33	n = 107
	77.94 (27.08)	99.78 (30.80)	71.52 (54.30)	84.41 (40.17)
	73.69 (38.11–162.67)	99.42 (45.21–214.48)	49.13 (24.45–260.99)	78.03 (24.45–260.99)
Statistical comparison¥	U = 974, p = 0.400	U = 1101, p = 0.497	U = 841, p = 0.053	U = 9973, p = 0.677
Obesity				
	n = 73	n = 84	n = 88	n = 245
BMI < 30	75.09 (31.90)	98.50 (29.76)	84.45 (50.36)	86.48 (39.95)
	67.03 (25.99–193.45)	94.69 (16.29–214.48)	83.13 (21.90–260.99)	83.51 (16.29–260.99)
	n = 27	n = 15	n = 12	n = 54
BMI ≥ 30	83.70 (28.41)	92.78 (26.13)	69.23 (53.89)	83.00 (35.35)
	76.28 (45.51–162.67)	97.42 (52.42–141.34)	49.65 (24.45–220.57)	76.54 (24.45–220.57)
Statistical comparison¥	U = 743, p = 0.060	U = 586, p = 0.668	U = 419, p = 0.248	U = 6271, p = 0.550
Education				
≤ High school	n = 85	n = 63	n = 82	n = 230
	78.02 (33.11)	96.97 (31.17)	82.57 (21.90–260.99)	85.91 (41.22)
	73.16 (25.99–193.45)	92.50 (16.29–144.76)	82.57 (21.90–260.99)	81.06 (16.29–260.99)
≥ University	n = 15	n = 33	n = 17	n = 65
	75.59 (19.69)	97.14 (25.69)	72.58 (40.74)	85.74 (23.86)
	67.03 (50.25–128.06)	95.89 (25.99–146.42)	69.38 (23.86–152.72)	85.22 (23.86–152.72)
Statistical comparison¥	U = 597, p = 0.696	U = 991, p = 0.708	U = 619, p = 0.469	U = 7031, p = 0.465
Smoking				
Non-smoker	n = 33	n = 50	n = 63	n = 146
	81.22 (33.51)	96.70 (29.97)	81.90 (53.90)	86.81 (42.95)
	73.17 (38.11–193.45)	95.43 (16.29–214.48)	71.51 (23.86–260.99)	84.21 (16.29–261.00)
Smoker	n = 19	n = 28	n = 3	n = 50
	84.87 (31.69)	96.92 (26.61)	82.56 (4.57)	91.48 (28.26)
	76.80 (42.46–176.64)	95.54 (45.21–152.41)	83.52 (77.59–86.57)	88.31 (42.46–176.64)
Heavy-smoker	n = 48	n = 21	n = 29	n = 98
	71.85 (28.68)	100.84 (31.69)	90.51 (47.42	83.58 (37.44)
	66.23 (26.00–162.67)	94.41 (53.24–171.93)	96.43 (27.02–181.18)	76.12 (26.00–181.18)
Statistical comparison*	H(2) = 4.016, p = 0.476	H(2) = 0.011, p = 0.995	H(2) = 1.485, p = 0.476	H(2) = 3.274, p = 0.195

* Kruskal Wallis test. Significance values were adjusted by Bonferroni correction for multiple tests.
¥ Mann-Whitney *U* test.

assessed by multinomial logistic regression analysis in which the group status (i.e. *SCZ, Sibs, and Cnt*) was the dependent variable. We found the substantial excess of childhood adversities up to age of 17 among *SCZ* (OR: 5.528, 95%CI: 3.544–8.623, p < 0.001) and also their *Sibs* (OR:5.391, 95%CI: 3.460–8.400, p < 0.001) when compared to *Cnt* (Supplementary Table 2). As can be seen from Table 2, differences between the groups were observed for the CECA-*Interview* items: Being Separated from Mother more than six months (p < 0.001), Being Separated from Father more than six months (p < 0.001), Change of School (p < 0.001), Suffering from Significantly Short of Money (p < 0.001), Neglect of Basic Requirements (p < 0.01), Frequent Arguments in Family (p < 0.001), Experience of Being Hit or Slapped (p < 0.001) and Loneliness (p < 0.001) for both age ranges (i.e. 0–11 and 12–17).

3.3. Telomere length of the study population

Mean and median (min-max) TLs of the study groups are shown in Table 3. Although mean TL of the *SCZ* was shorter than the *Cnt*, this difference did not reach the statistical significance level (Fig. 4). On the other hand, *Sibs* had significantly longer TL compared to both *SCZ* (p < 0.001) and *Cnt* (p = 0.001).

Independent from group status no significant correlation was detected between age and TL (r = −0.06; p = 0.35, see Supplementary Fig. 1). Gender, obesity, and smoking had also no effect on TL in any of the groups. When the TLs of *SCZ*, *Sibs*, and *Cnt* were compared in terms of their education level, we couldn't find any significant difference (Table 3). Similarly, the duration of education had no effect on TL (data not shown).

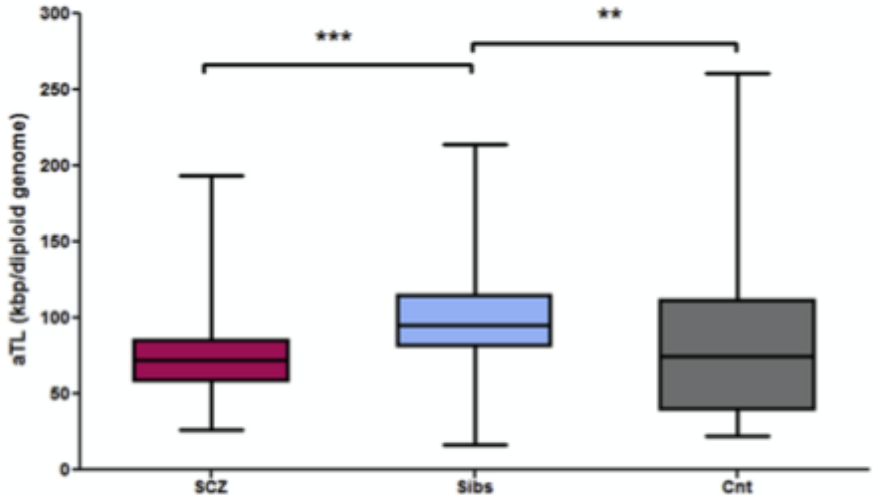


Fig. 4. Box plot representations of the TL in *SCZ*, *Sibs* and *Cnt* groups. Data are presents as median (min-max). **p < 0.01, ***p < 0.001, Mann Whitney *U* test. SCZ: Schizophenia patients; Sibs: Unaffected siblings; Cnt: Non-clinical controls.

3.4. (Sub)clinical and cognitive measurements and telomere length

Independent from group status and clinical diagnosis, we found a significant negative correlation between TL and the CAPE sub-scores of Depression ($r = -0.144$; $p = 0.019$), Positive symptoms ($r = -0.25$; $p < 0.001$), Negative symptoms ($r = -0.155$; $p = 0.012$), as well as the Total score ($r = -0.204$; $p = 0.002$), while with relatively small effect sizes (Fig. 5). However, there was no significant correlation between schizotypal symptoms and TL ($p > 0.05$). The correlation between TL and functioning as assessed by the GAF scale also was not significant ($p > 0.05$). The analysis of the relationship between cognitive performance and TL in the whole sample revealed significant positive correlations for Block-Design ($r = 0.22$; $p < 0.001$) and Arithmetic subscales ($r = 0.18$; $p = 0.003$). However, General Information and Digit-Symbol Coding subscales were not significantly correlated with the TL ($p > 0.05$) (Fig. 6). We also evaluated the possible relationship between symptom severity and TL in *SCZ*. We find no correlation between TL and total SANS/SAPS scores. Although not reaching statistical significance level, negative correlation between delusions and TL was noteworthy ($r = -0.229$; $p = 0.054$) (Supplementary Fig. 2).

3.5. Childhood adversities and telomere length

The relationship between each of the childhood adversity items and TL was tested both in the whole sample and in the subsamples of *SCZ*, *Sibs*, and *Cnt* (Table 4). Our results showed that Death of Mother before age of 17, Being Treated Cruelly and Loneliness before age of 11, and Loneliness between ages 12–17 were significantly associated with shorter TL. Independent from group status, people lost their mother before age of 17 had shorter TL compared to those who didn't ($p = 0.05$). Loss of mother before age of 17 had a more pronounced effect on TL in the *Sibs* ($p = 0.005$). Telomere length of the people who reported the experience of being treated cruelly before age of 11 was found significantly shorter in both *Sibs* ($p = 0.005$) and in the whole sample ($p = 0.04$). Loneliness longer than 6 months before age of 11 was found to be associated with shorter TL in the whole sample ($p = 0.043$). *SCZ* group reported loneliness most frequently and the effect of this adversity on TL shortening was more pronounced in this group ($p = 0.008$). Loneliness during age periods of 12–17 was also associated with shorter TL in *SCZ* ($p = 0.025$).

Since we found a negative association between some of the childhood adversity items and TL, we also wanted to test whether degree of exposure to childhood adversities would be associated with TL shortening in each group. To this end, we categorized each group into two sub-groups based on their global adversity scores: the lowest quartiles (Q1 + Q2 + Q3) and the highest quartile (Q4). In the *SCZ* group, TL was found to be significantly shorter in the highest quartile, when compared to the lowest quartiles ($p = 0.022$) (Table 5, Fig. 7). In addition, negative association between childhood adversity and TL was intriguing in the *SCZ* group ($r = -0.205$, $p = 0.051$), even though not statistically significant. On the contrary, TL did not differ between the two subgroups in *Sibs*.

3.6. Logistic regression

Table 6 shows the logistic regression model by which all the potentially related parameters, stood out as significantly associated with TL, were tested against one another. The predictors significantly contributed to the TL were being in the *Sibs* group, having positive psychotic-like symptoms, and having experience of loneliness during early childhood. Being in the *Sibs* group predicted longer TL (OR: 4.196; 95% CI [1.764-9.983]; $p = 0.001$), whereas positive psychotic-like symptoms (OR: 0.908; 95%CI [0.829–0.994]; $p = 0.036$) and loneliness before age of 11 (OR: 0.078; 95%CI [0.007–0.851]; $p = 0.036$) predicted shorter TL. Other potentially confounding factors including cognitive function, age, sex, obesity, and smoking had no effect on TL.

4. Discussion

In this study, we tested whether SCZ patients and their unaffected siblings have shorter TL compared to non-clinical controls. We aimed also to determine (1) whether shorter TL correlates with psychometric liability to psychosis; (2) whether childhood adversities have a moderating role in TL shortening. We found no significant difference between *SCZ* and *Cnt* with regard to their TL. Interestingly, *Sibs* had the longest TL among the other groups. Our results showed that shorter TL is negatively associated with psychotic-like symptoms. In addition, we found that childhood adversities are negatively associated with TL.

In contrast to our accelerated aging hypothesis in SCZ, we couldn't

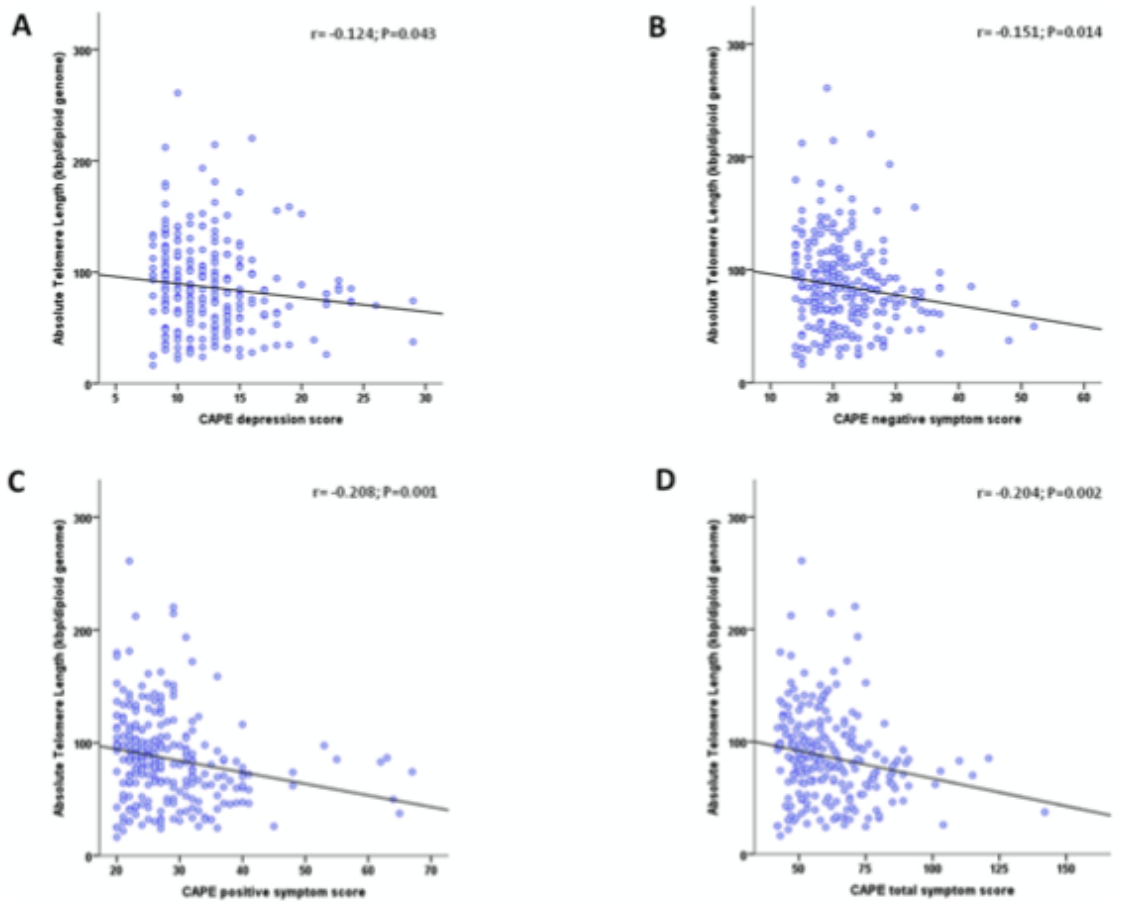


Fig. 5. Scatter plot representation of correlation between TL and subclinical psychotic symptoms measured by CAPE subscales. (**A**) Depression, (**B**) Negative symptoms, (**C**) Positive symptoms, and (**D**) Total symptom score. Sperman's Correlation test. CAPE: The Community Assessment of Psychic Experience; kbp: kilo base pairs.

detect any significant telomere shortening in the *SCZ* group when compared to the *Cnt*. Our finding is consistent with some of the previous reports indicating TL in SCZ was similar to controls (Li et al., 2015; Malaspina et al., 2014; Mansour et al., 2011). Apart from the TL measurement, McKinney et al. (2017) have used a different method which compares DNA methylation levels at 353 genomic sites to test the accelerated aging hypothesis of SCZ in the postmortem superior temporal gyrus and suggested no acceleration of brain aging in SCZ. In the patient group, we also explored the relationship between TL and symptom severity. Our results showed TL is not associated either with SANS or SAPS total scores. On the other hand, negative correlation between delusions and TL was noteworthy, although not reached statistically significance level. Pawelczyk et al. (2015) have reported that the severity of SCZ symptoms correlated significantly with telomere attrition. Maurya et al. (2018), on the other hand, have reported that the severity of psychopathology measured by PANSS scores was positively correlated with TL.

Reasons of controversial results about SCZ and TL are not clear, however, may include methodological variations for TL measurement, along with demographic and lifestyle factors such as age, smoking, BMI, education, as well as life stressors such as childhood adversities. In the current study, we have used aTL-qPCR method developed by O'Callaghan and Fenech (2011). This method utilizes telomeric repeat and single copy gene standards and allows measuring the absolute TL as kbp/diploid genome in contrast to the other methods that use T/S ratio to estimate the relative TL. In addition, we explored the confounding effects of other variables on TL including age, gender, smoking, obesity, and cognitive function. We found that these variables did not substantially contribute to our TL findings.

All studies have been reported so far based on clinical diagnosis of SCZ itself. Intermediate phenotypes that lie mid-distance between genetic risk and clinical end-point of interest have never been taken into consideration. An important strength of our study is that, for the first time, we investigated the association between TL and intermediate phenotypes of SCZ (i.e. psychometric liability to psychosis), independent of the clinical diagnosis. We showed that the psychotic-like experiences seem to be associated with shorter TL in all subscales including depression, positive symptoms, and negative symptoms, while with relatively small effect sizes. Both our correlation and regression analyses suggest that this association was particularly noticeable between TL and positive psychosis-like symptoms.

Recent studies have suggested that psychological stress is associated

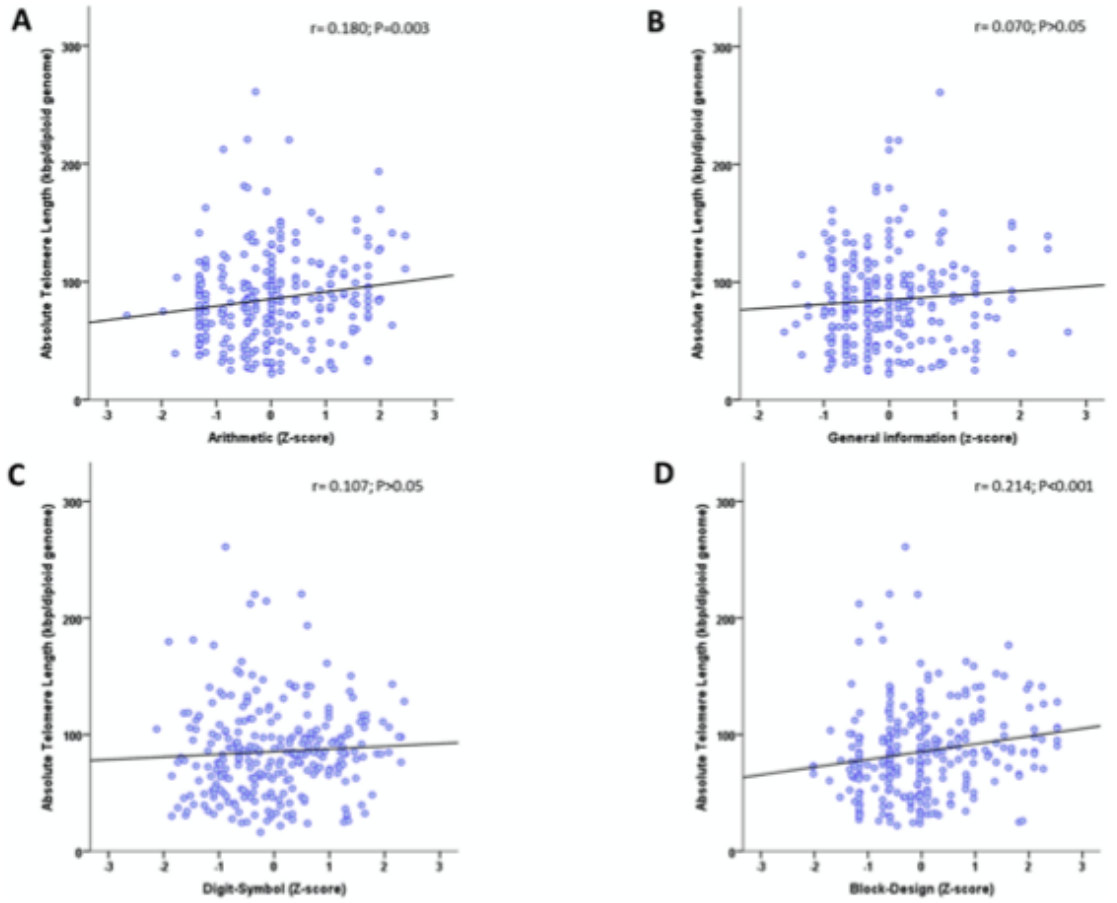


Fig. 6. Scatter plot representation of correlation between TL and cognitive performances measured by WAIS-III R subscales. (**A**) Arithmetic, (**B**) General information, (**C**) Digit-Symbol Coding, (**D**) Block-Design. Sperman's Rho Correlation test. kbp: kilo base pairs.

with shortening of TL. For example, it has been shown that young mothers who have to give primary care to their chronically ill children have significantly shorter TL when compared to age-matched mothers with a healthy child. In addition, the number of years of providing care significantly predicted shorter telomeres, lower telomerase activity and higher oxidative stress (Epel et al., 2004). Shorter TL has also been associated with depression and post-traumatic stress disorders (Kim et al., 2017; Verhoeven et al., 2018). As suggested by models of biological embedding in early life, although cumulative lifespan adversity should have bigger impacts than single events, it is also possible that adversity in childhood has larger effects on later life health than adult stressors (Puterman et al., 2016). Shalev et al. (2012) have reported that children exposed to two or more traumatic stressors at age 5, including maternal domestic violence, physical maltreatment by an adult, have significantly shorter telomeres at age 10 compared to children exposed to less or no violence. It has also been reported that the childhood adversities negatively associated with TL of adulthood. For example, Drury et al. (2014) have shown that cumulative exposure to interpersonal violence and family disruption was correlated with shorter TL. Riley et al. (2018) have recently investigated the effect of early trauma on TL in SCZ patients with a small sample size containing only 48 patients and 18 controls. They have reported SCZ patients had significantly more global trauma and traumatic events, but case and control groups had similar TL. They have reported significant negative associations in male cases and, conversely, in female controls. However, the association between childhood adversities and TL has yet to be investigated in a large group of SCZ patients and also their unaffected siblings who had shared similar environmental factors during their childhood. Our results showed that *SCZ* and *Sibs* groups reported significantly higher frequencies of abuse and neglect experiences during their childhood than *Cnt*. Death of Mother before age of 17, Being Treated Cruelly and Loneliness before age of 11 and Loneliness between ages 12–17 were associated with telomere shortening. Balzan et al. (2018) have investigated the effect of social isolation and loneliness on TL in a small number of male SCZ patients (n = 44). They reported a significant relationship between living alone and telomere attrition which is in accordance with our findings. Our results suggest that loneliness, especially during early childhood is associated with shorter TL in *SCZ*. As far as we know, this is the first study reporting the negative association of childhood adversities with TL in SCZ patients and their unaffected siblings in a relatively larger sample size.

Stressors over the lifetime (e.g. maternal stress, early life adversity, unemployment, caregiving, relationship conflict etc.) stimulate the hypothalamic-hypophyseal-adrenal axis and immunological and

Table 4
Childhood adversities and telomere length.

Mean (SD)	*SCZ*	*Sibs*	*Cnt*	*All subjects*
Median (Min-Max)				
Death of mother before age 17				
No	n = 93	n = 92	n = 96	n = 281
	78.18 (32.12)	99.84 (29.09)	83.39 (51.65)	87.09 (40.02)
	72.43 (25.99–193.45)	96.02 (16.29–214.48)	76.78 (21.90–260.99)	83.52 (16.29–260.99)
Yes	n = 7	n = 6	n = 4	n = 17
	68.40 (17.04)	72.94 (16.37)	67.13 (32.65)	69.50 (20.17)
	75.63 (37.31–85.72)	68.56 (52.42–97.20)	70.75 (24.45–102.58)	74.42 (24.45–102.58)
Statistical comparison[¥]	U = 300, p = 0.730	**U = 86, p = 0.005, r = 0.3**	U = 158, p = 0.550	U = 1713, p = 0.050
Treated cruelly between ages 0–11				
No	n = 91	n = 89	n = 99	n = 279
	79.07 (31.78)	100.25 (29.74)	83.00 (51.20)	87.18 (40.15)
	72.44 (25.99–193.45)	96.33 (16.29–214.48)	77.59 (21.90–260.99)	83.52 (16.29–260.99)
Yes	n = 8	n = 10		n = 19
	59.50 (18.95)	80.94 (14.06)	nc	7.07 (19.14)
	50.31 (39.20–92.64)	81.01 (52.42–107.51)	nc	69.32 (39.20–107.51)
Statistical comparison[¥]	U = 224, p = 0.072	**U = 205, p = 0.005, r = 0.3**	nc	**U = 1919, p = 0.044, r = 0.1**
Lonelinessbetween ages 0–11				
	n = 83	n = 91	n = 100	n = 274
No	80.34 (32.29)	97.58 (25.72)	82.73 (51.00)	86.89 (39.11)
	73.18 (25.99–193.45)	95.80 (16.29–152.41)	74.77 (21.90–260.99)	83.85 (16.29–260.99)
	n = 14	n = 7		n = 21
Yes	58.49 (15.80)	109.43 (59.92)	nc	75.47 (42.95)
	51.25 (37.31–90.18)	82.20 (53.89–214.48)	nc	66.11 (37.31–214.48)
Statistical comparison[¥]	**U = 323, p = 0.008, r = 0.3**	U = 281, p = 0.605	nc	**U = 2114, p = 0.043, r = 0.1**
Loneliness between ages 12–17				
No	n = 75	n = 82	n = 98	n = 255
	81.25 (33.55)	99.15 (28.24)	82.73 (51.00)	87.53 (40.53)
	73.79 (25.99–193.45)	96.02 (16.29–21.48)	74.77 (21.90–260.99)	83.52 (16.29–260.99)
	n = 22	n = 15		n = 37
Yes	63.34 (16.55)	94.59 (34.42)	nc	76.01 (29.37)
	61.94 (37.31–92.64)	89.14 (25.99-171-93)	nc	74.05 (25.99–171.93)
Statistical comparison¥	**U = 564, p = 0.025, r = 0.2**	U = 556, p = 0.556	nc	U = 3903, p = 0.090

Only the CECA items that reached the significance level were included in this Table.
[¥] Mann-Whitney *U* test.
nc: Not calculated because n = 0 in this group.

Table 5
Relationship between TL and global childhood adversity score.

Mean (SD)	*SCZ*	*Sibs*	*Cnt*
Median (Min-Max)			
Three lowest quartiles (Q1 + Q2 + Q3)	n = 71 81.426 (34.450) 74.218 (25.999–193.451)	n = 73 97.102 (25.368) 95.889 (16.290–152.407)	n = 98 82.730 (51.003) 74.771 (21.901–260.998)
Highest quartile (Q4)	n = 20 63.379 (15.990) 61.941 (39.200–97.476)	n = 17 104.578 (42.445) 93.747 (53.243–214.476)	n = 0 nc nc
Statistical comparison[¥]	**U = 471.000; p = 0.022**	U = 612.000; p = 0.930	nc

nc: Not calculated.
[¥] Mann-Whitney *U* test.

autonomic systems to create a response and adapt the organism to these conditions. Hormones and cytokines secreted by the excessive frequent response at the cellular level cause to increase in the allostatic load (Tsigos et al., 2016). However, not all individuals are under the risk of an equal cellular allostatic burden to the same stressor exposure. The net effect of the stressors depends on the presence of resilience factors. Recent studies have led to the idea that TL might be a biomarker reflecting differences between individuals in terms of their psychological stress resilience. Low resilience factors such as high vulnerability to stress reactivity, weak social interactions and unhealthy lifestyle are assumed to be related to increased cellular response, which in turn cause to increase in allostatic load and eventually accelerated telomere erosion (Mainous et al., 2011; O'Donovan et al., 2012). Studies have supported that multisystem resilience factors including psychological stress resilience, social connections, and healthy lifestyle factors are associated with longer telomeres, and all of these are supposed to protect people from stress-induced telomere erosion (Puterman and Epel, 2011). In the current study, contrary to our hypothesis, *Sibs* showed the longest TL. *Sibs* in this study are a subgroup of those who participated in a large EU-GEI study. They were the siblings who agreed to participate upon invitation with a phone call and accompanied the patients to the hospital. Despite having more psychotic and schizotypal symptoms than *Cnt*, the functionality of the *Sibs* was found as better as of *Cnt*. When compared to the *SCZ* and *Cnt* groups higher educational level, higher cognitive performance, higher work experiences (data not shown), and higher long-term relationship frequencies (data not shown) were remarkable in the *Sibs*. In our recent study, we have evaluated the liability to psychosis and liability to T2DM in discordant siblings and non-clinical controls in a larger cohort involving study population of the current study. We have reported that the *Sibs* had a more favorable metabolic profile on several measures, including lower frequencies of metabolic syndrome and abnormal triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels (Atbasoglu et al., 2018). We could hypothesize that even though sibs have psychometric liability to psychosis, genetic and/or environmental resilience factors that are

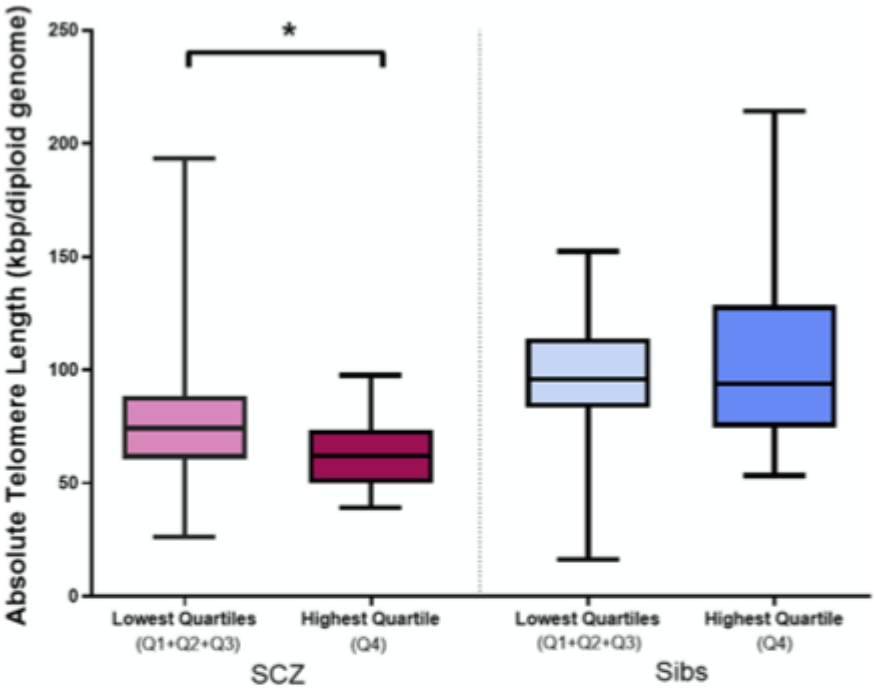


Fig. 7. Box plot representations of the TLs in the group with no/less exposure to childhood trauma (lowest quartiles) and in the group with the over-exposure (highest quartile). Data are presents as median (min-max). *p < 0.05, Mann Whitney *U* test. SCZ: Schizophenia patients; Sibs: Unaffected siblings; kbp: kilo base pairs.

not shared by the affected sibling might have protected *Sibs* from stress-induced telomere erosion and also from the onset of psychosis. One of the resilience factors might be higher emotional intelligence (EI) in the *Sibs*. It has been reported that people with high EI cope better with the stressful encounters since they are able to effectively regulate their mood states. EI is thought to buffer the effects of aversive events through emotional self-awareness, expression, and management (Armstrong et al., 2011; Salovey et al., 2002). Indeed, our data showed

Table 6
Bivariate logistic regression.

Dependent variable: Longer Telomere Length[a]	β	S.E.	Wald	P	OR (95% CI)
Independent variables					
Group					
SCZ	0.013	0.462	0.001	0.978	1.103 (0.409–2.506)
Sibs	1.434	0.442	10,516	**0.001**	**4.196 (1.764–9.983)**
Cnt (Reference)					
Psychotic-like symptoms					
CAPE depression	0.055	0.086	0.406	0.524	1.057 (0.892–1.251)
CAPE negative	−0.017	0.056	0.088	0.766	0.983 (0.0881–1.098)
CAPE positive	−0.097	0.046	4400	**0.036**	**0.908 (0.829–0.994)**
Childhood adversities					
Death of mother before age 17	−0.126	0.754	0.028	0.867	0.882 (0.201–3.864)
Treated cruelly between ages 0-11	−1.017	0.838	1472	0.225	0.362 (0.070–1.870)
Loneliness between ages 0-11	−2.552	1220	4377	**0.036**	**0.078 (0.007–0.851)**
Loneliness between ages 12-17	0.265	0.630	0.177	0.674	1.304 (0.379–4.486)
Cognitive performance					
Block design	0.215	0.218	0.968	0.325	1.240 (0.808–1.902)
Arithmetic	0.054	0.211	0.065	0.799	1.055 (0.698–1.594)
Age	0.031	0.022	2053	0.152	1.301 (0.989–1.076)
Gender	−0.570	0.367	2407	0.121	0.566 (0.276–1.162)
Obesity	−0.231	0.458	0.254	0.614	0.794 (0.324–1.947)
Smoking	0.073	0.326	0.051	0.822	1.076 (0.568–2.308)

[a] Above median.

that similar to *SCZ* group, *Sibs* were more exposed to childhood adversity experiences compared to *Cnt*. In the SCZ group TL was found to be even further shortened in people more exposed to childhood adversities; however, this is not the case for the *Sibs*. This also might support the idea that Sibs in this study have resilient profile. However, resilience status of the study group including EI and need to be addressed by future studies.

4.1. Limitations

The results found in the present study should be interpreted considering the following limitations. First limitation is that there is a problem inherent to the application of self-report measures such as CAPE, SIS-R, and CECA-Interview. Although they allow gathering qualitative and quantitative data quickly, self-reported measures possess several limitations like social desirability bias, a lack of flexibility, and low response rates especially to the childhood adversity experiences. Second limitation of this study is that our SCZ group was not drug-naïve and first episode patients. To date, a limited number of studies have investigated the association between TL and AP treatment in SCZ. Yu et al. (2008) have evaluated clinical response to APs in a group of 68 patients with SCZ and reported that poorer treatment response was associated with shorter TL. Li et al. (2015) have assessed TL in first-episode, AP-naïve patients with SCZ (n = 89) prior to 8 weeks of risperidone treatment and found that patients with poorer treatment response had shorter TL. Our SCZ group was selected from among the participants of a large gene-environment interaction study: EU-GEI. As for the most genome-wide association studies (GWAS), it was difficult to find a homogeneous group of patients receiving the same treatment regimen in terms of a type of the APs, dosage level, and duration. Therefore, effects of AP treatment which might be one of the potential cofounding factors of TL could not be analyzed. Indeed, our patient group had significantly higher prevalence of obesity and smoking that might affect TL, however, those variables that were likely to confound the results were included in the statistical analyses and showed no effect on TL. Our results do not support the premature aging hypothesis in SCZ, but do not preclude *vice versa*. Another limitation of this study was the lack of a random sampling procedure in the recruitment of the *Sibs*. This was unavoidable, given that the study sample was a subgroup of individuals participating in the EU-GEI Project, stipulating the recruitment of unaffected siblings without randomization. In order to control for potential bias, however, several variables that were likely to confound our TL results were included in the statistical analyses.

In conclusion, our data suggest that psychometric liability to psychosis and childhood adversities are associated with shorter TL, although these findings must be considered preliminary, pending larger-scale replication. Further longitudinal studies evaluating the effects of lifestyle factors (physical activity, diet, and sleep), blood stress hormone levels (norepinephrine, epinephrine, etc), pro-inflammatory cytokines, oxidant/antioxidant status and telomerase activity are warranted in order to identify the physiological mechanisms underlying the relationship between telomere shortening, psychometric liability to psychosis and childhood adversities. In addition, further investigations are needed to identify which biological/environmental factors have protected *Sibs* from telomere attrition and onset of psychosis.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

This work was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK, Project No: 215S151), and partially funded by the 7th Frame Work Programme of the European Union (grant agreement no. HEALTH-F2-2009-241909, Project EU-GEI). All the DNA samples were provided by the Biobank facility of the Ankara University Brain Research Center funded by Ankara University Scientific Research Projects (AUBAPRO) (grant number: 10A6055003).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.01.022.

References

Andreasen, N.C., 1981. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS). Univ. Iowa. Iowa City. , IA.
Andreasen, N.C., 1984. The Scale for the Assessment of 134 Positive Symptoms (SAPS). Univ. Iowa. Iowa City. , IA.
Anthes, E., 2014. Live faster, die younger. Nature 508, 16–17.
Armstrong, A.R., Galligan, R.F., Critchley, C.R., 2011. Emotional intelligence and psychological resilience to negative life events. Pers. Indiv. Differ. 51, 331–336. https://doi.org/10.1016/j.paid.2011.03.025.
Atbasoglu, E.C., Gumus-akay, G., Guloksuz, S., Saka, M.C., Ucok, A., Alptekin, K., 2018. Higher schizotypy predicts better metabolic profile in unaffected siblings of patients with schizophrenia. Psychopharmacology (Berlin) 235, 1029–1039.
Bacalini, M.G., D'Aquila, P., Marasco, E., Nardini, C., Montesanto, A., Franceschi, C., Passarino, G., Garagnani, P., Bellizzi, D., 2017. The methylation of nuclear and mitochondrial DNA in ageing phenotypes and longevity. Mech. Ageing Dev. 165, 156–161. https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.01.006.
Balzan, R.P., Dhillon, V.S., Liu, D., Hahn, L., Fenech, M.F., Galletly, C., 2018. Shorter telomere length in people with schizophrenia who live alone? Schizophr. Res. 199, 422–423. https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.02.039.
Bendall, S., Jackson, H.J., Hulbert, C.A., McGorry, P.D., 2008. Childhood trauma and psychotic disorders: a systematic, critical review of the evidence. Schizophr. Bull. 34, 568–579. https://doi.org/10.1093/schbul/sbm121.
Bifulco, A., Brown, G.W., Harris, T.O., 1994. Childhood experience of care and abuse (CECA): a retrospective interview measure. Child Psychol. Psychiatry Allied Discip. 35, 1419–1435. https://doi.org/10.1007/s00127-002-0589-9.
Blackburn, E.H., Epel, E.S., Lin, J., 2015. Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. Science 69 (80), 1193–1198.
Braff, D.L., Freedman, R., Schork, N.J., Gottesman, I.I., 2007. Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. Schizophr. Bull. 33, 21–32.
Czepielewski, L.S., Massuda, R., Panizzutti, B., da Rosa, E.D., de Lucena, D., Macedo, D., Grun, L.K., Barbe-Tuana, F.M., Gama, C.S., 2016. Telomere length in subjects with schizophrenia, their unaffected siblings and healthy controls: evidence of accelerated aging. Schizophr. Res. 174, 39–42.
Dieset, I., Andreassen, O.A., Haukvik, U.K., 2016. Somatic comorbidity in schizophrenia: some possible biological mechanisms across the life span. Schizophr. Bull. 42, 1316–1319. https://doi.org/10.1093/schbul/sbw028.
Drury, S.S., Mabile, E., Brett, Z.H., Esteves, K., Jones, E., Shirtcliff, E.A., Theall, K.P., 2014. The association of telomere length with family violence and disruption. Pediatrics 134, e128–e137.
Epel, E.S., Blackburn, E.H., Lin, J., Dhabhar, F.S., Adler, N.E., Morrow, J.D., Cawthon, R.M., 2004. Accelerated telomere shortening in response to life stress. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101, 17312–17315.
Fernandez-Egea, E., Bernardo, M., Heaphy, C.M., Griffith, J.K., Parellada, E., Esmatjes, E., Conget, I., Nguyen, L., George, V., Stöppler, H., Kirkpatrick, B., 2009. Telomere length and pulse pressure in newly diagnosed, antipsychotic-naive patients with nonaffective psychosis. Schizophr. Bull. 35, 437–442.
Gottesman, I.I., Gould, T.D., 2003. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. Am. J. Psychiatry 160, 636–645.
Gümüs, G., Tükün, A., 2012. Telomere and telomerase in Cancer : recent progress. In: Li, B. (Ed.), Reviews on Selected Topics of Telomere Biology. InTech, pp. 95–122.
Hanssen, L.M., Schutte, N.S., Malouff, J.M., Epel, E.S., 2017. The relationship between childhood psychosocial stressor level and telomere length: a meta-analysis. Heal. Psychol. Res. 5, 14–22. https://doi.org/10.4081/hpr.2017.6378.
Huffman, K.E., Levene, S.D., Tesmer, V.M., Shay, J.W., Wright, W.E., 2000. Telomere shortening is proportional to the size of the G-rich telomeric 3'-overhang. J. Biol. Chem. 275, 19719–19722.
Kao, H.-T., Cawthon, R.M., Delisi, L.E., Bertisch, H.C., Ji, F., Gordon, D., Li, P., Benedict, M.M., Greenberg, W.M., Porton, B., 2008. Rapid telomere erosion in schizophrenia. Mol. Psychiatr. 13, 118–119.
Kendler, K.S., Lieberman, J.A., Walsh, D., 1989. The structured interview for schizotypy (*SIS*): a preliminary report. Schizophr. Bull. 15, 559–571.
Keshavan, M.S., Nasrallah, H.A., Tandon, R., 2011. Schizophrenia, "Just the Facts" 6. Moving ahead with the schizophrenia concept: from the elephant to the mouse. Schizophr. Res. 127, 3–13.
Kim, T.Y., Kim, S.J., Choi, J.R., Lee, S.T., Kim, J., Hwang, I.S., Chung, H.G., Choi, J.H., Kim, H.W., Kim, S.H., Kang, J.I., 2017. The effect of trauma and PTSD on telomere length: an exploratory study in people exposed to combat trauma. Sci. Rep. 7, 1–7. https://doi.org/10.1038/s41598-017-04682-w.
Kirkpatrick, B., Kennedy, B.K., 2018. Accelerated aging in schizophrenia and related disorders: future research. Schizophr. Res. 196, 4–8. https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.06.034.

Kirkpatrick, B., Messias, E., Harvey, P.D., Fernandez-Egea, E., Bowie, C.R., 2008. Is schizophrenia a syndrome of accelerated aging? Schizophr. Bull. 34, 1024–1032.
Konings, M., Bak, M., Hanssen, M., Van Os, J., Krabbendam, L., 2006. Validity and reliability of the CAPE: a self-report instrument for the measurement of psychotic experiences in the general population. Acta Psychiatr. Scand. 114, 55–61.
Kota, L.N., Purushottam, M., Moily, N.S., Jain, S., 2015. Shortened telomere in unremitted schizophrenia. Psychiatr. Clin. Neurosci. 69, 292–297.
Lee, E.E., Martin, A.S., Tu, X., Palmer, B.W., Jeste, D.V., 2018. Childhood adversity and schizophrenia. J. Clin. Psychiatr. 79. https://doi.org/10.4088/JCP.17m11776.
Li, Z., Hu, M., Zong, X., He, Y., Wang, D., Dai, L., Dong, M., Zhou, J., Cao, H., Lv, L., Chen, X., Tang, J., 2015. Association of telomere length and mitochondrial DNA copy number with risperidone treatment response in first-episode antipsychotic-naïve schizophrenia. Sci. Rep. 5.
Lindqvist, D., Epel, E.S., Mellon, S.H., Penninx, B.W., Révész, D., Verhoeven, J.E., Reus, V.I., Lin, J., Mahan, L., Hough, C.M., Rosser, R., Bersani, F.S., Blackburn, E.H., Wolkowitz, O.M., 2015. Psychiatric disorders and leukocyte telomere length : underlying mechanisms linking mental illness with cellular aging. Neurosci. Biobehav. Rev. 55, 333–364.
Mainous, A.G., Everett, C.J., Diaz, V.A., Baker, R., Mangino, M., Codd, V., Samani, N.J., 2011. Leukocyte telomere length and marital status among middle-aged adults. Age Ageing 40, 73–78.
Makarov, V.L., Hirose, Y., Langmore, J.P., 1997. Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. Cell 88, 657–666.
Malaspina, D., Dracxler, R., Walsh-Messinger, J., Harlap, S., Goetz, R.R., Keefe, D., Perrin, M.C., 2014. Telomere length, family history, and paternal age in schizophrenia. Mol. Genet. genomic Med. 2, 326–331. https://doi.org/10.1002/mgg3.71.
Mansour, H., Chowdari, K., Fathi, W., Elassy, M., Ibrahim, I., Wood, J., Bamne, M., Tobar, S., Yassin, A., Salah, H., Elsayed, H., Eissa, A., El-Boraie, H., Ibrahim, N.E., Elsayed, M., El-Bahaei, W., Gomaa, Z., El-Chennawi, F., Nimgaonkar, V.L., 2011. Does telomere length mediate associations between inbreeding and increased risk for bipolar I disorder and schizophrenia? Psychiatr. Res. 188, 129–132. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.01.010.
Maurya, P.K., Rizzo, L.B., Xavier, G., Tempaku, P.F., Ota, V.K., Santoro, M.L., Spíndola, L.M., Moretti, P.S., Mazzotti, D.R., Gadelha, A., Gouvea, E.S., Noto, C., Maes, M., Cordeiro, Q., Bressan, R.A., Brietzke, E., Belangero, S.I., 2018. Leukocyte telomere length variation in different stages of schizophrenia. J. Psychiatr. Res. 96, 218–223. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.10.016.
McKinney, B.C., Lin, H., Ding, Y., Lewis, D.A., Sweet, R.A., 2017. DNA methylation evidence against the accelerated aging hypothesis of schizophrenia. npj Schizophr 3, 1–3. https://doi.org/10.1038/s41537-017-0017-5.
Morgan, C., Fisher, H., 2007. Environment and schizophrenia: environmental factors in schizophrenia: childhood trauma - a critical review. Schizophr. Bull. 33, 3–10. https://doi.org/10.1093/schbul/sbl053.
Nguyen, T.T., Eyler, L.T., Jeste, D.V., 2017. Systemic biomarkers of accelerated aging in schizophrenia: a critical review and future directions. Schizophr. Bull. 44, 398–408. https://doi.org/10.1093/schbul/sbx069.
Nieratschker, V., Lahtinen, J., Meier, S., Strohmaier, J., Frank, J., Heinrich, A., Breuer, R., Witt, S.H., Nöthen, M.M., Rietschel, M., Hovatta, I., 2013. Longer telomere length in patients with schizophrenia. Schizophr. Res. 149, 116–120.
Oliveira, B.S., Zunzunegui, M.V., Quinlan, J., Fahmi, H., Tu, M.T., Guerra, R.O., 2016. Systematic review of the association between chronic social stress and telomere length: a life course perspective. Ageing Res. Rev. 26, 37–52.
Olovnikov, A.M., 1973. A theory of marginotomy. J. Theor. Biol. 41, 181–190.
O'Callaghan, N.J., Fenech, M., 2011. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. Biol. Proced. Online 13, 3.
O'Donovan, A., Tomiyama, A.J., Lin, J., Puterman, E., Adler, N.E., Kemeny, M., Wolkowitz, O.M., Blackburn, E.H., Epel, E.S., 2012. Stress appraisals and cellular aging: a key role for anticipatory threat in the relationship between psychological stress and telomere length. Brain Behav. Immun. 26, 573–579.
Pawelczyk, T., Szymanska, B., Grancow-Grabka, M., 2015. Telomere length in blood cells is related to the chronicity , severity , and recurrence rate of schizophrenia. Neuropsychiatric Dis. Treat. 1493–1503.
Perala, J., Suvisaari, J., Saarni, S.I., Kuoppasalmi, K., Isometsa, E., Pirkola, S., Partonen, T., Tuulio-Henriksson, A., Hintikka, J., Kieseppa, T., Harkanen, T., Koskinen, S., Lonnqvist, J., 2007. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. Arch. Gen. Psychiatr. 64, 19–28.
Polho, G.B., De-Paula, V.J., Cardillo, G., dos Santos, B., Kerr, D.S., 2015. Leukocyte telomere length in patients with schizophrenia: a meta-analysis. Schizophr. Res. 165, 195–200.
Puterman, E., Epel, E., 2011. An intricate dance: life experience, multisystem resiliency, and rate of telomere decline throughout the lifespan. Soc Pers. Psychol Compass. 4, 807–825.
Puterman, E., Gemmill, A., Karasek, D., Weir, D., Adler, N.E., Prather, A.A., Epel, E.S., 2016. Lifespan adversity and later adulthood telomere length in the nationally representative US Health and Retirement Study. Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am. 113, E6335–E6342.
Rao, S., Kota, L.N., Li, Z., Yao, Y., Tang, J., Mao, C., Jain, S., Xu, Y., Xu, Q., 2016. Accelerated leukocyte telomere erosion in schizophrenia: evidence from the present study and a meta-analysis. J. Psychiatr. Res. 79, 50–56.
Ridout, K.K., Levandowski, M., Ridout, S.J., Gantz, L., Goonan, K., Palermo, D., Price, L.H., Tyrka, A.R., 2017. Early life adversity and telomere length: a meta-analysis. Mol. Psychiatr. 1–14.
Riley, G., Perrin, M., Vaez-Azizi, L.M., Ruby, E., Goetz, R.R., Dracxler, R., Walsh-Messinger, J., Keefe, D.L., Buckley, P.F., Szeszko, P.R., Malaspina, D., 2018. Telomere length and early trauma in schizophrenia. Schizophr. Res. 199, 426–430. https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.02.059.
Ringen, P.A., Engh, J.A., Birkenaes, A.B., Dieset, I., Andreassen, O.A., 2014. Increased mortality in schizophrenia due to cardiovascular disease - a non-systematic review of epidemiology, possible causes and interventions. Front. Psychiatry 5, 1–11. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2014.00137.
Salovey, P., Stroud, L.R., Woolery, A., Epel, E.S., 2002. Perceived emotional intelligence, stress reactivity, and symptom reports: further explorations using the trait meta-mood scale. Psychol. Health 17, 611–627. https://doi.org/10.1080/08870440290025812.
Shalev, I., Moffitt, T.E., Sugden, K., Williams, B., Houts, R.M., Danese, A., Mill, J., Arseneault, L., Caspi, A., 2012. Exposure to violence during childhood is associated with telomere erosion from 5 to 10 years of age: a longitudinal study. Mol. Psychiatr. 18, 576–581.
Shalev, I., Entringer, S., Wadhwa, P.D., Wolkowitz, O.M., Puterman, E., 2014. Stress and telomere biology: a lifespan perspective. Psychoneuroendocrinology 38, 1835–1842. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.03.010.Stress.
Simm, A., Nass, N., Bartling, B., Hofmann, B., Silber, R.E., Navarrete Santos, A., 2008. Potential biomarkers of ageing. Biol. Chem. 389, 257–265. https://doi.org/10.1515/BC.2008.034.
Tsigos, C., Kyrou, I., Kassi, E., Chrousos, G.P., 2016. Stress, Endocrine Physiology and Pathophysiology. MDText.com, Inc.
Vaez-Azizi, L.M., Ruby, E., Dracxler, R., Rothman, K., Perrin, M., Walsh-Messinger, J., Antonius, D., Goetz, R.R., Goetz, D.M., Keefe, D.L., Malaspina, D., 2015. Telomere length variability is related to symptoms and cognition in schizophrenia. Schizophr. Res. 164, 268–269. https://doi.org/10.1016/j.schres.2015.03.011.
Van Os, J., Rutten, B.P., Myin-Germeys, I., Delespaul, P., Viechtbauer, W., Van Zelst, C., Bruggeman, R., Reininghaus, U., Morgan, C., Murray, R.M., Di Forti, M., McGuire, P., Valmaggia, L.R., Kempton, M.J., Gayer-Anderson, C., Hubbard, K., Beards, S., Stilo, S.A., Onyejiaka, A., Bourque, F., Modinos, G., Tognin, S., Calem, M., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., Holmans, P., Williams, N., Craddock, N., Richards, A., Humphreys, I., Meyer-Lindenberg, A., Leweke, F.M., Tost, H., Akdeniz, C., Rohleder, C., Bumb, J.M., Schwarz, E., Alptekin, K., Ucok, A., Saka, M.C., Atbasoglu, E.C., Guloksuz, S., Gumus-Akay, G., Cihan, B., Karadag, H., Soygur, H., Cankurtaran, E.S., Ulusoy, S., Akdede, B., Binbay, T., Ayer, A., Noyan, H., Karadayi, G., Akturan, E., Ulas, H., Arango, C., Parellada, M., Bernardo, M., Sanjuan, J., Bobes, J., Arrojo, M., Santos, J.L., Cuadrado, P., Solano, J.J.R., Carracedo, A., Bernardo, E.G., Roldan, L., López, G., Cabrera, B., Cruz, S., Mesa, E.M.D., Pouso, M., Jimenez, E., Sanchez, T., Rapado, M., Gonzalez, E., Martinez, C., Sanchez, E., Olmeda, M.S., De Haan, L., Velthorst, E., Van Der Gaag, M., Selten, J.P., Van Dam, D., Van Der Ven, E., Van Der Meer, F., Messchaert, E., Kraan, T., Burger, N., Leboyer, M., Szoke, A., Schurhoff, F., Llorca, P.M., Jamain, S., Tortelli, A., Frijda, F., Vilain, J., Galliot, A.M., Baudin, G., Ferchiou, A., Richard, J.R., Bulzacka, E., Charpeaud, T., Tronche, A.M., De Hert, M., Van Winkel, R., Decoster, J., Derom, C., Thiery, E., Stefanis, N.C., Sachs, G., Aschauer, H., Lasser, I., Winklbaur, B., Schlogelhofer, M., Riecher-Rossler, A., Borgwardt, S., Walter, A., Harrisberger, F., Smieskova, R., Rapp, C., Ittig, S., Soguel-Dit-Piquard, F., Studerus, E., Klosterkotter, J., Ruhrmann, S., Paruch, J., Julkowski, D., Hilboll, D., Sham, P.C., Cherny, S.S., Chen, E.Y.H., Campbell, D.D., Li, M., Romeo-Casabona, C.M., Cirion, A.E., Mora, A.U., Jones, P., Kirkbride, J., Cannon, M., Rujescu, D., Tarricone, I., Berardi, D., Bonora, E., Seri, M., Marcacci, T., Chiri, L., Chierzi, F., Storbini, V., Braca, M., Minenna, M.G., Donegani, I., Fioritti, A., La Barbera, D., La Cascia, C.E., Mul??, A., Sideli, L., Sartorio, R., Ferraro, L., Tripoli, G., Seminerio, F., Marinaro, A.M., McGorry, P., Nelson, B., Amminger, G.P., Pantelis, C., Menezes, P.R., Del-Ben, C.M., Tenan, S.H.G., Shuhama, R., Ruggeri, M., Tosato, S., Lasalvia, A., Bonetto, C., Ira, E., Nordentoft, M., Krebs, M.O., Barrantes-Vidal, N., Cristobal, P., Kwapil, T.R., Brietzke, E., Bressan, R.A., Gadelha, A., Maric, N.P., Andric, S., Mihaljevic, M., Mirjanic, T., 2014. Identifying gene-environment interactions in schizophrenia: contemporary challenges for integrated, large-scale investigations. Schizophr. Bull. 40, 729–736. https://doi.org/10.1093/schbul/sbu069.
Varese, F., Smeets, F., Drukker, M., Lieverse, R., Lataster, T., Viechtbauer, W., Read, J., Van Os, J., Bentall, R.P., 2012. Childhood adversities increase the risk of psychosis: a meta-analysis of patient-control, prospective-and cross-sectional cohort studies. Schizophr. Bull. 38, 661–671. https://doi.org/10.1093/schbul/sbs050.
Verhoeven, J.E., Révész, D., Picard, M., Epel, E.E., Wolkowitz, O.M., Matthews, K.A., Penninx, B.W.J.H., Puterman, E., 2018. Depression, telomeres and mitochondrial DNA: between- and within-person associations from a 10-year longitudinal study. Mol. Psychiatr. 23, 850–857. https://doi.org/10.1038/mp.2017.48.
Vollema, M.G., Ormel, J., 1997. Reliability of the structured interview for schizotypy-revised (SIS-R). Schizophr. Res. 24, 8.
Wechsler, D., 1997. Wechsler adult intelligence scale, 3rd edn. Administration and Scoring Manual. In: WAIS-III. Psychological Corporation, San Antonio, TX, USA.
Weinberg, S.M., Jenkins, E.A., Marazita, M.L., Maher, B.S., 2007. Minor physical anomalies in schizophrenia: a meta-analysis. Schizophr. Res. 4, 72–85.
Xia, X., Chen, W., McDermott, J., Han, J.-D.J., 2017. Molecular and phenotypic biomarkers of aging. F1000Research 6, 860. https://doi.org/10.12688/f1000research.10692.1.
Yu, W.-Y., Chang, H.-W., Lin, C.-H., Cho, C.-L., 2008. Short telomeres in patients with chronic schizophrenia who show a poor response to treatment. J. Psychiatry Neurosci. 33, 244–247.