



Nuwe bevindings oor die genetiese argitektuur van skisofrenie: Die bydrae van studies onder Afrikaners

Authors:Johannes L. Roos¹**Affiliations:**¹Department of Psychiatry,
University of Pretoria,
South Africa**Correspondence to:**

Johannes Roos

Email:

erna.fourie@up.ac.za

Postal address:Private Bag X113, Pretoria
0001, South Africa**Dates:**

Received: 16 Jan. 2013

Accepted: 15 Oct. 2013

Published: 24 Feb. 2014

How to cite this article:Roos, J.L., 2014, 'Nuwe bevindings oor die genetiese argitektuur van skisofrenie: Die bydrae van studies onder Afrikaners', *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie* 33(1), Art. #396, 9 pages. <http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v33i1.396>**Copyright:**© 2014. The Authors.
Licensee: AOSIS
OpenJournals. This work
is licensed under the
Creative Commons
Attribution License.

Die genetiese komponent in die etiologie van skisofrenie word reeds 'n geruime tyd al aanvaar. Die onderliggende argitektuur van die genetiese risiko bly 'n punt van bespreking. Vroeë studies oor koppeling en kandidaatverbintenis het grootliks gelei tot onoortuigende of onbesliste resultate. Meer onlangs het kragtige tegnologieë beskikbaar geword. Dit, tesame met groot genoeg toetsgroepe en genoomwye panele van genetiese merkers, het dit moontlik gemaak om sistematiese en agnostiese skandering te doen regdeur die genoom. In agnostiese skandering word tegnologie aangewend om die probleem op te los, sonder enige voorveronderstelling oor waar die genoomrelevante allele gevind sal word. Daar word gesoek na algemene en unieke siektevariante met onderskeidelik klein of groot effek. Die soektog na variante wat nie 'n groot effek het nie, het beperkte sukses gehad. Aan die ander kant het die rol van unieke genetiese gebeure, soos kopienommervariasie (KNV) en unieke punt-mutasies al hoe belangriker geraak by geenontdekking in geval van skisofrenie. Onlangse navorsing onder Afrikaner pasiënte met skisofrenie, wat bou op vroeëre bevindings van spontane KNV by die 22q11 lokus, het lig gewerp op die spontane mutasieparadigma as 'n groot komponent in die argitektuur van skisofrenie. 'n Oorsig oor onlangse bevindings van hierdie studies word gegee.

Latest findings in the genetic architecture of schizophrenia: The contribution of genetic studies among Afrikaners. A genetic component of schizophrenia has been acknowledged for a long time. The underlying architecture of the genetic risk remains a contentious issue. Early linkage and candidate association studies led to largely inconclusive results. More recently powerful technologies became available. This aspect coupled with samples of sufficient sizes, and genome-wide panels of genetic markers facilitated systematic and agnostic scans throughout the genome for either common or rare disease risk variants of small or large effect size, respectively. Although the former had limited success, the role of rare genetic events, such as copy-number variants (CNVs) or rare point mutations, has become increasingly important in gene discovery for schizophrenia. Recent research done among Afrikaner patients with schizophrenia, building upon earlier findings of de novo recurrent CNVs at the 22q11.2 locus, has highlighted a de novo mutational paradigm as a major component of the genetic architecture of schizophrenia. Recent progress in this regard will be reviewed.

Inleiding

In 'n vorige artikel (Roos 2008) het die outeur 'n oorsig gegee oor bevindings in navorsing die voorafgaande 10 jaar oor die genetica van skisofrenie by die Afrikaner as 'n stigtersbevolking. Dit was in 2007 toe hierdie samewerkingsooreenskoms betreffende die genetica van skisofrenie in 'n stigtersbevolking tien jaar aan die gang was. Nou, 15 jaar later, het dié samewerkingsooreenskoms tussen die Columbia University in New York en die Departement van Psigiatrie aan die Universiteit van Pretoria (UP) interessante resultate begin oplewer.

Waar aanvanklike resultate in dié studie baie klem gelê het op die stigtersbevolking en genealogie van die Afrikaner, het onlangse bevindings juis begin klem lê op die ander pool, naamlik sporadiese gevalle van skisofrenie, met ander woorde waar daar geen geskiedenis van skisofrenie by familieleden in die eerste en tweede generasie teenwoordig is nie. In die slotopmerkings van die vorige artikel (Roos 2008) sluit die outeur af met: 'Hopelik sal die ondersoek na die genetiese aspekte van skisofrenie in die Afrikaner 'n bydrae lewer tot beter begrip en behandeling van hierdie ernstige psigiatriese toestand.' Moontlik is hierdie groep navorsers besig om in daardie rigting te begin beweeg.

Dié oorsig som aspekte van die genetiese navorsing oor die etiologie van skisofrenie op. Daar sal klem gelê word op bevindings in 'n stigtersbevolking van Afrikaners. Sleutelbesprekingspunte en uitdagings in die navorsing sal toegelig word. Toekomstige rigtingwysers in hierdie tipe

Read online:Scan this QR
code with your
smart phone or
mobile device
to read online.



navorsing word beklemtoon. Daar is min rigtingwysers beskikbaar oor die patogeniese meganismes wat skisofrenie onderlê. Skisofrenie word gedefinieer as 'n kliniese sindroom gebaseer op die teenwoordigheid van operasionele kriteria. Hierdie kriteria sluit in waanidees, hallusinasie, apatie en kognitiewe probleme wat lei tot disfunksie en progressiewe agteruitgang. (American Psychiatric Association 1994) Die prevalensie van skisofrenie in die algemene bevolking word geskat op ongeveer 1%. Klassieke studies van families, tweelinge en aangenome kinders, wat die herhalingsrisiko vir familieledede bepaal, het regstreekse bewys gelewer vir 'n genetiese etiologie. (Sullivan, Kendler & Neale 2003) Die risiko om die siekte te ontwikkel neem eksponensieel toe met die graad van genetiese verwantskap tot 'n individu wat aan die siekte ly. Dit bereik 'n punt van ongeveer 50% vir monosigotiese tweelinge. (Sullivan *et al.* 2003)

'n Onlangse Sweedse studie wat 'n totaal van 9 009 202 unieke individue insluit, wat afkomstig was van meer as 2 miljoen kernfamilies, het die risiko vir skisofrenie in biologiese en aanneemouers, afstammelingen, regstreekse sibbe en halfsibbe van individue met skisofrenie nagegaan. Inligting van 'n nasionale multigeneratiewe databasis is vergelyk met gegewens by hospitaalontslag. Bevindings van hierdie studie bevestig dat die oorerflikheid van skisofrenie hoog is. Bepalings dui op 64.3% (95.0% sekerheidsinterval = 61.7% – 67.5%) (Lichtenstein *et al.* 2009). Ander risikofaktore sluit in 'n gedeelde familie-omgewing, manlike geslag, hoë ouderdom van vader by konsepsie, perinatale gebeure en substansmisbruik. Dit moet beklemtoon word dat hoewel 'n groot genetiese komponent vir skisofrenie onomwonde aangetoon is, het slegs 'n klein proporsie van gevalle 'n familiegeskiedenis van skisofrenie. (Sullivan *et al.* 2003; Lichtenstein *et al.* 2009; Tandon, Keshaven & Nasrallah 2008.) Die resultate van hierdie artikel sal aantoon dat die grootliks geïgnoreerde aspek in vroeë pogings om die siekterisiko te modelleer, moontlik 'n belangrike begrip kan wees in die opklaring van die genetiese argitektuur van skisofrenie.

Die belangrike rol wat genetika in die etiologie van skisofrenie speel, word nie meer bevraagteken nie. Die fundamentele onsekerheid in die genetika van skisofrenie was nog altyd die aard van die onderliggende alleliese argitektuur. Histories kan probleme toegeskryf word aan 'n kombinasie van alleliese lokus en fenotipiese heterogenisiteit wat gelei het tot: waninterpretasie van of oorinterpretasie van negatiewe data, of nie oortuigende data. Ongeag hierdie uitdagings, is daar 'n oorvloed van onlangse bevindings, aangedryf deur tegnologiese vooruitgang wat die kragte wat die genetiese risiko vir skisofrenie vorm, begin ontsyfer. Dié bevindings lewer 'n lang verwagte kans op om hoogs betroubare resultate te produseer en kan groot praktiese implikasies inhou (Rodriguez-Murillo, Gogos & Karayiorgou 2012).

Die genetiese argitektuur van skisofrenie

Vier faktore word betrek by die genetiese argitektuur van komplekse genetiese versteurings:

- Die getal risiko-allele wat bydra tot die siekte in die bevolking. Dit kan veelvuldige risiko-allele in een of meer gene insluit.
- Die frekwensie van elk van die risiko-allele in die bevolking.
- Die grootte van die effek (penetrasie) van 'n risiko-alleel.
- Die manier hoe risiko-allele saamwerk, byvoorbeeld op 'n byvoegende of sinergistiese manier (Laursen & Munk-Olsen 2010).

Pogings om die genetiese argitektuur van skisofrenie op te klaar moet 'n bevredigende beskrywing van al hierdie faktore gee. Verder moet dit 'n verklaring gee vir die hoë wêreldwye voorkoms, die voortbestaan van hierdie versteuring ondanks omgewingsfaktore wat voorkom, die verhoogde mortaliteit en die ernstig verminderde voortplantingspotensiaal van aangetaste individue (Laursen & Munk-Olsen 2010).

In hierdie konteks word die genetiese argitektuur wat skisofreniese vatbaarheid onderlê, geformuleer deur twee groot hipoteses, wat fundamenteel verskil in hul konseptualisasie van die etiologie:

Die hipotese van algemene siekte/algemene alleel (ASAA), en die hipotese van algemene siekte/unieke alleel (ASUA) (Goldstein 2009; Manolio *et al.* 2009).

Twee hipotetiese modelle van skisofrenie: Algemene siekte/algemene alleel versus algemene siekte/unieke alleel

Die ASAA beklemtoon die samewerking tussen verskeie relatief algemeen oorgeërfde allele wat elk dui op 'n klein of matige risiko. Dit werk saam om die voortdurende hoë voorkoms van die siekte te verklaar. Hierdie hipotese neem aan dat daar verminderde sigbaarheid van elke klein-effek-alleel tot negatiewe seleksie is. Verder neem die hipotese aan dat hierdie allele by uitsondering in sporadiese gevalle herkombineer in hoërisiko-kombinasies (Yang, Visscher & Wray 2010).

Algemene siekte/unieke alleel

Algemene siekte/unieke alleel (ASUA) beklemtoon op sy beurt 'individualiteit' en hoë genetiese heterogenisiteit, veral die betrokkenheid van individueel unieke, maar hoogs deurdringende allele. Hier word elke geval veroorsaak deur 'n enkele unieke variant, en hierdie variante kan voorkom in verskillende gene by verskillende individue. 'n Krities deurslaggewende aanname van die ASUA-model is dat nuwe (of spontane) mutasies in sporadiese gevalle voortdurend hoogs penetrerende allele genereer en aanvul. Hierdie allele word vinnig teengeselkteer in die bevolking (Goldstein 2009; Manolio *et al.* 2009)

Die bruikbaarheid van die splitsing lê primêr in die feit dat groot duidelik metodologiese benaderings gebruik word om



siekte-assosiasie op te spoor met unieke of algemene variante. Gevolglik help dit om verskillende geen-opspringstrategieë te evalueer. Vanuit 'n biologiese oogpunt, aan die ander kant, in die konteks van die komplekse neurale substraat wat die vatbaarheid van skisofrenie onderlê, is hierdie genetiese konstruksie moeiliker om te ontrafel. Pasiënte se genoom bevat allele oor 'n wye reeks van frekwensies. Sommige allele dryf en ander wysig die siekte-risiko en -uitdrukking. In hul samewerking beïnvloed hulle die struktuur en funksie van neurale netwerke.

Oor die algemeen het die poligeniese ASAA-paradigma van skisofrenie baie aandag geniet. In kontras hiermee, is daar slegs 'n paar voorbeelde waar enkele hoogs penetrerende mutasies geïdentifiseer is wat iemand ontvanklik sou maak vir skisofrenie. Hierdie studies is beskou as op die buitengrens van bevindings en van beperkte belang in die genetiese argitektuur van die siekte. Onlangse empiriese data onderskryf die ASUA-model. Dit het veroorsaak dat daar 'n drastiese herwaarding van die teoretiese basis onderliggend aan die ASUA-model was (Sullivan *et al.* 2003).

Oorweging van die algemene siekte/unique alleel-model

Die sterkste formulering van die ASUA-model stel voor dat die meeste, indien nie alle, gevalle van skisofrenie die gevolg is van die teenwoordigheid van sommige unieke maar penetrerende mutasies. Unieke variante (0.5% tot 5.0% frekwensies) oorskadu algemene variante by verre (The 100 Genomes Project Consortium 2010). Dit is dus nie verbasend dat hulle moontlik beduidend kan bydra tot die genetiese argitektuur van komplekse siektes nie. Relevante bewys is eers gelewer deur studies wat gesoek het na 'n unieke variant in die ekstreem fenotipiese distribusie van komplekse kenmerke (Cohen *et al.* 2004). Hierdie unieke mutasies is meer geneig om proteïenfunksie te affekteer en veroorsaak dan ook skadelike fenotipes, wat 'n impak het op voortplantingsfiksheid (Flanagan, Patch & Ellard 2010; Valdmanis, Verlaan & Rouleau 2009). As sodanig, is hulle meer geneig om 'n faktor te wees wat seleksie suiwer, met 'n kort halflewe in geselekteerde stambome en is hulle beperk tot lae alleliese frekwensie. In dié konteks, sou die hoë voorkoms van die versteuring ten minste 'n hoë genoeg verhouding van spontane mutasies vereis. Die tempo van spontane plaasvervanger-mutasies op kiemlynbasis is relatief hoog en is bepaal op $\sim 10^{-8}$ per basispaar per generasie (Crow 2000). Dit sou 0.5–1.0 spontane eksoniese mutasies per nuut gebore baba voorspel (The 100 Genomes Project 2010).

Vanweë tegniese beperkings was dit nie moontlik om die wêreldwye bydrae van unieke variante tot psigiatriese versteurings op 'n sistematiese manier na te gaan nie. Dit het slegs 'n paar jaar tevore moontlik geword, danksy tegniese vooruitgang, om kopienommer-analise met hoë resolusie by individuele genome na te gaan. Dit was dan ook die eerste kans om onbevooroordeelde, genomwye opnames van unieke variante in psigiatriese versteurings te doen. Onlangs is 'n groot hoeveelheid variasies in die menslike genoom

aangetoon. Een van die mees belangwekkende tipes van variasie is kopienommervariasie (KNV), die weglating of dupliserings wat tipies groter as 1 kb is (Iafrate *et al.* 2004; Sebat *et al.* 2004). KNV'e is óf uniek óf algemeen en kollektief sou dit $\sim 12\%$ van die genoom in die algemene bevolking dek (Redon *et al.* 2006). Dit het gelei tot die voorstel dat addisioneel tot hul bekende rol in 'n getal ongewone sindrome, KNV'e ook dalk kan bydra tot meer algemene siektefenomene. In der waarheid het uniek oorgeërfde en spontane KNV'e na vore gekom as 'n belangrike genetiese oorsaak van siekte. Heel onlangs het die wyd verspreide beskikbaarheid van volgendegenerasie-tegnologie vir geenreeksbepalings dit moontlik gemaak dat individuele genome se volgorde bepaal kon word. Gevolglik kan daar sifting gedoen word van unieke variante op die hoogste vlak van genetiese resolusie (The 100 Genomes Project 2010). Dit het die gaping gevul wat deur KNV-studies gelaat is.

Mikro-uitwissing by 22q11.2 en die spontane paradigma

'n Mikro-uitwissing by die 22q11.2-lokus was die eerste spontane KNV beskryf in skisofrenie deur Karayiorgou (Karayiorgou *et al.* 1995). Karayiorgou is die studieleier van die navorsingsprojek oor skisofrenie in die Afrikaner. Sedert die ontdekking is daar 'n sterk en spesifieke tweerigtingverband vasgestel tussen die teenwoordigheid van 22q11.2-mikro-uitwissing en psigose. Tot 'n derde van alle laat adolessente of vroeë volwassenes wat die mikro-uitwissings het, ontwikkel skisofrenie of skiso-afektiewe versteuring volgens die diagnostiese DSM IV-kriteria (Gothelf *et al.* 2007; Murphy, Jones & Owen 1999; Pulver 1994). Verder het 'n getal studies aangedui dat 22q11.2-mikro-uitwissings bydra tot 1%–2% van skisofrenie-gevalle (Karayiorgou *et al.* 1995; Wiehahn *et al.* 2004). Hierdie sterk tweerigtingverband tussen skisofrenie en die 22q11.2-mikro-uitwissing maak dié weglating een van die sterkste risikofaktore vir skisofrenie tans bekend. Verder is pasiënte met skisofrenie wat die 22q11.2-mikro-uitwissing het, en dié daarsonder klinies nie van mekaar onderskeibaar wat die skisofrenie-fenotipe aanbetref nie (Bassett *et al.* 2006). Die ontdekking van so 'n herhalende strukturele mutasie wat verantwoordelik is vir sporadiese gevalle van skisofrenie in die bevolking het die vraag laat ontstaan of spontane KNV's, of spontane mutasies in die algemeen, 'n selfs groter rol speel in die genetiese samestelling van mense met psigiatriese versteurings. Die vinnig ontwikkelende genomiese en reeksvolgorde-tegnologie het dit moontlik gemaak om hierdie vraag te ondersoek. Daar is nou bewys gelewer dat unieke spontane mutasies bydra tot die genetiese etiologie van skisofrenie.

Genomwye skanderings vir spontane kopie-nommervariante

In een van die eerste KNV-skanderings om die rol van spontane strukturele mutasies in skisofrenie te ondersoek, is pasiënte met skisofrenie uit die Afrikaner-stigterbevolking gebruik. Xu *et al.* (2009) het 'n enkelnukleotied-polimorfisme (ENP), met 'n geen-reeksresolusie van 30 kb bekyk by 359



mense met skisofrenie, asook kontrolefamilie-triades. Die navorsers toon aan dat spontane KNV's beduidend meer algemeen teenwoordig is in sporadiese gevalle (met geen geskiedenis van siekte by 'n familielid van die eerste of tweede generasie nie) as by die kontroles (10.0% teenoor 1.3%). Sporadiese gevalle bevat slegs 1.5 keer meer oorgeërfde KNV's as kontroles, wat 'n kleiner toename verteenwoordig, van 20.0% tot 30.0% (Xu *et al.* 2009). Daar word aangetoon dat daar versterking tussen die gene, geaffekteer deur spontane KNV's, was wat geïmpliseer word in neurale ontwikkeling en RNA-prosessering. In sommige gevalle het spontane KNV's in een generasie oorgeërfde variante geword wanneer hulle oorgedra is na 'n volgende generasie. In der waarheid is dit in 'n komplementêre skandering aangetoon dat uniek oorgeërfde KNV's geassosieer word met oorerflike skisofrenie. Oorgeërfde KNV's was amper twee maal so algemeen in familiële gevalle as in sporadiese gevalle of kontroles (Xu *et al.* 2009). Hierdie bevindings het die wyd verspreide patogeniese rol van spontane KNV's uitgelig, asook die verskille in die genetiese argitektuur van familiële versus sporadiese gevalle van skisofrenie. Sporadiese skisofrenie is gekenmerk deur 'n duidelike verryking van uniek spontane KNV's en slegs 'n matige toename in die tempo van uniek oorgeërfde KNV's. Laasgenoemde blyk gene nie by voorkeur aan te tas nie. Skisofrenie in die familie daarenteen, word gekenmerk deur die verryking in uniek oorgeërfde KNV's wat gene aantast (het 'n hoër penetrasie), terwyl spontane mutasies minder prominent is (Xu *et al.* 2008).

Nog 'n genomewye soektog vir KNV's uitgevoer deur die SGENE + konsortium het bykomstige bewys gelewer van die rol van spontane KNV's (Stefansson *et al.* 2008). Hierdie studie het aanvaar dat weens negatiewe seleksie, die weglating van KNV's in skisofrenie uniek sal wees; gevolglik sal KNV's, wat voorkom in verskeie onverwante individue, deur onafhanklike spontane mutasies plaasvind. Hierdie navorsers vind drie spontane KNV's wat beduidend verband hou met psigose met 'n hoë waarskynlikheidsverhouding. Gevolglik, KNV's met 'n beduidende effek op siekterisiko kan miskien oorheersend wees tussen dié wat hul oorsprong het in spontane gebeure. Spontane strukturele mutasie kom met 'n redelike frekwensie voor en daardeur verskaf dit 'n konstante bron van unieke en hoogs penetrerende variante wat 'n poel van mutasie vorm wat weer geïmpliseer word in skisofrenie (Lupski 2007).

Uniek spontane variasie-ontdekking deur grootskaalse reeksbeplanning

Hoewel KNV-studies goeie aanvanklike resultate opgelewer het, is dit eers onlangs dat die volle bydrae van uniek spontane mutasies nagevors is. Xu *et al.* (2011) toets die hipotese dat spontane, proteïenveranderende mutasies substansieel bydra tot die genetiese komponent van skisofrenie. Die navorsers gebruik reeksbeplanning van die volgende generasie om spontane mutasies of enkelnukleotied-variante en klein insluitings of weglatings op 'n sistematiese, genomewye manier te bestudeer. Die eksoom van 53 Afrikaner familie-

trio's met 'n diagnose van skisofrenie of skiso-afektiewe versteuring is geskander. ('n Eksoom is deel van die genoom gevorm deur eksone waarvan die geenreekse bly in volwassens). Hierdie persone het geen geskiedenis van siekte by familieledede in die eerste of tweede generasie nie. Die kontrolegroep was 22 gesonde Afrikanerfamilie-trio's wat nie verwant is nie. In die aangetaste sporadiese gevalle vind Xu *et al.* (2011) 34 kandidate met spontane puntmutasies en vier spontane indels (insluiting en weglating). Onder die 34 spontane puntmutasies was 32 enkelnukleotied-mutasies nie-sinoniem en slegs twee sinoniem.

Onder die 32 nie-sinonieme mutasies het 19 evolusionêre behoue oorskot betrek. Drie van hierdie indels het gelei tot proteïenvervalsings en een het gelei tot 'n enkele aminosuurewglating. Hulle vind ook twee enkelnukleotied-variante, gelokaliseer binne voorspelbare skenker- of ontvanger- splitsingsetels, by die introniese gebied wat dit omsluit.

In die geheel bevind die navorsers dat 27 van die 53 pasiënte (~51%) minstens een spontane gebeurtenis dra. Dit was opvallend dat hierdie skandering 'n verhouding van nie-sinoniem ($n = 32$) tot sinoniem ($n = 2$) spontane mutasies van 16:1 toon. (Nie-sinonieme mutasie: indien 'n mutasie lei tot 'n verandering in die geënkodeerde polipeptied, is dit bekend as 'n nie-sinonieme mutasie; sinonieme mutasies daarenteen: indien 'n mutasie nie die polipeptiedproduk van 'n geen verander nie, word dit 'n sinonieme mutasie genoem). Dit is duidelik hoër as die 2.85:1 wat verwag sou word in 'n lukrake model. Verder ook is nie-sinonieme spontane puntmutasies in 'n groot oormaat gevind (~10-voudig), vergeleke met die neutrale mutasies relatief tot uniek oorgeërfde variante. Laasgenoemde sal waarskynlik minder bydra tot die patogenese van sporadiese gevalle. Die mutasies is ondersoek deur evolusionêre behoud na te gaan, sowel as die potensiaal van die spontane, proteïenveranderende mutasies om die struktuur of funksie van die geproduseerde proteïene te beïnvloed. Hierdie ondersoek toon die geïdentifiseerde mutasies het 'n groter potensiaal om proteïenstruktuur-funksie te beïnvloed as die uniek oorgeërfde variante. In die kontrolegroep identifiseer Xu *et al.* (2011) sewe eksotiese, spontane enkelnukleotied-variante, maar geen indelkandidate in sewe van die 22 kontrolepersone nie. Tussen hulle was vier nie-sinonieme wanmutasies en drie sinoniemes, 'n verhouding soos wat verwag sou word in neutrale omstandighede en baie na aan die verhouding vir normale funksionele variasie (1.14–1.45). Die geobserveerde verryking van nie-sinonieme, hoogs behoue, en ontwrigtende aminosuuremutasies tussen spontane gebeure by pasiënte, was sterk beduidend op 'n hoë moontlikheid van patogenisiteit. Dit is opmerklik dat al die mutasies gevind in sporadiese gevalle, voorgekom het in verskillende gene. Dit was voor statistiese evaluering vir enige spesifieke lokus en met een uitsondering was geen van die aangetaste gene voorheen onvoorwaardelik verbind aan skisofrenie nie. Die identifisering van herhalende mutasies in hierdie gene bewys dat dit siekte veroorsaak. Dit kan moontlik vereis dat duisende aangetaste individue ondersoek moet word.



Tussen die moontlike patogene gebeure was daar 'n wanmutasie binne-in 'n gebied wat evolusionêr behoue gebly het, genaamd die DGCR2-geen (DiGeorge Critical Region 2-geen). Hierdie bevinding is veral interessant wanneer gekyk word na vorige werk oor die 22q11.2-lokus.

Die DGCR2 enkodeer vir 'n voorgestelde transmembraan-aanhegtingreseptor en is hemisigoties weggelaat vanweë die herhalende spontane mikro-uitwissings by hierdie lokus. Die identifisering van dié ontwrigtende, spontane puntmutasie is gedoen in 'n pasiënt met 'n struktureel intakte 22q11.2-lokus.

In 'n onafhanklike, kleiner studie rapporteer Girard *et al.* (2011) 15 spontane mutasies in 8 van die 14 sporadiese gevalle. Dié verhouding is vergelykbaar met dié gerapporteer in die groter studie onder Afrikaners (Xu *et al.* 2011). Addisioneel en soortgelyk aan die studie van Xu *et al.* (2011), is al die mutasies wat geïdentifiseer is, nie sinoniem nie (Girard *et al.* 2011). Hoewel hulle geen proteïenvertakkende indels gevind het nie, rapporteer hulle dat vier van 15 mutasies niekoderend was. Dit is 'n syfer wat hoër is as wat ewekansig verwag sou word.

Die voorafgaande resultate saamgevat, dui daarop dat spontane mutasies 'n groot rol speel by skisofrenie. Hierdie resultate is verkry van die reeksbevestigingskanderings van die aanvang-eksoom. Die bevinding oor spontane KNV, enkelnukleotied-variasies, asook insluiting- en weglatingverhouding van 'n groep van sporadiese gevalle by Afrikaners, lewer sterk empiriese bewys dat spontane mutasies baie patogenies teenwoordig is in meer as die helfte van sporadiese gevalle van skisofrenie (Xu *et al.* 2011; Xu *et al.* 2012).

Verhoogde las van unieke mutasies

'n Samevatting van onlangse bevindings in die literatuur dui aan dat KNV's, enkelnukleotied-variasies, insluiting en weglating affekteer by 'n verskeidenheid van gene (Gothelf *et al.* 2007). Dit onderskryf die hipotese dat veelvuldige, uniek spontane (herhalende én unieke), asook oorgedraagde genetiese variante in moontlik honderde duidelike loki almal bydra tot die genetiese risiko van skisofrenie. Dit is moontlik weens die kompleksiteit van die neurale substrate wat aangetas word deur hierdie siekte. Dit betrek 'n groot mutasietekens wat baie gene insluit. Die presiese getal van hierdie gene, wat moontlik honderde kan beloop, moet nog bepaal word. Dit sal die sifting van etlike duisende families vereis. Dit is ook moontlik dat die nuut ontdekte loki kan uitloop op 'n kleiner getal algemene biologiese paaie of neurale netwerke om 'n algemene patroon van kliniese disfunksie of simptome te genereer. Hierdie verklaring is nog nie bevestig nie. Die neurale kompleksiteit wat skisofrenie onderlê, tesame met die relatief hoë mutasieverhouding, gee 'n moontlike verklaring vir die bestaan en voortbestaan van skisofrenie onder verskeie menslike bevolkings, ongeag die uiteenlopende omgewingsfaktore en ernstige inkorting van voortplantingspotensiaal (Girard *et al.* 2011).

Spontane geenmutasies dui op 'n patroon van genetiese en neurale kompleksiteit

In 'n onlangse publikasie van ons groep is die bewys van spontane oorsake in skisofrenie geëvalueer (Xu *et al.* 2012).

Die bydrae van uniek spontane kopienommer-variante (KNV) tot skisofrenie is goed bevestig (Karayiorgio *et al.* 1995; Xu *et al.* 2011). Die bydrae van spontane nukleotiedvariante is nog nie omvattend ondersoek nie. Eksoom-reeksbepaling van 146 Afrikaner-familiëtrios van pasiënte met 'n diagnose van skisofrenie of skiso-afektiewe versteuring is voltooi (Xu *et al.* 2012).

Vier-en-dertig (34) onaangetaste kontrole-trios is nagegaan. Die eksoom van 85 pasiënte, met skisofrenie of skiso-afektiewe versteuring, uit die Verenigde State van Amerika is ook nagegaan. Draers van uniek spontane KNV's (> 30kb) is uitgesluit. Die uitsluiting is gebaseer op vorige KNV-skanderings van hierdie groepe pasiënte. Die navorsers gebruik 'n analitiese pyplyn wat voorheen beskryf is en 'n reeks filters, insluitend die finale validasie deur Sanger se reeksbevestiging van alle familieledes (Xu *et al.* 2011). Meer as 90% van die enkelnukleotied-variante (ENV'e) en 20% van insluiting of weglating is geëvalueer.

Wanneer ons kyk na fenotipiese ooreenstemmings in die bevindings, sien ons 'n ooreenkoms tussen die ouderdom van die vader by die pasiënt se geboorte en die getal spontane gebeure per afstammeling, maar geen ander beduidende verskille is gevind nie. Individue met jonger vaders (22–30 jaar oud tydens pasiënt se geboorte) neig om 'n laer gemiddelde spontane mutasietempo te hê as diegene met ouer vaders (Xu *et al.* 2012).

Gene, aangetas deur spontane variante, is in ons studie nie beduidend verteenwoordigend in twee voorheen vasgestelde, uitgebreide lysse van sinaptiese gene nie. Verder het padanalise, deur gebruik te maak van die DAVID-annotasie-instrument nie enige beduidende verrykte funksionele groepe gevind nie (Xu *et al.* 2012). Evaluasie van proteïene met proteïen-interaksies (PPI) toon 'n beduidend groter verbintenis tussen mutasietekens as wat verwag sou word as wanneer dit toevallig was. Multigene PPI-groepe sluit een in wat sentreer op MTOR en een wat sentreer op CANX, wat weer insluit 'n ekstrasellulêre matriks- en selaanhegtingsproteïene. Dit suggereer dat diverse skisofrenie-risikogene moontlik kan uitloop op 'n korter lys van funksionele modules.

Die navorsers ondersoek verder tot watter mate verryking in funksioneel spontane gebeure bepaal word deur die ontwikkelingspatroon van breinuitdrukking van die gemuteerde gene (Kang *et al.* 2011; Colantuoni *et al.* 2011). In beide die hippokampus en dorsolaterale prefrontale korteks, twee breinareas geïmpliseer in skisofrenie, is die grootste effek waargeneem by gene wat die hoogste uitgedruk



word in die prenatale periode (Barch & Ceaser 2012). Wat belangrik is, is dat daar 'n funksionele ooreenkoms is tussen die prenatale uitdrukking van teikengene en die neuro-ontwikkelingsimpak van die ooreenkomstige mutasies. Spesifiek by pasiënte wat spontane mutasies dra, was dié met mutasies in prenataal gebaseerde gene meer geneig tot veelvoudige (> 3) gedragsabnormaliteite in die eerste 10 jaar van hul lewe, sowel as 'n erger funksionele uitkoms ná die aanvang van die siekte (Sobin *et al.* 2003). Verder het die vergelyking van al die gene met funksioneel spontane gebeure in ons families met skisofrenie, saam met die identifisering van die hele spektrum outistiese versteurings (ASV), 15 gedeelde gene opgelewer. (Neale *et al.* 2012; Sanders *et al.* 2012; O'Roak *et al.* 2012; Iossifov *et al.* 2012). Dit is 'n oorvleueling binne kansverwagting ($p = 0.29$). Daar moet opgelet word dat 11 van die 15 gedeelde gene (73%) ingesluit is in ons lys van teikens vir prenatale uitdrukkingssydigheid. Die kans dat die oorvleueling 'n toevallige bevinding is, is baie laag ($p = 0.004$).

Die groot meerderheid van teikens vir prenatale uitdrukkingssydigheid kom sterk na vore gedurende die eerste en tweede trimester van swangerskap. Hulle toon 'n oorverteening van kerngene betrokke by chromatienhermodellering, kernvervoer en transkripsiebeheer, sowel as in proteïenoordrag- en afbou. Die teikens sluit ook gene in betrokke by interaksies van sel tot sel en interaksies van sel tot matriks, 'n onderafdeling wat interaksie toon met twee sleutel-aanhegtingsproteïene: THBS1 en ITGA6 (Christopherson *et al.* 2005; Georges-Labouesse *et al.* 1998). Laasgenoemde twee is ook betrokke by sinaptogenese, aksionale groei en kortikale laagvorming. Navorsers bevestig dat gene met sydigheid vir prenatale uitdrukking hoogs verryk is met mikro-RNA-teikens en daar word ook bevind dat 'n nominaal beduidende verryking van hsa-mir 367- en hsa-mir 1244-teikens teenwoordig is (Colantuoni *et al.* 2011). In vergelyking hiermee sal die risiko bygedra deur teikens van postnatale uitdrukkingssydigheid verband hou met hul betrokkenheid in intrasellulêre seinprosesse (GTPase, DAG- of die kalsium-modelleringsein), wat diverse aspekte van neuronale konektiwiteit reguleer.

Verder het die navorsers probeer vasstel watter individuele gene meer geneig sal wees om tot die risiko van siekte by te dra. Hulle vind vier gene wat verander is deur twee spontane gebeure elk in nieverwante pasiënte (drie van hierdie gene was geaffekteer in pasiënte uit twee verskillend getoetste bevolkings). Hierdie gene is twee maal getref deur 'n kombinasie van niekoderende mutering en 'n spontane wanmutasie ENV (DPYD), of 'n kombinasie van 'n splitslissingsetel. Daar was óf 'n spontane wanmutasie ENV (TRRAP en VPS39) óf indel (invoeging of weglating) (LAMA2). Geeneen van hierdie gene is aangetas in die Afrikaner- of die SSC-kontrolegroep nie en geen so 'n wanmutasie is gerapporteer vir enige geen in die 488 spontane gebeure in die SSC-kontrole-groep nie. Gegewe die getal spontane mutasies in ons datastel, sal die observasie van vier sulke herhalende gebeure 'n p -waarde van 0.002 hê. Daar is een van die vier kombinasies (in LAMA2) wat individueel statisties beduidend is ($p = 0.017$).

LAMA2 encodeer die laminin alpha-tweeeketting, wat een van die twee subeenhede van laminin twee en vier verteenwoordig en bind aan ITGA6, 'n teiken vir prenatale uitdrukkingssydigheid. Homosigotiese mutasies in LAMA2 lei tot variërende penetrasie tot oorerflike spierdistrofie, gekenmerk deur SSS-betrokkenheid, insluitend witstofabnormaliteite, kognitiewe inkorting, konvulsies en neuronale migrasiedefekte (Jones *et al.* 2001). 'n Spontane mutasie in die isoform LAMA1 is ook deur 'n ander studiegroep oor skisofrenie beskryf.

DPID (Dihidropiramidien dehidrogenase) is die aanvanklike en tydbepalende faktor in die pad van pirimidien-katabolisme (Van Kuilenburg *et al.* 1999). Dit moduleer die produksie van beta-alanien, 'n neuromodulator van transmissie-inhibering in die brein (Tiedje *et al.* 2010). Ons identifiseer een wanmutasie en een niekoderende mutasie ENV by beide die Afrikaner- en die Amerikaanse groep. Abnormale urinêre ekskresie van timien en urasiel bevestig DPID-gebrek of tekort by die wanmutasiedraer. Heterosigotiese weglatings wat óf DPID insluit óf daarin is, sowel as gewysigde uitdrukking is beskryf in die spektrum outistiese versteurings en intellektuele inkorting (Ben-David *et al.* 2011; Carter *et al.* 2011; Willemsen *et al.* 2011). Geen outistiese kenmerke of intellektuele inkorting was teenwoordig in ons draer van die DPID-mutasie nie, wat dui op 'n variasie in uitdrukkingssydigheid.

Die splitslissingmutasie in TRRAP2 beïnvloed posisie +6 tot dié se aansluitingposisie en voorspel verbreking van splitslissing en binding van die SRPSS-faktor binne-in die splitsbevoorderaar. Dit is opmerklik dat TRRAP en VPS39 ook mutasies ondergaan in die spektrum outistiese versteurings (O'Roak *et al.* 2012).

Die geïdentifiseerde funksioneel spontane mutasies is vergelyk met die spontane KNV's, voorheen geïdentifiseer in ons twee groepe (22 KNV's wat 156 gene beïnvloed) (Xu *et al.* 2008; Malhotra *et al.* 2011). Vyf gene (DGCR2, TOP3B, CIT, STAG1 en SMAP2) is verander deur beide spontane ENV en KNV's, twee van hulle in pasiënte uit die twee verskillende bevolkings wat getoets is. Twee van hierdie gene val binne die 22q11.2-lokus wat vatbaarheid vir skisofrenie aandui (Xu *et al.* 2012).

Ons bevindings impliseer die bydrae van 'n diverse stel spontane mutasies met 'n relatief hoë, maar onvolledige penetrasie tot die genomiese argitektuur van skisofrenie in die konteks van 'n balansmodel vir mutasieseleksie. Dit beklemtoon die belang van die gebruik van 'n familiestekproef, waar die siektegeskiedenis versigtig vasgestel is, om hul rol uit te lig. In dié verband, as ons fokus op ons fyn uitgewerkte Afrikanergroep, voorspel ons dat ten minste 17.6% van sporadiese gevalle 'n spontaan patogeeniese, eksoniese mutasie dra en ten minste 9.9% 'n spontane KNV dra (Xu *et al.* 2008; Xu *et al.* 2012). Met ander woorde, sulke mutasies verklaar 'n kwart tot 'n derde van alle sporadiese gevalle. Gegewe dat die resultate van skanderings van nie-eksoniese gebiede, nog na vore moet



kom, verteenwoordig hierdie syfers onderrapportering. Net so belangrik is die bydrae van ons bevindings tot die verstaan van die neurale argitektuur van 'n risiko vir skisofrenie. Daar word bespiegel dat die getal loki vir skisofrenie meer as 850 is. Ons bevindings ontmasker die beduidende sensitiviteit van die neurale netwerke wat die vatbaarheid tot skisofrenie onderlê, tot presiese vlakke of aktiwiteit van baie diverse proteïene en seinmodules. Daar is voorgestel dat die fokus op netwerke moontlik meer gelykmatig kan wees, met die heterogenisiteit van skisofrenie in ag geneem, eerder as om te fokus op ander voorgestelde meganismes wat weer toegespits is op spesifieke neurosenders of seltypes (Arguello & Gogos 2012).

Verder word aangetoon dat in die bepaling van siekerisiko, moet nie slegs die funksie van die teikengeen in ag geneem word nie. Die tydsberekening van die genetiese aanvalle is van kritiese belang. Spontane mutasies affekteer gene met diverse funksies en ontwikkelingsprofile, maar ons omskryf 'n substansiële bydrae van mutasies in ontwikkelingsregulerende gene met hoër uitdrukking gedurende die vroeë en midfetale leeftyd. Verder is aangetoon dat sulke mutasies verryk word in die geval van volwasse pasiënte met prominente, vroeë prepsigoties versteurde gedrag. Ons bevindings verskaf 'n meganistiese konteks waarin epidemiologiese korrelasies tussen verskeie prenatale omgewingsaanvalle gedurende die eerste en tweede trimester van swangerskap en die risiko vir skisofrenie oorweeg kan word (Gilman *et al.* 2012). Die feit dat die uitdrukking van baie gene vir prenatale sydigheid onder streng mikro-RNA-kontrole is, kan die skakeling tussen mikro-RNA-disregulasie en psigiatriese verstourings verklaar (Start *et al.* 2008). Die uitdaging wat oorbly, is om die biologiese prosesse en neurale netwerke te identifiseer en te bepaal hoe hulle geaffekteer word. Onbevooroordeelde netwerkbasis-benaderings sowel as dier- en sellulêre modelle van herhalende mutasies sal waardevol wees vir dié doel (Karayiorgou *et al.* 2012).

Slot

Baie vordering is gemaak in die genetica van skisofrenie. Die reaksie van kliniese navorsers, befonders, families en pasiënte wat ly aan skisofrenie is dikwels dié van teleurstelling. Hierdie persone voer aan die ontdekkings verklaar slegs 'n klein gedeelte van die genetiese risiko vir skisofrenie en vertel ons eintlik min van die aard van skisofrenie.

Die *Genetic and Neural Complexity in Psychiatry 2011 Working Group* (Karayiorgou *et al.* 2012) maak 'n paar aanbevelings oor die vraag van wat die beste pad vorentoe is om verklarende brûe te bou tussen menslike genetica, diermodelle en neurale netwerke:

- Navorsingspogings en befonding moet gerig wees op die identifikasie van unieke, hoogs penetrerende mutasies en die genereer van 'n paar dier- en sellulêre modelle, geanker in mutasies.

- Baie van die huidige teorieë oor psigiatriese siekte-etologie moet hersien of uitgeskakel word, byvoorbeeld disregulasie van neurosendersisteme en afgeleides daarvan.
- Meer gesofistikeerde siektehipoteses soos onbevooroordeelde, netwerkgesentreerde benaderings behoort gevolg te word.
- Die beste manier om samelopende patofisiologiese meganismes vas te stel is om te begin met genetiese ontdekkings in mense, want dit gooi hipoteses oor meganismes eenkant en toets geenfunksie sonder vooroordeel.
- Vir die uiteindelige eksperimente, wat die basis sal vorm van gevolglke, funksionele en verklarende analise, benodig navorsers oorsaaklike mutasies eerder as geassosieerde variante (dit betrek polarisasie tussen aanhangers van GWAS van algemene variante en die voorstanders van unieke variantontdekkings).
- Steekproewe wat gebruik word, moet familiegebaseerd wees, waar die spontane aard van mutasies of die medeskeiding met siekte bepaal kan word – en dit bly 'n veilige hawe.
- Nuwe genetiese bevindings kan moontlik lei tot die herdefiniëring van diagnostiese kriteria, wat moontlik spesifieke terapeutiese implikasies kan hê.
- Die doelstelling moet wees om die oorsaak van siekte te verstaan, en gevolglik moet ons met die siekte self begin, eerder as die fenotipes wat 'n onbekende afstand van die siekte af is en wat geneties net so kompleks kan wees soos die siekte waarmee dit verband hou.
- Die genereer van 'n kern van sowat 'n dosyn diermodelle vir elke siekte-entiteit, geanker op 'n werklik herhalende mutasie wat geassosieer is met goed gedefinieerde en noue kliniese presentering sal netwerkgebaseerde analise fasiliteer.
- Multivlak-analise sal nodig wees vir die toets van oorsaaklike verbindings in bevindings, op verskeie hiërargiese vlakke van die aangetaste netwerk.
- Op dieselfde manier sal vooruitgang in die herprogrammering van velselle van pasiënte se neurone die moontlikheid van sellulêre siektemodelle daarstel.

As ons die genetiese kompleksiteit in ag neem, sal hierdie benadering meer produktief en betroubaar wees as dit fokus op pasiënte wat herhalende, hoogs penetrerende mutasies dra eerder as om agnosties te wees ten opsigte van die onderliggende genotipe.

Die oorkoepelende doel is om nuwe en effektiewe behandeling te ontwikkel en om die onttrekking van farmaseutiese maatskappye uit psigiatriese siektenavorsing om te keer. Op die lang duur sal die biologiese rekonstruksie van psigiatriese diagnose die oorweging van mediese behandeling bevorder en sal die beleggingsrisiko aansienlik verminder. In die pogings om geneesmiddels te ontwikkel sal gefokus word op kleiner, biologies gestratifiseerde subgroepe van pasiënte wat gerig word deur genetiese bevindings of op spesifieke netwerke en sinaptiese prosesse. Op die kort termyn behoort bestaande geneesmiddels (met bekende veiligheidsprofile)



vir 'n nuwe doel geherposisioneer en aangewend te word, deur gebruik te maak van 'n toenemende getal betroubare genetiese dier- en sellulêre modelle. Daar behoort belê te word in basiese wetenskap van hoë kwaliteit om vooruitgang te maak en om verklarende brûe te bou van die meganisme tot siekte oor die klinies belangrike probleme van psigiatriese siekte (Karayiorgou *et al.* 2012).

Baie vordering is gemaak in psigiatriese genetica. Hierdie vordering belooft om ons veilig te stuur in die rigting van verbeterde psigiatriese siektenavorsing. Tans onttrek baie farmaseutiese maatskappye hulle van genesmiddelontwikkeling. Laasgenoemde lei ons tot die slegste tye in hierdie navorsingsveld. Daar is 'n duidelike gevaar van verspeelde kansen en die sin van 'n duidelike definiering van die pad vorentoe (Karayiorgou *et al.* 2012).

Erkenning

Die outeur het 'n samewerkingsooreenkoms met die laboratorium vir neurogenetika van Columbia University, New York, onder leiding van Prof. M. Karayiorgou. Die outeur het 'n gradering van die Nasionale Navorsingstigting (NS) en ontvang sedert 2010 'n jaarlikse aansporingsbeurs.

Mededingende belange

Die outeur verklaar hiermee dat hy geen finansiële of persoonlike verbintenis het met enige party wat hom nadelig of voordelig kon beïnvloed het in die skryf van hierdie artikel nie.

Literatuurverwysings

- American Psychiatric Association, 1994, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV*, American Psychiatric Association, Washington D.C.
- Arguello, P.A. & Gogos, J.A., 2012, 'Genetic and cognitive windows into circuit mechanisms of psychiatric disease', *Trends in Neurosciences* 35, 3–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2011.11.007>
- Barch, D.M. & Ceaser, A., 2012, 'Cognition in schizophrenia: Core psychological and neural mechanisms', *Trends in Cognitive Sciences* 16, 27–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2011.11.015>
- Bassett, A.S., Chow, E.W., AbdelMalik, P., Gheorghiu, M., Husted, J. & Weksberg, R., 2003, 'The schizophrenia phenotype in 22q11 deletion syndrome', *American Journal of Psychiatry* 160, 1580–1586. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.160.9.1580>
- Ben-David, E., Granot-Hershkovitz, E., Monderer-Rothkoff, G., Lerer, E., Levi, S. & Yaari, M., 2011, 'Identification of a functional rare event in autism using genome-wide screen for mono allelic expressions', *Human Molecular Genetics* 20, 3632–3641. <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddr283>
- Carter, M.T., Nikkel, S.M., Fernandez, B.A., Marshall, C.R., Noor, A. & Lionel, A.C., 2011, 'Hemizygous deletions on chromosome 1p21.3 involving the DPYD gene in individuals with autism spectrum disorder', *Clinical Genetics* 80, 435–443. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.2010.01578.x>
- Christopherson, K.S., Ullian, E.M., Stokes, C.C.A., Mallowney, C.E., Hell, J.W. & Agah, A., 2005, 'Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis', *Cell* 120, 421–433. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.020>
- Cohen, J.C., Kiss, R.S., Pertsemliadis, A., Marcel, Y.L., McPherson, R. & Hobbs, H.H., 2004, 'Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol', *Science* 305, 869–872. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1099870>
- Colantuoni, C., Lipska, B.K., Ye, T., Hyde, T.M., Tao, R. & Leek, J.T., 2011, 'Temporal dynamics and genetic control of transcription in the human prefrontal cortex', *Nature* 478, 519–523. <http://dx.doi.org/10.1038/nature10524>
- Crow, J.F., 2000, 'The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation', *Nature Reviews Genetics* 1, 40–47. <http://dx.doi.org/10.1038/35049558>
- Flanagan, S.E., Patch, A.M. & Ellard, S., (2010), 'Using SIFI and PolyPhento predict loss-of-function and gain-of-function mutations', *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 14, 533–537. <http://dx.doi.org/10.1089/gtmb.2010.0036>
- Georges-Labouesse, E., Mark, M., Messaddeq, N. & Gansmuller, A., 1998, 'Essential role of a6 integrins in cortical and retinal lamination', *Current Biology* 8, 983–986. [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-9822\(98\)70402-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-9822(98)70402-6)

- Gilman, S.R., Chang, J., Xu, B., Bawa, T.S., Gogos, J.A. & Karayiorgou M., 2012, 'Diverse types of genetic variation converge on functional gene networks involved in schizophrenia', *Nature Neuroscience* 12, 1723–1728. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3261>
- Girard, S.L., Gauthier, J., Noreau, A., Xiong, L., Zhou, S. & Jouan, L., 2011, 'Increased exonic de novo mutation rate in individuals with schizophrenia', *Nature Genetics* 43, 860–863. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.886>
- Goldstein, D.B., 2009, 'Common genetic variation and human traits', *New England Journal of Medicine* 360, 1696–1698. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMp0806284>
- Gothelf, D., Feinstein, C., Thompson, T., Gu, E., Penniman, L. & Van Stone, E., 2007, 'Risk factors for the emergence of psychotic disorders in adolescents with 22q11.2 deletion syndrome', *American Journal of Psychiatry* 164, 663–669. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.164.4.663>
- lafrate, A.J., Feuk, L., Rivera, M.N., Listewnik, M.L., Donahoe, P.K. & Qi, Y., 2004, 'Detection of large-scale variation in the human genome', *Nature Genetics* 36, 949–951. <http://dx.doi.org/10.1038/ng1416>
- Iossifov, I., Ronemus, M., Levy, D., Wang, Z., Hakker, I. & Rosenbaum, J., 2012, 'De novo gene disruptions in children on the autistic spectrum', *Neuron* 74, 285–299. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.009>
- Karayiorgou, M., Flint, J., Gogos, J. & Malenka, R.C., 2012, 'The best of times, the worst of times for psychiatric disease', *Nature Neuroscience* 15, 811–812. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3115>
- Karayiorgou, M., Morris, M.A., Morrow, B., Shprintzen, R.J., Goldberg, R. & Borrow, J., 1995, 'Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11', *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92, 7612–7616. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.92.17.7612>
- Jones K.J., Morgan, G., Johnston, H., Tobias, V., Ouvrier, R.A., Wilkinson, I. & North K.N., 2001, 'The expanding phenotype of laminin a2 cahn (merosin) abnormalities: Case series and review', *Journal of Medical Genetics* 38, 649–657. <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.38.10.649>
- Kang, H.J., Kawasawa Y.I., Cheng, F., Zhu, Y., Xu, X. & Li, M., 2011, 'Spatio-temporal transcriptome of the human brain', *Nature* 478, 483–489. <http://dx.doi.org/10.1038/nature10523>
- Laursen, T.M. & Munk-Olsen T., 2010, 'Reproductive patterns in psychotic patients', *Schizophrenia Research*, 121, 234–240. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2010.05.018>
- Lichtenstein, P., Yip, B.H., Bjork, C., Pawitan, Y., Cannon, T.D., & Sullivan, P.F., 2009, 'Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: A population-based study', *Lancet* 373, 234–239. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60072-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60072-6)
- Lupski, J.R., 2007, 'Structural variation in the human genome', *New England Journal of Medicine* 356, 1169–1171. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMcibr067658>
- Malhotra D., McCarthy, S., Michaelson, J.J., Vacic, V., Burdick, K.E. & Yoon, S., 2011, 'High frequency of de novo CNVs in bipolar disorder and schizophrenia', *Neuron* 72, 951–963. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.007>
- Manolio T.A., Collins, F.S., Cox, N.J., Goldstein, D.B., Hindorf, L.A., Hunter, D.J., 2009, 'Finding the missing heritability of complex diseases', *Nature* 461, 747–753. <http://dx.doi.org/10.1038/nature08494>
- Murphy, K.C., Jones, L.A. & Owen, M.J., 1999, 'High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome', *Archives of General Psychiatry* 53, 940–945. <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.56.10.940>
- Neale, B.M., Kou, Y., Liu, L., Ma'ayan, A., Samocha, K.E. & Sabo, A., 2012, 'Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders', *Nature* 485, 242–245. <http://dx.doi.org/10.1038/nature11011>
- O'Roak, B.J., Vives, L., Girirajan, S., Karakoc, E., Krumm, N. & Coe, B.P., 2012, 'Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations', *Nature* 485, 246–250. <http://dx.doi.org/10.1038/nature10989>
- Pulver, A.E., Nestadt, G., Goldbert, R., Shprintzen, R.J., Lamacz, M. & Wolyniec, P.S., 1994, 'Psychotic illness in patients diagnosed with velo-cardio-facial syndrome and their relatives', *Journal of Nervous and Mental Disease* 182, 476–478. <http://dx.doi.org/10.1097/00005053-199408000-00010>
- Redon, R., Ishikawa, S., Fitch, K.R., Feuk, L., Perry, G.H. & Andrews, T.D., 2006, 'Global variation in copy number in the human genome', *Nature* 444, 444–454. <http://dx.doi.org/10.1038/nature05329>
- Rodriguez-Murillo, L., Gogos, J.A. & Karayiorgou M., 2012 'The genetic architecture of schizophrenia: New mutations and emerging paradigms', *Annual Review of Medicine* 63, 63–80. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-med-072010-091100>
- Roos, J.L., 2008, 'Die Afrikaaner en skisofrenie: 'n Genetiese studie', *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie* 27(2), 73–87. <http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v27i2.83>
- Sanders, S.J., Murtha, M.T., Gupta, A.R., Murdoch, J.D., Raubeson, M.J. & Willsey, A.J., 2012, 'De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism', *Nature* 485, 237–241. <http://dx.doi.org/10.1038/nature10945>
- Sebat, J., Lakshmi, B., Troge, J., Alexander, J., Young, J. & Lundin, P., 2004, 'Large-scale copy number polymorphism in the human genome', *Science* 305, 525–528. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1098918>
- Sobin, C., Roos, J.L., Pretorius, H., Lundy, L.S. & Karayiorgou, M., 2003, 'A comparison study of early non-psychotic deviant behaviour in Afrikaner and US patients with schizophrenia or schizoaffective disorder', *Psychiatry Research* 117, 113–125. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-1781\(02\)00321-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-1781(02)00321-9)
- Start, K.L., Xu, B., Bagchi, A., Lai, W., Liu, H. & Hsu, R., 2008, 'Altered brain micro RNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model', *Nature Genetics* 40, 751–760. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.138>



- Stefansson, H., Rujescu, D., Cichon, S., Pietiläinen, O.P.H., Ingason, A. & Steinberg, S., 2008, 'Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia', *Nature* 445, 232–236. <http://dx.doi.org/10.1038/nature07229>
- Sullivan, P.F., Kendler, K.S. & Neale, M.C., 2003, 'Schizophrenia as a complex trait: Evidence from a meta-analysis of twin studies', *Archives of General Psychiatry* 60, 1187–1192. <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.60.12.1187>
- Tandon, R., Keshaven M.S. & Nasrallah H.A., 2008, 'Schizophrenia, "just the facts": What we know in 2008:2. Epidemiology and etiology', *Schizophrenia Research* 102, 1–18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2008.04.011>
- The 1000 Genomes Project Consortium, 2010, 'A map of human genome variation from population-scale sequencing', *Nature* 467, 1061–1073.
- Tiedje, K.E., Stevens, K., Barnes, S. & Waever, D.F., 2010, 'b alanine as a small molecule neurotransmitter', *Neurochemistry International* 57, 177–188. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2010.06.001>
- Valdmanis, P.N., Verlaan, D.J. & Rouleau, G.A., 2009, 'The proportion of mutations predicted to have a deleterious effect differs between gain and loss of function genes in neurodegenerative disease', *Human Mutation* 30, 481–489. <http://dx.doi.org/10.1002/humu.20939>
- Van Kuilenburg, A.B., Vreken, P., Abeling, N.G.G.M., Bakker, H.D., Meinsma, R. & Van Lenthe, H., 1999, 'Genotype and phenotype in patients with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency', *Human Genetics* 104, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1007/PL00008711>
- Wiehahn, G.J., Bosch, G.P., Du Preez, R.R., Pretorius, H.W., Karayiorgou, M. & Roos, J.L., 2004, 'Assessment of the frequency of the 22q11 deletion in Afrikaner schizophrenic patients', *The American Journal of Medical Genetics* 124B(1), 1–3. <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2011-100294>
- Willemssen, M.H., Vallès, A., Kirkels, L.A.M.H., Mastebroek, M., Loohuis, N.O. & Kos, A., 2011, 'Chromosome 1p22.3 microdeletions comprising DPYD and MIR 137 are associated with intellectual disability', *Journal of Medical Genetics* 48, 810–818.
- Xu, B., Roos, J.L., Levy, S., Van Rensburg, E.J., Gogos, J.A., Karayiorgou, M., 2008, 'Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia', *Nature Genetics* 40, 880–885. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.162>
- Xu, B., Woodroffe, A., Rodriguez-Murillo, L., Roos, J.L., Van Rensburg, E.J. & Abecasis, G.R., 2009, 'Elucidating the genetic architecture of familial schizophrenia using rare copy number variant and linkage scans', *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 16746–16751. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0908584106>
- Xu, B., Roos, J.L., Dexeimer, P., Boone, B., Plummer, B. & Levy, S., 2011, 'Exome sequencing supports a de novo mutational paradigm for schizophrenia', *Nature Genetics* 43, 864–868. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.902>
- Xu, B., Ionita-Laza, I., Roos, J.L., Boone, B., Woodrick, S. & Sun, Y., 2012, 'De novo gene mutations highlight patterns of genetic and neural complexity in schizophrenia', *Nature Genetics* 42, 1365–1371. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.2446>
- Yang, J., Visscher, P.M. & Wray, N.R., 2010, 'Sporadic cases are the norm for complex disease', *European Journal of Human Genetics* 18, 1039–1043. <http://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2009.177>