

Genetik Epidemiyolojide Kullanılan Bazı Araştırma Tasarımları

Some of Research Designs That Used in Genetic Epidemiology: Review

Esra PAMUKÇU,^a
Yrd.Doç.Dr. Ali ÖZER,^b
Doç.Dr. Cemil ÇOLAK^c

^aİstatistik Bölümü,
Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi, Elazığ
^bHalk Sağlığı AD,
^cBiyostatistik AD,
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Malatya

Geliş Tarihi/Received: 02.11.2011
Kabul Tarihi/Accepted: 23.01.2012

*Bu makalenin bir özeti, poster çalışması olarak
14. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi
(4-7 Ekim 2011, Trabzon)'nde tebliğ edilmiştir.*

Yazışma Adresi/Correspondence:
Esra PAMUKÇU
Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi,
İstatistik Bölümü, Elazığ,
TÜRKİYE/TURKEY
esra_pamukcu@hotmail.com

ÖZET Genetik epidemiyoloji, insan toplumunda ve onların aileden miras kalan özelliklerinde, hastalığa yol açan gen ve çevresel faktörlerin etkileşimini inceleyen bir bilim dalıdır. Son yıllarda kullanılmaya başlanan tüm-genom çaplı araştırmalar, geniş hasta ve kontrol gruplarının, kısa sürede ve yüksek çözünürlükle analiz edilmesini mümkün kılarak genetik çalışmalara ivme kazandırmış, kalıtsal hastalıklara genetik bakışı farklılaştırmış ve yeni kavramlar yüklemiştir. Böylece genetiğin sadece basit, yüzeysel ve nadir karakteristiklerin kalıtımı ile ilgilendiği düşüncesi, günümüzde hayatın temel şekillenme süresinde genlerin oynadığı rolün anlaşılması şekline dönüşmüştür. Türkiye’de halk sağlığı çalışmalarında epidemiyolojik yöntemler sık olarak kullanılırken, genetik faktörlerin halk sağlığı üzerindeki olası etkilerinin incelenmesine duyulan ihtiyaç nedeniyle, bu alanda çalışan klinisyenlerin, genetik epidemiyoloji konusundaki ilgisinin arttığı gözlemlenmektedir. Epidemiyoloji, genellikle toplum tabanlı örnekleme kullanarak akraba olmayan kişiler üzerinde çalışırken; genetik epidemiyoloji, hastalıkla alakalı bir aile öyküsüne sahip, genetik olarak yüksek risk grubunda ve akraba olan belirli kişiler üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle genetik çalışmalarda kullanılan çalışma tasarımları da epidemiyolojide kullanılan genel tasarımlardan belirli şekillerde farklılıklar gösterebilmektedir. Bu derlemenin amacı, epidemiyolojik araştırmalarda kullanılan olgu kontrol ve kohort araştırma tasarımlarının, hastalıkların genetik yapı ve çevre ile olan ilişkisini incelerken nasıl kullanıldığı, bu tür araştırmaların planlama ve analizinde dikkat edilmesi gereken konuları açıklamak amacıyla literatürde var olan bazı makalelerin ve kitapların incelenmesi ve elde edilen bilgilerin özetlenmesidir.

Anahtar Kelimeler: Genetik araştırma; epidemiyolojik araştırma tasarımları

ABSTRACT Genetic epidemiology is a discipline that studies the interaction of genes and environmental factors that cause the disease in human society and properties inherited from their families. Whole genome studies which are used in recent years evoked the analysis of large patients and control groups within short time and high resolution and accelerated genetic studies also caused the different view to the inherited disease and brought a new concept as well. Thus, the idea of genetic just interest inheritance of characteristics in a simple, superficial and infrequent has turned into understanding the role of genes in the basic embodiment of the process of life in today. It is observed that although the epidemiological methods are commonly used in public health studies in Turkey, because of the need to examine of the possible effects on public health of genetic factors, the interest about genetic epidemiology of clinicians working in this field has increased. While epidemiology generally involves studies of unrelated individuals, often using population based sampling, genetic epidemiology focuses on related individuals who has a family history and within the high-risk group genetically. For this reason, the study designs that used in genetic epidemiology may vary in certain ways from general designs that used in the epidemiology. The purpose of this review is to explain how to use case control and cohort study designs that used in epidemiology to examine the relationship between genetic and environmental factors on disease and to summarize the information obtained from some of the articles and books which existing in the literature on the issues that needed to be considered in these research planning and analyzing

Key Words: Genetic research; epidemiologic research design

İnsan Genom Projesi ve onu takip eden teknolojiler, 2000'li yıllarda genetikteki tüm paradigmaları değiştirmiş ve hastalık tanımında yeni bir dönem açılmıştır. Bireylerin genetik yapısı; dış görünüş gibi gözle görülür özelliklerin yanı sıra hastalıklara yatkınlığını, hastalık sürecini ve tedaviye/ilaçlara yanıtını belirler. Genetiğin hastalıklara katkısını anlama, hastalık mekanizmalarını çözmede ve dolayısıyla da tedavi yolundaki en önemli aşamadır.¹ Klinik uygulamalarda genetiğin başlıca önemi, büyük bir grup hastalığın etiolojisinde mutasyon ve genetik farklılıkların rolünü açıklamaktır.² Hastalıkların sıklık, dağılım ve nedenlerini araştırmak, hastalık gelişiminde rol oynayan faktörlerin ne oranda genetik ve/veya çevresel kökenli olduğunu incelemek ve (varsa) genetik yapı-çevre etkileşim boyutunu ortaya çıkarmak konusunda kullanılan yöntem bilimi “genetik epidemiyoloji” olarak isimlendirilmektedir.³ Epidemiyoloji, genellikle toplum tabanlı örnekleri kullanarak akraba olmayan kişilerle çalışma yaparken, genetik epidemiyoloji belirli bir aile öyküsüne sahip akraba olan kişiler üzerine yoğunlaşmaktadır.⁴

Genetik epidemiyoloji, çalışma sahası oldukça yeni olan bir bilim dalıdır. Genetik epidemiyolojinin ebeveyn disiplinleri olan genetik ve epidemiyoloji, son bir yüzyıl boyunca gelişen disiplinler olmasına rağmen, bu iki terimin birlikte ilk kullanımı 1954 yılında insan genetiği üzerine basılan bir ders kitabındaki “Genetik ve Epidemiyoloji” başlıklı bir bölümde görülmüştür. 1980'lere kadar da genetik epidemiyoloji teriminin kullanımı yaygın olmamıştır. 1984 yılında “Genetik Epidemiyoloji” dergisinin ve 1992 yılında “Uluslararası Genetik Epidemiyoloji Cemiyeti”nin kurulması ile bu iki terimin yan yana kullanımı daha yaygın hale getirmiştir. Bu konu hakkında basılan ilk kitap 1978'de Morton N.E. ve Chung C.S. tarafından yazılan *Genetic Epidemiology* ve daha sonraları 1982 ve 1983'de Morton ve ark. tarafından yazılan *Methods in Genetic Epidemiology* kitaplarıdır ve yıllarca da en iyi ders notu olarak kullanılmışlardır.

Genetik epidemiyoloji, birçok diğer genetik sahasıyla yakın bir ilişki içerisinde. Hastalıklara

rın yanı sıra, ortak özelliklerde normal varyasyonla ilgili bugün gördüğümüz genlerin dağılımlarına yol açan evrimsel süreçler üzerine odaklı toplum genetiği ile; tüm toplum üzerine odaklanmaktan ziyade bireysel hastalar veya yüksek riskli aileler üzerine odaklı klinik genetiği ile; istatistiksel ilişkilerden ziyade moleküler mekanizmalar üzerine odaklı moleküler genetik ile; çevresel etkilerden ziyade genlerin, normal özellikleri veya hastalıkları belirlemesi üzerine odaklı insan genetiği ile; bir hastalığın erken belirtileri ve biyobelirtileri gibi hususları içeren, geleneksel epidemiyolojide biyokimyasal methodların kullanımı üzerine odaklı moleküler epidemiyoloji ile yakın bir şekilde ilişkilidir.

Genetik epidemiyoloji, insan toplumunda ve onların aileden miras kalan özelliklerinde, hastalığa yol açan gen ve çevresel faktörlerin birlikte etkileşimini inceleyen bir bilimdir. Diğer birçok disiplin de, toplum genetiği, moleküler genetik, insan genetiği, istatistiksel genetik, moleküler epidemiyoloji... vd, her biri kendi perspektifinden aynı amaca hizmet etmektedir. Bunların yanı sıra diğer pek çok temel ve klinik bilim de; biyokimya, patoloji, fizyoloji...vd., aynı şekilde bu amaca katkıda bulunmaktadır. Bir hastalığın etiolojisini bir bütün olarak anlamak, tüm bu çalışma sahalari üzerinde disiplinler arası bir yaklaşım gerektirmektedir.⁵

Bu çalışmada, hastalıkların etiolojisinde genetik yapı ve çevrenin rolünü anlayabilmek için genetik epidemiyolojide kullanılan, hem toplum tabanlı örnekleme hem de akraba olan bireylerin oluşturduğu grup örnekleme kullanılan tasarımlar ve bunlara ek olarak olgu-kontrol çalışma tasarımlarında uygun kontrol seçimindeki zorluklar nedeniyle öne sürülen bazı geleneksel olmayan tasarımlar tartışılmıştır. PubMed, ScienceDirect ve ISI-Web gibi uluslararası veri tabanlarında ve Google Academic arama motorunda “family based studies” ve “case-control studies in genetic epidemiology” anahtar kelimelerini başlıklarında veya içeriklerinde bulunduran 26 makale, ULAKBİM ulusal veri tabanlarından elde edilen iki makale, ayrıca bu konu hakkında bilgi-

lerin bulunduğu dört istatistiksel genetik ve genetik epidemiyoloji kitabından elde edilen bilgiler kullanılmıştır.

MULTİFAKTÖRİYEL HASTALIK GENETİĞİ

Sık görülen insan hastalıklarının çoğunda kalıtımın rolü vardır. Toplumun çok daha büyük bir kısmını etkileyen tüm yaygın hastalıklar (kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser, obezite, astım, nörolojik ve mental bozukluklar vb. gibi) DNA yapımıza bağlıdır. Bu hastalıklar bazı ailelerde tek bir gendeki mutasyon nedeniyle oluşsalar da genel olarak tek gen hastalıkları değildir. Aksine bu hastalıklar bir ya da daha fazla lokustaki genotipi ve hastalık sürecini tetikleyen, hızlandıran, alevlendiren çeşitli çevresel etkileri içeren bir dizi yatkınlık faktörü arasındaki karmaşık etkileşimlerin sonucudur. Bu durumda ailelerde hastalık oluşumu basit mendelyen katılım şekillerinden birine uymaz; bunun yerine karmaşık veya multifaktöriyel bir kalıtım şeklini izlediği söylenir.

HASTALIĞIN AİLESEL YIĞILIMI

Toplumda akraba olmayan kişilere göre akraba olanların genlerinin büyük bir kısmı birbirleriyle ortak olduğundan; karmaşık kalıtımı olan hastalıkların temel bir özelliği etkilenmiş bireylerin ailelerinde kümelenme eğiliminde olmasıdır. Ancak bunun tersi her zaman doğru değildir. Bir hastalığın ailesel yığılım göstermesi hastalığın genetik temeli olduğu anlamına gelmez. Ailesel yığılım, aile bireylerinin kaldıkları evin fiziksel ortamı ya da ailenin sosyo-ekonomik durumu gibi genetik olmayan faktörlere de bağlı olabilir.⁶ Ayrıca aile bireyleri aynı hastalığı veya özelliği, özellikle de ait oldukları toplumda sık görülüyorsa, şans eseri edinmiş olabilirler. Genetik epidemiyolog ailesel yığılımın rastlantısal mı olduğunu ya da aile bireyleri için ortak faktörlerin mi bir sonucu olduğunu ve bu faktörlerin ne ölçüde genetik ya da çevresel olduğunu belirlemekle görevlidir.

AİLESEL YIĞILIMIN ÖLÇÜLMESİ

Bir hastalığın ailesel yığılımı, hastalığın etkilenmiş propandın akrabalarındaki sıklığı, genel toplum-

daki sıklığıyla (prevalans) karşılaştırılarak ölçülebilir. Bu açıklamaya göre rölatif risk oranı;

$$\lambda_r = \frac{\text{Hastalığın etkilenmiş kişinin akrabalarındaki 'r' prevalansı}}{\text{Hastalığın toplumdaki prevalansı}}$$

λ_r değeri ailesel yığılımın hem hastalığın ailede tekrarlanma riskine hem de toplumdaki prevalansına dayanarak hesaplanan bir ölçüsüdür. λ_r büyük değer aldıkça, ailesel yığılım daha fazladır. Toplum prevalansı hesaplamaya dahildir çünkü bir hastalık toplumda daha sık görülüyorsa, yığılımın hastalığa yatkınlık yaratan allellerin ortaklığının bir sonucu olmaktan çok rastlantısal olması olasılığı daha fazladır. $\lambda_r=1$ olması bir akrabanın hastalık geliştirmesi olasılığının toplumdaki herhangi bir bireyden yüksek olmadığı anlamına gelir.^{1,2}

ARAŞTIRMA TASARIMLARI

OLGU-KONTROL TASARIMLARI

Bu çalışma tasarımında genetik özelliklerin hastalığın ailesel yığılımına olası bir katkısını değerlendirmek için olguların genişletilmiş ailelerinde hastalığın sıklığı (pozitif aile öyküsü), yaş ve etnik köken olarak uygun olan ve hastalığı olmayan kontrollerin pozitif aile öyküsünün sıklığı ile karşılaştırılır.² Eğer bir olgu-kontrol çalışmasının amacı genetik risk gibi bir toplum parametresini tahmin etmekse hem olgu hem de kontroller, kendi toplumlarının bir temsilcisi olmak ya da en azından benzer toplumlardan gelmek zorundadırlar. Çünkü temsilcinin ifade ettiği allel frekansının toplumun gerçek allel frekansına denk olması beklenir. Bu ise ancak tam bir sayım veya tesadüfi örnekleme ile başarılabilir. Olgu temsilcilerinin örneklerini elde etmek genellikle sorun oluşturmazken, kontrol temsilcisi bulmak genellikle büyük bir problemdir.⁵ Bu amaçla olgular ve kontroller seçilirken yaşa-cinsiyete vb. göre eşleştirme (matching) uygulanmalıdır. Kontroller her zaman olguların geldiği toplum ile aynı toplumdan seçilmeli ve kontroller “eğer hasta olsalardı olgu sayılacak”, yani hastalık dışındaki özellikleri açısından olgulara benzer kişiler olmalıdır.

Araştırmalarda amaç, çalışılan gruptan veri toplayarak, üyesi oldukları topluma ait durum ya da ilişkiler konusunda tahminde bulunmaktır. Bu tahmin yapılırken tarafsızlık ilkelerine özen gösterilmelidir. Kişilerin bilinçli ya da farkına varmadan tarafsızlık ilkesini bozdukları durumlarda, elde edilen sonuçlar gerçeği yansıtmaz; üstelik çoğu zaman gerçeği hangi yönde ve ne büyüklükte çarpıttığı da saptanamaz. Bu durumda, çalışmada taraf tutma, yanlılık (bias) durumundan bahsedilebilir. Olgu kontrol çalışmalarında yanlılık çeşitleri şunlardır:

Seçimde taraf tutma yanlılığı (selection bias): Çalışmalarda tarafsızlık ilkesinin sağlanmasında ilk koşul standart ölçütlere göre tanı konulması ve bu ölçütlerin mümkün olduğu kadar objektif ve ölçülebilir özellikte olmasıdır. Ancak bazı durumlarda hastalıkların tanısını koymada kullanılan ölçütlerin biyolojik geçerliliği konusunda bazı sıkıntılar olabilir. Konulan tanıların doğru olmadığı durumlarda hastalar ile hasta olmayanlar ayırt edilemeyeceği için seçimde taraf tutma yanlılığı söz konusu olacaktır ve bu da gerçekte var olan ilişkilerin saptanmasını engelleyecektir.³

Gözlemsel yanlılık (observation bias): Gözleme dayalı yanlılık türleri özellikle olgu-kontrol çalışmalarında yanlış hatırlama ve yanlış sınıflandırmayı içerir.

■ **Yanlış hatırlama yanlılığı (recall bias):** Hastalık sonucuna sahip olan olgular arasında, aynı maruz kalma etkilerinin raporlanmasındaki farklılıklar olarak ifade edilebilir. Örneğin, çekirdek aileden gelen hastalar ile geniş aileden başvuran ve ailesinde benzeri bir ya da daha fazla hastalık sonucu olan kişilerin, ailesinde hastalık görülme ya da çeşitli çevresel faktörlerle karşılaşma durumunu hatırlama olasılıkları da farklı olacak ve hatırlamaya bağlı bir taraf tutmaya neden olacaktır. Benzer şekilde yaşlı ve gençler çevresel etkenlerle olan karşılaşmalarını farklı hatırlayacaklardır.

■ **Hatalı sınıflama (misclassification):** Hem hastalık durumunun, hem de maruz kalmanın yanlış sınıflandırılması olarak ifade edilebilir. Eğer yanlış sınıflandırma olguları ve kontrolleri benzer şekilde etkilerse, o zaman ayrımsal olmayan rastgele bir yanlış sınıflandırma olarak adlandırılır. Eğer yanlış

sınıflandırma hem olguları hem de kontrolleri diğerinden az ya da çok bir ölçüde etkilerse, o zaman ayrımsal ve rastgele olmayan bir yanlış sınıflandırma mevcut olur ve bunun sonucunda maruz kalma ve hastalık sonucu arasındaki gerçek ilişkinin görünen büyüklüğünde ya bir artış ya da bir azalış meydana gelir.^{3,7}

Ayrıca, bir toplum içinde tanımlanamayan genetik tabakalaşma, genetik epidemiyolojik çalışmalar için bir endişe kaynağıdır. Tabakalaşma, varlığının aksi kanıtlanmadığı sürece tartışılmalıdır.^{8,9} Özellikle bir toplum, farklı gen frekanslarına ve hastalık prevalanslarına sahip alt toplumların karışımını içeriyorsa, tabakalı toplum durumu mevcut olur. Bu durum, olgular ve kontroller toplandığı zaman hastalık üzerinde hiçbir etkisi olmasa bile, daha yüksek prevalanslı alt toplumdan gelen olgular ve kontroller arasındaki gen frekanslarında farklılığa yol açabilir. Bu durumun genetik çalışmalar içinde karıştırıcı bir etkisi vardır. Karıştırıcı faktörler (confounders) hastalığın olmadığı durumlarda dahi, etken ile ve etkenden bağımsız olarak hastalık ile ilgili olan, ancak “etkenin hastalığa yol açtığı patojenik yol üzerinde olmayan faktörler” olarak tanımlanır. Bu tür karıştırıcı faktörlerin varlığı incelenmez ve kontrol edilemez ise genetik yapı-hastalık arasında gerçekte olmadığı halde ilişki var gözlenebilir, gerçekte olduğu halde çalışma grubunda tespit edilemeyebilir ya da gerçekte var olan bir ilişki saptanır, ancak saptanan olayın gerçek boyutunu yansıtmayabilir.

Genetik yapı-çevre arasında bir etkileşim olduğu düşünülen durumlarda kontrol edilemeyecek çevresel faktörlerle karşı karşıya kalmayı en aza indirmek için aile/akrabalardan kontrol seçilebilir. Ancak bu durumlarda aile yapısı (çekirdek/geniş), olguya olan yakınlık düzeyi (anne/baba/kardeş/uzak akraba vb) ve kontrollerin nasıl belirlendiği konusunda uyarlamalar yapılmalıdır.³ Bu bağlamda, toplumdan eşleştirilen kontrol gruplarının yetersiz olması nedeniyle aday genlerin olgu-kontrol çalışmaları tarafından belirlendiği birçok ilişki çalışması örneği mevcuttur.

Olgu-kontrol aileleri tasarımı: Sadece olgulardan ve kontrollerden görüşmeler sonucu akrabalarla ilgili hastalığın durumu ve diğer özellikleri

hakkında elde edilen verileri içeren çalışmalardır. Bir ailede iki birey ne kadar yakın akrabaysalar, ortak atalarından kalıtılmış o kadar çok ortak genleri bulunur. Aksi olarak, bir akraba propandın ne kadar uzak bir akrabası ise, propand ve akrabası arasında o kadar az allel paylaşımı vardır.² Bu nedenle bilgilerin daha güvenilir olmasını sağlamak açısından çalışma birinci derece akrabalar ile sınırlandırılır. Aile öyküsü sıklıkla kabaca evet veya hayır ile kaydedilir. Daha geniş ve güvenilir bilgilere İsveç, ABD, İzlanda ve Utah gibi soy kaydının tutulduğu toplumlarda ulaşılabilir.⁴ Akraba risk faktörleri hakkındaki eksik bilgi bu tasarımın dezavantajıdır.¹⁰

Olgu-ailesi tasarımı: Önceden tanımlanmış bir şekilde olguların yakınları ile yapılan çalışmadır. Bu çalışma olgular ve etkilenmemiş aile üyeleri arasında karşılaştırma yapılmasına imkan verir. En tipik karşılaştırma kardeşler ve özel bir örnek hastalıkta uyumsuz ikiz çiftler arasında yapılan karşılaştırmalardır. Olgu-ailesi çalışmalarında aile üyeleriyle temasa geçilir, görüşmeler yapılır ve belki de DNA için kan örnekleri alınır. Akrabalar hakkında bilgi sadece olgu ile görüşülerek elde edilmez, aile bireylerinin kendileri ile de görüşülür. Olgunun yanı sıra aile üyeleri ile de görüşüldüğü için olgu-kontrol aileleri tasarımından bu yönüyle ayrılır.⁴

■ **Olgu-kardeş tasarımları:** Kardeşler, karıştırıcı faktörler üzerindeki daha yakın bir eşleşmeden dolayı iyi bir kontrol olarak önerilebilir fakat aynı zamanda genotip de dahil olmak üzere ilgili faktörlerin aşırı eşlenmiş olma eğilimi de söz konusudur. Bu nedenle bu tasarımlar, genellikle gen-çevre etkileşimini değerlendirme çalışmalarında tercih edilir. Kardeş tasarımlarıyla ilgili asıl problem ise ikiz kardeş dışında diğer kardeşler arasında doğum yılı ve yaş üzerinde tam bir eşleşme yapılamamasıdır. Standart prosedür, olgunun tanı yaşı esas alınarak her bir olgu-kontrol çifti için bir referans yaşı tanımlamaktır. Ayrıca, bu konuyla ilgili olarak bazı yazarlar daha genç kardeşlerin kontrol alınabileceğini öne sürerlerken,¹¹ bazıları ise daha yaşlı kardeşlerin kontrol olarak kullanımı tavsiye etmişlerdir.¹² Daha yaşlı kardeşlerden oluşan kontrolde görüşme zamanı ile maruz kalınan vakit

arasındaki farklılıktan kaynaklanan yanlış hatırlama (recall) yanlışlığı söz konusu olabilmektedir. Daha genç kardeşlerin oluşturduğu kontrollerde ise olgunun tanısının koyulduğu yaşa kadar, kontrolün hastaliksız kalacağı garanti edilememektedir. Bu nedenle olgunun tanısının koyulduğu yaşa göre kontrolün maruz kaldığı tüm periyodu da içine alan bir referans tarih seçiminde sıkıntılar ortaya çıkacaktır.¹²

■ **Özel olgu: İkiz çift ve ikiz aileleri:** İkiz kardeş tasarımları özel aile tasarımları olup tarihsel olarak da yaygın bir kullanıma sahiptir. Hem monozygot hem de diziyot ikizlerde, klasik ikiz modelinin varsayımlarının da göz önüne alındığı çalışmalarda, genetik faktörlerin incelenen özellikteki değişimi açıklayan bir role sahip olmadığı şeklindeki sıfır hipotezi test edilebilir. İkizlerin akrabaları ile çalışıldığında ise ekstra bilgiler elde edilebilir. İkiz aile tasarımı, paylaşılan ortak genler ve paylaşılan çevre etkilerini ayırmanın en etkili yollarından biridir. Bu çalışmalar sıklıkla doğumda ya da genç yaşta belirlenen ikiz çiftlerin etrafında ya da onların biyolojik anne babalarının ve bazen de kardeşlerinin etrafında yoğunlaşır. Bir başka tasarım, yetişkin ikizler ve onların çocukları üzerinde yapılan çalışmalardır.

Bir ikizin çocukları, genetik olarak biri diğerinin tam kardeşidir ve muhtemel olarak aynı ortamda büyüdükleri için, genlerin yaklaşık olarak yarısını paylaşmanın yanı sıra, ailesel çevreyi de paylaşırlar. Diğer monozygot ikizin çocukları ile de genetik olarak yarı kardeşler, genlerin yaklaşık dörtte birini paylaşırlar, fakat aynı ailesel çevreyi paylaşmazlar. Böyle bir tasarımın içine diğer akraba çiftlerini ya da bir diziyot ikizin çocuklarını dahil etmek, paylaşılan genler ve paylaşılan çevrenin farklı desenlerini üretecektir. Farklı akraba tiplerinin dahil edilmesi, varsayılan kalıtım modeli ile ailesel kümelenmenin tutarlılığının incelenmesine izin verir.

İkiz çalışmaları çeşitli amaçlar için tasarlanabilir.

1) Uygun hastalıkların karşılaştırılması, paylaşılan genlerin ve paylaşılan ailesel veya belirli çevresel şartların göreceli katkısının tahmin edilmesine izin verir.

2) Hastalık bakımından uyumsuz monozigot çiftlerin karşılaştırılması, genetik olmayan maruz kalmaların etkilerinin tahminine izin verir.

3) Hastalık bakımından uyumsuz aynı cinsiyete sahip dizigot çiftlerin karşılaştırılması, hem genetik hem çevresel maruz kalmaların etkilerinin tahminine izin verir. Burada potansiyel karıştırıcı faktörler olan yaş ve cinsiyet üzerinde birebir eşleştirme olduğu için güçlendirilmiş bir yapı söz konusudur.

4) Hastalık bakımından uyumlu monozigot ikizlerde hastalık başlangıç yaşının farklı olmasında ikiz çiftlerin, çevresel ve yaşam tarzı faktörlerindeki farklılıkların karşılaştırılması, ortalama genetik yatkınlıktan daha fazla genetik yatkınlığı olan bireylerde bu risk faktörlerinin etkilerinin tahminine imkan verir.⁴

İkiz çalışmaları hastalığıdaki genetik ve çevresel faktörleri ayırt etmekte çok kullanışlı olmakla birlikte, bazı nedenlerden dolayı çok dikkatli yorumlanmalıdırlar. İlk olarak monozigot ikizlerin genotipleri birbirinin aynısı olmakla birlikte gen ekspresyonları tam olarak birbirinin aynısı değildir. İkinci olarak, çevresel etkiler özellikle ikizler erişkinliğe ulaştığında ve çocuklar evlerinden ayrıldıktan sonra aynı olmayabilir. Üçüncü olarak, monozigot ikizlerde hastalık konordansının ölçümleri, farklı ikiz çiftlerinde yatkınlık oluşturan alleller veya çevresel faktörler farklı olursa kesin olmayabilecek yaklaşık bir tahmin verebilir.²

Olgunun tüm kardeşlerinin kullanılmak istenmesi durumunda da çeşitli testler ileri sürülmüştür. Martin ve ark.,¹³ temel olarak şartlı lojistik regresyon mantığına dayanan sibTDT diye adlandırdıkları bir yöntemi önerirken, Harvath ve Laird,¹⁴ SDT (sibship disequilibrium test) diye adlandırdıkları yöntem ile her bir olgu-kardeş içindeki kontrollere karşı olgulardaki allellerin oranlarını bir tek işaret testi ile karşılaştırmışlardır. Daha sonraları Martin ve ark.¹⁵ genel soy ağaçları için non-parametrik bir yaklaşım geliştirirken, Kraft¹⁶ yine genel soy ağaçları için bir robust skor testi yaklaşımını önermiştir. Kardeş kontrolü kullanımıyla ilgili daha detaylı analizleri Langholz ve ark. tartışmışlardır.¹⁷

■ **Olgu-kuzen tasarımları:** Risk faktörleri kuzenler arasında daha az ilişkili olduğundan, risk kontrolünde daha fazla verimlilik elde edilebilir. Özellikle yaş ve doğum yılı açısından daha yakın eşleştirmelere kuzenlerde daha rahat ulaşılabilir. Kardeş kontrolleri ile karşılaştırıldığında kuzen kontrollerinde daha düşük motivasyon ve coğrafi kısıtlamalardan dolayı daha düşük katılım oranı olabilir. Dahası kuzenlerin her biri ortak bir atadan gelmeyen anne babaya sahip olacakları için toplum tabakalaşması probleminde mutlak korunma sağlanamayacaktır.¹²

■ **Olgu-kontrol-aile tasarımları:** Hem olgunun, hem de kontrolün akrabalarının ele alındığı çalışma tasarımıdır. Burada olgunun akrabalarının ilgili bir takımı ve kontrolün akrabalarının ilgili bir takımı arasında ilave karşılaştırmalar yapılmasına olanak verilir ve iki aile takımı üzerinde benzer protokollerle çalışılır. Bu çalışmalarda üç farklı bakış açısı vardır. 1- Olgular ve kontroller üzerine yoğunlaşılabilir. 2- Retrospektif bir kohort çalışması olarak olgunun tanısı koyulana kadar akrabaların hastalık hikayeleri üzerine yoğunlaşılabilir. 3- Prospektif bir kohort çalışması olarak olgunun akrabaları arasında hastalığın gelecekteki insidansı üzerine yoğunlaşılabilir.⁴

Olgu-kontrol çalışmaları gen-çevre etkileşimlerini değerlendirmek için uygun çalışmalar olmasına rağmen, bu çalışmalarda geçerli bir endişe uygun kontrol seçimidir. Bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarda üç tane geleneksel olmayan çalışma tasarımlarının önerildiği görülmüştür.

■ **Tek-olgu çalışmaları (Olgu serileri yaklaşımı):** Bu tasarım, bir hastalığın etiolojisinde gen-çevre etkileşimini değerlendirmek için kullanılan bir yaklaşım olarak giderek yaygınlaşmaktadır.^{18,19} Bu yöntemde araştırmacılar maruz kalınan faktörler ve genotipik duyarlılık arasındaki ilişkinin şiddetini değerlendirmek için tek bir olgu kullanırlar.

■ **Olgu-ebeveyn çalışmaları (Trio-üçlü tasarım):** Son birkaç yıl içinde bazı yazarlar, bir komşu lokusdaki allel ile bağlantı dengesizliğini veya artan hastalık riskiyle ilişkili olabilecek genetik belirteçleri araştırmak için kontrol grubu olarak olguların

ebeveynlerini kullandıkları tasarımları yayınlamışlardır.²⁰ Üçlü tasarım, etkilenmiş vakaları ve onların hem anne hem de babalarını içeren tasarımlardır. Bu tasarımda fenotipleme sadece olgu üzerinde yapılırken, genotipleme üçlü yapılıdır.²¹ Heterozigot ebeveynlerden etkilenmiş yavrulara hastalıkla ilgili allellerin %50'den fazlası iletilmelidir. Üçlü çalışma tasarımı, ebeveynlerden yavruya olan allel iletiminden dolayı, populasyon katmanlaşmasına veya olgu ve kontrol arasındaki genetik farklılığa duyarlı değildir.²² Bu çalışma tasarımının bir dezavantajı özellikle yaygın olmayan alleller için ebeveynler ve yavru arasındaki iletim oranlarını bozabilen çok küçük derecedeki genotipleme hatasına karşı duyarlı olmasıdır.^{23,24} Bu yüzden genotipleme için diğer çalışmalarda kullanılan standart kalitenin bu çalışmada daha fazla olması gerekebilir.²⁵

■ **Etkilenmiş akraba çiftleri:** Genel olarak bu araştırmada, etkilenmiş akraba çiftlerinin genotip dağılımları incelenir. Akraba çiftleri arasında baskın olan belli bir özel lokusdaki allellerin sayısı araştırılır.²⁶ Bu metodla özellikle son zamanlarda Alzheimer,²⁷ insüline bağlı olmayan diabetes mellitus²⁸ ve romatoid artrit hastalıkları için gen lokusu araştırmalarında kullanılmıştır.²⁹

■ Multifaktöriyel hastalıklarda genetik etkilerin katkısını çevresel etkilerin katkısından ayırt etmede kullanılan bir diğer yaklaşım ise propanda yakın veya uzak akraba olan kişilerde hastalığın konkordansının karşılaştırılmasıdır.²

Olgu-kontrol çalışmalarının hastalıkla ilişkili genlerin belirlenmesi için birçok avantajı olabilir ancak gen-çevre etkileşimlerini tespit etmede sınırlı bir yapıya sahiptirler. Bu açıdan bakıldığında özellikle prospektif kohort tasarımları, olgu-kontrol çalışmaları için değerli bir tamamlayıcılık sağlamaktadır. Süre ve maliyet dezavantajları olmasına rağmen, olgu-kontrol çalışmalarında karşılaşılan önemli yanlılık problemlerini azaltır ve hastalığın başlangıcından önce, maruz kalma ve risk faktörlerini karakterize etmede önemli bir gücü vardır. Bu nedenle özellikle prospektif kohort çalışmaları, multifaktöriyel insan hastalıklarında gen-çevre etkileşimlerini anlamak için önemli bir role sahiptir.³⁰

KOHORT TASARIMLARI

Binlerce insandan biyolojik örnekler almak ve olguların gelişmesi için onlarca yıl beklerken bunları saklamak gibi zorlukları olan kohort tipi çalışma tasarımları oldukça iddialı çalışmalardır. Kohort çalışmaları, takip edilen zaman içinde hastalık sonuçlarının izlenmesi ve ilgilenilen karakteristiklere maruz kalmanın varlığı veya yokluğu gibi durumlar temelinde tanımlanan bireyler üzerinde uzunlamasına çalışmanın bir çeşididir. İki grup; maruz kalan olgular ve maruz kalmayan kontroller, hastalık sonucunun meydana gelip gelmemesine göre karşılaştırılırlar. Kohorta dahil edilecek toplum çeşitli şekillerde elde edilir. Açık toplum ki aynı zamanda dinamik toplum olarak da adlandırılır, insanların sabit olduğu bir kohorttan ziyade değişen bireylerden türetilen bir çalışma yapısı kullanılır. Alternatifi kapalı toplumdur. Burada bireyler çok daha az sayıda çalışmadan ayrılabilir ve en başından itibaren belli bir süre bireylerin sabit tutulduğu kohorttur. Maruz kalan bireylerin bu şekildeki seçimi, özellikle takip kaybı durumuna eğilimlidir.⁷ Şu an genetik epidemiyolojide başka amaçlar için belirlenen ve aday genlerin genotiplerinin depolandığı örneklerle sahip çok büyük birkaç tane kohort çalışması bulunmaktadır. Ayrıca genotip zaman içinde değişmediği için risk faktörlerinin retrospektif olarak incelenmesi de yeni zorluklar çıkarmayacaktır.³¹

Langholz ve ark. tarafından ifade edilen ve var olan kohort çalışmaları içinde genetik çalışma yapmak için kullanılacak tasarımlardan başlıcası iç-içe olgu kontrol veya olgu-kohort tasarımı olarak da bilinen çalışma türüdür. Bir kohort çalışması içinde genetik faktörleri çalışmak için başlangıç noktası, elbette ki kan veya diğer biyolojik materyalleri toplanacak ve depolanacak bireylerin, göreceli olarak belli büyüklükteki bir sayısına ulaşmaktır. İncelenen hastalık riskine maruz kalan bireylerin zaman içinde incelenmesi sonucunda hastalığın oluştuğu olgular yeterli düzeye ulaştığı zaman, kohort üyelerinden uygun şekilde seçilen kontrollerle genetik faktörlerin bir olgu-kontrol çalışması tasarlanabilir. Bu metod iç- içe geçmiş (nested)

olgu-kontrol veya olgu-kohort tasarımı olarak bilinmektedir. Bu yaklaşımın uygunluğu, gerekli sayıda olgu sayısına ulaşmak için çok sayıda insandan alınacak biyolojik örneklerin kaydının tutulmasına ve depolanmasına bağlıdır.

Kohort çalışmasına katılma konularını kaydetmek, temel veri tabanını oluşturmak, toplamak, katalog haline getirmek, biyolojik materyalleri depolamak ve zaman içinde değişen bilgi ve hastalık olayını güncellemek için bir takip prosedürü geliştirmek, zaman, para ve çaba gerektiren çalışmalardır. Fakat bir kez kohort çalışması için kaynak oluşturulmuş ve yeterli sayıda olgu meydana gelmişse, genetik faktörlerin incelenmesi, toplum tabanlı çalışmalara göre çok daha hızlı ve etkili olabilmektedir. Bu aşamada zaten kaydı tutulmuş olgular ve kohort içinden alınacak kontrollerin seçimi istatistiksel ve idari bir faaliyettir. Bu noktada temel çaba sadece genotipleri tanımlamak için ihtiyaç duyulan laboratuvar çalışmalarıdır. Toplum tabanlı olgu-kontrol çalışmalarında ise laboratuvar aşamasına ulaşmadan önce, kan örnekleri toplamanın yanı sıra, hastalıkla ilgili konuların tespiti ve kaydının da yapılması gerekmektedir.

Böylece bir kohort çalışması kurulduğunda ve olgunlaştığında iç-içe geçmiş bir olgu-kontrol çalışması için ilave bir maliyet nispeten küçüktür ve belki de en önemlisi, zaman gerektiren çalışmalara göre çok daha kısa sürede yapılabilir olmasıdır. Bu avantajı göz önüne alındığında iç-içe geçmiş bir olgu-kontrol çalışması, diğer çalışmalarda bulunan gen-hastalık ilişkilerini doğrulamak için güvenilir ve zamanında imkanlar sağlar.¹⁷

Genetik çalışmalarda kohort tasarımının avantajları:

- Genel olarak, kohort çalışmaları, olgu-kontrol çalışmalarına göre nedensellik için daha iyi bir gösterge sağlar ve özel bir maruz kalma durumunu takip ederek, hastalığın gelişme riskinin daha doğrudan bir ölçümünü verir.

- Kohort çalışmaları, olgu-kontrol tasarımlarının kullanılarak incelenmesinin zor olduğu nadir maruz kalmaların takibinde etkilidir.

- Olgu-kontrol çalışmalarıyla karşılaştırıldığında, seçme ve yanlış hatırlama yanlılığı gibi belli yanlılık çeşitlerine daha az eğilimlidir ve karıştırıcı faktörler üzerinde daha büyük kontroller sağlar.

- Hastalık sonucunun ortaya çıktığı başlangıç zamanı ve hastalık etkenine maruz kalma süresi arasındaki geçici ilişki, genellikle kohort çalışmalarında kurulabilir, olgu-kontrol çalışmalarında kurulamaz.

Kohort çalışma tasarımının sınırlamaları:

- Kohort çalışmaları çok fazla zaman ve kaynak yoğunluğu gerektirebilir. Yeterli miktarda kişi-zaman takibi elde etmek için, çalışma ya büyük bir toplum kaynağını içermeli ya da uzun takip periyodu sağlanmalıdır. Her ikisi için de kaynak önerileri sıklıkla kohort çalışmasının uygulanabilir olup olmadığını göstermektedir.

- Çoklu maruz kalmaların nedensel olarak ilişkili olduğu hastalıklar için veya nadir hastalık sonuçlarını araştırmak için elverişli değildir.

- Kohort çalışmaları, seçim (selection bias) ve yanlış hatırlama (recall bias) yanlılığına karşı daha az eğilimliken, prospektif çalışmalarda takip kaybindan kaynaklanan yaşamsal yanlılığa (survival bias) eğilimlidir.⁷

Bir kohort çalışması içindeki genetik çalışmalar, yeterli sayıda hastalık olgusu, çalışma üyeleri, kan ve diğer genetik analiz malzemelerine ulaşılabilir olduğu zaman elverişlidir. Özellikle genotipik olması gereken kohort üyelerinin küçük bir bölümden elde edilecek kan örnekleri ile gen ilişki çalışmaları için tasarlanan kohort çalışması içinden olgu kontrol çalışması yapılması tavsiye edilebilir. Düşük marjinal maliyet ve yüksek güvenilirlikte dahil olmak üzere, bu yaklaşımın bir dizi yararı vardır. Ayrıca bu çalışmalar, hastalığın ailesel kümedenmesini ve toplum katmanlaşmasını araştırmak için de kullanılabilir.

Nispeten yaygın hastalıkları ve genleri çalışmakla sınırlı olmasının yanı sıra, genetik çalışmaları için kohort çalışmalarının başka sınırlamaları da mevcuttur. Kohortlar genellikle "genel toplum"

TABLO 1: Çalışma tasarımlarının karşılaştırılması.

| Genel tasarımlar | Alt tasarımlar | Açıklama | |
|----------------------------|---|---|---|
| Olgu kontrol tasarımları | Olgu-kontrol aileleri | Sadece olgu ve kontrolle görüşmeler sonucu birinci derece akrabalar hakkında bilgilerin elde edildiği çalışma tasarımıdır. | |
| | Olgu-ailesi | Olgu-kardeş | Olgunun etkilenmemiş kardeşlerinin kontrol olarak kullanıldığı tasarımlardır. Genellikle gen-çevre etkileşiminin değerlendirildiği çalışmalarda kullanılır. |
| | | İkiz kardeş ve aileleri | Paylaşılan ortak genler ile paylaşılan çevre etkilerini ayırmanın en etkili yollarından biridir. Çalışmalar, sıklıkla doğumda ve genç yaşta belirlenen ikizler ya da onların aileleri etrafında yoğunlaşır. |
| | | Olgu-kuzen | Kuzenler, risk faktörleri açısından kardeşlere göre daha az ilişkili olabilir. Risk kontrolünde daha fazla verimlilik sağlanması için tercih edilebilir. Özellikle cinsiyet ve doğum yılı açısından kardeşlere göre daha iyi eşleşmeler sağlanabilir. |
| | Olgu-kontrol-aileleri | Hem olgunun hem de kontrolün akrabalarının ilgili bir takımının değerlendirildiği çalışma tasarımı. Hastalık hakkında ilave karşılaştırmalar yapılmasına olanak sağlar. | |
| | Tek olgu | Gen-çevre etkileşimini değerlendirmek için sadece olgunun üzerinde çalışıldığı tasarımıdır. | |
| | Olgu-ebeveyn | Bir komşu lokustaki bağlantı dengesizliğini veya artan hastalık riskiyle ilişkili olabilecek genetik belirteçleri belirlemek amacıyla kullanılır. Kontrol olarak ebeveynler alınır. | |
| Etkilenmiş akraba çiftleri | Etkilenmiş akraba çiftleri arasında baskın olan belli bir özel lokustaki allellerin sayısı araştırılır. | | |
| Kohort tasarımları | | Hastalık risk faktörüne maruz kalan bireyler ile maruz kalmayan bireyler arasında hastalık sonucunun meydana gelip gelmediğinin değerlendirildiği uzunlamasına çalışma tasarımı. | |
| | İç içe geçmiş olgu-kontrol | Bir kohort çalışmasında hastalığın oluştuğu olgular yeterli sayıya ulaştığında kohort üyelerinden uygun şekillerde kontrollerin seçilmesiyle oluşturulan olgu-kontrol tasarımı | |

temsalcisi değildir. Kohort grupları, yüksek oranda hastalık etkisine maruz kalan gruplardan oluştuğu için, böyle bir temsiliyet eksikliği olabilir. Ayrıca oldukça küçük oranda da olsa gönüllü olarak kan vermeyi seçenlerden dolayı, tahmin edilen ilişkilerin ve risklerin genellenebilirliği sınırlanır. Kohort çalışmaları, anketlerin ve çalışma sahasından toplanan diğer bilgilerin kalitesi, takiplerin tamlığı ve sonuçların tespiti gibi bir çok veri kalitesini etkileyen sorunlara bağlıdır. Özellikle genin varlığı ile ilgili bir takip kaybı halinde yanlışlık ortaya çıkabilir. Tablo 1’de burada anlatılan tüm çalışma tasarımlarının bir özeti sunulmaktadır.

MULTİFAKTÖRİYEL HASTALIK KALITIMI

Multifaktöriyel bir özellik olarak kalıtılan bir hastalığın yukarıda anlatılan herhangi bir çalışma sonucunda önemli bir kalıtsal bileşeni olduğunun gösterilmesinden sonraki ikinci adım, ilgili gen-

lerin belirlenmesi ve haritalanmasıdır. Multifaktöriyel hastalıklara eğilim yaratan veya niceliksel özelliklerin genetik değişimine katkıda bulunan genlerin belirlenmesi ve lokalize edilmesi için iki ana yaklaşım kullanılmıştır. Bunlardan ilki, fenotip için konkordant olan aile bireyi çiftleri (kardeşler gibi) üzerine kurulu bir tür **bağlantı analizi** olan etkilenmiş aile ağacı üyesi yöntemidir. İkinci yaklaşım ise toplumdaki etkilenmiş bireylerde etkilenmemişlere göre belirli allellerin sıklığının artmış olup olmadığını araştıran **ilişki analizidir**.

Bağlantı analizi yapılırken, eğer hastalıkla alakalı kalıtımın, otozomal dominant, otozomal resesif veya X’e bağlı bir kalıtım şeklinde olduğu varsayılırsa buna modele dayalı veya parametrik bağlantı analizi denir. Bunun yerine, lokus sayısı veya çevrenin ve şansın penetrans eksikliğine yol açmaları üzerinde hiçbir varsayımda bulunulmazsa buna modelsiz veya non parametrik bağ-

TABLO 2: Çalışma tasarımlarının karşılaştırılması.*

| Tasarım | Varsayımları | Avantajları | Dezavantajları |
|--------------|--|--|---|
| Olgu-kontrol | Olgular ve kontroller benzer popülasyonlardan seçilmelidir. | Kısa zaman diliminde sonuçlar elde edilebilir. | Popülasyon katmanlaşmasından kaynaklanan bir dizi yanlışlık problemlerine karşı eğilimlidir. |
| | Olgular açıkça belirtilen veya özel olarak tanımlanan sınırlamaların veya hastalığın tüm olgularının temsilcisi olmak zorundadır. | Büyük sayıda olgu ve kontrole de çalışılabilir. | Olgular genellikle yaygın olgulardır. Ölümcül, gizli ya da hafif olgular hariç tutulabilir. |
| Kohort | Genomik veya epidemiyolojik veriler, olgulardan ve kontrollerden benzer şekilde toplanmalıdır. | Nadir hastalıkları çalışmak için en uygun epidemiyolojik yöntemdir. | Yaygın hastalıklar için göreceli risk abartılı çıkabilir. |
| | Allel frekanslarındaki farklılıklar, olgunun ve kontrolün popülasyonları arasındaki farklılıktan ziyade hastalıkla ilişkili olmalıdır. | | |
| Kohort | Çalışma kapsamına alınan bireyler, geldikleri popülasyonu daha iyi temsil etmelidir. | Olgular hayatta kalma yanlılığından bağımsız ve gözlem esnasında gelişen olaylardır. | Eğer hastalığın insidansı düşük ise, genotipleme için ihtiyaç duyulan büyük örnek boyutuna ulaşamayabilir. |
| | Hastalıklar ve özellikleri gen varyantı olan ve olmayan kişilerde benzer olarak tespit edilmelidir. | Hastalığın gelişme riskinin daha doğrudan bir ölçümünü verir. | Rıza onayı, genotipleme veya veri paylaşımı için yetersiz olabilir. |
| | | Olgu-kontrol çalışmalarına göre daha az yanlışlık kaynağından etkilenme söz konusudur. | Çoklu maruz kalmaların nedensel olarak ilişkili olduğu hastalıklar veya nadir hastalıklar için uygun değildir |
| | | Karıştırıcı faktörler üzerinde daha büyük kontroller sağlar. | Pahalı ve uzun süreli takip Takip kaybından kaynaklanan yaşamsal yanlılığa eğilimlidir. |
| Trio (Üçlü) | Heterozigot ebeveynlerden etkilenmiş yavrulara hastalıkla ilgili allellerin %50'den fazlası iletilmelidir. | Popülasyon katmanlaşmasından etkilenmez Ebeveynlerin fenotiplemesi gerekli değildir. Genotiplemede Mendel kalıtım desenlerinin kontrolüne olanak sağlar. | Geç başlangıçlı yaşlı hastalıklarda her iki ebeveyne ve çocuğa ulaşmak zor olabilir. Genotiplemedeki hataya yüksek derecede hassastır. |

*32 nolu kaynaktan uyarlanmıştır.

lantı analizi denir. Modelsiz yöntemlerde yalnızca etkilenmiş akraba çiftlerinin hastalığa neden olan ortak allellerinin bulunabileceği varsayımı vardır. Modelsiz yöntemler sadece geniş yüksek allel paylaşımı bölgelerinin belirleyebilir, karmaşık bir özelliğe katkıda bulunan bir genini lokalizasyonunu sınırlayan dar bir kritik bölgeyi belirleyemez.

Bir lokustaki belirli bir allelin etkilenmiş bireylerde kontrollere göre daha sık bulunması durumuna ise hastalığın ilişkilendirilmesi denir. İlişkilendirme yöntemleri, bir lokustaki belirli bir allelin sıklığının toplumdaki etkilenmiş ve etkilen-

memiş bireyler arasında karşılaştırıldığı bir olgu kontrol çalışmasıdır. Bu ilişkinin kuvveti, hastalarda ve kontrollerde spesifik bir allelin sıklığından hesaplanan odds oranı ile ölçülür.

| | Allel + | Allel - |
|---------|---------|---------|
| Hasta | a | c |
| Kontrol | b | d |

Bu durumda odds oranı ad/bc 'dir. İncelenen allelin sıklığı hastalarda ve kontrollerde aynı olursa odds oranı bir olur. İlişkilendirmenin bir başka ölçütü ise, birinin spesifik bir allel taşıdığındaki hastalık geliştirme riskini, bu alleli taşımayan birisinin hastalık geliştirme riskiyle karşılaştıran rölatif riskdir. Bu tabloya göre rölatif risk $(a/(a+c))/(b/(b+d))$ 'dir.²

SONUÇ

Genetik epidemiyoloji, bir hastalık üzerinde çevrenin ve genlerin göreceli katkılarını ve hastalığa yatkınlığı belirleyen genleri belirlemeyi amaçlar. Bu konuyla alakalı yapılan daha eski çalışmalar, sistematik olarak belirlenen aileler için (proband) hem kendi içinde, hem de birbirleri arasında, hastalıkların bir araya toplandığı kalıpların istatistiksel analizleri üzerinde veya özellikle ikiz çiftlerin özel ilişkilerine dayandırılmıştır. Ailesel birikmelerin en mantıklı açıklamasını belirlemek için ise ayırma analizleri (segregasyon) yapılmıştır. Daha sonraki araştırmalarda ise, çoklu olgulara sahip çok güçlü genetik yatkınlığa sahip oldukları muhtemel olan aileler üzerinde kritikler yapılmıştır. Pratikte bu tür aileler üzerinde yapılan çalışmalar, bireysel riskler üzerinde büyük etkiye sahip olan genleri belirlemede başarılı olmuştur. Bu geleneksel gen bulunması olup, akciğer kanseri, melonum, Alzheimer ve diyabet gibi kompleks hastalıklar üzerinde bile çalışılmıştır. Hastalıkla ilişkili olan genler veya aday genler tespit edildiğinde, araştırmacılar, varsayılan genetik duyarlılıkla bireyler için artan riski ölçmeye çalışırlar ve diğer genetik, çevresel risk faktörleri ile olan ilişkisine bakarlar. Burada en önemli husus, çoklu olgulara sahip olan ailelerin sistematik olarak belirlenmesindeki herhangi bir eksikliğin analizleri ve analizlerde yapılacak yorumları etkilemesidir. Bu nedenle ortaya çıkabilecek yanlılığı önlemek ve istatistiksel gücü artırmak için örnekleme ayarlamak gerekmektedir.⁴ İlk olarak tüm epidemiyolojik çalışmalarda olduğu gibi, toplum düzeyinde veya ideal olarak bireysel düzeyde olgu ve kontrol eşleştirmesine ihtiyaç vardır. Özellikle, bir toplum farklı gen frekanslarına ve hastalık prevalanslarına sahip alt toplumların karışımını içeriyorsa, tabakalı top-

lum yapısı ortaya çıkabilir. Olgular ve kontroller toplandığı zaman, hastalık üzerinde hiçbir etkisi olmasa bile, daha yüksek prevalanslı alt toplumlardan gelen olgular, olgular ve kontroller arasındaki gen frekanslarında farklılığa yol açabilir. Aile tabanlı çalışma prensibi özellikle her bir olguya benzer aileden seçilen bir kontrolü eşleştirerek, tabakalı toplum varlığının oluşturduğu karıştırıcı faktör etkisini en aza indirmeye çalışır. Aileler aynı alt toplumlardan seçildiği için tabakalaşmadan kaynaklanan karıştırıcı probleminin önüne geçilmeye çalışılır. Aynı aile üyeleri çevresel faktörlere yüksek oranda benzer şekilde maruz kaldıkları için fenotiplerindeki farklılığın genetik farklılıklardan kaynaklanması daha muhtemeldir. Bu, aile tabanlı örneklemede, benzer boyutlardaki toplum tabanlı örnekleme göre genetik ilişki için daha fazla kanıt ileri sürülmesi anlamına gelir. Bu nedenle aile tabanlı örnekleme daha güçlüdür. Ancak bu avantaj da, aile üyeleri arasında ortak genomların yarısının paylaşılmasından dolayı, bilginin belli bir oranının gereksiz olması dezavantajı ile dengelenir.

Aile tabanlı çalışmaların bir başka önemli avantajı da, anne ve babanın genotipleri arasındaki etkileşimlerin ve belirlenmiş etkilerin çalışıldığı ebeveyn kökenli çalışmalara müsaade etmesidir.

Bu tip çalışmalar bir takım avantajlara sahip olsalar da, bunlar üzerindeki sınırlayıcı faktör, uygun aile üyelerinin çalışmaya dahil edilmesindeki maliyet güçlüğü ve diğer zorluklardır. Tanımlanan her bir olgu için, hastanın anne-babası veya kardeşleri de çalışmaya dahil edilmeli ve DNA örneklerinin elde edilmesi için izinler alınmalıdır. Bu, özellikle geç başlama yaşına sahip hastalıklar için zor bir durumdur. Çünkü aile bireyleri dağınık durumda veya ölmüş olabilirler. Dolayısıyla analizlerde zorluklar çıkarabilecek olan karışık aile yapısı, bu tip çalışmalarda yaygın bir durumdur. Bu nedenlerle aile tabanlı çalışmalar, sıklıkla erken başlangıçlı hastalıklara uygulanır ve binlerce olgunun gerekli olduğu genom çaplı tarama çalışmalarından ziyade, daha küçük ölçekli aday gen çalışmalarında tercih edi-

lir.⁷ Tablo 2’de çalışma tasarımlarının varsayımlarına, avantajlarına ve dezavantajlarına göre karşılaştırılması verilmiştir.

Sonuç olarak; klinik epidemiyoloji yöntemlerinden farklı olarak genetik araştırmalarda toplumdaki gelen kontrollerden yüksek cevap oranını elde etmenin zorluğu da dikkate alındığında, eş veya partnerden ya da onların akrabalarından veya kardeşlerden oluşan kontrol grupları daha sık kul-

lanılmaktadır. Herhangi bir özel hastalık durumu için en iyi tasarımı belirlemek elbette ki güçtür. Özellikle, aile tabanlı bir çalışma tasarlanmadan önce, hastanın gönüllülüğü, aile içi ve akrabalarıyla olan münasebetlerinin derecesine bağlı olarak, hasta yakınlarının çalışmaya katılmak için istekli olup olmama durumu çalışmanın ileriki aşamalarında sıkıntı çıkarabilecek bazı problemlere yol açabilir. Bu nedenle ilk olarak bir pilot çalışma yapılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Battaloğlu E, Başak AN. [Genetic of complex disease: current concepts and genomic methods that used in the diagnosis of neurological diseases]. *Klinik Gelişim* 2010;23 (1):128-33.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. [The role of genetics in medicine]. Çeviri: Tunçbilek E. *Tıbbi Genetik*. 6. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2005. p.1-3.
- Cakir B. [Genetic epidemiology: its use in psychiatric research]. *Türk Psikiyatri Derg* 2002; 13(4):300-11.
- Hopper JL, Bishop DT, Easton DF. Population-based family studies in genetic epidemiology. *Lancet* 2005;366(9494):1397-406.
- Thomas DC. Testing candidate gene associations. *Statistical Methods in Genetic Epidemiology*. 1st ed. New York: Oxford University Press; 2004. p.264-80.
- Kaprio J. Science, medicine, and the future. *Genetic epidemiology*. *BMJ* 2000;320 (7244): 1257-9.
- Teare MD. An introduction to epidemiology. *Genetic Epidemiology*. 1st ed. New York: Humana Press; 2011.p.28-35.
- Cordell HJ, Clayton DG. Genetic association studies. *Lancet*.2005;366(9491):1121-31.
- Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003;361(9357):598-604.
- Hsu L, Prentice RL, Stanford JL. Some further results on incorporating risk factor information in assessing the dependence between paired failure times arising from case-control family studies: an application to prostate cancer. *Stat Med* 2002;21(6): 863-76.
- Kraft P, Thomas DC. Case-sibling gene-association studies for diseases with variable age at onset. *Stat Med* 2004;23 (23):3697-712.
- Witte JS, Gauderman WJ, Thomas DC. Asymptotic bias and efficiency in case-control studies of candidate genes and gene-environment interactions: basic family designs. *Am J Epidemiol* 1999;149(8):693-705.
- Martin ER, Kaplan NL, Weir BS. Tests for linkage and association in nuclear families. *Am J Hum Genet* 1997;61(2):439-48.
- Horvath S, Laird NM. A discordant-sibship test for disequilibrium and linkage: no need for parental data. *Am J Hum Genet* 1998;63 (6): 1886-97.
- Martin ER, Bass MP, Kaplan NL. Correcting for a potential bias in the pedigree disequilibrium test. *Am J Hum Genet* 2001;68(4): 1065-7.
- Kraft P. A robust score test for linkage disequilibrium in general pedigrees. *Genet Epidemiol* 2001;21(Suppl 1):S447-52.
- Langholz B, Ziogas A, Thomas DC, Faucett C, Huberman M, Goldstein L. Ascertainment bias in rate ratio estimation from case-sibling control studies of variable age-at-onset diseases. *Biometrics* 1999;55 (4):1129-36.
- Piegorsch WW, Weinberg CR, Taylor JA. Non-hierarchical logistic models and case-only designs for assessing susceptibility in population-based case-control studies. *Stat Med* 1994;13(2):153-62.
- Begg CB, Zhang ZF. Statistical analysis of molecular epidemiology studies employing case-series. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994;3(2):173-5.
- Khoury MJ. Case-parental control method in the search for disease-susceptibility genes. *Am J Hum Genet* 1994;55(2):414-5.
- Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 1993;52(3):506-16.
- Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003;361(9357):598-604.
- Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 2005;6(2): 95-108.
- Mitchell AA, Cutler DJ, Chakravarti A. Undetected genotyping errors cause apparent overtransmission of common alleles in the transmission/disequilibrium test. *Am J Hum Genet* 2003;72(3):598-610.
- Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA* 2008;299(11):1335-44.
- Khoury MJ, Flanders WD. Nontraditional epidemiologic approaches in the analysis of gene-environment interaction: case-control studies with no controls! *Am J Epidemiol* 1996;144(3):207-13.
- Blossey H, Commenges D, Olson JM. Linkage analysis of Alzheimer's disease with methods using relative pairs. *Genet Epidemiol* 1993;10(6):377-82.

28. Baroni MG, Alcolado JC, Gragnoli C, Franciosi AM, Cavallo MG, Fiore V, et al. Affected sib-pair analysis of the GLUT1 glucose transporter gene locus in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM): evidence for no linkage. *Hum Genet* 1994;93(6):675-80.
29. Rigby AS. HLA haplotype sharing in rheumatoid arthritis sibships: risk estimates in siblings. *Scand J Rheumatol* 1992; 21 (4):68-73.
30. Manolio TA, Bailey-Wilson JE, Collins FS. Genes, environment and the value of prospective cohort studies. *Nat Rev Genet* 2006;7 (10):812-20.
31. Langholz B, Rothman N, Wacholder S, Thomas DC. Cohort studies for characterizing measured genes. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1999;(26):39-42.
32. Khoury MJ, Bedrosian SR, Gwinn M, Higgins JPT, Ioannidis JPA, Little J. Case-control and cohort studies in the age of genome wide associations. *Human Genome Epidemiology*. 2nd ed. New York. Oxford University Press; 2010. p.100-33.