

TARTU ÜLIKOOL  
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND  
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

MARIA KAARE

**IgLON valke kodeerivate geenide ekspressiooni muutused skisofreeniapatsientide  
dorsolateraalses frontaalkoores**

Bakalaureusetöö geenitehnoloogias

12 EAP

Juhendajad PhD Mari-Anne Philips

PhD Kersti Lilleväli

PhD Tambet Tõnissoo

Tartu 2016

## **INFOLEHT**

### **IgLON valke kodeerivate geenide ekspressiooni muutused skisofreeniapatsientide dorsolateraalses frontaalkoores**

Mitmed uuringud on näidanud, et IgLON perekonna neuraalsed adhesioonimolekulid (OPCML, NTM, LSAMP, NEGR1) on olulisteks kandidaatideks skisofreenia tekke põhjustajatena. IgLONid osalevad neuritide väljakasvus, sünapsite moodustumises ja nende elimineerimises ja neurogeneesis. On näidatud LSAMP taseme 20% tõusu skisofreenia patsientide postmortaalses dorsolateraalses prefrontaalkoores. Kindlaks on tehtud ka teatud SNPid LSAMP geenis, mis on seotud skisofreenia tekkega. Töö eesmärgiks on iseloomustada IgLON perekonna adhesioonimolekulide ekspressiooni skisofreenia patsientide dorsolateraalses prefrontaalkoores, kasutades selleks qPCR. LSAMP, NTM ja OPCML alternatiivsete promootorite 1a ja 1b aktiivsuseid mõõdeti eraldi. Statistiliselt oluline erinevus skisofreenia patsientide ja kontrollisikute vahel esines NEGR1 ( $P < 0,001$ ) ja NTM 1b ( $P < 0,01$ ) puhul. Seega võivad muutused IgLON perekonna adhesioonimolekulide ekspressioonis olla üheks skisofreenia tekkepõhjuseks.

- IgLON
- Skisofreenia
- Dorsolateraalne prefrontaalkoor

### **CERCS ERIALA: B790 Kliiniline geneetika**

#### **Changes of the expression levels of the genes coding the IgLON family proteins in the dorsolateral prefrontal cortex of the patients with schizophrenia**

Several studies suggest that the family of IgLON neural adhesion molecules (OPCML, NTM, LSAMP, NEGR1) are important candidates in forming the susceptibility of schizophrenia. IgLONs have been suggested to be involved in neurite outgrowth, synapse formation and pruning and neurogenesis. It has been shown that the level of the LSAMP protein is approximately 20% increased in the *postmortem* frontal cortex in patients with schizophrenia. There are also certain SNPs in the 1b promoter of the human LSAMP gene that have a strong association with the risk of schizophrenia. The aim of this study was to characterize the expression levels of the genes coding the IgLON family in the dorsolateral prefrontal cortex of the patients with schizophrenia by using qPCR. Alternative 1a and 1b promoter activities of LSAMP, NTM and OPCML were assessed separately. There was significantly higher

expression of NEGR1 ( $P < 0,001$ ) and NTM 1b ( $P < 0,01$ ) transcript *postmortem* dorsolateral prefrontal cortex in patients with schizophrenia. So the changes in the expression level of the IgLON family adhesion molecules can be one of the causes of schizophrenia.

- IgLON
- Schizophrenia
- Dorsolateral prefrontal cortex

CERCS RESEARCH SPECIALISATION: **B790 Clinical genetics**

## SISUKORD

INFOLEHT .....	2
SISUKORD .....	4
KASUTATUD LÜHENDID .....	6
SISSEJUHATUS.....	8
1. KIRJANDUSLIK ÜLEVAADE .....	9
1.1. Ig superperekonna adhesioonimolekulid .....	9
1.2. IgLON perekond.....	9
1.2.1. LSAMP .....	11
1.2.2. Neurotrimin.....	12
1.2.3. OPCML.....	12
1.2.4. Kilon/NEGR1 .....	13
1.2.5. IgLON5 .....	13
1.3. Adhesioonimolekulid ajus .....	14
1.4. Skisofreenia .....	16
1.4.1. Negatiivsed sümptomid .....	17
1.4.2. Positiivsed sümptomid .....	17
1.4.3. Kognitiivsed sümptomid .....	18
2. EKPERIMENTAALOSA .....	18
2.1. Töö eesmärgid .....	18
2.2. Materjalid ja meetoodika.....	18
2.2.1. Koeproovid ja RNA eraldamine .....	18
2.2.2. cDNA süntees .....	19
2.2.3. Realaja-PCR.....	19
2.2.4 Statistiline analüüs .....	21
2.3. Tulemused .....	21

2.3.1. Studenti t-testi tulemused.....	21
2.3.2. Korrelatsioonanalüüsi tulemused.....	24
2.4. Arutelu.....	26
2.4.1 Peamised järeldused.....	29
KOKKUVÕTE.....	30
SUMMARY.....	32
TÄNUSÕNAD.....	34
KASUTATUD KIRJANDUS.....	35
Kasutatud artiklid.....	35
Kasutatud raamatud.....	43
KASUTATUD VEEBILEHED.....	43
LIHTLITSENTS.....	45

## KASUTATUD LÜHENDID

ASAM – adipotsüütide spetsiifiline adhesioonimolekul (ingl. k. *adipocyte-specific adhesion molecule*)

CAM – raku adhesioonimolekul (ingl. k. *cell adhesion molecule*)

CHL1 – L1 sarnane raku adhesioonimolekul (ingl. k. *cell adhesion molecule L1 like*)

CLMP – CXADR sarnane membraani proteiin (ingl. k. *CXADR like membrane protein*)

CNS – kesknärvisüsteem (ingl. k. *central nervous system*)

DRG – dorsaaljuure ganglion (ingl. k. *dorsal root ganglion*)

ECM – ekstratsellulaarne maatriks (ingl. k. *extracellular matrix*)

ESAM – endoteeli raku adhesioonimolekul (ingl. k. *endothelial cell adhesion molecule*)

GPI – glükosüül-fosfatidüül-inositol (ingl. k. *glycosylphosphatidylinositol*)

ICAM1 – rakusisene raku adhesiooni molekul 1 (inglise. k. *intracellular adhesion molecule 1*)

Ig – immuunoglobuliin (ingl. k. *immunoglobulin*)

IgCAM – immuunoglobuliini raku adhesiooni molekulid (ingl. k. *immunoglobulin cell adhesion molecule*)

IgLON – immuunoglobuliin LON (ingl. k. *immunoglobulin LON*)

IGSF11 – immuunoglobuliini superperekonna liige 11 (ingl. k. *immunoglobulin superfamily member 11*)

JAM – liiduste adhesioonimolekul (ingl. k. *junctional adhesion molecule*)

LSAMP– limbilise süsteemiga seotud membraanvalk (ingl. k. *limbic-system associated membrane protein*)

LSAMP– limbilise süsteemiga seotud membraanvalku (LSAMPi) kodeeriv geen

LTD – (ingl. k. *long-term depression*)

LTP – (ingl. k. *long-term potentiation*)

MAG – müeliiniga seotud glükoproteiin (ingl. k. *myelin associated glycoprotein*)

MDD – (ingl.k *major depression disorder*)

NCAM – neuraalne raku adhesioonimolekul (ingl. k. *neural cell adhesion molecule*)

NEGR1/Kilon – neronaalne kasvuregulaator (ingl. k. *neuronal growth regulator*)

*NEGR1*– neuronaalset kasvuregulaator 1 (NEGR1) kodeerv geen

NFASC – (ingl.k *neurofascin*)

NTM – neurotrimin

*NTM* – neurotrimini kodeeriv geen

OBCAM/OPCML– opioide siduv raku adhesioonimolekul (ingl. k. *opioid-binding cell adhesion molecule*)

*OPCML* – opioide siduvat raku adhesioonimolekuli (OPCML) kodeeriv geen

PECAM1 – trompotsüütide ja endoteelirakkude raku adhesioonimolekul (ingl. k. *platelet and endothelial cell adhesion molecule*)

PNS – piirdenärvisüsteem (ingl.k. *peripheral nervous system*)

SALM – (ingl. k. *synaptic cell adhesion-like molecule*)

SCG – (ingl. k *superior cervical ganglion*)

sICAM-1 – ICAM lahustuv versioon (ingl. k. *soluble intracellular cell adhesion molecule*)

SIGLEC – silaani siduv Ig sarnane lektiin (ingl. k. *sialic acid binding Ig like lectin*)

SNP – ühe nukleotiidi polümorfism (ingl. k. *single nucleotide polymorphism*)

sVCAM – VCAM lahustuv versioon (ingl. k. *soluble vascular cell adhesion molecule*)

SynCAM – sünaptiline raku adhesioonimolekul (ingl. k. *synaptic cell adhesion molecule*)

VCAM – vaskulaarne raku adhesioonimolekul (ingl. k. *vascular cell adhesion molecule*)

## SISSEJUHATUS

Raku adhesioonimolekulid on olulised valgud, mis vahendavad kas rakkude omavahelist või rakkude ja ekstratsellulaarse maatriksi vahelist adhesiooni. Adhesioonimolekulid võimaldavad rakkudel kleepuda üksteise külge, ühendada naaberrakkude tsütoplasmasid ja annavad kudedele nende tugevuse ja vastupidavuse, samas ka paindlikkuse. Raku adhesioonimolekulid jagatakse viide põhilisse klassi, nendeks klassideks on kadheriinid, immunoglobuliinide (Ig) superperekond, selektiinid, mutsiinid ja integriinid. (Lodish et al., 2008) Neuraalsed adhesioonimolekulid on olulised neuronitevaheliste ühenduste loomisel närvisüsteemi arengus ning ka täiskasvanud ajus. Seetõttu võivad muutused adhesioonimolekulide ekspressioonis või funktsioonis olla aluseks muutustele adaptatiivses käitumises ning põhjustada psühhopatoloogilisi seisundeid. Ig superperekonda kuuluvad IgLON perekonna adhesioonimolekulid omavad olulist rolli aju arengus. Nad osalevad neuriitide väljakasvus, sünapside moodustumises ja nende elimineerimises ning neurogeneesis. (Behan et al., 2009) *LSAMP* geeni ekspressioon saab alguse juba embrüonaalses arengus, kui limbiline süsteem pole veel täielikult väljakujunenud. *LSAMP* ekspresseerub kõige pealt limbiliste struktuuride postmitootilistel neuronitel. (Pimenta et al., 1996; Horton ja Levitt, 1988) *LSAMP* ekspressioon algab rotil embrüonaalse arengu 12.5 päeval. (Pimenta et al., 1996; Philips et al., 2015). *Lsmp 1a* ekspresseerub hipokampuse, temporaalkoore, mandelkeha, ventraalse striaatiumi, tsingulaar- ja insulaarkoore piirkondades. *Lsmp 1b* ekspresseerub sensorsetes radades, mis ulatuvad ajutüvest ja taalamuse sensorsetest tuumadest primaarsete sensorsete aladeni ajukoos. Lisaks ekspresseerub *Lsmp 1b* ka piirkondades, mis moodustavad limbilise süsteemi ja on seotud stressi ja erutuse reguleerimisega. (Philips et al., 2015) Loote varajase arengus leidub *LSAMP* lisaks neuronitele ka dendriitidel ja aksonitel ja seeläbi suunab limbilise süsteemi väljakujunemist (Horton ja Levitt, 1988; Keller et al., 1989). *LSAMP* on IgLON perekonna kõige rohkem uuritud liige, aga on alust arvata, et ka teised perekonna liikmed käituvad talle sarnaselt. Muutused nende ekspressioonis võivad olla aluseks laialdsele spektrile psühhiaatrilistele häiretele nagu näiteks depressioon, skisofreenia ja bipolaarne häire (Bailer et al., 2002; Camp et al., 2005; Hong et al., 2009; Maccarrone et al., 2013). Käesoleva töö eesmärk on uurida, kas IgLON perekonda kuuluvatel geenidel esineb ekspressiooni muutuseid skisofreeniapatsientide dorsolateraalses frontaalkoos. Samuti hinnata, kas uuritud transkriptide ekspressioonitasemete vahel esineb korrelatsioone, mis oleksid iseloomulikud ainult skisofreenia patsientidele või kontrollisikutele. Töö eksperimentaalne osa teostati Tartu Ülikooli Arstiteaduskonna Bio- ja siirdemeditsiini instituudi füsioloogi õppetoolis.

# 1. KIRJANDUSLIK ÜLEVAADE

## 1.1. Ig superperekonna adhesioonimolekulid

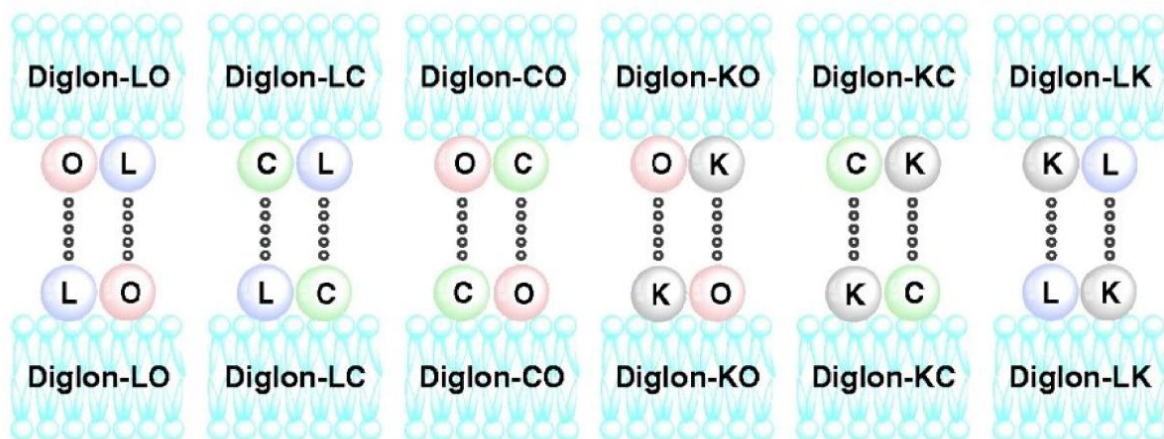
Ig superperekonna raku adhesioonimolekulid võivad olla nii homofiilsed kui ka heterofiilsed. IgCAMid sisaldavad Ig domeene. Ig domeenid koosnevad vahelduvatest hüdrofiilsetest ja hüdrofoobsetest jääkidest, mis moodustavad  $\beta$ -ahelaid.  $\beta$ -ahelad moodustavad omakorda  $\beta$ -lehtesid, mida stabiliseerivad lehtede vahelised disulfiid sidemed. Ig domeenid jagunevad 3 alamklassi sõltuvalt nende sarnasusest Ig-de varieeruvale (V) ja konstantsele (C) regioonile. Kolmas klass on C2, millele on sarnasusi nii V kui ka C regiooniga. (Colman ja Filbin, 2006) Nad saavad endaga siduda integriine ja teisi Ig superperekonna adhesioonimolekule. Ig superperekonna adhesioonimolekulid jagunevad paljudeks alamliikideks.

- SynCAM – sünaptilised raku adhesioonimolekulid;
- ICAM-1 – rakusisesed raku adhesioonimolekulid (NCBI);
- VCAMs – vaskulaarsed raku adhesioonimolekulid (NCBI);
- PECAM-1 – trombotsüütide endoteeli raku adhesioonimolekulid (NCBI);
- L1 perekond – perekonda kuuluvad L1 (valk), CHL1 (NCBI), NFASC (NCBI);
- SIGLEC – müeliiniga seotud glükoproteiinid (nt. MAG (NCBI)), CD22;
- CTX perekond – CTX, JAM, IGSF11, CLMP, VSIG, ESAM, ASAM (Walmod et al., 2007);
- Nektiin ja nektiinisarnased molekulid;
- CD2 – seda ekspresseerivad oma pinnal T-rakud ja loomulikud tappurrakud;
- CD48 – kuulub CD2 alamperekonda. CD48 leidub lümfotsüütide ja teiste immuunrakkude ning dendriitrakkude ja endoteelirakkude pinnal ning ta osaleb nende rakkude aktiveerimisel ja diferentseerumisel. (NCBI)
- NCAM – neuraalne raku adhesioonimolekul. NCAMid mängivad olulist rolli lihaste, gliia rakkude ja närvirakkude diferentseerumisel (Rutishauser et al., 1983; Skibo et al., 1999). Siia kuuluvad ka perekonna IgLON adhesioonimolekulid (Levit, 1984).

## 1.2. IgLON perekond

IgLON perekonna adhesioonimolekulide alamliigid on LSAMP (*limbic system-associated membrane protein*), Neurotrimin (Ntm)/CEPU-1 (roti ja kana ortoloogid), OBCAM (*opioid-binding cell adhesion molecule*), Kilon/NEGR1 ja IgLON5 (Levit, 1984). IgLON valgud on erinevate liikide vahel kõrgelt konserveerunud (Funatsu et al., 1999; Gil et al., 2002). IgLONid on kõrgelt glükosüleeritud valgud. IgLON perekonna adhesioonimolekulid

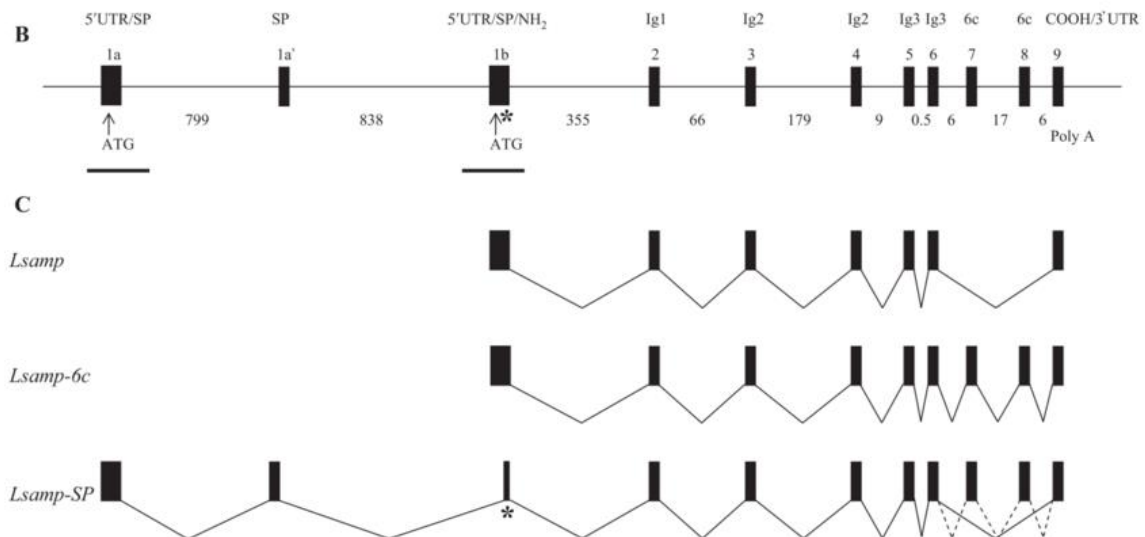
koosnevad kolmest C2 tüüpi Ig domeenist, mis kinnituvad GPI (glükosüülfosfatidüülinositol) ankruga plasmamembraanile. IgLON valgud moodustavad raku pinnal homofiilseid ja heterofiilseid komplekse. Nad vahendavad kõrvuti asetsevates rakkudes adhesiooni; kontaktide moodustumist ja neuriitide väljakasvu. (Sanz et al., 2015) IgLONid võivad mängida rolli ka sünapsite kujunemises ja säilimises (Hashimoto et al., 2009). Kuigi IgLONid on neuromaalsed adhesioonimolekulid, mida peamiselt ekspresseeritakse ajus, võivad nad mitmetes mitteneuraalsetes organites ja kudedes nagu munasarjad, kopsud, luud ja magu toimida kui tuumorsupressorid (Sellar et al., 2003; Ntougkos et al., 2005; Wang et al., 2006; Tsou et al., 2007; Barøy et al., 2014). IgLONid võivad moodustada heterofiilseid dimeere, mida nimetatakse digloniteks. Kui kaks IgLONi moodustavad Digloni, siis võib uue kompleksi toime olla hoopis teine kui algsetel IgLONitel. Diglonid on aktiivsed närvisüsteemi väljakujunemise ajal ning osalevad aksonite väljakasvul ja suunamisel. OBCAM ja NTM koos inhibeerivad neuronite väljakasvu, aga üksinda pole neil neuronite väljakasvule mingit efekti. Neljast IgLON perekonna valgust on võimalik moodustada 6 erinevat heterofiilset Diglonit (joonis 1). LSAMP seob kõige kõrgema afiinsusega OBCAMi ja CEPU-1. CEPU-1/OBCAM heterofiilne kompleks on vähem stabiilne kui CEPU-1/LSAMP ja OBCAM/LSAMP heterofiilsed kompleksid. Nii LSAMPi kui ka OBCAMi homofiilsed interaktsioonid on nõrgad, samas kui CEPU-1/CEPU-1 interaktsioon on kõrge afiinsusega. (Reed et al., 2004; Akeel et al., 2011)



**Joonis 1. Diglonite jaotus.** Kaks erinevat IgLONit võivad moodustada heterofiilse dimeeri Digloni. IgLON perekonna neljast valgust on võimalik moodustada 6 erinevat Diglonit. Joonisel on O – OBCAM, L – LSAMP, K – Kilon ja C – neurotrimin. (Reed et al., 2004)

### 1.2.1. LSAMP

LSAMP on 64-68 kDa glükoproteiin, mida on võimalik leida kortikaalsete ja subkortikaalsete neuronite kehael ja dendriitidel. Need piirkonnad moodustavad täiskasvanud imetaja limbilise süsteemi, mis osaleb emotsionaalse käitumise vahendamises, õppimises, mälus ja keskses autonoomses regulatsioonis. (Horton et al., 1988; Levitt 1984) Arvatakse, et LSAMP on vajalik molekulaarne komponent limbilise süsteemi piirkondade vaheliste ühenduste moodustumiseks (Horton et al., 1988). LSAMP ekspresseeritakse ka arenevatel aksonitel ja kasvukoonusel (Horton and Levitt 1988). LSAMP soodustab läbi homofiilsete interaktsioonide neuronite väljakasvu (Gil et al., 2002; Pimenta et al., 1995). LSAMP heterofiilsed interaktsioonid inhibeerivad neuriitide väljakasvu (Gil et al., 2002; Keller et al., 1989). LSAMP interaktsioonid, mis on vahendatud esimese Ig domeeni poolt, suurendavad neuriitide väljakasvu hipokampuse neuronites. Interaktsioonid, mis on vahendatud teise Ig domeeni poolt inhibeerivad neuriitide väljakasvu SCG (*superior cervical ganglion*) neuronites. (Eagleson et al., 2003) Samuti on LSAMPil oluline roll neuronite ja sünapside moodustumisel (Mann et al. 1998; Gil et al. 2002). Lisaks limbilisele süsteemile ekspresseeritakse seda veel keskaju ja tagaaju piirkondades (Reinoso et al., 1996) ning sensorsetes süsteemides (Philips et al., 2015). Inimestel paikneb *LSAMP* geen 3q13.2-q21 kromosomaalses regioonis ja koosneb 11 eksonist ja on roti LSAMP cDNA-ga nukleotiidsel tasemel 94% identne ja kodeeritud 338 aminohappelise polüpeptiidi tasemel 99% identne (Pimenta et al., 1996). *LSAMP* geenil on kaks alternatiivset esimest eksonit 1a ja 1b, mis on üksteisest eraldatud 1,6 Mbp pikkuse intoni poolt, tänu millele tekib kaks erinevat mRNA transkripti (Pimenta et al., 2004). *Northern blot* analüüsid näitavad, et inimese ajus on LSAMPil 1,6 kb ja 8.0 kb transkript (OMIM). Uuringud on näidanud, et LSAMPil võib olla roll suitsiidse käitumise neurobioloogias (Must et al., 2008). Lisaks on *LSAMP* geeni lookust inimese 3 kromosoomi pikas õlas seostatud depressiooni ja ärevuse (Camp et al., 2005), bipolaarse häire (Bailer et al., 2002), agorafobia, skisofreenia (Hong et al., 2009; Kaneko et al., 2007; Ng et al., 2009) ja autismi toimespektriga häirete puhul (Auranen et al., 2002). Skisofreenia ja bipolaarse häirega patsientidel on näidatud 20% LSAMP valgu taseme tõus postmortaalses dorsolateralses prefrontaalkoores (Behan et al., 2009). On näidatud, et on olemas teatud polümorfismid *LSAMP* geenis, mis on seotud skisofreenia esinemissageduse tõusuga (Koido et al., 2011).



**Joonis 2. *Lsamp* geeni transkriptid.** LSAMP esineb kahe erineva transkriptina ning *Lsamp* geenil on kaks alternatiivset promooterit 1a ja 1b (Pimenta ja Levitt, 2004 modifitseeritud).

### 1.2.2. Neurotrimin

Inimesel paikneb *NTM* geen 11. kromosoomis (NCBI). *NTM* on seotud intelligentsusega (Pan et al., 2011) ja on näidatud, et ta osaleb ka närvikimpude moodustumises aksonite poolt, suunab närvikiude nende märklaua suunas ja stabiliseerib sünapseid. *NTM* on neuronite spetsiifiline adhesioonimolekul. *NTM* leidub metüleerimata aksonite pinnal, astrotsüütide ega oligodendrotsüütide pinnal neurotrimini ei ole. (Chen et al., 2001; Sharma et al., 2015) *NTM* olemasolu on oluline teatud tüüpi sünapsite moodustumisel ja nende säilimisel täiskasvanu väikeajus. (Chen et al., 2001). Inimese ja hiire *NTM* aminohappeline järjestus on 96% ulatuses homoloogne. Inimese *OPCML* ja *NTM* aminohappelised järjestused on 76,5% identsed ning *NTM* ja *LSAMP* aminohappelised järjestused 50,1% identsed. *NTM* ekspresseritakse peamiselt kesknärvisüsteemis. Täiskasvanu ajus on *NTM* ekspressiooni tase kõrgem kui loote ajus. Aju kasvaja puhul on märgata *NTM* ekspressiooni taseme langust võrreldes normaalse ajukoega. (Jin et al., 2003) *NTM* seob spetsiifiliselt DRG (*dorsal root ganglion*) ja hipokampuse neuroneid, aga mitte SCG neuroneid. *NTM* soodustab DRG neuronite väljakasvu ja inhibeerib SCG neuronite oma. (Gil et al., 1998)

### 1.2.3. OPCML

Inimesel paikneb *OPCML* geen 11. kromosoomis (NCBI). *OPCML* geen sisaldab 7 eksonit ja on transkribeeritud telomeeridest tsentromeerideni. *OPCML* on kaks alternatiivset splaissitud transkripti, mis erinevad omavahel 5' eksonite poolest. Üks transkriptidest on 46 kDa ja teine 51 kDa. *OPCML* on näidatud tuumorsupressori rolli mitmete erinevate kasvajate puhul (Cui

et al., 2008; McKie et al., 2012). Normaalsetes munasarjades on OPCML CpG-saared metüleerimata. Sellar ja teised viisid läbi uuringu, kus nad näitasid, et 87% uuritud munasarja kasvajatest olid OPCML CpG-saared metüleeritud (Sellar et al., 2003). Samuti on näidatud OPCML kõrget metülatsiooni taset kospu adenokartsinoomi puhul (Tsou et al., 2007) ja OPCML ekspressiooni taseme langust mao- ja ajukasvajate puhul (Wang et al., 2006; Reed et al., 2007). OPCML võib moodustuda nii homodimeere kui ka heterodimeere teiste IgLON perekonna liikmetega ja osaleda seeläbi signaali ülekandmises (Reed et al., 2004). OPCML kontrollib astrotsüütides toimuvaid morfoloogilisi muutusi ja astrotsüütide proliferatsiooni. OPCML paikneb tüüp-1 ja tüüp-2 astrotsüütide peritsellulaarses piirkonnas. OPCML ekspressioon tüüp-1 astrotsüütides on nende kasvufaasis kõrgem kui statsionaarses faasis. (Sugimoto et al., 2010) Uuringutega on näidatud, et OBCAM üleekspressioon suurendab märgatavalt sünapside arvu dentriitidel, millest võib järeldada, et OBCAM osaleb sünapside arvu reguleerimisel (Yamada et al., 2007). OBCAM võib moodustada presünaptilistes piirkondades heterofiilseid kontakte teiste IgLON perekonna valkudega (Reed et al., 2004).

#### **1.2.4. Kilon/NEGR1**

Inimesel paikneb *NEGR1* geen 1. kromosoomis (NCBI). *NEGR1* on vähem glükosüleeritud kui teised IgLON perekonna liikmed. Uuringud näitavad, et *NEGR1* kutsub esile astrotsüütide aktiivsuse ja soodustab neuriiitide väljakasvu hipokampuse neuronites. (Schäfer et al., 2005) Mitmed genoomsed uuringud on näidanud, et *NEGR1* on seotud rasvumisega (Elks et al., 2012; Hotta et al., 2011; Poveda et al., 2014) ja düsleksiaga (Veerappa et al., 2013). Rasvunud inimestel on näidatud vähenenud *NEGR1* taset nahaaluses rasvkoes (Bernhard et al., 2013). *NEGR1* ekspresseeritakse erinevates aju piirkondades, sealhulgas ajukoores ja hüpotaalamuses (Lee et al., 2012), kus ta osaleb neuriiitide väljakasvul (Marg et al., 1999). *NEGR1* ekspresseeritakse ka täiskasvanu ajukoore ja hipokampuse dendriitide postsünaptilistes piirkondades ja somaatilistes sünapsites (Miyata et al., 2003). *NEGR1* osaleb sünapside moodustumises närvirakkude arengu ajal ja *NEGR1* arvatakse olevat roll ka sünapside plastilisuse tagamisel ja mälus (Hasimoto et al., 2008). Samuti on näidatud, et *NEGR1* võib olla seotud psühhiaatriliste häiretega. Hiljutised uuringud on näidanud *NEGR1* seost depressiooni, skisofreenia ja bipolaarse häirega. (Maccarrone et al., 2013)

#### **1.2.5. IgLON5**

Hiljuti kirjeldati ka viiendat IgLON perekonna liiget IgLON5. Inimesel paikneb *IGLON5* geen 1. kromosoomis (NCBI). *IgLON5* on IgLON perekonna värskelt avastatud liige. Ta omab rolli unehäirete tekkimises, kroonilises neurodegeneratsioonis ja rakkupinna

autoimmuunsuses. (Sabater et al., 2014; Leypolt et al., 2015) Käesolevas töös IgLON5 ekspressioonitaset ei uurita.

### **1.3. Adhesioonimolekulid ajus**

Neuraalsed adhesioonimolekulid osalevad neuraalatoru ja neuraalharja kujunemisel, neuronite ja gliia rakkude migratsioonil, aksonite väljakasvul ja suunamisel, märklaua valikul, sünapsite stabiliseerimisel ja sünapsite plastilisuse tagamisel, müeliniseerumisel ja närvide regeneratsioonil pärast vigastus (Colman ja Filbin, 2006). Rakkude vahelised adhesioonid on olulised aju morfoloogias ja kõrgelt koordineeritud aju funktsioonide nagu mälu ja õppimine jaoks. Närvisüsteemi varajase arengu käigus neuronid pikenevad aksonite suunas ja tänu rakkudevahelisele adhesioonile loovad ja säilitavad sünapse. Rakkudevaheline adhesioon toetab ka aksonite omavahelist kontakteerumist ja ühendab neuroneid gliiarakkudega ja oligodendrotsüütidega. (Sakisaka ja Takai, 2005) Närvisüsteemis esineb 3 peamist adhesioonimolekulide gruppi: Ig superperekonna adhesioonimolekulid, integriinid ja kadheriinid. Ig superperekond ja kadheriinid vahendavad rakk–rakk või membraan–membraan interaktsioone, aga integriinid vahendavad põhiliselt rakkude seondumist ekstratsellulaarse maatriksi komponentidega. Integriinid mängivad nii PNS kui CNS olulist rolli varajasel aksonite väljakasvul. Ajukoos ekspresseeritakse vähemalt 20 erinevat kadheriini. Esimene kadheriin, mida närvisüsteemis ekspresseeritakse on N-kadheriin, mida hakatakse tootma umbes samal ajal kui neuraalatoru sulgub. (Colman ja Filbin, 2006) N-kadheriini leidub nii pre- kui ka postsünaptilistes piirkondades. N-kadheriin reguleerib sünapsite arengut. (Iwai et al., 2002)

On näidatud, et kõik need kolm adhesioonimolekulide gruppi osalevad aksonite väljakasvul. Selleks, et akson jõuaks oma märklauani peab ta läbima pikki vahemaid. Aksoni lamenenud tipp, mida kutsutakse kasvukoonuseks, reageerib keskkonnale ja määrab, millises suunas akson kasvab. Keskkonnast tulevad signaalid, millele kasvukoonus reageerib, võivad olla ekstratsellulaarses maatriksis paiknevad fikseeritud ja difuussed molekulid. Enamus fikseeritud molekulid on CAMid, mida ekspresseerivad gliia rakud või teised rakud ning vanemad aksonid. (Dalva et al., 2007)

Sünapsid on spetsialiseerunud rakkudevahelised ühendused, mille eripära ja plastilisus toetavad närvisüsteemi funktsioneerimist. (Sakisaka ja Takai, 2005) Sünapsite moodustumisel on oluline roll presünaptilisel neureksiinil ja postsünaptilisel neuroliigiinil, mis käituvad kaltsium-sõltuvate adhesioonimolekulidena. Olemas on kolm neureksiini geeni, millest igaüks kodeerib kahte transkripti,  $\alpha$ - ja  $\beta$ -neureksiini.  $\alpha$ - ja  $\beta$ -neureksiinil on mõlemal identne

intratsellulaarne domeen, aga  $\alpha$ -neureksiinil on suurem ekstratsellulaarne domeen, mis võimaldab tal osaleda erinevates ekstratsellulaarsetes interaktsioonides. Tänu alternatiivsele splaissingule esineb rohkem kui 1000 erinevat neureksiini isovormi. Neurologiini ekspresseeritakse peamiselt ajus ja ta seob neureksiini läbi ekstratsellulaarse esteraasi sarnase sideme. Neureksiin ja neurologiin osalevad mõlemad nii erutus- kui ka pidurdussünapsite moodustumisel. Ig superperekonna adhesioonimolekulitest osalevad sünapsite moodustamisel SynCAM, SALM, L1, nektiin, SYG ja LAR-RPTP. (Dalva et al., 2007) N-kadheriin asub nii pre- kui postsünaptiilistes osades. (Fannon et al., 1996) N-kadheriin osaleb sünapsite arengu reguleerimises. N-kadheriin koguneb kohtadesse, kus akson ja dentriit moodustavad kontakti. See toimub enne kui kumbki neist on jõudnud diferentseeruda. (Togashi et al., 2002)

Raku adhesioonimolekulid mõjutavad ka sünapsite plastilisust, nad võivad algatada ja säilitada sünaptiilisi muutuseid. Sünapsite plastilisus on bioloogiline protsess, kus kindlad mustrid sünapsite aktiivsuses kutsuvad esile muutuseid sünapsite tugevuses. Nii pre- kui postsünaptiilised mehhanismid võivad kaasa aidata sünapsite plastilisusele. Sünapsite plastilisust peetakse üheks põhiliseks rakuliseks mehhanismiks, mis osaleb õppimises ja mälus. Sünapsite plastilisus jaguneb lühiajaliseks ja pikaajaliseks plastilisuseks. Lühiajaline plastilisus võib kesta millisekunditest kuni mõne minutini, pikaajaline plastilisus võib kesta mõned tunnid aga ka terve elu (Zucker and Regehr, 2002; Collingridge et al., 2010; Granger ja Nicoll, 2013). Üheks sünaptiiliseks muutuseks on pikaajaline võimendumine (LTP, ingl. k. *long-term potentiation*), mis on kestev sünapsite tugevnemine, mis järgneb lühikesele sünaptiilisele aktiivsusele. LTP vastandiks on pikaajaline nõrgenemine (LTD, ingl. k. *long-term depression*), mis on sünaptiilise tugevuse langus. (Dalva et al., 2007; Murase and Schuman, 1999) Uuringud on näidanud, et lisaks neuronaalsele aktiivsusele on sünapsite plastilisuse tekkel oluline roll veel raku adhesioonimolekulidel. Sünapsite plastilisuse tekkimisel osalevad erinevate raku adhesioonimolekulide omavahelised interaktsioonid ja adhesioonimolekulide interaktsioonid rakku pinnal paiknevate retseptoritega. Vastuseks neuronite aktiivsusele kutsuvad adhesioonimolekulid esile muutuseid sünapsite struktuuris. Lisaks osalevad mitmed ECM komponendid ja CAMd sünapsite ülekande reguleerimisel. (Benson et al., 2000) Arvatakse, et häired sünapsite lühiajalises plastilisus võivad olla skisofreenia tekkimise põhjuseks. Skisofreenia üheks sümptomiks on puudujäägid lühiajalises info töötlemises. Asjaolu, et lühiajalise, pideva info töötlemise eest vastutab suuresti lühiajaline sünapsite plastilisus, näitab, et see võib osaleda skisofreenia tekkimises. (Abbott ja Regehr, 2004; Crabtree ja Gogos, 2014) *In vivo* sünapsite plastilisuse uuringud skisofreenia patsientidel on näidanud transkraniaalse magnetstimulatsiooni poolt esile kutsutud vastuse

vähennemist või täielikku puudumist sünaptilise plastilisuses. (Fitzgerald et al., 2004; Daskalakis et al., 2008; Frantseva et al., 2008; Hasan et al., 2011; Crabtree ja Gogos, 2014)

#### **1.4. Skisofreenia**

Paljud uuringud on näidanud, et skisofreenia sümptomid on seotud molekulaarsete muutustega aju neurobioloogias (Guidotti et al., 2005; Chen et al., 2002). Skisofreenia saab tavaliselt alguse hilises noorukieas või varajases täiskasvanu eas. Naistel saab haigus alguse natuke hiljem kui meestel (Gogtay et al., 2011). Skisofreenia on neuroprogressiivne häire, mis on põhjustatud biokeemilistest, funktsionaalsetest ja struktuurilistest muutustest ajus. Need muutused erinevad haiguse varajases ja hilises staadiumis. (Stefanović et al., 2016) Skisofreenia mõjutab 21 miljonit inimest kogu maailmas (WHO). Eestis kasutatakse skisofreeni diagnoosimiseks Rahvusvahelist Haiguste Klassifikatsiooni (RHK-10), mis on välja antud Maailma Terviseorganisatsiooni poolt. Selle V peatükk käsitleb psüühika-ja käitumishäireid. Lisaks diagnooside loendile sisaldab see veel häirete diagnoosimiseks vajalikku detailset informatsiooni. (Kliinikum) Skisofreeniale on iseloomulik mitmekesine kogum sümptomeid, mille hulka kuuluvad muutused mõtlemises ja kognitiivses tunnetuses, motoorsed kõrvalekalded, tahteaktiivsuse langus ja apaatia, raskused suhtlemisel ja piiratud afektiivne vastus. Üldiselt liigitatakse need sümptomid positiivseteks, negatiivseteks ja kognitiivseteks sümptomiteks. (Tandon et al., 2009) Mitmed uuringud on näidanud N-CAM taseme suurenemist skisofreenia patsientide tserebrospinaalses vedelikus (van Kammen et al., 1998). Samuti on skisofreenia patsientidel näidatud suurenenud sICAM-1 taset haiguse hilises faasis ja vähenenud sVCAM-1 taset nii haiguse varajases kui ka hilises faasis (Stefanović et al., 2016). Neuroanatomilised uuringud on näidanud, et skisofreenia patsientidel on toimunud morfoloogilised muutused dorsolateraalse prefrontaalkoore, dorsaalse striatumi, ventraalse striatumi, hipokampuse, taalamuse, oimusagara ja mandelkeha piirkondades. Skisofreenia patsientidel on näidatud funktsionaalseid häireid prefrontaalkoores. (Eisenberg ja Berman, 2010) Lisaks sellele on näidatud, et skisofreenia patsientidel esineb hipokampuse, taalamuse, vasaku superioorse temporaalsagara ja mandelkeha piirkondade ning insulaarkoore ja anterioorse tsingulaarkoore piirkondade mahu suurenemist (Meyer-Lindenberg, 2010). Võib eeldada, et aju piirkondades, mille puhul on skisofreenia patsientidel näidatud morfoloogilisi muutuseid, ilmnevad muutused ka geenide ja valkude ekspressioonis.

### **1.4.1. Negatiivsed sümptomid**

Negatiivseteks sümptomiteks peetakse normaalse sotsiaalse käitumise langust või puudumist. Skisofreenia negatiivsete sümptomite hulka kuuluvad sotsiaalne võõrandumine, vähenenud afektiivne vastus, huvipuudus, madal sotsiaalne staatus ja vähenenud võime tajuda eesmärke ja teha tööd nende eesmärkide saavutamiseks. Skisofreenia negatiivsed sümptomid kestavad kauem kui positiivsed sümptomid ja neid on raskem ravida.

Negatiivsed sümptomid saab jagada primaarseteks ja sekundaarseteks. Primaarsed sümptomid on idiopaatilised ehk endogeensed, mis tulenevad mingisugustest, hetkel veel teadmata, patoloogilistest protsessidest ajus. Negatiivsed primaarsed sümptomid esinevad nii episoodide ajal kui ka episoodide vahelisel ajal ja ei sõltu alati sellest kas patsient võtab ravimeid või mitte. Sekundaarsed sümptomid on põhjustatud muudest faktoritest kui haigus ise. Sekundaarseid negatiivseid sümptomeid võivad olla põhjustatud ravimite kõrvaltoimest või nad võivad tuleneda depressioonist, sotsiaalsest tõrjutusest ja isiksushäiretest. Sekundaarsed negatiivsed sümptomid ei esine kogu aeg ja nad ilmnevad lühematel ajaperioodidel kui primaarsed negatiivsed sümptomid. (Sarkar et al., 2015)

### **1.4.2. Positiivsed sümptomid**

Positiivseteks sümptomiks on häiritud reaalsustaju, kuhu hulka kuuluvad luulud, hallutsinatsioonid ja muud reaalsust moonutavad tegurid. Hallutsinatsioonid võivad esineda kõigi viie meele puhul, aga kõige levinumad on kuulmishallutsinatsioonid. Patsiendid võivad oma peas kuulda häält, mis ütleb neile, mida teha, hoiatavad neid ohu eest või võivad teha patsiendi kohta õelaid kommentaare. Samuti võivad kaks häält omavahel kommenteerida patsienti ja tema tegemisi. (Keshavan et al., 2008) Skisofreenia puhul on tüüpiliseks luuluks see, et patsient arvab, et temalt on võetud tema vaba tahe ja ta allub kellegi teisele. Samuti võib skisofreenia haige arvata, et mingi väline jõud kontrollib tema mõtteid ja tundeid ning, et tema pähe pannakse võõraid mõtteid. Skisofreenia all kannatav isik võib arvata, et teda jälitatakse või tema järel nuhitakse. Patsiendid võivad nende ümber toimuvatele normaalsetele asjadele anda oma isikliku tähenduse. Näiteks patsient võib kindel olla, et lehtedes või raadios viidatakse temale või seal antakse talle edasi teateid. (Mellor, 1970) Moondunud reaalsustaju peetakse üldiselt ametlikult skisofreenia alguseks, kuigi patofüsioloogilised protsessid võivad olla kestnud juba üsna pikka aega. Positiivsed sümptomid saavad tavaliselt alguse teismeeas või varajases täiskasvanueas. (Keshavan et al., 2008)

### **1.4.3. Kognitiivsed sümptomid**

Kognitiivsete sümptomite alla kuuluvad probleemid tähelepanuvõimega, raskused mälu, raskused probleemide lahendamisel ja info töötlemisel ning raskused otsuste langetamisel. Skisofreenia patsientidel on näidatud sotsiaalse tunnetuse langust, mis avaldub nende suutmatuses tunnetada teiste inimeste emotsioone, nad ei suuda tunnetada oma seotust teiste inimestega, aimata inimeste mõtteid ja reageerida teiste inimeste emotsioonidele. (Green et al., 2015) Inimestel, kellel on skisofreenia võib olla probleeme valvsusega ja tähelepanu säilitamisega, mis põhjustab neil raskusi vestluste ja oluliste juhiste järgimises. Lihtne tegevus nagu lugemine või televiisori vaatamine võib nende jaoks olla väga keeruline või võimatu. Valvsus viitab võimele säilitada valmisolek reageerida signaalile (ärritajale) ja mitte lasta end häirida ülejäänud müra. Tänu sellele esinevad skisofreenia patsientidel sotsiaalsed puudujäägid ja neil on raskusi erinevate oskuste omandamisel. (Green et al. 2000) Skisofreenia patsientidel võivad esineda probleemid mälu toimimisega. Neil on raskusi uue info õppimisega ja selle info meeleshoidmisega pikema aja jooksul ning varem õpitud asjade äratundmisega. (Aleman et al.,1999)

## **2. EKPERIMENTAALOSA**

### **2.1. Töö eesmärgid**

- 1.) Hinnata IgLON perekonna transkriptide ekspressiooni skisofreeniapatsientide ja kontrollisikute dorsolateraalses prefrontaalkoores.
- 2.) Hinnata, kas uuritud transkriptide ekspressioonitasemete vahel esineb korrelatsioone, mis oleksid iseloomulikud ainult patsientidele või kontrollgrupile.

### **2.2. Materjalid ja meetodika**

#### **2.2.1. Koeproovid ja RNA eraldamine**

Skisofreeniapatsientide ja tervete indiviidide dorsolateraalse prefrontaalse koore koeproovid saadi Austraalia ajupankade ühenduselt (ingl *Australia Brain Bank Network*, ABBN, <http://www.austbrainbank.org.au/>). Proovide arv oli 71 (36 skisofreenia patsienti ja 35 kontrollisikut). RNA eraldamiseks ajuosad homogeniseeriti Trizol® reagentiga (Invitrogen). Esialgu homogeniseeriti koed jääs 100 µl Trizoli® reagentis. Seejärel proovid uhmerdati ja lisati ülejäänud Trizol kuni mahuni 750 µl. Seejärel inkubeeriti proove 5 minutit toatemperatuuril. Pärast inkubatsiooni lisati 150 µl kloroformi (Sigma-Aldrich) ja raputati

tuube 15 sekundit. Proove inkubeeriti veel 2 minutit toatemperatuuril ja tsentrifuugiti proove eeljahutatud tsentrifuugis (Eppendorf 5810 R) 15 minutit 12 000 rpm 4°C juures. Selle tulemusena tekkis kolm kihti: roosa, kus on valgud ja suhkrud ning kromosomaalne DNA, valge lipiidkiht, ning ülemine vesifaas, kus on RNA, vesifaasi maht on 60% algselt kasutatud trisooli mahust. Ülemine vesifaas tõsteti uude tuubi ja lisati 375 µl (pool kasutatud trisooli mahust) isopropanooli (Naxo BioTop) RNA sadestamiseks ning proovid segati. Proove inkubeeriti 10 minutit toatemperatuuril ja seejärel fuugiti 10 minutit 12 000 rpm 4°C juures. Peale fuugimist supernatant eemaldati ja lisati 1 ml jääkülma 75% etanooli, millega pestakse pelletilt maha soolad. Proove fuugiti 5 minutit 7500 rpm 4°C juures. Etanool eemaldatakse ja RNA sade suspendeeriti 50 µl vees. Proovide RNA kontsentratsioonid mõõdeti NanoDrop ND-1000 spektrofotomeetriga (NanoDrop Technologies). Eraldatud RNA proovid säilitati -80°C juures.

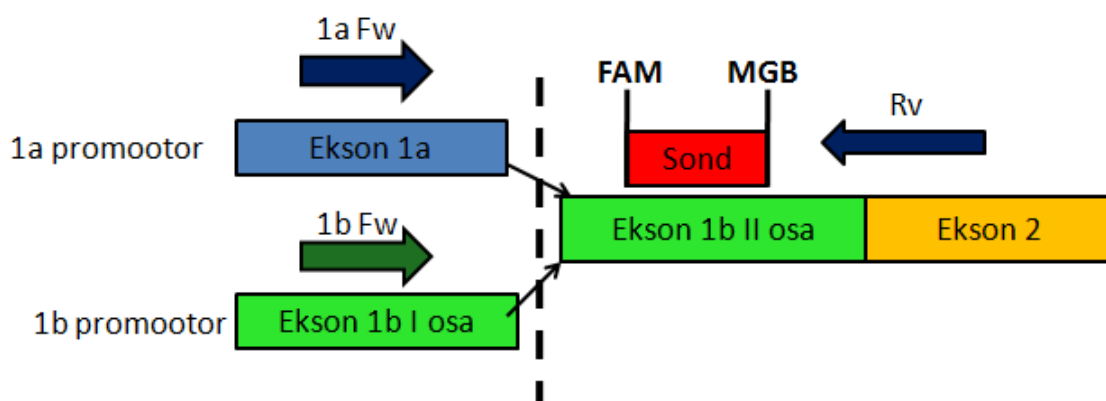
### 2.2.2. cDNA süntees

Eelnevalt saadud RNAST sünteesiti komplementaarne DNA. cDNA sünteesil kasutati SuperScript™ III pöördtranskriptaasi (Invitrogen) ja heksameerseid oligonukleotiide vastavalt tootja juhendile. cDNA sünteesiks võeti 7 µl RNAd ja lisati vett kuni mahuni 20 µl. Seejärel lisati 1 µl 10mM dNTP segu (Fermentas) ja 1 µl Random primer mix (Applied Biosystems). Proove inkubeeriti praimerite seondumiseks 5 minutit 65°C juures ja pärast seda tõsteti proovid 1 minutiks jääle, et peatada kõik reaktsioonid. Edasi lisati cDNA sünteesiks 4 µl 5x First-Strand Buffer [250 mM Tris-HCl (pH 8,3 toatemperatuuril), 375 mM KCl, 15 mM MgCl], 1 µl 0,1 M DTT, 1,5 µl H<sub>2</sub>O ja 0,5 µl SuperScript™ III pöördtranskriptaasi (200 U/µl). Proove segati õrnalt ja inkubeeriti 4 minutit toatemperatuuril. Seejärel inkubeeriti proove sünteesi toimumiseks 60 min 50°C juures. Kõige lõpuks hoiti tuube reaktsioonide peatamiseks 15 minutit 70°C juures. Saadud cDNA proovid säilitati -80°C juures.

### 2.2.3. Realaja-PCR

QRT-PCR kasutab lisaks tavalistele DNA *sense* ja *antisense* ahela spetsiifilistele PCR-i praimeritele veel kolmandat oligonukleotiidi (TaqMan sond). TaqMan sond on hüdrolüüsitud proov, mis on mõeldud qRT-PCR spetsiifilisuse suurendamiseks. TaqMan sondi puhul kasutatakse 5'-3' endonukleaase aktiivsusega Taq polümeraasi, et mõõta geeniekspressiooni taset uuritavas proovis. TaqMan sond on 18-22 oligonukleotiidi pikk ja selle 5' ots on kovalentselt seotud fluoroflooriga (FAM) ja 3' otsas asub „summutaja” (*quencher*). Summutaja asub füüsiliselt fluorestsentsmärgis lähedal. Kui TaqMan sond on terve siis

kustutab „summutaja” tekkiva fluoretsentsi. PCR reaktsioonis lagundatakse TaqMan sond Taq polümeraasi 5'-3' eksonukleaaase aktiivsuse poolt tükkideks, selle tulemusena fluoretsents märgis vabaneb ja annab ergastamisel fluoretsents signaali. Fluoretsents signaali kasv on proportsionaalne reaktsiooni segus tekkivate produktide hulgaga. Lisaks asub veel TaqMan praimer 3' otsas MGB (*minor groove binder*). MGB seondub sihtmärk DNA väikesesse vaku. MGB kinnitub üheaheelalise DNA proovi (TaqMan sond) külge ja tõstab selle stabiilsust ja DNA dupleksi sulamistemperatuuri ( $T_m$ ), mis võimaldab kasutada lühemaid ja järjestuse spetsiifilisemaid proove.



**Joonis 3.** *LSAMP*, *NTM* ja *OPCML* geenidel on kaks alternatiivset promootorit (avalikustamata andmed). PCR *forward* ja *reverse* praimerite ning TaqMan sondi paigutus qRT-PCRil.

IgILON perekonna geenide poolt kodeeritavate transkriptide tase kvantiteeriti qRT-PCR-i reaktsioonis. *LSAMP*, *OPCML* ja *NTM* transkriptide detekteerimiseks disainiti 1a *forward* praimerid 1a eksonile ja 1b *forward* praimerid 1b eksoni tagumisele osale. *OPCML*, *LSAMP* ning *NTM* eksonite 1a ja 1b korral kasutati universaalset sondi ja universaalset *reverse* praimerit. Referentsgeenina kasutati *HPRT*, mille efektiivsus ja stabiilsus on eelnevalt tõestatud (Raud et al., 2009). Kõik reaktsioonid sooritati eraldi nelja üksiku kordusena (*singleplex*). Geeniekspressiooni läbiviimisel kasutati järgnevat segu: 10X PCR Buffer [200 mM Tris-HCl (pH 8,4), 500 mM KCl] ja TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA) reagenti. Kvantitatiivne reaalaaja-PCR viidi läbi ABI Prism 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems, USA) ja ABI Prism 7900 SDS 2.4.2 tarkvara vahendusel. Reaktsiooni maht oli 10 µl ja igast proovist villiti neli kordust. Nii *OPCML*i, *NTM*i, *LSAMP*i kui *Kiloni* transkriptide ekspressioonitase mõõdeti FAM-märgistatud MGB-sondiga ja standardiseeriti koduhoidja geeni *HPRT* VIC-TAMRA sondi suhtes. Andmed analüüsiti ja teisendati  $2^{-\Delta CT}$  kujule (Livak ja Schmittgen, 2001).

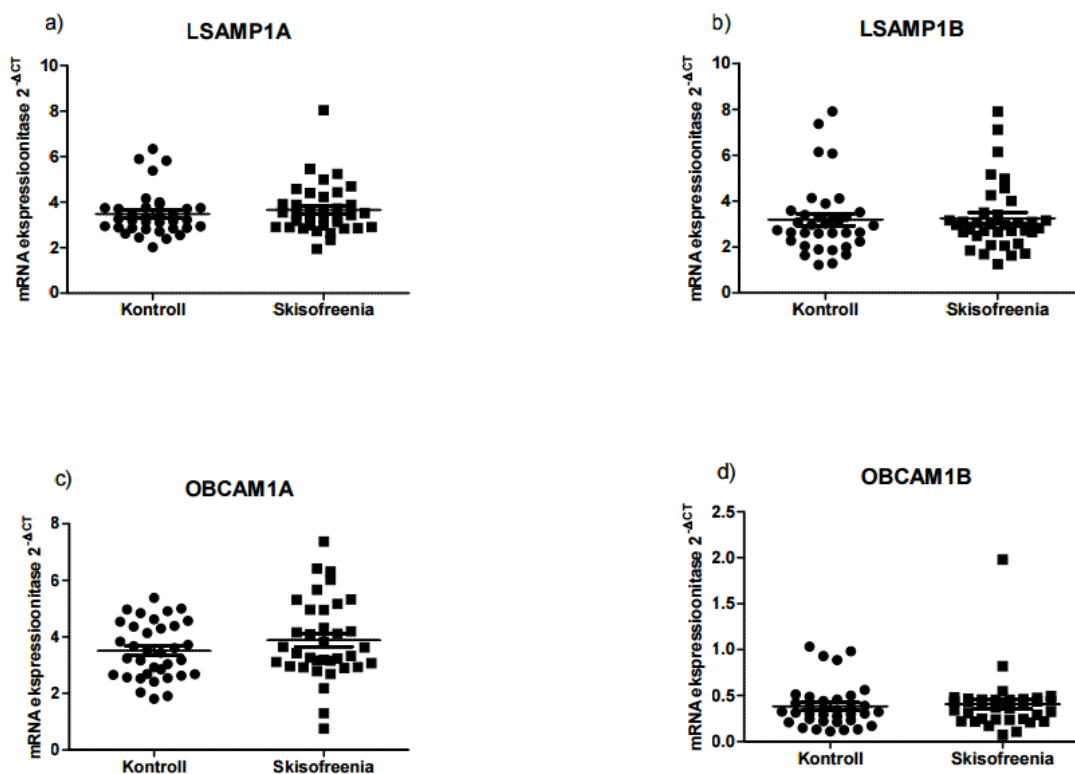
## 2.2.4 Statistiline analüüs

Reaalaja-PCRi andmete statistiline analüüs viidi läbi Studenti t-testi abil Statistica 12 programmiga (Statsoft, USA). Tulemused väljendati keskmiste väärtustena koos keskvärtuse standardveaga (*standard error of the mean*, SEM). Oluliseks loeti p-väärtus alla 0,05. Graafikud loodi GraphPad Prism 5 tarkvara vahendusel (GraphPad Software Inc, USA). Pilte töödeldi Adobe Photoshop CS6 vahendusel (Adobe Systems Software Ireland Ltd, USA). Korrelatsioonanalüüsid on läbi viidud MedCalc statistika programmiga (MedCalc Software bvba, Belgia). Tulemused esitati korrelatsioonimaatriksina. Oluliseks loeti korrelatsioon, mille p-väärtus oli alla 0,05.

## 2.3. Tulemused

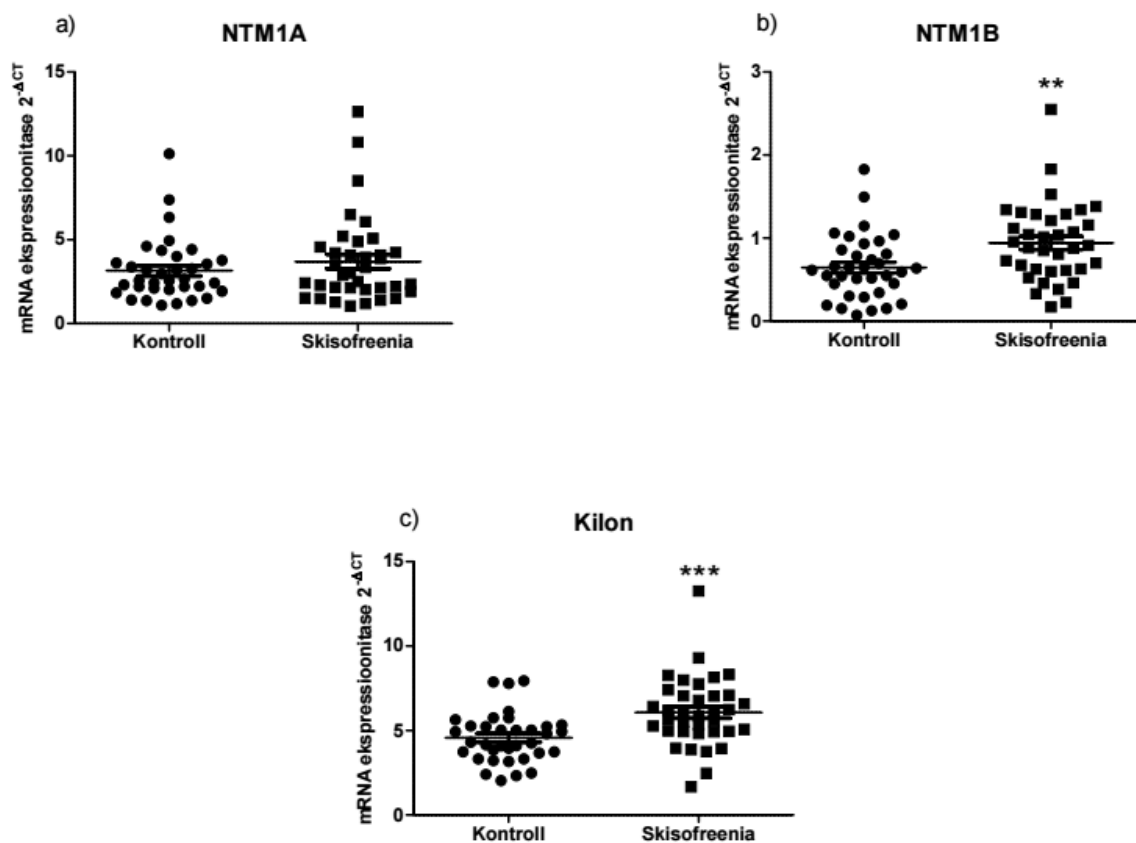
### 2.3.1. Studenti t-testi tulemused

Studenti t-test näitas, et skisofreeniahaigete ajukoes oli võrreldes kontrollgrupiga statistiliselt oluliselt tõusnud nii NTM 1b (skisofreenia patsiendid  $0,94 \pm 0,08$ , kontrollgrupp  $0,65 \pm 0,06$ ;  $p < 0,01$ ) kui ka Kiloni tase (skisofreenia patsiendid  $6,07 \pm 0,34$ , kontrollgrupp  $4,57 \pm 0,25$ ;  $p < 0,001$ ). Statistiliselt olulisi erinevusi gruppide vahel ei ilmnenud LSAMP 1a (skisofreenia patsiendid  $3,66 \pm 0,18$ , kontrollgrupp  $3,48 \pm 0,17$ ;  $p = 0,47$ ), LSAMP 1b (skisofreenia patsiendid  $3,26 \pm 0,25$ , kontrollgrupp  $3,19 \pm 0,26$ ;  $p = 0,86$ ), NTM 1a (skisofreenia patsiendid  $3,7 \pm 0,43$ , kontrollgrupp  $3,16 \pm 0,31$ ;  $p = 0,32$ ), OBCAM 1a (skisofreenia patsiendid  $3,89 \pm 0,24$ , kontrollgrupp  $3,5 \pm 0,17$ ;  $p = 0,2$ ) ja OBCAM 1b (skisofreenia patsiendid  $0,41 \pm 0,05$ , kontrollgrupp  $0,38 \pm 0,04$ ;  $p = 0,72$ ) tasemete osas.



**Joonis 4. qPCR tulemused teisendatud  $2^{-\Delta CT}$  kujule.** Transkriptide LSAMP 1a (a) , LSAMP 1b (b), OBCAM 1a (c) ja OBCAM 1b (d) mRNA ekspresioonitase skisofreenia patsientidel ja kontrollisikutel. Skisofreenia patsientide grupis  $n=36$  ja kontrollgrupis  $n=35$ .

Ühelgi joonisel 4. esitatud transkriptil ei esinenud ekspresioonitasemes skisofreenia patsientide ja kontrollisikute vahel  $\alpha=0,05$  juures statistiliselt olulist erinevust. Skisofreenia patsientide LSAMP 1a ekspresiooni taseme keskvärtus oli 3,66 ja kontrollisikutel 3,48 (joonis 4a). LSAMP 1a SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,18$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,17$ , kahe grupi vaheline  $p=0,47$ . LSAMP 1b ekspresiooni taseme keskvärtus skisofreenia patsientidel oli 3,26 ja kontrollisikutel 3,19 (joonis 4b). SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,25$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,26$ , gruppide vaheline  $p=0,86$ . OBCAM 1a ekspresioonitaseme keskvärtus skisofreenia patsientidel oli 3,89 ja kontrollisikutel 3,5 (joonis 4c). SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,24$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,17$ , gruppide vaheline  $p=0,2$ . OBCAM 1b ekspresioonitaseme keskvärtus oli skisofreenia patsientidel 0,41 ja kontrollisikutel 0,38 (joonis 4d). SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,05$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,04$ , gruppide vaheline  $p=0,72$ .



**Joonis 5. qPCR tulemused teisendatud  $2^{-\Delta CT}$  kujule.** Transkriptide Ntm 1a (a), Ntm 1b (b) ja Kilon (c) ekspressioon skisofreenia patsientidel ja kontrollisikutel. Skisofreenia patsientide grupis uuriti 36 isikut ja kontrollgrupis uuriti 35 isikut.

\*\* –  $P < 0,01$

\*\*\* –  $P < 0,001$

NTM 1a ekspressioonitaseme keskvärtus oli skisofreenia patsientidel 3,7 ja kontrollisikutel 3,16 (joonis 5a). SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,43$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,31$ . Gruppide vaheline  $p = 0,32$ , seega ei esinenud NTM 1a ekspressioonitasemes kahe grupi vahel  $\alpha = 0,05$  juures statistiliselt olulist erinevust. NTM 1b ja Kilonil oli kahe grupi vahel geenide ekspressioonitasemes  $\alpha = 0,05$  juures statistiliselt oluline erinevus. NTM 1b ekspressiooni taseme keskvärtus oli skisofreenia patsientidel 0,94 ja kontrollisikutel 0,65. SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,08$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,06$ . Skisofreenia patsientide ja kontrollisikute vaheline  $p < 0,01$ . Kiloni ekspressioonitaseme keskvärtus oli skisofreenia patsientidel 6,07 ja kontrollisikutel 4,57. SEM oli skisofreenia patsientidel  $\pm 0,34$  ja kontrollisikutel  $\pm 0,25$ . Kiloni ekspressioon kahes uuritud grupis on statistiliselt erinev ( $P < 0,001$ ).

## 2.3.2. Korrelatsioonanalüüsi tulemused

Tabel 1. Skisofreenia patsientide korrelatsioonikordajate maatriks.

	LSAMP 1a	LSAMP 1b	NTM 1a	NTM 1b	OBCAM 1a	OBCAM 1b	Kilon
LSAMP 1a	1,000						
LSAMP 1b	<b>0,890***</b>	1,000					
NTM 1a	<b>0,645***</b>	<b>0,686***</b>	1,000				
NTM 1b	<b>0,488**</b>	<b>0,506**</b>	<b>0,384*</b>	1,000			
OBCAM 1a	<b>0,348*</b>	<b>0,380*</b>	<b>0,723***</b>	0,285	1,000		
OBCAM 1b	<b>0,355*</b>	<b>0,351*</b>	0,187	<b>0,657***</b>	-0,026	1,000	
Kilon	<b>0,478**</b>	<b>0,522**</b>	<b>0,418*</b>	0,097	<b>0,479**</b>	0,098	1,000

Tabelis on näha skisofreenia patsientide Spearmani korrelatsioonikordajad esitatud maatriksina. Kui Spearmani korrelatsioonikordaja on  $>0$  siis on tegemist positiivse korrelatsiooniga, kui Spearmani korrelatsioonikordaja on  $<0$  siis on tegemist negatiivse korrelatsiooniga, ja kui Spearmani korrelatsioonikordaja on võrdne 0, siis korrelatsioon antud geenide ekspressiooni vahel puudub. \*\*\* –  $P < 0,0001$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \* –  $P < 0,05$ .

LSAMP 1a – LSAMP 1b, LSAMP 1a – NTM 1a, LSAMP 1b – NTM 1a, NTM 1a – OBCAM 1a ja NTM 1b – OBCAM 1b puhul oli  $P < 0,0001$ , mis näitab, et antud geenide ekspressioon on omavahel tugevalt korrelatsioonis. LSAMP 1a – NTM 1b, LSAMP 1a – Kilon, LSAMP 1b – NTM 1b, LSAMP 1b – Kilon ja OBCAM 1a – Kilon puhul oli  $P < 0,01$  ja nende geenide ekspressiooni vahel esineb statistiliselt oluline korrelatsioon  $\alpha = 0,05$  juures. LSAMP 1a – OBCAM 1a, LSAMP 1a – OBCAM 1b, LSAMP 1b – OBCAM 1a, LSAMP 1b – OBCAM 1b, NTM 1a – NTM 1b, NTM 1a – Kilon puhul jäi p väärtus samuti alla 0,05 ja seega esineb ka nende geenide ekspressiooni vahel korrelatsioon. NTM 1a – OBCAM 1b, NTM 1b – OBCAM 1a, NTM 1b – Kilon, OBCAM 1a – OBCAM 1b ja OBCAM 1b – Kilon puhul oli p väärtus suurem kui 0,05 ja seega antud geenide ekspressiooni vahel esineb kas väga nõrk korrelatsioon või korrelatsioon puudub täielikult.

**Tabel 2. Kontrollisikute korrelatsioonikordajate maatriks.**

	LSMAP 1a	LSAMP 1b	NTM 1a	NTM 1b	OBCAM 1a	OBCAM 1b	Kilon
LSAMP 1a	1,000						
LSAMP 1b	<b>0,754***</b>	1,000					
NTM 1a	<b>0,740***</b>	<b>0,816***</b>	1,000				
NTM 1b	0,083	0,044	0,060	1,000			
OBCAM 1a	<b>0,480**</b>	<b>0,419*</b>	<b>0,490**</b>	<b>0,375*</b>	1,000		
OBCAM 1b	0,285	0,182	0,314	0,181	0,244	1,000	
Kilon	<b>0,455**</b>	0,156	0,168	0,190	<b>0,456**</b>	0,290	1,000

Tabelis on näha kontrollisikute Spearmani korrelatsioonikordajad esitatud maatriksina. Kui Spearmani korrelatsioonikordaja on  $>0$  siis on tegemist positiivse korrelatsiooniga, kui Spearmani korrelatsioonikordaja on  $<0$  siis on tegemist negatiivse korrelatsiooniga, ja kui Spearmani korrelatsioonikordaja on võrdne 0, siis korrelatsioon antud geenide ekspressiooni vahel puudub.

\*\*\* –  $P < 0,0001$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \* –  $P < 0,05$ .

LSAMP 1a – LSAMP 1b, LSAMP 1a – NTM 1a ja LSAMP 1b – NTM 1a puhul oli  $P < 0,0001$  ja nende geenide ekspressioon on tugevalt korrelatsioonis. LSAMP 1a – OBCAM 1a, LSAMP 1a – Kilon, NTM 1a – OBCAM 1a ja OBCAM 1a – Kilon puhul oli  $P < 0,01$  ja nende geenide ekspressiooni vahel esineb statistiliselt oluline korrelatsioon. LSAMP 1b – OBCAM 1a, NTM 1b – OBCAM 1a, OBCAM 1a – OBCAM 1b, ja OBCAM 1b – Kilon puhul jäi p väärtus alla 0,05 ja seega esineb nende geenide ekspressiooni vahel samuti korrelatsioon. LSAMP 1a – NTM 1b, LSAMP 1a – OBCAM 1b, LSAMP 1b – NTM 1b, LSAMP 1b – OBCAM 1b, LSAMP 1b – Kilon, NTM 1a – NTM 1b, NTM 1a – OBCAM 1b, NTM 1a – Kilon, NTM 1b – OBCAM 1b ja NTM 1b – Kilon puhul oli p väärtus üle 0,05 ja seega nende geenide ekspressiooni vahel esineb ainult nõrk korrelatsioon või korrelatsioon puudub täielikult.

## 2.4. Arutelu

Neuraalsed adhesioonimolekulid on olulised neuronitevaheliste ühenduste loomisel närvisüsteemi arengus ning ka täiskasvanud ajus. Seetõttu võivad muutused adhesioonimolekulide ekspressioonis või funktsioonis olla aluseks muutustele adaptatiivses käitumises ning põhjustada psühhopatoloogilisi seisundeid. Üha enam tõendeid viitab sellele, et IgLON perekonna adhesioonimolekulidel (OPCML, NTM, LSAMP ja NEGR1) võib olla oluline roll skisofreenia tekkes. IgLONid osalevad neuriitide väljakasvus, sünapsite moodustumises ja nende elimineerimises ning neurogeneesis, kõigi nende protsesside puhul on näidatud muutuseid skisofreenia patsientide ajus. (Behan et al, 2009) Käesoleva töö eesmärk oli iseloomustada IgLON valke kodeerivate geenide ekspressioonitaset skisofreenia patsientide dorsolateraalses prefrontaalkoores, kasutades qPCRi. *LSAMP*, *NTM* ja *OPCML* promootorite 1a ja 1b aktiivsust mõõdeti eraldi. Antud uuring sai läbi viidud, kuna varasemate uuringutega on näidatud, et rakkude vahelised adhesioonid on olulised aju morfoloogias ja aju funktsioonide nagu mälu ja õppimine jaoks (Sakisaka ja Takai, 2005). Skisofreenia patsientidel on näidatud, et neil võib esineda probleeme mälu ja õppimisega. Neil esineb raskusi uue info õppimisega ja selle info meeleshoidmisega ja varem õpitud asjade ära tundmisega (Aleman et al., 1999). Seega võivad muutused adhesioonimolekulide ekspressioonitasemes olla üheks skisofreenia tekkimise põhjuseks. Uuringutega on näidatud, et LSAMP võib olla seotud suitsiidse käitumise neurobioloogiaga (Must et al., 2008). Lisaks on LSAMPi seostatud mitmete muude psühhiaatriliste häiretega nagu näiteks depressioon ja ärevus (Camp et al., 2005), bipolaarne häire (Bailer et al., 2002), agorafobia (Hong et al., 2009; Kaneko et al., 2007; Ng et al., 2009) ja autismi toimespektriga häired (Auranen et al., 2002).

Käesoleva uuringu tulemused näitasid, et skisofreenia patsientide dorsolateraalses prefrontaalkoores oli toimunud märgatav NEGR1 ja NTM 1b ekspressioonitaseme tõus. Üllataval kombel ei esinenud muutuseid LSAMP 1a ja 1b tasemes, mida oleks võinud oodata varem läbi viidud uuringute põhjal. Varasemate uuringute käigu on näidatud LSAMP taseme 20% tõusu skisofreenia patsientide postmortaalses frontaalkoores (Behan et al, 2009). Samuti on inimese LSAMP geeni 1b promootoris kindlaks tehtud teatud SNPid, mis on tugevalt seotud skisofreenia riskiga (Koido et al., 2014).

Varasemate uuringutega on näidatud NEGR1 ekspressioonitaseme tõusu MDD (*major depressive disorder*) patsientide dorsolateraalses prefrontaalkoores võrreldes tervete

inimestega (Chang et al., 2014), mis viitab sellele, et muutused NEGR1 tasemes/aktiivsuses on aluseks laiemale spektrile psühhiaatrilistele häiretele. NEGR1 osaleb ka sünapside moodustumises närvirakkude arengu ajal ja mõjutab ka tekkivate sünapside arvu. Hasimoto ja teised näitasid, et varajastes rakukultuurides vähendab NEGR1 üleekspressioon tekkivate sünapside arvu ja hilistes rakukultuurides NEGR1 üleekspressioon tõstab sünapside arvu. (Hasimoto et al., 2008) NTM puhul on näidatud, et ta omab olulist rolli sünapside stabiliseerimises. NTM on täiskasvanu väikeajus oluline roll teatud tüüpi sünapside tekkes ja nende säilimises. (Chen et al., 2001) Seega osalevad nii NEGR1 kui ka NTM sünapside tekkes ja nende säilitamises ja muutused nende ekspressioonitasemes võivad olla seotud muuustega sünapside moodustumises, säilimises ja elimineerimises skisofreenia patsientide ajus.

Rakkude vahelised adhesioonid toetavad aksonite omavahelist kontakteerumist ja aitavad ühendada neuroneid gliarakkude ja oligodendrotsüütidega. Raku adhesioonimolekulid on olulised ka neuriitide väljakasvuks. (Sakisaka ja Takai, 2005) Varasemad rakukultuuridega läbiviidud uuringud näitavad, et NEGR1 on oluliseks mediaatoriks neuriitide väljakasvul. NTM puhul on samuti näidatud, et ta osaleb neuriitide väljakasvus ja suunab närvikiude nende märklaua suunas. Seega võivad muutused neuriitide väljakasvul skisofreenia patsientidel seotud olla NEGR1 ja NTM ekspressioonitaseme muutusega nende ajus.

Veel on näidatud, et IgLON perekonda kuuluvad adhesioonimolekulid osalevad ka sünapside plastilisuse tagamises (Hasimoto et al., 2008). Skisofreenia üheks sümptomiks on puudujäägid lühiajalises info töötlemises. Lühiajalise, pideva info töötlemise eest vastutab suuresti lühiajaline sünapside plastilisus. Seega võivad häired sünapside lühiajalises plastilisus olla skisofreenia tekkimise üheks põhjuseks. (Abbott ja Regehr, 2004; Crabtree ja Gogos, 2014) Kuna IgLON perekonna adhesioonimolekulidel on näidatud rolli sünapside plastilisuse tagamises, siis võivad muutused nende adhesioonimolekulide ekspressioonitasemes esile kutsuda häireid sünapside lühiajalises plastilisuses ja seega võib eeldada, et muutused nende adhesioonimolekulide ekspressioonitasemes võivad olla seotud skisofreenia tekkega.

IgLON perekonna siseste korrelatsioonide uuring näitab, et skisofreenia patsientidel esinevad IgLON perekonna adhesioonimolekulide ekspressioonitasemete vahel kõrgemad korrelatsioonid kui kontrollgrupi isikutel. See võib tuleneda sellest, et skisofreenia patsientidel on näidatud pigem IgLON perekonna adhesioonimolekulide tõusu võrreldes tervete inimestega ja osade adhesioonimolekulide ekspressioonitaseme tõus võib tõsta ka

perekonna sisest korrelatsioonide esinemist. Sellele viitab ka see, et enamus korrelatsioone, mis skisofreenia patsientidel olid statistiliselt olulised aga kontrollgrupil mitte, olid seotud kas NTM 1b-ga või Kiloniga. NTM 1b ja Kiloni ekspresioonitaseme tõusuga skisofreenia patsientidel olid suurenenud ka NTM 1b ja Kiloni ekspresioonitasemete vahelised korrelatsioonid teiste IgLON perekonna liikmetega. Antud katseosa on pigem pilootuuring, mille tulemuste tõlgendamiseks oleks vaja alternatiivseid katseid, näiteks IgLON valkude interaktsioonidest rakukultuuris.

### 2.4.1 Peamised järeldused

- Katse tulemustest võib järeldada, et statistiliselt oluline muutus skisofreenia patsientide dorsolateraalses prefrontaalkoores oli toimunud IgLON perekonna kahe liikme NTM 1b ja Kilon ekspressioonitasemes. Muutused võivad tuleneda sellest, et NTM 1b ja Kilon osalevad ühenduste loomisel, mille häired on aluseks skisofreenia avaldumisele.
- IgLON perekonna sisesed korrelatsioonanalüüsid näitasid, et skisofreenia patsientidel esinevad kõrgemad perekonna sisesed korrelatsioonid kui kontrollisikutel. See võib tuleneda sellest, et enamik korrelatsioone, mis skisofreenia patsientidel olid statistiliselt olulised aga kontrollgrupil mitte, olid seotud kas NTM 1b-ga või Kiloniga. NTM 1b ja Kiloni ekspressioonitaseme tõusuga skisofreenia patsientidel olid suurenenud ka NTM 1b ja Kiloni ekspressioonitasemete vahelised korrelatsioonid teiste IgLON perekonna liikmetega. Antud katseosa põhjalikumaks tõlgendamiseks on vajalikud alternatiivsed katsed IgLON valkude interaktsioonidest näiteks rakukultuuris.

## KOKKUVÕTE

Neuraalsed adhesioonimolekulid on olulised neuronitevaheliste ühenduste loomisel närvisüsteemi arengus ning ka täiskasvanud ajus. Seetõttu võivad muutused adhesioonimolekulide ekspresioonis või funktsioonis olla aluseks muutustele adaptatiivses käitumises ning põhjustada psühhopatoloogilisi seisundeid. Mitmed uuringud on näidanud, et IgLON perekonda kuuluvad adhesioonimolekulid võivad omada olulist rolli mitmete psühiaatriliste häirete tekkimises. Muutused nende ekspresioonitasemes võivad olla seotud skisofreenia, depressiooni, bipolaarse häire ja mitmete muude psühiaatriliste häirete tekkega. Näiteks on näidatud, et skisofreenia ja bipolaarse häire patsientide postmortaalses dorsolateraalses prefrontaalkoores on LSAMP valgu tase tõusnud 20% võrra. Veel on näidatud teatud polümorfismide esinemist *LSAMP* geeni 1b promootoris, mis võivad seotud olla skisofreenia esinemissageduse tõusuga.

Käesoleva töö eesmärk oli uurida, kas IgLON perekonda kuuluvate geenidel esineb ekspresiooni muutuseid skisofreenia patsientide dorsolateraalses frontaalkoores. Samuti hinnata, kas uuritud transkriptide ekspresioonitasemete vahel esineb korrelatsioone, mis oleksid iseloomulikud ainult patsientidele või kontrollgrupile. Uuringu käigus uuriti 36 skisofreenia patsienti ja 35 kontrollisikut.

Töö käigus saadi järgnevad tulemused:

- Statistiliselt oluline erinevus ekspresioonitasemes skisofreenia patsientide ja kontrollisikute vahel esines kahe transkripti NTM 1b ja Kilon puhul. Teistel transkriptidel ei esinenud gruppide vahel statistiliselt olulist ekspresioonitasemete erinevust.
- Korrelatsioonanalüüs näitas, et skisofreenia patsientidel on IgLON perekonna sisesed ekspresioonitasemete korrelatsioonid kõrgemad võrreldes kontrollgruppi kuuluvate isikutega.

Nii NTM 1b kui ka Kilon omavad olulist rolli sünapsite tekkes, säilimises ja nende elimineerimises. Samuti on mõlema puhul näidatud, et nad osalevad neuriitide väljakasvuv. Need kõik on protsessid, mille puhul on näidatu muutuseid skisofreenia patsientide ajus. Seega võivad need muutused olla seotud muutustega NTM 1b ja Kilon ekspresioonitasemes ja muutused IgLON perekonna adhesioonimolekulide ekspresioonis võivad olla üheks skisofreenia tekke põhjuseks. Edasised uuringud peaksid keskenduma IgLONite

ekspressioonitaseme uurimisele ka teistes ajupiirkondades, mille puhul on näidatud morfoloogilisi muutuseid skisofreenia patsientidel. Samuti tuleks katsetesse kaasata ka IgLON5, mis on alles äsja avastatud ja mida on hetkel veel vähe uuritud. Lisaks tuleks korrelatsioonanalüüsi käigus saadud tulemuste kinnitamiseks vaja viia läbi katseid rakukultuuridega, et uurida IgLON valkude vahelisi interaktsioone.

## SUMMARY

Neural adhesion molecules are relevant in synapse formation between neurons during the development of the nervous system as well as in the mature brain. Thus, the changes in the expression or function of the adhesion molecules can be the basis for the changes in the adaptive behaviour and the cause for psychopathological conditions. One group of neural adhesion molecules is the family of IgLON adhesion molecules. The IgLON family includes five members: LSAMP, Neurotrimin, OBCAM, Kilon and IgLON5. The adhesion molecules of the IgLON family consist of three type C2 Ig domains which are anchored onto the plasma membrane by GPI. The IgLON proteins mediate adhesion in adjacent cells, synapse formation and neurite outgrowth. The IgLONs can also play a significant role in the development and preservation of synapses. Several studies suggest that the IgLON family adhesion molecules can be considered as relevant factors in causing various psychiatric disorders. The changes in the expression level of the IgLON family adhesion molecules can be related to the origin of schizophrenia, depression, bipolar disorder and several other psychiatric disorders

The aim of this study lied in characterizing the expression level of the genes coding the IgLON family proteins in the dorsolateral prefrontal cortex of the patients with schizophrenia by using qPCR. Alternative 1a and 1b promoter activities of LSAMP, NTM and OPCML were assessed separately. This paper also attempted at establishing the existence of correlations between the expression levels of the observed transcripts characteristic of only the patients with schizophrenia or the control group.

The results of the present study include the following:

- Statistically significant variation in the expression levels between the patients with schizophrenia and the control group was established in case of two transcripts: NTM 1b and Kilon. In terms of other transcripts, no statistically significant variation in the expression levels between the groups was observed.
- Correlation analysis showed that the patients with schizophrenia have significantly higher correlations of the expression levels of the IgLON family as compared to the control group.

Both NTM 1b and Kilon play an important role in the development, preservation and elimination of synapses. Several studies have shown that Both NTM 1b and Kilon are relevant in terms of neurite outgrowth. All the abovementioned processes have been observed causing changes in the brains of the patients with schizophrenia. Thus, the changes can be

related to the variations of NTM 1b and Kilon expression level and the changes of expression levels of the IgLON family adhesion molecules can be considered as one of the causes of schizophrenia.

## **TÄNUSÕNAD**

Ma tänan oma juhendajaid Mari-Anne Philipsit, Kersti Lillevälja ja Tambet Tõnissood huvitava lõputöö teema eest ja igakülgse abi eest. Veel sooviksin ma tänada Jürgen Innost, kes aitas mind statistiliste analüüside ja graafikute koostamisega.

## KASUTATUD KIRJANDUS

### Kasutatud artiklid

1. Abbott, L. F., Regehr, W. G. (2004). Synaptic computation. *Nature* 431: 796–803.
2. Aleman, A., Hijman, R., de Haan, E. H. F. And Kahn, R. S. (1999). Memory Impairment in Schizophrenia: A Meta-Analysis. *Am J Psychiatry* 156(9): 1358–1366.
3. Auranen, M., Vanhala, R., Varilo, T., Ayers, K., Kempas, E., Ylisaukko-Oja, T., et al. (2002). A genomewide screen for autism-spectrum disorders: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 3q25-27. *Am J Hum Genet.* 71(4): 777–790.
4. Bailer, U., Leisch, F., Meszaros, K., Lenzinger, E., Willinger, U., Strobl, R., et al. (2002). Genome scan for susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 52(1): 40–52.
5. Barøy, T., Kresse, S.H., Skårn, M., Stabell, M., Castro, R., Lauvrak, S., Llombart-Bosch, A., Myklebost, O. and Meza-Zepeda, L.A. (2014). Reexpression of LSAMP inhibits tumor growth in preclinical osteosarcoma model. *Mol Cancer* 13:93.
6. Behan, A.T., Byrne, C., Dunn, M.J., Cagney, G., Cotter, D.R. (2009). Proteomic analysis of membrane microdomain-associated proteins in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder reveals alterations in LAMP, STXBP1 and BASP1 protein expression. *Mol Psychiatry* 14(6): 601–613.
7. Benson, D. L., Schnapp, L. M., Shapiro, L. and Huntley, G. W. (2000). Making memories stick: cell-adhesion molecules in synaptic plasticity. *Trends in Cell Biology* 10(11): 473–482.
8. Bernhard, F., Landgraf, K., Klötting, N., Berthold, A., Büttner, P., Friebe, D., Kiess, W., Kovacs, P., Blüher, M. and Kröner, A. (2013). Functional relevance of genes implicated by obesity genom-wide association study signals for human adipocyte biology. *Diabetologia* 56(2): 311–322.
9. Camp, N.J., Lowry, M.R., Richards, R.L., Plenk, A.M., Carter, C., Hensel, C.H., et al. (2005) Genome-wide linkage analyses of extended Utah pedigrees identifies loci that influence recurrent, early-onset major depression and anxiety disorders. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 135B(1): 85–93
10. Chang, L. C., Jamain S., Lin C. W., Rujescu D., Tseng G. C. and Sibille, E. (2014) A conserved BDNF, glutamate- and GABA-enriched gene module related to human depression identified by coexpression meta-analysis and DNA variant genome-wide association studies. *PLoS One* 9(3): e90980.

11. Chen, S., Gil, O., Ren, Y.Q., Zanazzi, G., Salzer, J.L. and Hillman, D.E. (2001). Neurotrimin expression during cerebellar development suggests roles in axon fasciculation and synaptogenesis. *J Neurocytol.* 30(11): 927–37.
12. Chen, Y., Sharma, R. P., Costa, R. H., Costa, E. and Grayson, D. R. (2002). On the epigenetic regulation of the human reelin promoter. *Nucleic Acids Res.* 30(13): 2930–2939.
13. Collingridge G. L., Peineau S., Howland J. G., Wang Y. T. (2010). Long-term depression in the CNS. *Nat. Rev. Neurosci.* 11(7): 459–473.
14. Crabtree, G. W. and Gogos, J. A. (2014). Synaptic plasticity, neural circuits, and the emerging role of altered short-term information processing in schizophrenia. *Front Synaptic Neurosci.* 6:28.
15. Cui, Y., Ying, Y., van Hasselt, A., Ng, K.M., Yu, J., Zhang, Q., Jin, J., Liu, D., Rhim, J.S., Rha, S.Y., Loyo, M., Chan, A.T., Srivastava, G., Tsao, G.S., Sellar, G.C., Sung, J.J., Sidransky, D. and Tao, Q. (2008). OPCML is a broad tumor suppressor for multiple carcinomas and lymphomas with frequently epigenetic inactivation. *PloS One* 3(8): e2990.
16. Dalva, M. B., McClelland, A. C. and Kayser, M. S. (2007). Cell adhesion molecules: signalling functions at the synapses. *Nat Rev Neurosci.* 8(3): 206–220.
17. Daskalakis, Z., J., Christensen, B., K., Fitzgerald, P., B. And Chen, R. (2008). Dysfunctional Neural Plasticity in Patients With Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 65(4): 378–385.
18. Eagleson, K. L., Pimenta, A. F., Burns, M. M., Fairfull, L. D., Cornuet, P. K., Zhang, L. and Levitt, P. (2003). Distinct domains of the limbic system-associated membrane protein (LAMP) mediate discrete effects on neurite outgrowth. *Molecular and Cellular Neuroscience* 24(3): 725–740.
19. Eisenberg, D. P. and Berman, K. F. (2010). Executive Function, Neural Circuitry, and Genetic Mechanisms in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 35(1): 258–277.
20. Elks, C.E., Loos, R.J.F., Hardy, R., Wills, A.K., Wong, A., Wareham, N.J., Kuh, D. and Ong, K.K. (2012). Adult obesity susceptibility variants are associated with greater childhood weight gain and a faster tempo of growth: the 1946 British Birth Cohort Study<sup>1,2,3</sup>. *Am J Clin Nutr.* 95(5): 1150–1156.
21. Fannon, A. M. and Colman, D.R. (1996). A model for central synaptic junctional complex formation based on the differential adhesive specificities of the cadherins. *Neuron* 17(3): 423–434.

22. Fitzgerald, P. B., Brown, T., Martson, N., A., U., Oxley, T., de Castella, A., Daskalakis, Z. J. and Kulkarni, J. (2004). Reduced plastic brain responses in schizophrenia: a transcranial magnetic stimulation study. *Schizophrenia Research* 71(1): 17–26.
23. Frantseva M. V., Fitzgerald P. B., Chen R., Moller B., Daigle M., Daskalakis Z. J., et al. (2008). Evidence for impaired long-term potentiation in schizophrenia and its relationship to motor skill learning. *Cereb. Cortex* 18(5): 990–996.
24. Funatsu, N., Miyata, S., Kumanogoh, H., Shigeta, M., Hamada, K., Endo, Y., Sokawa, Y. and Maekawa, S. (1999). Characterization of a novel rat brain glycosylphosphatidylinositol-anchored protein (Kilon), a member of the IgLON cell adhesion molecule family. *J Biol Chem.* 274(12):8224–30.
25. Gil, O.D., Zhang, L., Chen, S., Ren, Y.Q., Pimenta, A., Zanazzi, G., Hillman, D., Levitt, P. and Salzer, J.L. (2002) Complementary expression and heterophilic interactions between IgLON family members neurotrimin and LAMP. *J Neurobiol* 51(3):190–20.
26. Gil, O. D., Zanazzi, G., Struky, A. F. and Salzer, J. L. (1998). Neurotrimin Mediates Bifunctional Effects on Neurite Outgrowth via Homophilic and Heterophilic Interactions. *The Journal of Neuroscience* 18(22): 9312–9325.
27. Gogtay, N., Vyas, N. S., Testa, R., Wood, S. J. and Pantelis, C. Age of Onset of Schizophrenia: Perspectives From Structural Neuroimaging Studies. *Schizophrenia Bulletin* 37(3): 504–513.
28. Green, M. F., Horan, W. P. and Lee, J. (2015). Social cognition in schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience* 16(10): 620–631.
29. Green, M. F., Kern, R. S., Braff, D. L. And Mintz, J. (2000). Neurocognitive Deficits and Functional Outcome in Schizophrenia: Are We Measuring the „Right Stuff“? *Schizophr Bull* 26(1): 119–136.
30. Guidotti, A., Auta, J., Davis, J. M., Dong, E., Grayson, D. R., Veldic, M., Zhang, X. and Costa, E. (2005). GABAergic dysfunction in schizophrenia: new treatment strategies on the horizon. *Psychopharmacology* 180(2): 191–205.
31. Hasan A., Nitsche M. A., Rein B., Schneider-Axmann T., Guse B., Gruber O., et al. . (2011). Dysfunctional long-term potentiation-like plasticity in schizophrenia revealed by transcranial direct current stimulation. *Behav. Brain Res.* 224(1): 15–22.
32. Hashimoto, T., Maekawa and Miyata, S. (2009). IgLON cell adhesion molecules regulate synaptogenesis in hippocampal neurons. *Cell Biochem Funct.* 27(7): 996–8.

33. Hasimoto, T., Yamada, M., Maekawa, S., Nakashima, T. and Miyata, S. (2008). IgLON cell adhesion molecule Kilon is a crucial modulator for synapse number in hippocampal neurons. *Brain Res.* 1224: 1–11.
34. Hong, K.S., Won, H.H., Cho, E.Y., Jeun, H.O., Cho, S.S., Lee, Y.S., et al. (2009). Genome-widely significant evidence of linkage of schizophrenia to chromosomes 2p24.3 and 6q27 in an SNP-Based analysis of Korean families. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 150B(5): 647–652.
35. Horton, H.L., Levitt, P. A. (1988). Unique membrane protein is expressed on early developing limbic system axons and cortical targets. *J Neurosci.* 8(12): 4653–4661.
36. Hotta, K., Kitamoto, T., Kitamoto, A., Mizusawa, S., Matsuo, T., Nakata, Y., Kamohara, S., Miyatake, N., Kotani, K., Komatsu, R., Itoh, N., Mineo, I., Wada, J., Yoneda, M., Nakajima, A., Funahashi, T., Miyazaki, S., Tokunaga, K., Masuzaki, H., Ueno, T., Hamaguchi, K., Tanaka, K., Yamada, K., Hanafusa, T., Oikawa, S., Yoshimatsu, H., Sakata, T., Matsuzawa, Y., Nakao, K., Sekine, A. (2011). Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. *J Hum Genet.* 56(9): 647–51.
37. Iwai, Y., Hirota, Y., Ozaki, K., Okano, H., Takeichi, M., Uemura, T. (2002). DN-Cadherin is required for spatial arrangement of axon terminals and their targets, and ultrastructural organization of synapses in the *Drosophila* visual system. *Mol. Cell. Neurosci.* 19(3): 375–388.
38. Jin, L., Guangtao, L., Xiaozhong, P., Bingyan, L., Bin, Y., Xinyu, T., Ming, F., Wenhong, F., Boqin, Q, and Jiangang, Y. (2003). The cloning and preliminarily functional analysis of the human neurotrimin gene. *Science in China Series C: Life Sciences* 47(2): 158–164.
39. Kaneko, N., Muratake, T., Kuwabara, H., Kurosaki, T., Takei, M., Ohtsuki, T., et al. (2007). Autosomal linkage analysis of a Japanese single multiplex schizophrenia pedigree reveals two candidate loci on chromosomes 4q and 3q. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 144B(6): 735–742.
40. Keller, F., Rimvall, K., Barbe, M.F. and Levitt, P. (1989). A membrane glycoprotein associated with the limbic system mediates the formation of the septohippocampal pathway in vitro. *Neuron* 3(5): 551–561.
41. Keshavan, M.S., Tandon, R., Boutros, N., Nasrallah, H.A., 2008. Schizophrenia, “just the facts”. What we know in 2008. Part 3: neurobiology. *Schizophr. Res.* 106(2–3): 89–107.

42. Koido, K., Traks, T., Balõtšev, R., Eller, T., Must, A., Koks, S., Maron, E., Tõru, I., Shilk, J., Vasar, V. and Vasar, E. (2012). Associations between LSAMP gene polymorphism and major depressive disorders and panic disorder. *Translational Psychiatry* 2: e152.
43. Kufe, D.W. (2009). Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat Rev Cancer* 9(12): 874–885.
44. Lee, A.W., Hengstler, H., Schwald, K., Berriel-Diaz, M., Loreth, D., Kirsch, M. *et al.* (2012). Functional inactivation of the genome-wide association study obesity gene neuronal growth regulator 1 in mice causes a body mass phenotype. *PloS One* 7: e41537.
45. Levitt, P. A. (1984). Monoclonal antibody to limbic system neurons. *Science* 223(4633): 299–301.
46. Leypoldt, F., Armangue, T. and Dalmau, J. (2015). Autoimmune encephalopathies. *Ann N Y Acad Sci.* 1338: 94–114.
47. Livak K. J., Schmittgen T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 25(4): 402-408.
48. Maccarrone, G., Ditzen, C., Yassouridis, A., Rewerts, C., Uhr, M., Uhlen, M. *et al.* (2013). Psychiatric patient stratification using biosignatures based on cerebrospinal fluid protein expression clusters. *J Psychiatr Res* 47(11): 1572–1580.
49. Mann, F., Zhukareva, V., Pimenta, A., Levitt, P. and Bolz, J. (1998) Membrane associated molecules guide limbic and non-limbic thalamocortical projections. *J Neurosci* 18(22):9409–9419
50. Marg, A., Sirim, P., Spaltmann, F., Plagge, A., Kauselmann, G., Buck, F. *et al.* (1999) Neurotractin, a novel neurite outgrowth-promoting Ig-like protein that interacts with CEPU-1 and LAMP. *J Cell Biol* 145(4): 865–876.
51. McKie, A.B., Vaughan, S., Zanini, E., Okon, I.S., Louis, L., de Sousa, C., Greene, M.I., Wang, Q., Agarwal, R., Shaposhikov, D., Wong, J.L., Gungor, H., Janczar, S., El-Bahrawy, M., Lam, E.W., Chayen, N.E. and Gabra, H. (2012). The OPCML tumor suppressor function as a cell surface repressor-adaptor, negatively regulating receptor tyrosine kinase in epithelial ovarian cancer. *Cancer Discov.* 2(2): 156–71.
52. Mellor, C.S., 1970. First rank symptoms of schizophrenia. *Br J Psychiatry* 117: 15–23.
53. Meyer-Lindenberg, A. (2010). From maps to mechanisms through neuroimaging of schizophrenia. *Nature* 468: 194–202.

54. Miyata, S., Matsumoto, N., Taguchi, K., Akagi, A. Iino, T., Funatsus, N. and Maekawa, S. (2003). Biochemical and ultrastructural analyses of IgLON cell adhesion molecules, Kilon and OBCAM in the rat brain. *Neuroscience* 117: 645–658.
55. Mohameed, A., McNamee, C. J., Youssef, S. and Moss, D. (2011). DIgLONs inhibit initiation of neurite outgrowth from forebrain neurons via an IgLON-containing receptor complex. *Brain Research* 1374: 27–35.
56. Murase, S. and Schuman, E. M. (1999). The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Current Opinion in Cell Biology* 11(5): 549–553.
57. Must, A., Tasa, G., Lang, A., Vasar, E., Koks, S., Maron, E., et al. (2008). Association of limbic system-associated membrane protein (LSAMP) to male completed suicide. *BMC Med Genet.* 9: 34.
58. Ng, M.Y., Levinson, D.F., Faraone, S.V., Suarez, B.K., DeLisi, L.E., Arinami, T., et al. (2009) Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 14(8): 774–785.
59. Ntougkos, E., Rush, R., Scott, D., Frankenberg, T., Gabra, H., Smyth, J.F. and Sellar, G.C. (2005). The IgLON family in epithelial ovarian cancer: expression profiles and clinicopathologic correlates. *Clin Cancer Res.* 11(16): 5764–8.
60. Pan, Y., Wang, K.S. and Aragam, N. (2011). NTM and NR3C2 polymorphism influencing intelligence: family-based association studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 35(1): 154–60.
61. Philips, M. A., Lilleväli, K., Heinla, I., Luuk, H., Hundahl, C. A., Kongi, K., Vanaveski, T., Tekko, T., Innos, J. and Vasar, E. (2015). Lsamp is implicated in the regulation of emotional and social behavior by use of alternative promoters in the brain. *Brain Struct Funct.* 220(3): 1381–1393.
62. Pimenta, A. F. ja Levitt, P. (2004). Characterization of the genomic structure of the mouse limbic system-associated membrane protein (Lsamp) gene. *Genomics* 83(5): 790–801
63. Pimenta, A.F., Zhukareva, V., Barbe, M.F., Reinoso, B.S., Grimley, C., Henzel, W., Fischer, I. and Levitt, P. (1995). The limbic system-associated membrane protein is an Ig superfamily member that mediates selective neuronal growth and axon targeting. *Neuron* 15(2): 287–297.
64. Pimenta, A.F., Fischer, I., Levitt, P. (1996). cDNA cloning and structural analysis of the human limbic-system-associated membrane protein (LAMP). *Gene* 170(2): 189–195.

65. Pimenta, A. F. (2004). Characterization of the genomic structure of the mouse limbic system-associated membrane protein (Lsamp) gene. *Genomics* 83(5): 790–801.
66. Poveda, A., Ibáñez, M.E. and Rebato, E. (2014). Common variants in BDNF, FAIM2, FTO, MC4R, NEGR1, and SH2B1 show association with obesity-related variables in Spanish Roma population. *Am J Hum Biol.* 26(5): 660–9.
67. Raud S., Sütt S., Luuk H., Plaas M., Innos J., Kõks S. and Vasar E. (2009). Relation between increased anxiety and reduced expression of alpha1 and alpha2 subunits of GABA(A) receptors in Wfs1-deficient mice. *Neurosci Lett*, 460(2): 138-142.
68. Reed, J. D., Dunn, J. R., du Plessis, D. G., Shaw, E. J., Reeves, P. et al. (2007). Expression of cellular adhesion molecule ‘OPCML’ is down-regulated in gliomas and other brain tumours. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 33(1):77–85.
69. Reed, J., McNamee, C., Rackstraw, S., Jenkins, J. and Moss, D. (2004). Diglons are heterodimeric proteins composed of IgLON subunits, and Diglon-CO inhibits neurite outgrowth from cerebellar granule cell. *Journal of Cell Science* 117:3961–3973.
70. Reinoso, B. S., Pimenta, A. F. and Levitt, P. (1996). Expression of the mRNAs encoding the limbic system-associated membrane protein (LAMP): II. Adult rat brain. *J Comp Neurol.* 375(5): 274–288.
71. Rutishauser, U. R. S., Grumet, M. and Edelman, M. (1983). Neural Cell Adhesion Molecule Mediates Initial Interactions Between Spinal Cord Neurons and Muscle Cell in Culture. *J Cell Biol.* 97(1): 145–152.
72. Sabater, L., Gaig, C., Gelpi, E., Bataller, L., Lewerenz, J., Torres-Vega, E., Contreras, A., Giometto, B., Compa, Y., Embid, C., Vilaseca, I., Iranzo, A., Santamaria, J., Dalmau, J. and Graus, F. (2014). A novel NREM and REM parasomnia with sleep breathing disorder associated with antibodies against IgLON5: a case series, pathological features, and characterization of the antigen. *Lancet Neurol.* 13(6): 575–586.
73. Sakisaka, T. and Takai, Y. (2005). Cell adhesion molecules in the CNS. *Journal of Cell Science* 118: 5407–5410.
74. Sanz, R., Ferraro G.B. and Fournier, A.E. (2015). IgLON cell adhesion molecules are shed from the cell surface of cortical neurons to promote neuronal growth. *The Journal of biological chemistry* 290(7): 4330–4342.
75. Sarkar, S., Hillner, K. and Velligan, D. I (2015). Conceptualization and treatment of negative symptoms in schizophrenia. *World Journal of Psychiatry* 5(4):352–361.

76. Schäfer, M., Bräuer, A.J., Savaskan, N.E., Rathjen, F.G. and Brümmendorf, T. (2005). Neurotractin/kilon promotes neurite outgrowth and is expressed on reactive astrocytes after entorhinal cortex lesion. *Mol. Cell. Neurosci.* 29(4): 580–590.
77. Sellar, G.C., Watt, K.P., Rabiasz, G.J, Stronach, E.A., Li, L., Miller, E.P., Massie, C.E., Miller, J., Contreras-Moreira, B., Scott, D., Brown, I., Williams, A.R., Bates, P.A., Smyth, J.F. and Gabra, H. (2003). OPCML at 11Q25 is epigenetically inactivated and has tumor-suppressor function in epithelial ovarian cancer. *Nature Genetics* 34(3): 337–343.
78. Sharma, K., Schmitt, S., Bergner, C. G., Tyanova, S., Kannaiyan, N., Manrique-Hoyos, N., Kongi, K., Cantuti, L., Hanisch, U.-K., Philips, M.-A., Rossner, M. J., Mann, M. and Simons, M. (2015). Cell type – and brain region – resolved mouse brain proteome. *Nature Neuroscience* 18 (12): 1819–1834.
79. Skibo, G. G., Rusakov, D. A., Krivko, I. M., Nikonenko, I. R. and Bulavka, A. V. (1999). Cell Adhesion Molecule (NCAM): Its Role in the Development and Functioning of Cultured Hippocampal Neurons. *Neurophysiology* 31(3): 241–244.
80. Stefanović, M.P., Petronijević, N., Dunjić-Kostić, B., Velimirović, M., Nikolić, T., Jurišić, V., Lačković, M., Damjanović, A., Totić-Pozanović, S., Jovanović, A.A. and Ivković, M. (2016). Role of sICAM-1 and sVCAM-1 as biomarkers in early and late stages of schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research* 73: 45–52.
81. Sugimoto, C., Maekawa, S. and Miyata, S. (2010). OBCAM, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecules, regulates morphology and proliferation of cerebral astrocytes. *Journal of Neurochemistry* 112(3): 818–828.
82. Zucker, R. S. and Regehr, W. G. (2002). Short-Term Synaptic Plasticity. *Annual Review of Physiology* 64: 355–405.
83. Tandon, R., Nasrallah, H.A. and Keshavan, M.S. (2009). Schizophrenia, „just the fact” 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia Research* 110(1–3): 1–23.
84. Tedder, T.F., Steeber, D.A., Chen, A., and Engel, P. (1995). The selectins: vascular adhesion molecules. *The FASEB Journal* 9(10): 866–873.
85. Togashi, H., Abe, K., Mizoguchi, A., Takaoka, K., Chisaka, O. and Takeichi, M. (2002). Cadherin regulates dendritic spine morphogenesis. *Neuron* 35(1): 77–89.
86. Tsou, J. A., Galler, J.S., Siegmund, K.D., Laird, P.W., Turla, S., Cozen, W., Hagen, J. A., Koss, M. N. and Laird-Offringa, I.A. (2007). Identification of a panel of sensitive and specific DNA methylation markers for lung adenocarcinoma. *Mol Cancer* 6: 70.

87. van Kammen, D. P., Poltorak, M., Kelley, M. E., Yao, J. K., Gurklis, J. A., Peters, J. L., Hemperly, J. J., Wright, R. D. and Freed, W. J. (1998). Further Studies of Elevated Cerebrospinal Fluid Neuronal Cell Adhesion Molecule in Schizophrenia. *Biological Psychiatry* 43(9): 680–686.
88. Veerappa, A. M., Saldanha, M., Padakannaya, P. and Ramachandra, N. B. (2013). Family-based genom-wide copy number scan identifies five new genes of dyslexia involved in dendritic spinal plasticity. *Journal of Human Genetics* 58(8): 539–547.
89. Wang, L., Zhu, J. S., Song, M. Q., Chen, G. Q. and Chen, J. L. (2006). Comparison of gene expression profiles between primary tumor and metastatic lesions in gastric cancer patients using laser microdissection and cDNA microarray. *World J Gastroenterol* 12(43): 6949–54.
90. Yamada, M., Hashimoto, T., Hayashi, N., Higuchi, M., Murakami, A., Nakashima, T., Maekawa, S. and Miyata, S. (2007). Synaptic adhesion molecule OBCAM; synaptogenesis and dynamic internalization. *Brain Research* 1165: 5–14.

### **Kasutatud raamatud**

1. Colman R.D. ja Filbin T. M. (2006). Cell adhesion molecules, lk. 111-121. George J. Siegel, R. Wayne Albers, Scott T. Brady, Donald L. Price, *Basic neurochemistry : molecular, cellular and medical aspects* 7nd ed., Amsterdam [jne.] : Elsevier Academic Press.
2. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A., Ploegh, H. and Matsudaira, P. (2008). Integrating cells into tissues, 801-844. *Molecular Cell Biology* 6th ed., W. H. Freeman and Company, New York.
3. Walmod, P.S., Pedersen, M. V., Berezin, V. and Bock, E. (2007). Cell Adhesion Molecules of the Immunoglobuline Superfamily in the Nervous System, lk. 43-76. Lajtha, A. and Banik, N. *Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Neural Protein Metabolism and Function*. Springer Science + Business Media, LLC.

### **KASUTATUD VEEBILEHED**

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3383>, külastus kuupäev 09.05.2016
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7412>, külastus kuupäev 09.05.2016
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5175>, külastus kuupäev 09.05.2016
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10752>, külastus kuupäev 09.05.2016
5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23114>, külastus kuupäev 09.05.2016

6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4099>, külastus kuupäev 09.05.2016
7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/962>, külastus kuupäev 09.05.2016
8. <http://omim.org/entry/603241>, külastus kuupäev 12.03.2016
9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/50863>, külastus kuupäev 17.05.2016
10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4978>, külastus kuupäev 17.05.2016
11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/257194>, külastus kuupäev 17.05.2016
12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/402665>, külastus kuupäev 17.05.2016
13. [http://www.who.int/mental\\_health/management/schizophrenia/en/](http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/), külastus kuupäev 23.04.2016
14. <http://www.kliinikum.ee/psyhhaatriakliinik/lisad/ravi/RHK/RHK10-FR17.htm>, külastuse kuupäev 18.05.2016

## LIHTLITSENTS

### Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina Maria Kaare

(sünnikuupäev: 06.03.1994)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

IgLON valke kodeerivate geenide ekspressiooni muutused skisofreeniapatsientide dorsolateraalses frontaalkoores

mille juhendaja on Mari-Anne Philips, Kersti Lilleväli ja Tambet Tõnissoo

1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **05.24.2021** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 24.05.2016

