

Şizofreni hastalarında 5-HT_{2A} reseptörü geni -1438 G/A polimorfizminin incelenmesi*

Sezgin ÖZGÜR GÜNEŞ,¹ Ömer BÖKE,² Nurten KARA,³
A. Rifat ŞAHİN,⁴ Hasan BAĞCI,⁵ Yıldız BAŞAR⁶

ÖZET

Amaç: Serotonin (5-HT) merkezi sinir sisteminde anahtar role sahip bir nörotransmitterdir. Serotonerjik disfonksiyonun şizofreni patogeneğinde etkili olabileceği bildirilmektedir. Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT_{2A}) reseptörü insanda 13q14-21'de yerleşmiş bir gen tarafından kodlanır. Bu çalışmada 5-HT_{2A} reseptörü geni promotör bölgesindeki -1438 G/A polimorfizmi ile şizofreni arasında bir ilişkinin var olup olmadığı değerlendirilmiştir. **Yöntem:** Çalışmamıza DSM-IV psikiyatrik tanı sınıflamasına göre şizofreni tanısı konulan 115 hasta ve kontrol grubu olarak da 86 sağlıklı birey alındı. Serotonin reseptörü -1438 G/A polimorfizmi PCR-RFLP yöntemiyle, genotipler ise agaroz jel elektroforezi ve jel görüntüleme sistemi kullanılarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS 12.0 paket programı kullanıldı. **Sonuçlar:** Şizofreni hastalarında AA genotipi oranı %27, GA genotipi oranı %51 ve GG genotipi oranı %22; kontrollerde AA genotipi oranı %17, GA genotipi oranı %56 ve GG genotipi oranı %27 bulundu. AA, AG ve GG genotipleri açısından şizofreni hastaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi. AA genotipi taşıyan bireylerin şizofreni riski, AG ve GG genotipi taşıyanlara göre, sırasıyla, 1.13 ve 1.90 daha fazladır. Bununla beraber, fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Şizofreni hastalarında ve sağlıklı bireylerde 5-HT_{2A} reseptörü A ve G alel sıklığı sırasıyla, 0.53/0.47 ve 0.45/0.55 olarak hesaplandı. **Tartışma:** Bulgularımız 5-HT_{2A} reseptörü geni polimorfizmi ile şizofreni arasında bir ilişki bulunmayabileceğini göstermektedir. (Anadolu Psikiyatri Dergisi 2006; 7:13-17)

Anahtar sözcükler: 5-HT_{2A} reseptörü geni, polimorfizm, şizofreni

-1438 G/A 5-HT_{2A} receptor gene polymorphisms in patients with schizophrenia

ABSTRACT

Objective: Serotonin (5-HT) plays a key role in central nervous system. Serotonergic dysfunction may be involved in the pathogenesis of schizophrenia. 5-HT_{2A} receptor gene maps to 13q14-21. This study aimed to investigate possible association between -1438 G/A polymorphism and schizophrenia. **Methods:** A hundred and fifteen schizophrenic patients diagnosed according to DSM-IV and 86 healthy control subjects were included in this study. The -1438 G/A polymorphism of serotonin receptor gene were determined by PCR-RFLP assay,

* Bu çalışmanı bir bölümü Birinci Ulusal Moleküler Tıp Kongresinde (16-19/Nisan 2005) sunulmuştur.

¹ Yrd.Doç.Dr., ³ Yrd.Doç.Dr., ⁵ Prof.Dr., Ondokuz Mayıs Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD, SAMSUN

² Yrd.Doç.Dr., ⁴ Prof.Dr., Ondokuz Mayıs Üniv. Tıp Fak. Psikiyatri ABD, SAMSUN

⁶ Uzm.Dr., Samsun Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi, SAMSUN

Yazışma adresi: Dr. Ömer BÖKE, Ondokuz Mayıs Üniv. Tıp Fak. Psikiyatri ABD, 55139 Kurupelit/SAMSUN
E-posta: omerbk@omu.edu.tr

genotypes were determined using agarose gel electrophoresis and image analyzer system. Statistical analyses were performed using SPSS for Windows version 12.0. **Results:** The frequencies AA, AG and GG genotypes were %27, %51 and %22 in schizophrenia patients; %17, %56 and %27 in controls. The differences were not significant when compared with AA, AG and GG genotypes. Individuals with AA genotype had nearly 1.13-fold and 1.90-fold increased risk for schizophrenia than individuals carrying genotypes AG and GG, respectively. However, the differences were not statistically significant. The frequencies of A and G alleles were 0.53 and 0.47 in patients and 0.45 and 0.55 in controls, respectively. **Conclusion:** These findings indicate that there may not be any association between 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism and schizophrenia. (*Anatolian Journal of Psychiatry* 2006; 7:13-17)

Key words: 5-HT_{2A} receptor gene, polymorphism, schizophrenia

GİRİŞ

Şizofreni, yaygınlığı %1 olan oldukça karmaşık kalıtımı olduğu düşünülen bir hastalıktır.¹ Şizofreninin etiyolojisi günümüzde tam olarak aydınlatılamamıştır. Şizofreninin ailesel yoğunluk gösterdiği aile, tek/çift yumurta ikizleri ve evlat edinme çalışmaları genetik yatkınlığın kültürel ve çevresel etkenden daha önemli olduğunu göstermiştir.²

Şizofreni aday genlerinin belirlenmesindeki yaklaşımlardan biri, hastalıkla gen ilişkisinin bilinen nörobiyoloji ya da farmakolojiden yola çıkılarak saptanmasıdır. Serotonin disfonksiyonu şizofreni patogenezinde önemlidir, bazı araştırmalar 5-HT_{2A} reseptörü konsantrasyonunun prefrontal kortekste azaldığını göstermiştir.²

1950'li yıllarda kimyasal olarak serotonine benzeyen ve serotonin reseptörlerini bloke eden lysergic acid diethylamide (LSD) enjeksiyonundan sonra varsanı gözlenmesi, şizofrenide serotonin eksikliği varsayımının öne sürülmesine neden olmuştur. Fakat serotonin etkinliğini azaltan ilaçların (klozapin, rezepin) belirtileri azaltması bu varsayıma olan ilgiyi azaltmıştır. Günümüzde ise, daha çok serotonin fazlalığının pozitif ve negatif belirtilere neden olduğu ileri sürülmektedir. Klozapinin ve diğer yeni kuşak antipsikotiklerin güçlü serotoninerek antogonizması ve klozapinin kronik ve tedaviye dirençli şizofreni hastalarındaki olumlu sonuçlarının ortaya konulması, şizofrenide serotonin fazlalığı varsayımını desteklemektedir.³

Serotonin reseptörü G-proteini reseptörüdür ve fosfolipaz C ile sinyal iletiminde rol oynamaktadır.⁴ Serotonin biyosentezi, katabolizma ve yanıtla ilişkili gen varyantlarının şizofreni ve obsesif kompulsif bozukluk (OKB) ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.⁵ Serotonin reseptörü geni promotor bölgesi -1438 G/A polimorfizmi anoreksiya nervoza ve OKB ile ilişkilendirilmiştir.^{6,7}

Bu çalışma, serotonin metabolizmasında rolü olan 5-HT_{2A} reseptörü geni promotor bölgesindeki -1438 G/A polimorfizmi ile şizofreni arasında bir ilişkinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

YÖNTEM VE GEREÇ

Bu çalışmaya Samsun Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi'nde tedavi edilen ve akraba olmayan DSM-IV ölçütlerine göre⁹ şizofreni tanısı konulan 115 (17 kadın, 98 erkek) şizofreni hastası ve 86 (30 kadın, 56 erkek) gönüllü sağlıklı birey katıldı. Kontrol grubu aile öyküsünde psikiyatrik hastalık bulunmayan bireylerden seçildi. Hasta ve kontrol grubumuzun tamamı Karadeniz Bölgesinde yaşayan bireylerden oluşmaktadır. Çalışmaya alınan 115 şizofreni hastası ve 86 sağlıklı gönüllü bireyden araştırma konusunda bilgilendirilerek onayları alındıktan sonra, EDTA'lı kan örnekleri alındı. DNA tuz çöktürme yöntemine göre elde edildi.¹⁰

Serotonin reseptörü geni polimorfizmi PCR-RFLP yöntemiyle belirlendi.⁸ PCR işlemi için polimorfizmi içeren 468 bp'lik bölge 5'-AAG CTG CAA GGT AGC AAC AGC-3' (forward) ve 5'-AAC CAA CTT ATT TCC TAC CAC-3' (reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR, içeriği: 50 ng DNA, 200 mM dNTPs, 20 pmol primerlerden her biri, 1.5 mM MgCl₂, (NH₄)₂SO₄ içeren 1xPCR tamponu, 50 mM KCl, 1 U Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) olacak şekilde 25 µl'lik hacimde Techne Gradient Thermal Cycler'da gerçekleştirildi. PCR şartları; 95°C'de 2 dakika başlangıç denatürasyonu, 35 döngü 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 61°C'de 45 saniye hibridizasyon (primer bağlanma) ve 72°C'de 45 saniye sentez, daha sonra 72°C'de 7 dakika son sentez şeklinde gerçekleştirildi. On µl PCR ürünü, 5 ünite MspI (MBI Fermentas, Litvanya) restriksiyon enzimi ile 37°C'de 16 saat inkübe edilerek kesildi. RFLP ürünleri

%2'lik agaroz jelle yürütüldü. Genotipler jel görüntüleme sistemiyle (Wilber Lourmat, Fransa) belirlendi. Tüm değerlendirmelerde 100 bç'lik marker (100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) kullanıldı. Buna göre 468 bç'lik PCR ürünleri AA genotipi; 468, 244 ve 224 bç'lik PCR ürünleri AG genotipi ve 244 ve 224 bç'lik PCR ürünleri GG genotipi olarak değerlendirildi.

5-HT_{2A} reseptörü geni -1438 G/A polimorfizmi ile şizofreni arasındaki ilişki ki-kare testi ve %95'lik güven aralığında (CI, Confidence Inter-

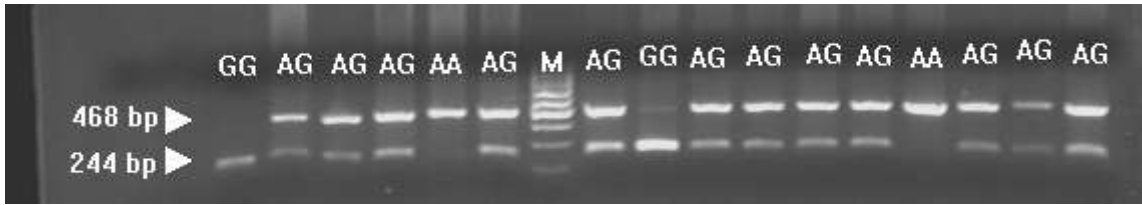
val) Odds Oranı (OR, Odds Ratio) hesaplanarak değerlendirildi. Alellerin her birinin gen frekansları bulunarak çalışılan popülasyon denge kontrolü Hardy-Weinberg ve ki-kare testleri ile belirlendi.

SONUÇLAR

Çalışma ve kontrol gruplarının demografik verileri Tablo 1, bazı bireylere ait serotonin

Tablo 1. Şizofreni olguları ve kontrol bireylerinin demografik verileri

	Şizofreni hastaları		Kontrol grubu	
	Sayı	%	Sayı	%
<i>Cinsiyet</i>				
Kadın	17	14.8	30	34.9
Erkek	98	85.2	56	65.1
Toplam	115	100.0	86	100.0
Yaş ortalaması (Aralık)	39.3±11 (18–70)		41.5±38 (36–63)	



Şekil 1. Serotonin reseptörü -1438 G/A bölgesinde MspII restriksiyon enzimi ile tanımlanan polimorfik aleller

(1 ve 9 no'lu kuyulardaki amplikonların genotipi GG; 2, 3, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17 no'lu kuyulardaki amplikonların genotipi AG; 5 ve 14 no'lu kuyulardaki amplikonların genotipi AA. M; 100 bç marker)

Tablo 2. Şizofreni olgularında ve hasta gruplarında serotonin reseptörü geni -1438 G/A polimorfizmi genotip frekansları

Serotonin reseptörü geni - 1438 G/A polimorfizmi	Şizofreni hastaları (n=115) (%)		Kontrol grubu (n=86) (%)		OR (%95 CI)	χ^2	p
<i>Genotipler</i>							
GG	25	22	23	27	1.0		
GA	59	51	48	56	1.13 (0.54-2.37)	0.12	0.72
AA	31	27	15	17	1.90 (0.76-4.79)	2.29	0.13
<i>Alel frekansları</i>							
A	0.53		0.45				
G	0.47		0.55				

reseptörü -1438 G/A polimorfizmini gösteren elektroforez örnekleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

Genotipler her iki grupta da Hardy-Weinberg dengesindedir. Araştırmaya katılan 115 şizofreni hastasında AA genotipi oranı %27, GA genotipi oranı %51 ve GG genotipi oranı %22; kontrol grubunda AA genotipi oranı %17, GA genotipi oranı %56 ve GG genotipi oranı %27 olarak bulundu. Şizofreni hastaları ve sağlıklı bireylerin genotip ve alel frekansları Tablo 2'de görülmektedir. Serotonin reseptörü -1438 G/A polimorfizmi ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki belirlenemedi. Şizofreni hastalarında A alelinin gen frekansı 0.53, G alelinin gen frekansı 0.47; sağlıklı bireylerde ise A alelinin gen frekansı 0.45, G alelinin gen frekansı 0.55 olarak hesaplandı.

TARTIŞMA

Yürüttüğümüz olgu-kontrol çalışması, serotonin reseptörü geni promotor bölgesi -1438 G/A polimorfizmi ile şizofreniye yatkınlık arasında bir ilişki olmayabileceğini göstermiştir. Bu çalışma, AA genotipi taşımanın oluşturduğu hastalık riskinin; GG genotipi taşımanın oluşturduğu hastalık riskine göre 1.90 kat daha fazla olduğunu göstermektedir (OR, 1.90; %95 CI, 0.76-4.79). Buna karşın, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bununla beraber, şizofreni ile serotonin reseptörü geni -1438 G/A polimorfizmi arasında bir ilişkinin olabileceği düşüncesi de değerlendirmelidir. Parsons ve arkadaşlarının 5-HT_{2A} ifade eden hücre hatlarında yaptıkları çalışma, A alelinin 5-HT_{2A} geni promotor etkinliğini anlamlı düzeyde artırdığını göstermiştir.¹¹

Diğer taraftan, Mitushina ve arkadaşlarının yaptıkları olgu-kontrol çalışmasının bulguları, 5-HT_{2A} -1438 G/A polimorfizmi ile şizofreni riski ve klinik verilerle ilişkili olmadığını göstermiştir.¹² Tot ve arkadaşlarının Türk toplumunda 5-HT_{2A} -1438 G/A polimorfizmi ile OKB riski arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik olarak yürüttükleri çalışmalarında buldukları kontrol grubu alel frekansları (A=0.47, G=0.53), bizim bulduğumuz kontrol grubu alel frekansları (A=0.45, G=0.55) ile büyük ölçüde örtüşmektedir. Yine aynı çalışmada, şiddetli OKB hastalarında, orta-şiddetli OKB hastalarına oranla, AA genotipinin anlamlı derecede arttığı bildirilmektedir.⁸ Şizofreni ve OKB arasında, yapısal ve işlevsel beyin

anomalileri, dopamin/serotonin nörotransmitter sistemlerinin rolü, bazı demografik ve klinik özellikler açısından benzerlikler olduğu bildirilmiştir.¹³ Hamdani ve arkadaşları, 1 ay süreyle atipik antipsikotiklerle tedavi edilen 116 Fransız şizofreni hastasında, 5-HT_{2A} reseptörü AA varyantları ile negatif belirtilerin şiddeti arasında bir ilişki (p=0.03) bildirmişlerdir.¹⁴

5-HT_{2A} reseptörü geninin diğer polimorfik bölgeleri, özellikle 102T/C polimorfizmi ile şizofreni riskinin değerlendirildiği çok sayıda olgu-kontrol çalışması yapılmıştır. 102T/C polimorfizmi ile şizofreni arasındaki ilişkiye dair bulgular çelişkilidir. He ve arkadaşları Çin ve İngiliz toplumlarında şizofreni hastaları ve kontrol bireylerinde 5-HT_{2A} reseptörü geni 102T/C polimorfizmi ile şizofreni riski arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını bulmuşlardır.¹⁵ Abdolmaleky ve arkadaşları 2004 yılına kadar yapılan 31 çalışmayı gözden geçirmişler ve 5-HT_{2A} reseptörü geni 102T/C polimorfizmi C aleli ve CC genotipinin, Avrupalılarda şizofreni riskini arttırabileceğini, Doğu Asyalılarda ise bu polimorfizmle şizofreni arasında anlamlı bir ilişki saptayamadıklarını bildirmişlerdir.¹⁶ Pae ve arkadaşları, Korelilerle yaptıkları çalışmada aynı polimorfizm ile şizofreni riski, antipsikotiklere yanıt, aile öyküsü ve belirti arasında ilişki bulamazlarken, 5-HT_{2A}*TT genotipi ile hastalığın erken başlama yaşı ilişkilendirilmiştir.¹⁷

Daha önceki çalışmalar incelendiğinde serotonin reseptörü geni -1438 G/A polimorfizmini araştıran çalışma sayısı azdır ve birbirleriyle kıyaslanabilir değildir. Çoğunlukla aynı genin farklı bölgelerinin polimorfizmi çalışılmıştır, örneklem sayıları arasında farklar vardır ve çalışmalar değişik etnik gruplarda yapılmıştır.

Çalışmamızda, hasta grubumuzun heterojen olması sınırlayıcı nitelik oluşturmaktadır. Psikiyatrik hastalıklarda aynı fenotipe yol açabilen birden fazla genotip olması nedeniyle olguların özgül şizofreni alt grupları oluşturularak çalışması daha yararlı olabilir.

Sonuç olarak Türk toplumunda serotonin reseptörü geni -1438 G/A polimorfizmi ile şizofreniye yatkınlık arasında ilişki olmadığı söylenebilir. Bu konudaki farklı sonuçların daha sağlıklı yorumlanabilmesi için farklı etnik gruplarda aynı çalışmaların tekrarlanması, çalışma gruplarının sayısının artırılması ve hatta şizofreni alt gruplarında yürütülmesi yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=181500>
2. Berry N, Jobanputra V, Pal H. Molecular genetics of schizophrenia: a critical review. *J Psychiatry Neurosci* 2003; 28:415-429.
3. Buchanan RW, Carpenter WT. Concept of schizophrenia. HI Kaplan, BJ Sadock (eds), *Comprehensive Textbook of Psychiatry*, sekizinci baskı, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2004, s.1329-1345.
4. Conn PJ, Sanders-Bush E, Hofmann BJ, Hartig PR. A unique receptor in choroid plexus is linked to phosphatidylinositol turnover. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83:4086-4088.
5. Marshall SE, Bird TG, Hart K, Welsh KI. Unified approach to the analysis of genetic variation in serotonergic pathways. *Am J Med Genet* 1999; 88:621-627.
6. Enoch MA, Kaye WH, Rotondo A, Greenberg BD, Murphy DL, Goldman D. 5-HT2A promoter polymorphism -1438G/A, anorexia nervosa, and obsessive-compulsive disorder. *Lancet* 1998; 351:1785-1786.
7. Enoch MA, Goldman D, Barnett R, Sher L, Mazzanti CM, Rosenthal NE. Association between seasonal affective disorder and the 5-HT2A promoter polymorphism, -1438G/A. *Mol Psychiatry* 1999; 4:89-92.
8. Tot Ş, Erdal E, Yazıcı K, Yazıcı AE, Metin Ö. T102C and -1438 G/A polymorphisms of the 5-HT2A receptor gene in Turkish patients with obsessive-compulsive disorder. *Eur Psychiatry* 2003; 18:249-254.
9. Amerikan Psikiyatri Birliği. *Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal Elkitabı*. E Köroğlu (çev. ed), dördüncü baskı, (DSM-IV, 1994), Ankara, Hekimler Yayın Birliği, 1998.
10. Miller SA, Dykes DD. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acid Res* 1988; 16:1215.
11. Parsons MJ, D'Souza UM, Arranz MJ, Kerwin RW, Makoff AJ. The -1438A/G polymorphism in the 5-hydroxytryptamine type 2A receptor gene affects promoter activity. *Biol Psychiatry* 2004; 56:406-10.
12. Mitiushina NG, Abramova LI, Kaleda VG, Golimbet VE. A-1438-G serotonin receptor type 2A (5-HTR2A) gene polymorphism in patients in patients with schizophrenia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2003;103:43-46.
13. Poyurovsky M, Weizman A, Weizman R. Obsessive-compulsive disorder in schizophrenia: clinical characteristics and treatment. *CNS Drugs* 2004; 18:989-1010.
14. Hamdani N, Bonniere M, Ades J, Hamon M, Boni C, Gorwood P. Negative symptoms of schizophrenia could explain discrepant data on the association between the 5-HT2A receptor gene and response to antipsychotics. *Neurosci Lett* 2005; 377:69-74.
15. He L, Li T, Melville C, Liu S, Feng GY, Gu NF ve ark. 102T/C polymorphism of serotonin receptor type 2A gene is not associated with schizophrenia in either Chinese or British populations. *Am J Med Genet* 1999; 88:95-98.
16. Abdolmaleky HM, Faraone SV, Glatt SJ, Tsuang MT. Meta-analysis of association between the T102C polymorphism of the 5HT2a receptor gene and schizophrenia. *Schizophr Res* 2004; 67:53-62.
17. Pae CU, Artioli P, Serretti A, Kim TS, Kim JJ, Lee CU ve ark. No evidence for interaction between 5-HT2A receptor and serotonin transporter genes in schizophrenia. *Neurosci Res* 2005; 52:195-199.