

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ŞİZOFRENİLİ HASTALARDA PERİFERAL KAN LENFOSİTLERİNDEKİ
(PBL) DRD3 GENİ mRNA DÜZEYLERİ
İLE DRD3 GENİ SER9GLY POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI

Meral URHAN KÜÇÜK

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof Dr M Emin ERDAL

MERSİN – 2006

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**ŞİZOFRENİLİ HASTALARDA PERİFERAL KAN LENFOSİTLERİNDEKİ (PBL)
DRD3 GENİ mRNA DÜZEYLERİ
İLE DRD3 GENİ SER9GLY POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Meral URHAN KÜÇÜK

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof Dr M Emin ERDAL

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-TF TTB (MEE) 2004-3 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

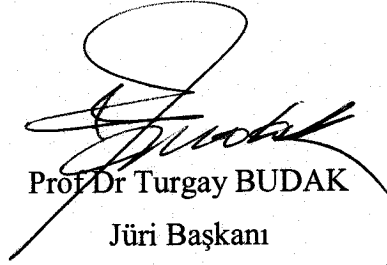
Tez No: 1

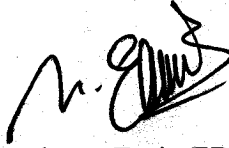
MERSİN – 2006

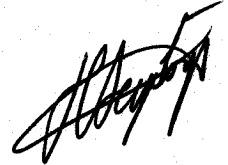
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

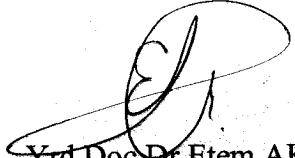
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Doktora Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Şizofrenili Hastalarda Periferik Kan Lenfositlerindeki (PBL) DRD3 Geni mRNA Düzeyleri ile DRD3 Geni Ser9Gly Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

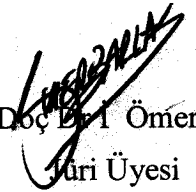
Tez Savunma Tarihi ~~07/07/2006~~ 2006


Prof. Dr. Turgay BUDAK
Jüri Başkanı

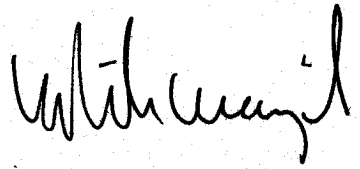

Prof. Dr. Mehmet Emin ERDAL
Jüri Üyesi


Prof. Dr. Hüseyin BEYDAĞI
Jüri Üyesi


Yrd. Doç. Dr. Etem AKBAŞ
Jüri Üyesi


Yrd. Doç. Dr. Ömer BARLAS
Jüri Üyesi

Yukarıdaki tez, Enstitü Yönetim Kurulunun...~~12.07.2006~~...tarih ve ~~2006/1157~~ sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Murat DİKMENGİL

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince yaptığı akademik katkılardan ve doktora tezimin hazırlanması sırasında gösterdiği özveri ve bilimsel katkıdan dolayı Anabilim Dalı Başkanımız, danışman hocam Sn Prof Dr M Emin ERDAL'a, teşekkür ederim.

Anabilim dalımızın değerli hocaları; Sn Doç Dr Nurcan ARAS ATEŞ, Sn Yrd Doç Dr Etem AKBAŞ ve Sn Yrd Doç Dr İ Ömer BARLAS'a yaptıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Doktora Tezimin izleme komitesinde bulunan Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sn Prof Dr Hüseyin BEYDAĞI'na tez süresi boyunca yaptıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Tezimde yer alan hasta grubunun toplanması sırasındaki yardımlarından dolayı, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı öğretim üyesi Sn Doç Dr Hasan HERKEN'e ve Adana Özel Nobel Tıp Merkezi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı Dr Murat Eren ÖZEN'e, tezimin istatistiklerinin yapılması ve bulguların değerlendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Sn Seval KUL'a ve doktora eğitimim boyunca, hiç bir desteğini esirgemeyen laboratuvarında birlikte çalıştığım arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimi proje olarak kabul edip destekleyen, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi destekleriyle, eğitimimin akademik yönde devam etmesini sağlayan aileme ve sevgili eşime sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1.Şizofreni.....	3
2.1.1. Şizofreni Tanımı.....	3
2.1.2. Şizofreniyi etkileyen etmenler.....	4
2.1.2.1.Yaş ve Cinsiyetin Etkisi.....	4
2.1.2.2. Sosyal Yaşamın Etkisi.....	5
2.1.2.3 Şizofrenide Genetik ve Çevre	5
2.1.3. Şizofreninin Sınıflandırılması.....	6
2.1.3.1. Şizofreni İçin DSM-IV Tanı Kriterleri.....	7
2.1.3.2. Şizofreni Tipleri.....	7
2.1.3.2.1. Paranoid Şizofreni.....	8
2.1.3.2.2. Ayrışmamış Şizofreni.....	8
2.1.3.2.3. Dezorganize Şizofreni.....	9
2.1.3.2.4. Rezidüel Şizofreni.....	9
2.1.3.2.5. Katatonik Şizofreni.....	9
2.1.4. Şizofrenide Kalıtım.....	9
2.1.5. Şizofrenide Dopamin Hipotezi.....	10
2.2. Dopamin ve Dopamin Reseptörleri.....	12
2.2.1. Dopamin.....	12

2.2.2. Dopamin Reseptörleri.....	13
2.2.2.1. D1 Benzeri Dopamin Reseptörleri.....	15
2.2.2.1.1. Dopamin D1 Reseptörleri (DRD1)	15
2.2.2.1.2. Dopamin D5 Reseptörleri (DRD5)	16
2.2.2.2. D2 Benzeri Dopamin Reseptörleri.....	16
2.2.2.2.1. Dopamin D2 Reseptörleri (DRD2)	17
2.2.2.2.2. Dopamin D3 Reseptörleri (DRD3).....	18
2.2.2.2.3. Dopamin D4 Reseptörleri (DRD4)	22
2.3. Dopamin ve Dopamin Reseptörlerinin Nöropsikiyatrik Hastalıklarla İlişkisi...23	
2.3.1. Şizofrenide Dopaminin Periferal Marker Hipotezi.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması.....	25
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	25
3.2.1. Alet ve Cihazlar.....	25
3.2.2. Kimyasal Maddeler.....	26
3.2.3. Çözeltiler.....	27
3.3. Yöntemler.....	30
3.3.1. RNA İzolasyonu.....	30
3.3.2. DNA İzolasyonu.....	31
3.4. Moleküler Analiz.....	32
3.4.1. DRD3 Geni mRNA Düzeylerinin Belirlenmesi.....	32
3.4.2. DRD3 Geni Ser9Gly polimorfizminin Belirlenmesi.....	34
3.5. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. Şizofreni Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait DRD3 Geni mRNA Düzey Bulguları.....	37
4.2. Şizofreni Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait DRD3 Geni Ser9Gly Polimorfizmi Genotip Dağılımı ve Alel Frekansı Bulguları.....	41
4.3. DRD3 Geni mRNA Düzeyleri ile Ser9Gly Polimorfizmi Genotip Dağılımları ve Alel Frekansları Arasındaki İlişkiye Ait Bulgular.....	45
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	58

7. KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Dopamin metabolizması.....	12
Şekil 2.2 Dopamin reseptörleri.....	13
Şekil 2.3 Dopamin reseptörlerinin yapısı	14
Şekil 2.4 Şizofreni hastaları ile normal bireylerin beyinlerinde dopamin reseptörlerinin karşılaştırılması.....	18
Şekil 2.5 DRD3 geninin kromozom 3q13.3'teki lokalizasyonu.....	18
Şekil 2.6 D3 dopamin reseptörünün hücre membranı üzerinde yerleşiminin şematik görünümü	19
Şekil 2.7 DRD3 geni lokalizasyonu ve yapısında tespit edilen polimorfizmler	21
Şekil 4.1 DRD3 geni ve internal kontrol beta aktin geni cDNA'larının elektroforez sonrası fotoğrafı	38
Şekil 4.2 DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmine ait allellerin elektroforez sonrası fotoğrafı.....	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Şizofrenide alt tiplendirme	8
Çizelge 4.1 Kontrol ve hasta gruplarında yaş ortalamaları.....	37
Çizelge 4.2 Gruplarda gözlenen DRD3 geni mRNA düzeyi/Beta aktin mRNA düzeyi oranı	38
Çizelge 4.3 DRD3 geni mRNA düzeyi/Beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması.....	39
Çizelge 4.4 DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni alttiplerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	40
Çizelge 4.5 DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni alt tiplerinin karşılaştırılması.....	40
Çizelge 4.6 DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni alt tiplerinin çoklu karşılaştırılmasının p değerleri.....	40
Çizelge 4.7 Gruplarda DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımları.....	42
Çizelge 4.8 Gruplarda DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi alel frekansları	43
Çizelge 4.9 Grupların Ser9 veya Gly9 aleline sahip olup olmamalarına göre karşılaştırılması.....	43
Çizelge 4.10 Şizofreni alt tipleri ile kontrol gruplarının DRD3 Ser9Gly genotip dağılımlarının karşılaştırılması.....	44
Çizelge 4.11 Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre grupların karşılaştırılması.....	45
Çizelge 4.12 Gruplar arasında DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması.....	45
Çizelge.4.13 Gruplarda Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma ile mRNA düzeylerinin karşılaştırılması.....	46
Çizelge 4.14. Hasta ve kontrol gruplarında homozigot Ser9Ser genotipine sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması.....	47
Çizelge 4.15 Hasta ve kontrol gruplarında homozigot Gly9Gly genotipine sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması...	48

Çizelge 4.16 Hasta ve kontrol gruplarında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımı.....	49
Çizelge 4.17 Hasta ve kontrol gruplarında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre DRD3 Ser9Gly polimorfizmi alel frekansları.....	50

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μ	Mikron
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
A	Adenin
Aa	Amino asit
ABC	Age Begining and Course of Schizophrenia (Şizofrenide başlangıç yaşı ve seyir)
AGPC	Asid Guanidinium-Fenol-Kloroform
AMP	Adenozin Monofosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
Bp	Baz çifti
cAMP	Siklik Adenozin Mono Fosfat
DEPC	Diethyl Pyrocarbonate
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
DRD1	Dopamin reseptör D1
DRD2	Dopamin reseptör D2
DRD3	Dopamin reseptör D3
DRD4	Dopamin reseptör D4
DRD5	Dopamin reseptör D5
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Zihinsel Bozukluklara İlişkin Tanı ve İstatistik El Kitabı Dördüncü Baskı)
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtBr	Ethidium Bromide
G	Guanin
Gly	Glisin
ICD-10	International Clacification of Disease-10 Edition (Uluslararası Hastalık Sınıflaması ve İlişkili Sağlık Sorunları)
IP3	Inositol 1,4,5-trifosfat
Kb	Kilobaz

KCl	Potasyum Klorür
M	Molar
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
M-MLV	Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transkriptaz
mRNA	Mesenger Ribonükleik Asit
Na ₂ EDTA	Sodyum-2-Etilendiamin Tetraasetik Asit
NaCl	Sodyum Klorür
N-terminal	Amino Uç
PBL	Peripheral Blood Lymphocytes (Periferal Kan Lenfositleri)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PET	Positron Emission Tomography (Pozitron Emisyon Tomografi)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
RNA	Ribonükleik Asit
RNAase	Ribonuclease (RNA yıkıcı enzim)
rpm	Revolutions Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
SANS	Scale for the Assesment of Negative Semptoms (Negatif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği)
SAPS	Scale for the Assesment of Positive Semptoms (Pozitif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği)
SDS	Sodyum Dodasil Sülfat
Ser	Serin
Ser9Gly	9. Pozisyonda Serin Glisin Değişimi
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms (Tekli Nükleotid Değişimi Polimorfizmi)
SSS	Santral Sinir Sistemi
TBE	Tris Borat Etilendiamin Tetraasetik Asit
TE	Tris Etilendiamin Tetraasetik Asit
Tris HCl	Tris Hidroklorid
U	Ünite
UTR	Untranslated Region (Translate Olmayan Bölge)

ÖZET

Şizofreni popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen, etiyolojisinde çevresel ve kalıtsal risk faktörlerinin bulunduğu multifaktöryel nöropsiyatrik bir hastalıktır.

Son yıllarda beyinde bulunan D3, D4 ve D5 dopamin reseptörleri (DRD3, DRD4, DRD5) alt tipleri mRNA'larının insan periferal kan lenfositlerinde de bulunduğu rapor edilmiştir. Bu reseptörlerin beyindeki reseptör miktarını yansıttığı öne sürülmüştür.

Daha önce birçok genetik polimorfizmin şizofreni ile ilişkisi araştırılmıştır. Bunlar arasında DRD3 geninde Bal I restriksiyon bölgesindeki Ser9Gly varyantının şizofreniyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı şizofren hastalarda, periferal kan lenfositlerindeki DRD3 mRNA düzeylerinin bu hastalık için bir marker olarak görev yapıp yapmayacağını ve DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi ile DRD3 mRNA düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığını araştırılmasıdır.

51 şizofren hasta ve 55 sağlıklı kontrol bireyin lenfositlerinden RNA izole edildi ve revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yapıldı. Ser9Gly polimorfizmi genomik DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifikasyonundan sonra Bal I endonükleaz restriksiyon enzimi izoşizomeri olan Mls I restriksiyon enzimi ile kesilerek genotiplendirildi. Bu çalışmada şizofreni ile Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımı ve alel frekansları arasında önemli bir farklılık bulunmadı. Ayrıca DRD3 mRNA düzeyleri ile Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımı ve alel frekansları bakımından şizofreni hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Ancak, paranoid ve dezorganize şizofreni tipleri arasında DRD3 mRNA düzeyleri bakımından önemli bir farklılık bulundu.

Şizofreni alt tiplerinin tanısı ve takibinde lenfositlerdeki D3 dopamin reseptör mRNA düzeyleri bir marker olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: DRD3, mRNA, Dopamin Reseptörleri, RT-PCR, Şizofreni

ABSTRACT

Schizophrenia is a common neuropsychiatric disorder that affects approximately 1% of the population. The etiology of the disorder is likely to be multifactorial, a combination of environmental and inherited genetic risk factors.

In recent years, it has been reported that mRNAs of D3, D4 and D5 dopamine receptors' (DRD3, DRD4, DRD5) subtypes which expressed in the brain present in human peripheral blood lymphocytes (PBL). It has been suggested that these dopamine receptors found in lymphocytes may reflect receptors found in the brain .

Previously, several genetic polymorphisms were investigated for an association with schizophrenia in various populations. Among them, Ser9Gly variant in the Bal I restriction site of the dopamine D3 receptor gene was reported to be associated with schizophrenia.

The aim of this study is to investigate whether mRNA levels of DRD3 in PBLs of schizophrenia patients can serve as peripheral markers for this disorder, and relationship between DRD3 mRNA levels and Ser9Gly polymorphism in DRD3 gene.

From 51 schizophrenic patients and 55 controls lymphocyte RNA was isolated, and a reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was carried out. Ser9Gly polymorphism was typed by Msp I restriction enzyme which is isoschizomer of Bal I restriction enzyme digestion following amplification of genomic DNA by the polymerase chain reaction (PCR) method.

In this study, we found no association between genotypic counts and allele frequencies of Ser9Gly polymorphism and schizophrenic and controls. In addition any significant difference between DRD3 mRNA levels and genotypic counts Ser9Gly polymorphism in schizophrenic and controls. However we found significant differences between DRD3 mRNA levels schizophrenia subtypes.

We propose the D3 receptor mRNA on blood lymphocytes can be used as a marker for identification and followup subgroups of schizophrenia.

Key Words: DRD3, mRNA, Dopamine Receptors, RT-PCR, Schizophrenia

1. GİRİŞ

Şizofreni, dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini etkileyen şiddetli ve kronik bir psikiyatrik hastalıktır (1,2). Aile öyküsü bulunan bireylerde bu oran yaklaşık % 65-85'e çıkmaktadır (3). Şizofreni, farklı coğrafik bölgelerde benzer sıklıkta görülmektedir(1,2).

Semptomlarına ve karşılaşılan klinik tabloya göre şizofreni, paranoid tip, ayrışmamış (farklılaşmamış =diferansiye olmamış) tip, dezorganize (hebefreni) tip, rezidüel tip ve katatonik tip olmak üzere 5 alt tipe ayrılmıştır (1,2,4,5,6,7).

Aile, ikizlik ve evlatlık çalışmaları şizofreninin etiolojisinde genetik faktörlerin önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Ancak, bu hastalığın spesifik kalıtsal mekanizması henüz açıklanamamıştır. Bununla birlikte şizofreninin kalıtımının poligenik veya multifaktöryel olabileceği düşünülmektedir (2,3,8,9,10,11,12,13,14).

Dopaminerjik nörotransmisyon sistem, çeşitli psikotik hastalıklar ve kişilik özelliklerinin etiolojisinde bulunmasından dolayı, dopamin ve dopamin reseptörlerinin birçok nöropsikiyatrik hastalıkla ilişkili olduğu ve dopamin reseptör genlerinin bu hastalıklar için aday genler olabileceği üzerinde durulmuştur (2,6,15,16,17).

İnsan genomunda, dopamin reseptörü D1 (DRD1), dopamin reseptörü D2 (DRD2), dopamin reseptörü D3 (DRD3), dopamin reseptörü D4 (DRD4), dopamin reseptörü D5 (DRD5) olmak üzere beş farklı dopamin reseptör geni tanımlanmıştır. Bunlar yapılarına ve farmakolojik özelliklerine göre dopamin reseptörü D1 benzeri reseptörler (DRD1 ve DRD5) ve dopamin reseptörü D2 benzeri reseptörler (DRD2, DRD3 ve DRD4) olarak sınıflandırılmaktadır (1,6,18,19,20,21,22,23,24,25).

“Şizofrenide dopamin hipotezine” göre, dopamin yollarının şizofrenide aşırı aktif olduğu ileri sürülmüştür. Bu görüş, farmakolojik çalışmalar yardımıyla, 2 önemli kanıtla desteklenmiştir. Bunlardan birincisi, sürekli kullanılan antipsikotik ilaçların (nöroleptik ilaçların), in vivo ve in vitro ortamlarda dopamin reseptörlerini bloke etmesi, ikincisi ise dopamin reseptör-güçlendirici ilaçların, hastaların psikotik semptomlarını ilerletmesidir. Dopamin-taklit edici ilaçlar, şizofreni hastalarında, hastalığın etkilerini şiddetlendirmekte, normal kişilerde ise şizofreni benzeri psikozlara sebep olmaktadır (26,27,28,29,30,31,32).

Kromozom 3q13.3 te lokalize olan DRD3 geni 5 intron ve 5 ekson içerir ve 446 aa'lık DRD3 reseptör proteinini kodlar (33,34,35,36,37,38,39). DRD3 hem presinaptik (otoreseptör) hem de postsinaptik reseptör olarak görev yapar (40). Beyinde ekspresyon bölgesi çok sınırlıdır; özellikle, şizofreni ile çok ilişkili olan nukleus accumbens bölgesinde lokalize olmuştur (18,33,41,42,43).

Son yıllarda, bazı dopamin reseptör alt tiplerinin (DRD3, DRD4, DRD5) mRNA'larının insan periferal kan lenfositlerinde (PBL) de bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak periferal kan lenfositlerinde, beyinde daha fazla bulunan DRD1 ve DRD2 dopamin reseptör alt tipleri gözlenmemiştir. PBL'deki nörotransmitter ve nöropeptid reseptör mRNA düzeylerinin, beyindeki mRNA düzeylerini yansıttığı ileri sürülmektedir (23,24,25,44,45,46,47,48,49,50,51,52).

Günümüzde şizofreninin tanımlanması için etkili bir biyolojik marker veya hastalığın erken evrelerinde durumu kesinleştirmek için daha hızlı ve kesin teşhis yöntemi olmadığından dolayı, şizofreninin kesin teşhisi için 6 aylık bir süreye ihtiyaç vardır (23). Pozitron emisyon tomografi (PET) ve postmortem beyin doku çalışmaları şizofreni hastalarında, şizofren olmayan hastalarla karşılaştırıldığında D2 benzeri dopamin reseptör düzeylerinin arttığını göstermektedir (37). Eğer uygun bir periferal dokuda, dopamin reseptör düzeyi analiz edilebilirse, şizofreni için marker olarak kullanılabilceği öne sürülmüştür (23).

Ilani ve ark (23) yaptıkları çalışmada şizofreni ile lenfositlerdeki DRD3 mRNA ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğunu göstermiş ve insan periferal kan lenfositlerindeki dopamin reseptörü D3 artışının şizofreninin seyrinde bir marker olarak kullanılabilceği önermişlerdir (23).

Daha önce birçok genetik polimorfizmin şizofreni ile ilişkisi araştırılmıştır. Bunlar arasında DRD3 geninde Bal I endonükleaz restriksiyon bölgesi yaratan bir Ser9Gly polimorfizmi tanımlanmış ve bu varyantın şizofreniyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (28,34,36,37,45,46,53,54).

Bu çalışmada, şizofreni hastalarının ve sağlıklı bireylerin PBL dopamin reseptör D3 (DRD3) mRNA düzeyleri ölçülüp karşılaştırılarak bunların şizofreni için periferal bir marker olarak görev yapıp yapamayacağını araştırmak ve DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi alelleri ile PBL dopamin reseptör D3 (DRD3) mRNA düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Şizofreni

2.1.1. Şizofreni Tanımı

Şizofreni, kişinin düşünce, algılama, duygulanım ve davranışlarını önemli derecede etkileyerek iş, sosyal ve özel yaşamında çeşitli düzeylerde sorunlara neden olan bir hastalıktır. Semptomları bakımından heterojen özellikler gösteren, farklı coğrafik bölgelerde benzer sıklıkta olmak üzere, dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini etkileyen şiddetli ve kronik psikiyatrik bir hastalıktır (1,2,4,42,43,44,45,46,47,48). Ailesinde şizofreni olan bireylerde bu oran yaklaşık % 65-85'e çıkmaktadır (3).

Fizyolojik, biyokimyasal, çevresel, sosyal ve genetik birçok faktör şizofreninin etiyolojisi ve patogenezinin sorumluluğunda tutulmakla birlikte, bu hastalığın sebebi henüz tam olarak çözümlenememiştir. Ancak son yıllarda yapılan aile, ikizlik ve evlatlık çalışmaları şizofreninin etiyolojisinde genetik faktörlerin önemli bir rolü olduğunu göstermekle birlikte hastalığın spesifik kalıtsal mekanizması henüz açıklanamamıştır (2,3,4,8,9, 10,11,12,13,43,48,53). Şizofrenide kalıtımın poligenik veya multifaktoryel olabileceği düşünülmektedir (2,4,6,8,9,14).

Etiyolojisi ve patogenezi tam çözülmemiş olan bu hastalık ile genlerin ilişkisi özellikle sinirbilimciler ile genetikçilerin ilgi alanı olmuştur (4,5,7,55,56).

Şizofreni insidansı tüm toplumlarda birbirine benzer oranda olmakla birlikte, hastalık düşük sosyoekonomik sınıflardaki bireylerde daha yüksektir. Nitekim gelir düzeyi düşük bireylerin ailelerinde şizofreni oranının da yüksek olduğu gözlenmiştir. Böyle hasta ebeveynlerinin %10'u şizofrendir (1,2,5,57).

Şizofreninin başlıca belirtileri; sanrılar, varsanılar, dezorganize konuşma (dağınıklık, bilgileri toparlayamama (enکوherans) ya da sık sık konu dışı sapmalar gösterme), ileri derecede dezorganize ya da katatonik davranış, negatif semptomlar, yani duygulanımda düzleşme, konuşamamazlık veya istemsizlik gibi düşünce, konuşma ve davranış bozuklukları, duygularda ve duygulanımda bozulma, bilişsel kayıplar ve istenç kaybıdır (1,2,4,5,6,7,57). Şizofrenide formal düşünce bozukluğunun sıklığı ve özgünlüğü bir alt tipten diğerine belirgin olarak değişiklik gösterir (57).

Şizofreniye özgü belirtiler çok farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Önceki yıllarda, araştırmacılar ve klinisyenler pozitif ve negatif belirtilerin ayrımı üzerine yoğunlaşmışlardır. Bu durum, pozitif ve/veya negatif belirtilerin değerlendirilmesine yönelik çeşitli ölçeklerin geliştirilmesini sağlamıştır. Bunlar arasında öncelikle “Negatif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği” (SANS; Scale for the Assessment of Negative Symptoms) ve “Pozitif Belirtileri Değerlendirme Ölçeği” (SAPS; Scale for the Assessment of Positive Symptoms) kullanılmaktadır. SANS, duygulanımda sığılaşma, istenç kaybı (apati), asosyalılık (anhedoni) ve dikkat bozukluğu durumlarının farklı yönlerini tanımlayan maddelerden oluşur. SAPS ise varsanıları, tuhaf davranışları ve formal düşünce bozukluğunu tanımlayan maddeler içerir (57,58,59).

Şizofreninin belirtileri pozitif ve negatif belirtiler olarak iki grupta değerlendirilir. Pozitif belirtilerin, halüsinasyon ve hezeyanları kapsayan psikotik boyutu ile tutarsız konuşma ve davranışları içeren dezorganize boyutu vardır. Negatif belirtiler ise; affektif (duygu durumunda) donukluk, düşüncenin ve konuşmanın akıcılığında kısıtlılık (aloji) ve amaca yönelik davranışların başlatılmasında kısıtlılığı (avolisyon) kapsar. Ayrıca kişiler arası ilişkiler, evlilik, iş, eğitim ve kendine bakım gibi birçok işlevde bozulma olur (4,6,7,58,59,60,61).

2.1.2. Şizofreniyi Etkileyen Etmenler

2.1.2.1. Yaş ve Cinsiyetin Etkisi

Şizofreniye yakalanmadaki risk faktörleri çok çeşitlidir. Bunlardan en önemlilerinden biri yaştır. Bazı şizofreni tipleri için hastalığın başlangıç yaşı cinsiyet ile ilişkilidir. Kadın hastalar için hastalığın başlangıç yaşı daha büyük, sıklıkla 15–30 yaşlar aralığında olmak üzere ortalama 25’tir. Erkek hastalar için ise çoğunlukla 10–24 yaşları aralığında olmak üzere ortalama başlangıç yaşı 20’dir. Ancak bazı yeni veriler 45 yaşından sonra da hastalığın başlayabileceğine işaret etmektedir. Bu tür olgular son yıllarda artmaya başlamıştır (5,8,56,57,61).

Şizofrenide başlangıç yaşı ve seyir (ABC; Age Beginning and Course of Schizophrenia) çalışmasında bir zihinsel rahatsızlığın ilk bulgusu ile ilk hastaneye yatış arasındaki süre erkeklerde ortalama 4,2 yıl, kadınlarda ise ortalama 4,9 yıl bulunmuştur (57).

2.1.2.2. Sosyal Yaşamın Etkisi

Bütün psikiyatrik hastalıklar gibi şizofreni de sosyal, ekonomik ve hatta coğrafik şartlardan etkilenir (56). Şizofreni oranlarının kentlerde, kırsal kesime göre daha yüksek seyrettiği uzun zamandır bilinmektedir. Segura ve Toller (61), bu farkın kentlerde ortaya çıkan yeni vakalardan ziyade hastalığın başlangıcından sonra kente göçen vakalara bağlı olduğunu bildirmektedirler (61). Gelişmiş ve az gelişmiş ülkelerde yapılan takip çalışmalarında, iki yıllık bir takip süresinin sonunda gelişmiş ülkelerde prognozun daha kötü olduğu görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde prognozu kötü olan olguların oranı %40 iken, az gelişmiş ülkelerde bu oran %24'tür. Prognozu nispeten iyi olan olguların oranı ise gelişmiş ülkelerde %39, az gelişmiş ülkelerde %56'dır (56).

2.1.2.3. Şizofrenide Genetik ve Çevre

Şizofreninin risk faktörleri arasında genetik faktörler de önemli rol oynamaktadır. Monozigotik ikizlerde hastalık uygunluğu %33–78 arasında değişirken aynı oran dizigotik ikizlerde %58–28 arasında değişmektedir. Evlatlık (adoption) çalışmaları da bu yöndeki hipotezi desteklemektedir. Bu konuda genetik geçişe göre belirlenmiş bazı modeller oluşturulmuştur (56).

Model 1: Bu modelde şizofreninin iki belirleyici faktör tarafından oluşturulduğu öne sürülmektedir. Bunlardan birincisi genetik diğeri çevresel faktördür. Model 1'de çevresel faktörlerin içinde ailesel faktörler yoktur. Yalnızca, doğum travmaları, pre-postnatal viral enfeksiyonlar gibi ailesel olmayan çevresel faktörler vardır (56).

Genetik ve çevresel faktörler birbirlerini etkileyerek şizofreninin ortaya çıkışını hızlandırır. Bu modelde ailesinde şizofreni ya da psikotik herhangi bir hastalık bulunmayan hastalarda çevresel faktörlerin çok güçlü olması gerekecektir. Yani ailesel

olmayan şizofrenlerde çevresel koşulların ağır olması gerekirken ailesel şizofrenlerde böylesine ağır çevresel koşulların olmasına gerek yoktur (56).

Model 2: Bu modelde daha etkili olan çevresel değil genetik duyarlılıktır. Ailesel şizofrenlerin normal akrabalarındaki risk, ailesel olmayan şizofrenlerin normal akrabalarındakine göre daha yüksektir (56).

Model 3: Bu modelde hastalığa genetik olarak neden olan tek bir patojen gen vardır. Bu gen şizofreniyi ortaya çıkarır.

Model 4: Bu modele göre patojen genlerin ve bazı çevresel faktörlerin kombinasyonu ile şizofreni ortaya çıkar. Genetik yatkınlık tek başına hastalığı ortaya çıkarmada yetersiz kalır. Bunun yanı sıra eğer genetik bir yatkınlık belli bir eşiği geçmemişse, çevresel faktörler ne kadar şiddetli olursa olsun hastalığın ortaya çıkması için yeterli olmaz (56).

Şizofrenideki genetik geçişin kesin biçimi bilinmemektedir, ancak aile çalışmaları tek baskın gen bozukluğunu savunan model 3'ü dışlamıştır. Çok etkenli eşik modeli (örn, farklı bölgelerdeki çeşitli genlerin birikici etkisi) veya karmaşık model (örn, tek major gen ile çeşitli sayıda diğer genlerin etkileşimi) olan model 4, en olası kalıtım biçimi olarak düşünülmektedir. Devam eden çalışmalar, şizofreninin genetik temellerinin önümüzdeki yıllarda belirlenebileceği izlenimini uyandırmaktadır (56).

2.1.3. Şizofreninin Sınıflandırılması

Şizofreni etiyojisi tam olarak bilinmeyen bir hastalıktır. Yıllar boyunca klinik tabloyu belirleyebilmek ve bu durumu başka bozukluklardan ayırt edebilmek amacıyla bir dizi farklı bulgu ve belirti tanımlanmıştır. Son yıllarda bozukluğun varlığını doğrulayabilecek ve klinikte yararlı olabilecek labarotuar testleri ya da biyolojik belirteçler ortaya koymak üzere çok sayıda çalışmalarda bulunulduğu halde tanı hala klinik ölçütlere dayalıdır (5,56,57,62).

Şizofrenin klasik alt tipleri, değerlendirme sırasında gözlenen baskın semptomlara bakılarak tanımlanır. Psikiyatri alanında başlıca iki güncel sınıflama vardır. Uluslar arası Hastalık Sınıflaması ve İlişkili Sağlık Sorunları (ICD-10) ile Zihinsel

Bozukluklara İlişkin Tanı ve İstatistik El Kitabı Dördüncü Baskı (DSM-IV) (5,56,57,62).

2.1.3.1. Şizofreni İçin DSM-IV Tanı Kriterleri

Amerika Birleşik Devletleri'nde günümüzde kullanımda olan şizofreni tanımı, özgünlüğü, güvenilirliği ve geçerliliği sağlayarak tanı kategorisine açıklık getirmek amacı ile sürdürülen yoğun gözlemsel testlerin ürünüdür. DSM-IV'e göre, beş pozitif ve negatif belirtiden en az ikisinin bulunması gereklidir. Bunlar sanrı, varsanı, dezorganize konuşma ve ileri derecede dezorganize veya katatonik davranışın oluşturduğu pozitif belirtilerdir. Bu pozitif belirtiler normal bireylerde görülenlerle uyumsuzluk gösterdiğinden psikotik olarak değerlendirilirler. Belirtilerin beşinci grubu ise; içe-çekilme, zevk alamama (anhedoni), azalmış enerji (anerji) ve duygulanımda sığılaşmadan oluşur. Bunlar, normal işlevlerdeki bir eksikliği simgelediklerinden ve tek başlarına psikotik olmadıklarından negatif belirtiler olarak tanımlanırlar. Ne pozitif, ne de negatif belirtiler, şizofreniye özgü değildirler. Bu belirtiler bipolar bozuklukta, ilaçların yol açtığı bazı durumlarda ve genel tıbbi durumlara bağlı çeşitli psikozlarda da izlenebilirler (5,57,62).

2.1.3.2. Şizofreni Tipleri

Şizofreni, sanrılar, varsanılar, dezorganize konuşma (örn, sık sık konu dışı sapmalar gösterme ya da enkoherans), ileri derecede dezorganize ya da katatonik davranış, negatif semptomlar, yani duygulanımda düzleşme konuşamamazlık veya istemsizlik gibi semptomlara ve karşılaşılan klinik tabloya göre; paranoid tip, ayırmamış (farklılaşmamış =diferansiye olmamış) tip, dezorganize (hebefreni) tip, rezidüel tip ve katatonik tip olarak 5 alt tipe ayrılır (Çizelge 2.1) (4,5,6,7,57).

2.1.3.2.1. Paranoid Şizofreni

Hastalığın en sık rastlanan biçimi olan paranoid şizofreninin başlıca özelliği, bilişsel işlevselliğin ve duygulanımın göreceli olarak korunduğu bir kapsamda, belirgin hezeyanların ya da işitme halüsinasyonlarının varlığıdır (59). Klasik olarak paranoid tip şizofreni çoğunlukla büyüklük sanrısının varlığı ile belirlenir. Bu hastalar, hastalığın ilk epizodunda genellikle katatonik ve dezorganize hastalara göre daha yaşlıdırlar. Tipik paranoid şizofren hastalar gergin, şüpheli, savunucu ve tedbirlidirler. Aynı zamanda, düşmanca veya saldırgan davranışlar sergilerler. Paranoid şizofren hastalar bazen sosyal ortamlara yeterince adapte olabilirler (5)

Çizelge 2.1 Şizofrenide alt tiplendirme (57).

Şizofreni Alt Tipi	Özellikler
Paranoid Şizofreni	Sanrılar veya işitsel varsanılar
Dezorganize Şizofreni	Dezorganize konuşma veya davranış Sığ veya uygunsuz duygulanım
Katatonik Şizofreni (En az iki belirti)	Motor hareketsizlik Aşırı motor aktivite Aşırı negativizm veya mutizm
Ayrışmamış Şizofreni	A Tanı Ölçütündeki belirtiler
Rezidüel Şizofreni	Negatif belirtiler veya A Tanı Ölçütü belirtilerinden 2 ya da daha fazlasının hafif biçimleri (örn. Acayip inançlar, olağandışı algılar)

2.1.3.2.2. Ayrışmamış Şizofreni

İkinci sıklıkta izlenen biçim ayrışmamış şizofrenidir. Bu tip şizofrenide herhangi bir tip sanrı ve varsanı baskındır, ayrıca enkoherans (dağınıklık, bilgileri toparlayamama) ile ileri derecede dezorganize davranış bu tabloya eşlik eder (57). Ancak, bu hastalar diğer tiplerden birisine tam olarak kolayca yerleştirilemezler (5).

2.1.3.2.3. Dezorganize Şizofreni

Dezorganize şizofreninin başlıca özellikleri, garip konuşma, acayip davranışlar, donuk ya da uygunsuz duygulanım durumudur (59). Hastalığın başlangıcı, genelde 25 yaş öncesi gibi erken yaşlardadır. Dezorganize hastalar genellikle amaçsız, dağınık bir biçimde aktiftirler. Düşünce bozuklukları belirgin ve gerçek ile ilişkileri zayıftır (5).

2.1.3.2.4. Rezidüel Şizofreni

DSM-IV'e göre rezidüel tip; aktif semptomların tamamının olmadığı veya diğer şizofreni tiplerini karşılayacak yeterli semptomun bulunmadığı durumda şizofrenik bozukluğun devamına dair kanıtların olmasıyla tanımlanır. Duygusal durgunluk, sosyal geri çekilme, garip davranış ve mantıksız düşünme sık görülür (5).

2.1.3.2.5. Katatonik Şizofreni

Katatonik şizofreni, şizofreni alttipleri arasında en nadir görülenidir. Temelinde motor bozukluk vardır. Günümüzde katatonik şizofreni önceki yıllarda görüldüğünden çok daha seyrek izlenmektedir (5,57).

2.1.4. Şizofrenide Kalıtım

Son çalışmalarda şizofreninin etiyojisinde kalıtımın rolü üzerinde durulmaktadır (57,56). Şizofren olan bireylerin birinci derece akrabalarında şizofreni olma sıklığı topluma oranla yaklaşık 10 kat daha fazladır. Şizofren hastaların akrabalarında yaşam boyu şizofreni gelişme olasılığı, akrabalık bağının yakınlığına bağlı olarak değişim gösterir (5,57).

Birinci derece akrabalar arasında yaşam boyu şizofreni gelişme olasılığı şu şekildedir; ebeveynlerinden biri şizofren olan bireyde %5.6, kardeşi şizofren olanda

%10.1, bir kardeşi ve ebeveynlerinden biri şizofren olanda %16.7, ebeveynlerinin her ikisi de şizofren olanda %46.3, ikinci ve üçüncü derece akrabalarındaki olasılıklar ise sırası ile %3.3 ve %2.4 düzeylerindedir. Evlatlık çalışmaları, şizofreni olan ebeveynlerinden uzakta yetiştirilen çocuklarda %9.4 yaşam boyu prevalans oranı belirlerken, bu oran kontrol grubunu oluşturan evlatlıklarda %1.2 düzeyinde kalmıştır. Evlatlık çalışmalarında, şizofreni olan kişilerin biyolojik akrabalarında şizofreni gelişme olasılığı artarken, evlatlığa kabul edilen ailenin akrabalarında böyle bir artış görülmemiştir. Şizofrenideki ikiz çalışmaları, tek yumurta ikizleri için %46, çift yumurta ikizleri için ise %14 uygunluk oranı saptanmıştır (57). Ancak önemli ölçüde diskordans hızının olması çevresel etkilerin de önemli olduğunu göstermektedir. Bu hastalığın spesifik kalıtsal ve biyolojik mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte şizofreni kalıtımının poligenik veya multifaktöryel olabileceği düşünülmektedir (4,6,59,60).

Son zamanlarda, etkili antipsikotik ilaçların moleküler mekanizmaları ve nöral gelişim ile ilgili yapılan çalışmalarda ilerlemeler, şizofreninin oluşumu ve ilerlemesinde, birkaç dopamin reseptörü, serotonin reseptörü ve nörotrofik faktör genlerinin rolü olduğunu göstermektedir (2,11,24,29).

2.1.5. Şizofrenide Dopamin Hipotezi

Dopaminerjik nörotransmisyon sistem, çeşitli psikotik hastalıklar ve kişilik özelliklerinin etiolojisinde etkili olmasından dolayı, dopamin ve dopamin reseptörlerinin birçok nöropsikiyatrik hastalıkla ilişkili olduğu ve dopamin reseptör genlerinin bu hastalıklar için aday genler olabileceği üzerinde durulmuştur (2,6,15,16,17).

Dopamin ile nöropsikiyatrik hastalıklar arasındaki ilişki, nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan, dopamini taklit eden ya da bloklayan antipsikotik ilaçların etkilerinin gözlenmesiyle ortaya konmuştur (2,11,13,24).

Şizofrenide dopamin yollarının aşırı aktif olduğu görüşü, “şizofrenide dopamin hipotezi” olarak 40 yıl önce formüle edilmiş (24,29) ve çok geniş farmakolojik çalışmalar yardımıyla, 2 önemli kanıtla desteklenmiştir (2,11,24,28,29,31). Şizofrenide

sürekli kullanılan antipsikotik ilaçların (nöroleptik ilaçların), in vivo ve in vitro ortamlarda dopamin reseptörlerini bloke etmesinin ve dopamin reseptör-güçlendirici ilaçların hastaların psikotik semptomlarını ilerletmesinin gözlenmesi bu görüş için birer kanıt teşkil etmektedir (2,11,24,28). Dopamin-taklit edici ilaçlar, şizofren hastaların semptomlarını arttırıcı etkilere sahipken bu ilaçlar normal kişilerde şizofreni benzeri psikozlara sebep olmaktadır. Bu kanıtlardan yola çıkarak, dopamin reseptör genlerinin şizofreninin gelişmesinde aday genler olabileceği kuvvetli bir ihtimal olarak görülmektedir (28,29,30,32,63,64). Şizofrenide artan dopaminerjik aktivite özellikle hastalığın patofizyolojisinden sorumludur. Bu artmış aktivite dezorganize davranış halisünasyon ve sanrılar içeren pozitif semptomlara neden olur. Şizofrenide dopamin hipotezi çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir (2,11,15,24,28,29,31,32).

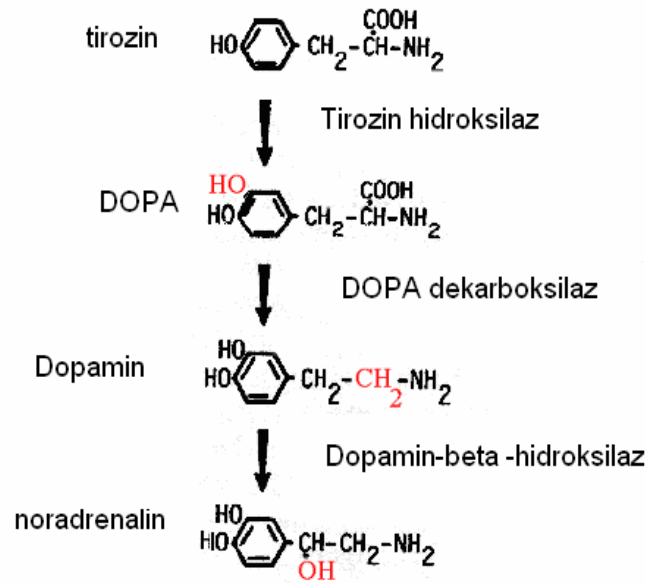
Dopamin hipotezine göre genetik çalışmaların çoğu D2 benzeri (D2,D3,D4) reseptörler üzerinde yoğunlaşmıştır (1,3,8,9,12,28,29,39,53,65). Ancak D1 benzeri reseptörlerin (D1 ve D5) de şizofreni patofizyolojisindeki rolü araştırılmaktadır (29,30,40,66).

2.2. Dopamin ve Dopamin Reseptörleri

2.2.1. Dopamin

Dopamin, tirozinden noradrenalin sentezi sırasında ara kademede oluşan bir ara ürün olup, aynı zamanda memeli santral sisteminde önemli bir nörotransmitterdir (18,67,68,69,70,71).

Dopaminin %80 kadarı, substantia nigra pigment hücrelerinde sentezlenir. Tirozin amino asidinden, dopamin sentezi birçok enzimatik reaksiyonu içerir. Sentezin kilit elementleri, tirozini, dopamin prekürsörü olan L-Dopa'ya dönüştüren tirozin hidroksilaz ve L- Dopa'yı dopamine dönüştüren aromatik amino asid karboksilazdır (Şekil 2.1) (30,72,73).

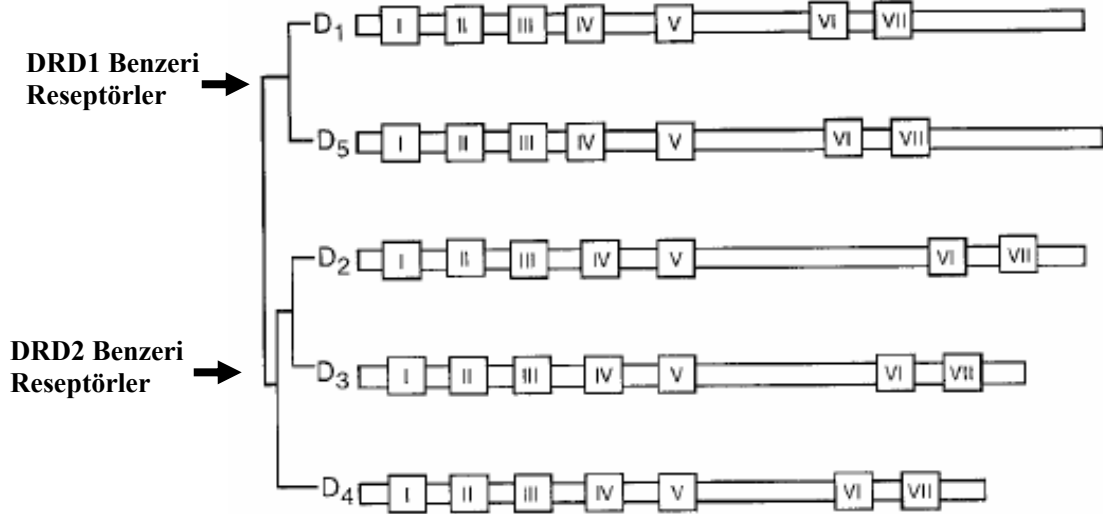


Şekil 2.1 Dopamin metabolizması (73).

Dopamin, nöral bağlantılardaki sinaptik veziküllerden salgılanır ve dopaminerjik nöronlar arasında bir nörotransmitter olarak hareket eder. Postsinaptik dopamin reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir (30,67,68,69,72,73). Santral sinir sisteminde (SSS) istemli hareketleri kontrol eder. Ayrıca beyinde duyuusal yanıtlar ve hafıza ile ilişkili limbik sistemi etkileyen yollarda da bulunur (18,73).

2.2.2. Dopamin Reseptörleri

Dopamin reseptörleri, post sinaptik ve presinaptik terminallerde bulunurlar. Dopamin aktivasyonuna aracılık ederler (30,67,72,73). İnsan genomunda, dopamin reseptörü D1 (DRD1), dopamin reseptörü D2 (DRD2), dopamin reseptörü D3 (DRD3), dopamin reseptörü D4 (DRD4) ve dopamin reseptörü D5 (DRD5) olmak üzere beş farklı dopamin reseptör geni tanımlanmıştır (Şekil 2.2). Bunlar yapılarına ve farmakolojik özelliklerine göre dopamin reseptörü D1 benzeri reseptörler (DRD1 ve DRD5) ve dopamin reseptörü D2 benzeri reseptörler (DRD2, DRD3 ve DRD4) olarak sınıflandırılmaktadırlar (36,38,45,46,53,54,63,74). Dopaminerjik sistemde, dopamine özgü ilk önce iki reseptör bulunmuş (DRD1 ve DRD2), daha sonra moleküler biyolojik tekniklerin gelişmesiyle 3 yeni dopamin reseptörü (DRD3, DRD4, DRD5) daha tanımlanmıştır (30,32,63).

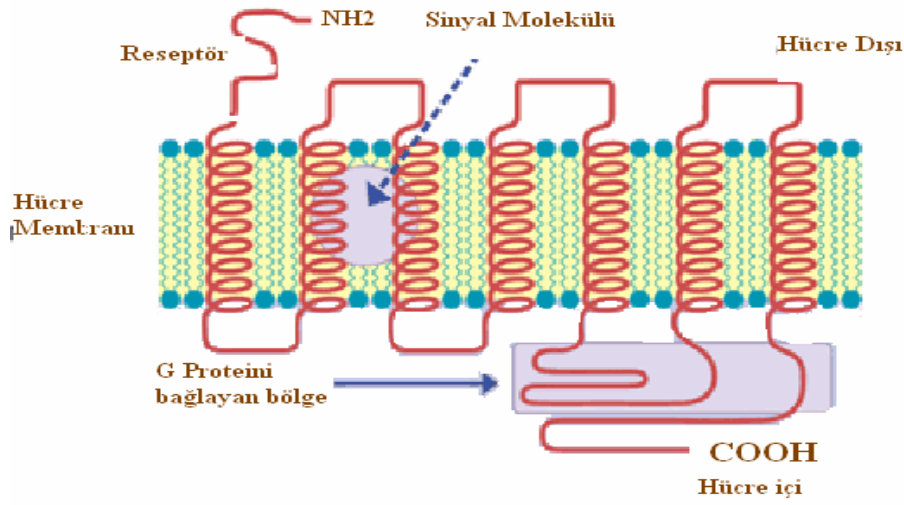


Şekil 2.2: Dopamin reseptörleri (74)

DRD1 benzeri reseptörler; DRD1 ve DRD5'i içerirken, DRD2 benzeri reseptörler; DRD2, DRD3 ve DRD4'ü içerir. Bu reseptörler etkilerini farklı mekanizmalarla gösterirler (19,29,65,67).

Dopamin reseptörlerinden DRD1 ve DRD5 adenil siklaz üzerinde uyarıcı etkilere sahiptir. DRD2, DRD3 ve DRD4 ise adenil siklaz aktivitesi üzerinde ya etkisizdir yada inhibe edici bir rolü vardır. Bu 5 farklı dopamin reseptör alt tipleri, dopamin aktivasyonuna aracılık ederler (19,65).

Dopamin reseptörlerinin yapısı, G-proteini bağlayan reseptörlere benzer. Yedi transmembran bölge ve üç intrasellüler bölge bulundurlar. G-proteini üçüncü intrasellüler bölgeye bağlanır (Şekil 2.3) (75).



Şekil 2.3 : Dopamin reseptörlerinin yapısı (75).

Dopamin reseptörlerinden DRD1 ve DRD5 reseptörleri, transmembran bölgeleri bakımından birbirlerine %79 oranında benzerlik gösterirken, DRD2, DRD3, DRD4 reseptörlerine sadece %40-45 oranında benzerlik gösterirler. DRD2, DRD3, DRD4 reseptörleri ise, birbirlerine % 75 ve %51 oranında benzerlik gösterir (30,32,63).

Son yıllarda, bazı dopamin reseptör alt tip (DRD3, DRD4, DRD5) mRNA'larının insan periferel kan lenfositlerinde (PBL) varlığı ve dopaminerjik ligandların bunlara yüksek affinite ile bağlandığı rapor edilmiştir (14,23,50). Ancak, periferel kan lenfositlerinde DRD1 ve DRD2 alt sınıflarına ait olan ve beyinde daha bol bulunan DRD1 ve DRD2 dopamin reseptör alt tiplerine rastlanmamıştır. Lenfositlerdeki dopamin reseptör mRNA ekspresyon düzeylerinin, diğer nörotransmitter reseptörleri gibi, beyindeki dopamin reseptör mRNA ekspresyon düzeylerini yansıttığı ileri

sürülmektedir. Birçok çalışma, sağlıklı kontrol bireyleriyle karşılaştırıldığında şizofreni hastalarının lenfositlerinde dopamin antagonistlerinin bağlanmalarının arttığını göstermiştir (23,24,33).

2.2.2.1. D1 Benzeri Dopamin Reseptörleri

DRD1 benzeri dopamin reseptörleri; benzer yapıya sahiptirler. Adenil siklaz üzerinde uyarıcı etkiye sahiptirler ve cAMP üretimini arttırmaları (1,19,29,65,76). Bu reseptörleri kodlayan genlerde ya hiç intron bulunmaz ya da çok küçük intronlar bulunur (77).

DRD1 ve DRD5, benzer yapı ve farmakolojik özelliklerine göre D1 benzeri reseptörler sınıfına girerler (1).

2.2.2.1.1. Dopamin D1 Reseptörleri (DRD1)

Kromozom 5q35.1'e lokalize olan DRD1 geni 5' UTR'de (untranslated region) 116 bp lik küçük bir intron içermektedir (78). DRD1 gen ürünü 446 aa'lık DRD1 proteindir. DRD1 reseptörü santral sinir sisteminde en çok bulunan dopamin reseptörüdür (40,77).

DRD1 reseptörünün transmembran yapısı, G-proteini bağlayan reseptörlere benzer bir şekilde 7 transmembran segmentine sahiptir (77,78).

DRD1 reseptörleri, serebral korteks, hipotalamus ve talamusu takiben bazal gangliada çok yüksek derecede eksprese olurlar. Substantia nigra, karaciğer, böbrek ve kalpte ya çok az bulunur ya da hiç bulunmaz (29,77,78).

DRD1 reseptörü, fosfolipazın adenil siklazı stimule ederek diaçilgliserol ve inozitol 1,4,5- trifosfat (IP3) oluşturması ile karakterizedir. Dopamin, D1 reseptörüne bağlandığı zaman, adenil siklaz enzimini aktive eder, adenil siklaz da siklik AMP'de (cAMP) ATP'nin dönüşümünü katalizler. cAMP, post sinaptik membran geçirgenliğini değiştiren kimyasal reaksiyonları başlatır. cAMP ürününün ölçümü, D1 reseptör bölgelerindeki dopamin aktivitesinin göstergesidir (73).

Memelilerde DRD1A ve DRD1B olmak üzere iki tane D1 benzeri reseptör geni klonlanmıştır. Bunların her ikisi de böbrekte eksprese edilmesine rağmen DRD1A renal proksimal tübüllerde DRD1B'den fazla bulunur (77).

2.2.2.1.2. Dopamin D5 Reseptörleri (DRD5)

Kromozom 4p16.1-p15.3'e lokalize olan DRD5 geni 475 aa'lık bir DRD5 reseptör proteinini kodlar. (66,79,80).

DRD5 yapısal ve fonksiyonel olarak DRD1'e benzer fakat gen uzunluğu 179 veya 155 bp'lik değişken küçük bir intronla ayrılan iki ekson içerir (29,79).

DRD5, 7 transmembran segmentten oluşur ve DRD1 ile %50 homoloji gösterir. G1 proteini bağlayan reseptörlerin yapısına benzeyen DRD5, dopaminerjik ligandları bağlar. DRD1'in farmakolojik özelliklerine benzer bir şekilde adenil siklazın stimülasyonuna aracılık eder (29,79).

DRD5 nörona spesifiktir ve beynin limbik bölgesinde lokalize olmuştur. mRNA'sı, hipokampus ve talamusun parafasküler nükleusu ile sınırlıdır ve buralarda yüksek düzeylerde bulunmuştur (79). Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar, periferik kan lenfositlerinde de bulunduğunu göstermiştir (29,30,66,79).

Moleküler çalışmalarda; D5 reseptör genomik dizisiyle homoloji gösteren 154 aa büyüklüğünde 2 tane D5 benzeri pseudogen tanımlanmıştır. Bu pseudogenlerden biri fonksiyonel gen ile %94 homoloji gösterip fonksiyonel gende oluşan duplikasyonlarla oluşmuştur. Diğer ise fonksiyonel gen ile %98 homoloji gösterip insersiyon ya da delesyonla oluşmuştur. Bu pseudogenlerin kodlayıcı bölgeleri, 2 stop kodon ve 3 çerçeve kayması (frame shift) olmak üzere 5 benzer defekt içerir (30,79).

2.2.2.2. D2 Benzeri Dopamin Reseptörleri

Psikiyatrik hastalıkların genetik temeline bakılırken, DRD2 geni esas alındığından dolayı, dopamin reseptörleri arasında DRD2 geni en çok çalışılan ve araştırılan genidir. Klonlanan ilk dopamin reseptörü olduğundan DRD2'ye yapısal ve

fonksiyonel olarak benzeyen DRD3 ve DRD4 reseptörleri, DRD2 benzeri reseptörler olarak sınıflandırılmıştır (1,29).

DRD2 benzeri dopamin reseptörleri, bazal gangliyonlarda ara bağlantılardaki sinirlerde bulunan majör reseptörlerdir. Adenil siklaz aktivitesinde etkisiz veya inhibe edici rolleri vardır (1,29).

D2 reseptörleri, şizofreni hastalarında yararlı etkileri olan antipsikotik ilaçların biyolojik reseptörleridir. Antipsikotik ilaçlara karşı yüksek afiniteye sahiptirler (12,18,29,65).

2.2.2.2.1. Dopamin D2 Reseptörleri (DRD2)

Kromozom 11q22-q23.2'ye lokalize olan DRD2 geninin ürünü olan 415 aa'lık DRD2 reseptörü, ilk olarak 1988 yılında ratlardan klonlandı. 1989 yılında cDNA'dan insan geni klonlandı. Elde edilen protein dizisi rat reseptör proteini ile %96 oranında benzerdir (65,81,82).

Diğer G-protein bağlayan reseptörler gibi D2 gen ürünü, 7 transmembran segmentine sahiptir. D1 benzeri reseptör genlerinden farklı olarak, D2 reseptör genleri mRNA transkripsiyonu esnasında kesilip atılan 7 intron içerir (81).

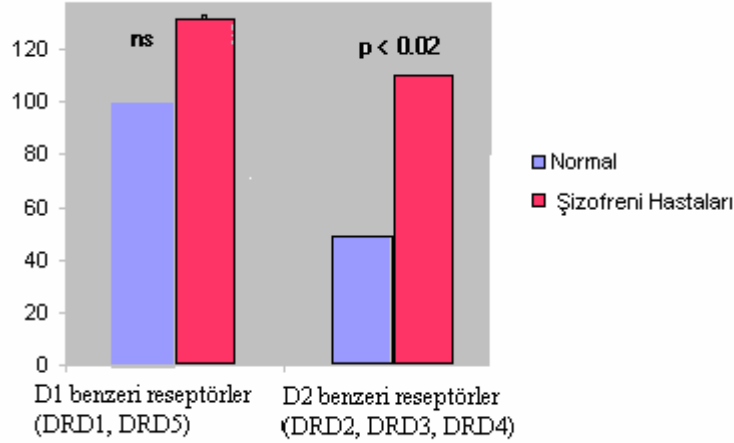
D2 reseptörleri nükleus akkumbens septi, ventral tegmental bölge ve bazal gangliada yüksek derecede eksprese edilir (81).

Dopamin D2 reseptörü (DRD2), şizofreninin tedavisinde kullanılan klorpromazin ve sulpirit gibi nöroleptik ajanların etki gösterdiği majör bölgedir. Bu ilaçların antipsikotik etkileri, dopamin reseptörlerinin bloklayabilme yetenekleriyle ilişkilidir (9,12).

Şizofren kişilerin ölüm sonrası yapılan beyin araştırmalarında, D2 reseptör yoğunluğunun artmış olduğu görülmüştür. Şizofrenik doku otopsilerinde antipsikotik tedaviye bağlı olarak D2 reseptör artışı %100'den fazla iken, Alzheimer ve Huntington hastalığı olan vakalarda ise bu reseptörlerin artışı sadece %30-40'dan fazla bulunmuştur (3).

Şizofren kişilerin postmortem beyinlerinde D2 ve D2 benzeri reseptörlerin yoğunluğunun, kontroller ile karşılaştırıldığında artmış olduğu rapor edilmiştir

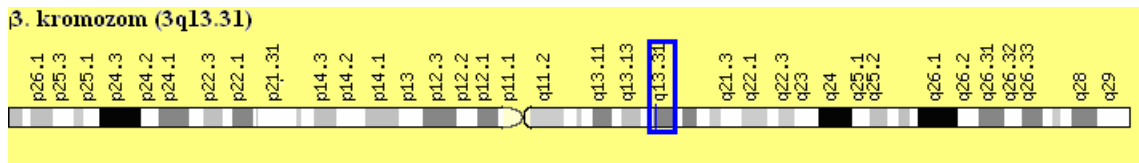
(Şekil 2.4). Şizofreninin DRD2'yi içerdiği ve bununla ilişkili olabileceğine dair genetik kanıtlar da vardır (12,72,73). D2 reseptörlerinin, ölü şizofreni hastalarının beyinlerinde kontrollere göre önemli derece artmış olduğu belirlenmiştir. D1 reseptörleri karşılaştırıldığında ise önemli bir farklılık bulunamamıştır (72).



Şekil 2.4: Şizofreni hastaları ile normal bireylerin beyinlerinde dopamin reseptörlerinin karşılaştırılması (73)

2.2.2.2.2. Dopamin D3 reseptörleri; DRD3

Kromozom 3q13.3'e lokalize olan DRD3 geni, 5 intron ve 5 ekson içerir (Şekil 2.5). İkinci intron, DRD2'deki introna karşılıktır. DRD3 geni, 446 aa'lık DRD3 reseptör proteinini kodlar (33,34,35,36,37,38,43).

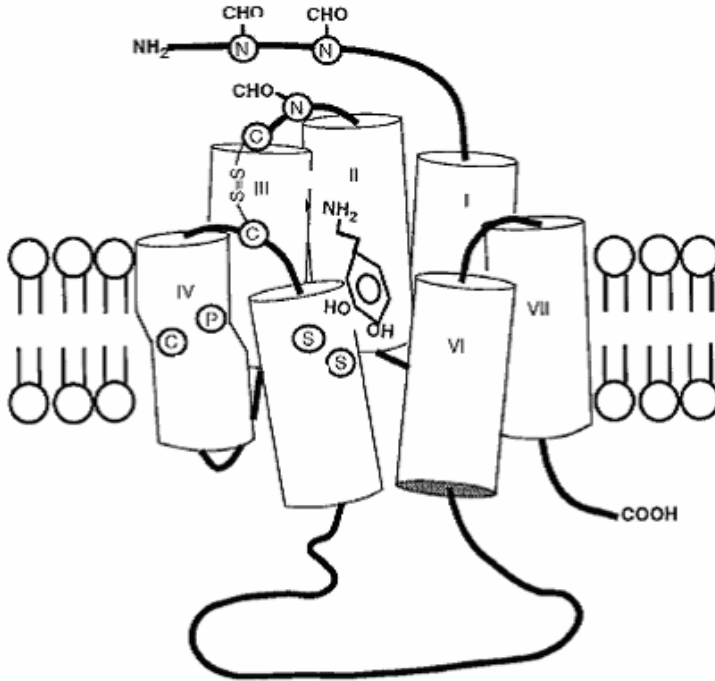


Şekil 2.5. DRD3 geninin kromozom3q13.3'teki lokalizasyonu (43)

DRD3 mRNA'sının alternatif kesiminden (splicing) dolayı iki farklı protein sentezlenmektedir (33).

DRD3 reseptörü, DRD2 benzeri alt sınıfı reseptörlerinden biri olup, D2 reseptörlerine yapısal ve farmakolojik benzerlik gösterir. D3 reseptörü D2 reseptörleri gibi yedi transmembran bölge içerir (Şekil 2.6) ve adenilsiklazı inhibe eder (18,33,53). Bununla birlikte, D1 ve D2 reseptörlerinden farklı olarak hem presinaptik (otoreseptör) hem de postsinaptik reseptör olarak görev yapar (13,33,52,74).

DRD3, beynin kavramaya yönelik, duyuşal ve endokrin fonksiyonlarla ilişkili limbik bölgesine lokalize olmuş ve burada diğer dopamin reseptörlerine göre daha fazla miktarda bulunmaktadır. Bu reseptörler, temel olarak kalleja adaları, nukleus accumbens septi ve olfaktor tüberkülü içeren subkortikal limbik bölgelerde eksprese edilir. Bazal gangliada DRD3 mRNA'sının dağılımı ve DRD3 gen ekspresyon düzeyi düşüktür (28,33,34,39,52,64). Bu nedenle, DRD3, şizofreni patogeneğinde aday bir gen olarak düşünölmektedir (28,34). Klinikte kullanılan antipsikotik ilaçların çoğu ile atipik ve disinhibitör nöroleptik ilaçların bazıları, DRD3'e karşı yüksek affiniteye sahiptir (34). D3 reseptörünün Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlara ve antipsikotik ilaçların bazılarına aracılık ettiği gösterilmiştir (33).



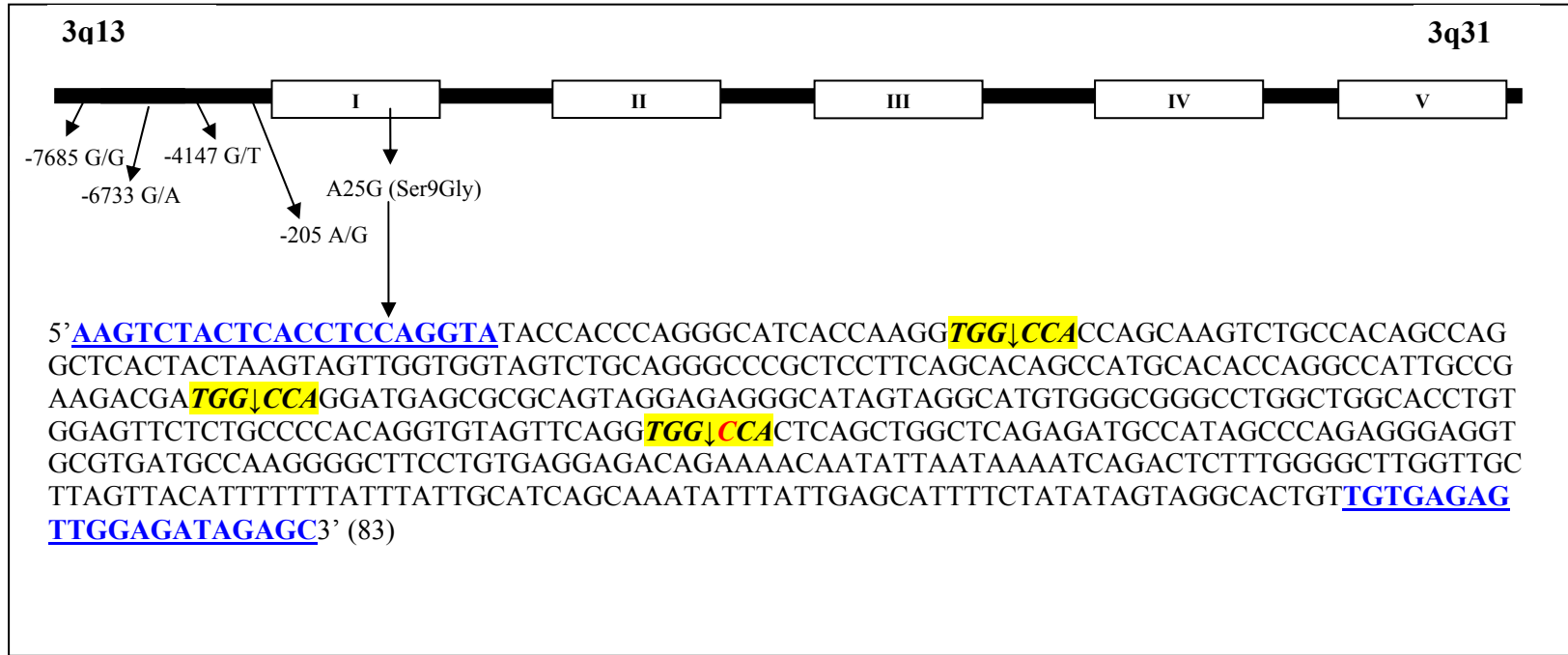
Şekil 2.6. D3 dopamin reseptörünün hücre membranı üzerinde yerleşiminin şematik görünümü (74).

Ilani ve ark (23) 2001' de yaptıkları çalışmada, şizofreni ve lenfositlerdeki D3 reseptör mRNA düzeyleri arasında bir korelasyon gösterilmişlerdir. Burada şizofreni hastalarında DRD3'ün mRNA düzeylerinde kontrol grubuna göre en az 2 kat kadar önemli bir artış olduğu gösterilmiştir. Fakat şizofreni hastalarında DRD4 mRNA düzeylerinde böyle bir artış gözlenmemiştir. Bu artışın antipsikotik ilaç tedavileri ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (23,33). Ilani ve ark (23) kan lenfositlerindeki D3 reseptör artışının şizofreninin seyrinde bir marker olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (33).

DRD3 polimorfik bir gen olup, DRD3 ürününün ekstrasellüler bölgesinde serinin glisine dönüşümü belirlenmiştir. DRD3 reseptör geninin 1. eksonunun, 25. pozisyondaki, A/G nin tek nükleotid polimorfizmi (SNP) en yaygın olan varyantıdır (Şekil 2.7). Bu değişim, reseptörün N-terminal ekstrasellüler bölgenin 9. amino asidinde serin yerine glisin değişimi ile sonuçlanır. Bu durum Bal I endonükleaz restriksiyon enzim bölgesi oluştururken, 9. rezidüde serin yerine glisin amino asidini kodlar (28,34,37,39,44,52,83,84,85). Yapılan çalışmalarda, şizofreni ile bu polimorfizmin homozigot alel sıklığı arasında önemli bir ilişki saptanmıştır (33,36,39,45,46,54,86,87,88).

DRD3 geninin, Ser9Gly polimorfizminden başka tanımlanmış diğer polimorfizmleri; -205 A/G, -7685 G/G, -6733 G/A, -4147 G/T ve -2249 G/A daha nadir görülmektedir (Şekil 2.7) (54,83).

DRD3 geni, 3q13-31' e lokalize olmuştur.



Şekil 2.7. DRD3 geni lokalizasyonu ve yapısında tespit edilen polimorfizmler gösterilmiştir. Altı çizili olan diziler DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmine özgü primerleri belirtmektedir. Dizi içinde sarı renkli diziler Mls I (Bal I, Msc I) endonükleaz enziminin tanıma bölgeleri, okla işaretli yerler kesim yerleridir.

2.2.2.2.3. Dopamin D4 Reseptörleri; DRD4

Kromozom 11p15.5'e lokalize olan DRD4 geni, D4 proteinini kodlar (41,89). Bu gen ürünü insan beyninin hippokampus ve frontal serebral korteksi içeren non-ekstrapiramidal bölgelerinde sentezlenmektedir. DRD4, kavrama ve duygu bölgelerinin de içinde olduğu limbik bölgelerde eksprese edilmektedir (41,90).

D2 ve D3'e sırasıyla, %41 ve %39 oranında benzerlik gösterirken kendi aralarında %56 oranında homoloji gösterirler (90).

D2 reseptörleri gibi D4 reseptörlerinin stimülasyonu adenil siklaz aktivitesini inhibe eder ve beyin nöronlarında araşidonik asit salınımını aktive eder. Farmakolojik olarak antipsikotik olan klozapin'e karşı, diğer dopamin reseptörlerinden 10 kat daha yüksek affiniteye sahiptir (64,88,90).

İnsan D4 reseptörlerinde 48 bp'lik 2 ila 11 tekrar içeren birkaç genomik polimorfik varyantın olduğu bilinmektedir. 2, 4, 7, tekrarlarından (D4,2, D4,4 ve D4,7) en yaygın olanı D4,4 alelidir (64,90,91,92).

Son zamanlarda, DRD4 geni şizofreni için potansiyel bir aday gen olarak dikkat çekmiştir (64,90,91,92).

2.3. Dopamin ve Dopamin Reseptörlerinin Nöropsikiyatrik Hastalıklarla İlişkisi

Şizofreni semptomlarının, beyinde artan dopamin aktivitesiyle ilişkili olduğu varsayılmakta ve dopamin reseptörlerinin şizofrenide majör etiyolojik rol oynadığı düşünülmektedir (1,11,24). Dopamin iletimi ve dopamin reseptörlerindeki değişikliklerin şizofreni ve Parkinson gibi belirli nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir rolü olduğu öne sürülmüştür (1,24,28,29).

Dopaminerjik nörotransmisyon sistemi, çeşitli psikotik hastalıklar ve kişilik özelliklerinin etiyolojisinde bulunmalarından dolayı dikkat çekicidir. Bu nedenle dopamin reseptör genleri, şizofreni için aday genler olabilir (2,6,28).

Şizofreni ile ilgili moleküler genetik çalışmalar, özellikle D2 benzeri (DRD2, DRD3 ve DRD4) reseptör genleri olmak üzere dopaminerjik sistem üzerinde yoğunlaşmaktadır. Şizofreninin dopamin hiperaktivitesiyle ilişkili olduğu öne sürülürken, Parkinson hastalığının, dopamin kaybıyla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (65).

Şizofreniye genetik bir eğilimin olduğu gösterilmesine rağmen şizofreninin kalıtımı henüz tam olarak bilinmemektedir. Nöroleptiklerin etki mekanizmalarına dayanarak, dopamin nörotransmisyonundaki değişimlerin şizofreni patogenezinde etkili olduğu açıklanmıştır (35). Şizofrenide ve antipsikotik tedavide dopamin reseptörlerin anahtar rolünün belirlenmesi 40 yıl öncesine dayanır. Ancak, şizofreninin temelinde dopaminerjik sistemin aşırı aktivitesinin yattığını ileri süren dopamin hipotezi halen kesin olarak kanıtlanamamıştır (29).

DRD3 reseptörü, özellikle duyuusal kontrol ve motivasyonla ilişkili beyin bölgelerinde ekprese edilir ve antipsikotik ilaçların çoğuna yüksek affinitesi vardır. Post mortem çalışmalar, ilaç almayan ve daha önce antipsikotik tedavi görmemiş hastaların ventral striatumlarında DRD3 bağlanma düzeylerinde artış olduğunu göstermiştir. DRD3'ün gösterilen tüm bu özellikleri, DRD3 geninin şizofreniye eğilimde bir aday gen olduğunu göstermiştir (37). Şizofrenide dopamin hipotezi için birçok çalışma yapılmıştır. Özellikle dopamin D3 reseptör geninin, nöroleptik ilaçların D3 reseptörüne olan yüksek affinitesinden dolayı hastalığa eğilimi artırdığı ve şizofreni oluşumu için bir aday gen olduğu düşünülmektedir (44).

Şizofreninin patogenezinde genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Dopamin hipotezine göre genetik çalışmaların çoğu D2 benzeri (D2,D3, D4) reseptörler üzerinde yoğunlaşmıştır ancak D1 benzeri reseptörlerin (D1 ve D5) de şizofreni patofizyolojisindeki rolü araştırılmaktadır (40).

2.3.1. Şizofrenide Dopaminin Periferal Marker Hipotezi

Bazı nörotransmitter ve nöropeptidler gibi, DRD3, DRD4, DRD5 dopamin reseptör alt tiplerinin mRNA'larının PBL'de eksprese olduğu, ancak D1 ve D2 alt sınıflarına ait olan ve beyinde daha bol bulunan DRD1 ve DRD2 dopamin reseptör alt tiplerinin mRNA'larının periferal kan lenfositlerinde eksprese olmadığı gözlenmiştir. PBL'deki nörotransmitter ve nöropeptid reseptör mRNA düzeylerinin, beyindeki mRNA düzeylerini yansıttığı ileri sürülmektedir (14,23,24,31,47,48,49,50,51,57). Bu ilişki henüz tam olarak kanıtlanamamıştır. Fakat, beyindeki reseptör değişikliklerini içerdiğine inanılan nöropsikiyatrik hastalıklarda, PBL'lerindeki değişmiş nörotransmitter reseptör ekspresyonunun artması, bu fikri desteklemiştir (49,51).

Parkinson hastalığı ve Alzheimerde, PBL'de DRD3 mRNA ekspresyonunda azalma gözlenirken şizofrenide artış gözlenmiş ve bu durum ile prognoz arasında bir ilişki gösterilmiştir (23,31,49,50,51).

Birçok çalışmada, sağlıklı kontrol bireyleriyle karşılaştırıldığında, şizofreniklerin lenfositlerinde, dopamin antagonistlerinin bağlanmalarının arttığı gösterilmiştir (23,24,47).

Ilani ve ark'nın (23) şizofreni ile lenfositlerdeki D3 reseptörü mRNA düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, periferal kan lenfositlerindeki dopamin D3 reseptör mRNA düzeyi artışının şizofreninin seyrinde bir marker olarak kullanılabileceği önerilmişlerdir.

Düşük konsantrasyonlardaki dopaminin lenfosit aktivitesini arttırdığı, yüksek konsantrasyonlarda ise aktiviteyi baskıladığı rapor edilmiştir. Fakat dopaminin spesifik immünolojik fonksiyonları tam olarak belirlenememiştir (49).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Toplanması

Bu çalışmada, Adana Ruh Sağlığı Hastalıkları Hastanesi Psikiyatri Polikliniğine başvuran, DSM-IV kriterlerine göre şizofreni tanısı konmuş 12'si kadın, 43'ü erkek olmak üzere toplam 55 hasta ile gerekli bilgilendirme yapıp onay alındıktan sonra, hasta grubu oluşturuldu. Ayrıca, kontrol grubu oluşturmak amacıyla, kendisinde veya ailesinde herhangi bir nöropsikiyatrik hastalığı olmayan 25'i kadın, 26'sı erkek toplam 51 sağlıklı birey, gerekli bilgilendirme ve onay alındıktan sonra çalışma grubuna dahil edildi. Yaş ortalaması kontrol grubunda 32.04 ± 6.841 iken hasta grubunda 32.78 ± 7.7 olarak belirlendi.

Çalışmamızın çalışma grupları oluşturulmadan önce, Mersin Üniversitesi Etik Kurulu'nun 14.01.2005 tarih ve 01/06 no'lu etik kurulu kararıyla onay alınmıştır.

Hastalardan ve kontrol grubundaki bireylerden DNA ve RNA izolasyonu için 7-8 ml venöz kan alınarak 1 ml % 2'lik etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konuldu. Bu kanlardan tuz çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu (93), Asid Guanidinyum- Fenol-Kloroform (AGPC) yöntemi ile de RNA izolasyonu yapıldı (94).

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Aletler ve Cihazlar

- Termal Cycler (Techne Flexigene, Cambridge, UK)
- Elektroforez tankı (EC Midicell EC 350, 10x20cm)
- Elektroforez Güç Kaynağı (EC 135-90)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France)
- Manyetik karıştırıcı (Nüve MK 418)
- Mikrodalga Fırın (Alaska)
- Hassas terazi (AND GR-200)

- Mikrosantrifüj (Hermle, Z160M)
- Vorteks (VELP)
- Santrifüj (Nüve NF 800)
- Mikropipet Seti (Eppendorf)
- Derin Dondurucu (Arçelik-2031 D)
- Etüv (Nüve EN-500)
- Otoklav (Nüve OT 4060 V)
- Buzdolabı (Arçelik 8188 NF)

3.2.2. Kimyasal Maddeler

- β -merkaptetanol (Sigma M3148)
- 100 bp DNA ladder GeneRuler marker (MBI, # SM 0241)
- 100 bp-1.500 kb DNA ladder GeneRuler marker (BIO BASIC INC # MSM 34)
- 10X PCR Buffer with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (MBI Fermentas #B33)
- 2 mM dNTP Mix (MBI Fermentas, #R0241)
- 25 mM MgCl_2 (MBI Fermentas)
- 5M Sodyum Perklorat (Sigma S-3546)
- Agaroz Plus (Prona agarose plus, E.U)
- Borik Asit (Carlo Erba 302177)
- Distile Su (Sigma W-3500)
- Dietilpirokarbonat (DEPC) (Serva 18835)
- Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- Etidyum Bromid (Sigma E-1510)
- Etilendiamin-tetraasetik asit (EDTA) (Sigma 3341160)
- Fenol (Sigma 1537)
- Fenol/kloroform/izoamil alkol (25:24:1) (Amresco K169)
- Gliserol (Merck 4091)
- Guanidyum tiyosiyanat (Amresco 0380)
- İzoamil alkol (Sigma I 9392)

- Kloroform (Amresco 0757)
- Kloroform/izoamil alkol (24:1) (Amresco 0757)
- Na₂EDTA (Sigma E-5134)
- Orange G (Sigma O-3756)
- Primerler
- Proteinaz-K (Sigma P-2308)
- Revers transkriptaz (M-MLV) (Fermentas EP0352)
- RNA İzolasyon Kit (50 örneklik)(EZ-RNA 20-400-100)
- RNase inhibitör (Fermentas E00381)
- Sezyum klorid (CsCl) (Amresco 0887)
- Sodyum Dodazil Sülfat,(SDS) (Sigma L-5750)
- Sodyum Klorür (Riedel-de Haen)
- Sodyum laurilsarkozin (Amresco 0719)
- Sodyum Perklorat (Sigma S-3546)
- Sodyum sitrat (Sigma S-4641)
- Taq DNA Polimeraz (MBI Fermentas, EP0402)
- Tris-Hidroklorid (Sigma T-7149)
- Trizma Base (Sigma T-6066)

3.2.3. Çözeltiler

1. Nuklei Lizis Tamponu

Tris-HCl.....1.576 gr

NaCl.....23.4 gr

Na₂EDTA.....0.7 gr

1 lt distile suya tamamlanıp çözdükten sonra, otoklavda sterillendi ve +4 °C'de saklandı.

2. 10 mg/ml Proteinaz K Çözeltisi

100 mg Proteinaz K, 10 ml steril distile su ile çözülerek hazırlandı ve -20 °C'de saklandı.

3. 5M Sodyum Perklorat Solüsyonu

61.2 gr sodyum perklorat (NaClO_4) 1 lt'ye distile suyla tamamlanıp, çözdükten sonra otoklavda sterilendi ve + 4 °C'de saklandı.

4. % 10 SDS Solüsyonu

10 gr SDS 100 ml distile suda çözüldü.

5. 6 M NaCl Solüsyonu

35,5 gr NaCl 100 ml distile suda çözüldü.

6. TE (Tris-HCl) Tamponu

Tris-HCl.....0.394 gr

Na_2EDTA0.093 gr

250 ml distile suya tamamlanıp çözdükten sonra, otoklavda steril edildi ve + 4 °C'de saklandı.

7. 10XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu

Trizma Base.....108 gr

Borik asit54.8 gr

EDTA.....5.44 gr

Distile su ile 1lt'ye tamamlanarak çözüldü.

8. Orange G çözültisi

Na_2EDTA2,232 gr

Orange G.....200 mg

60 ml Gliserol ve 40 ml distile sudan oluşan solüsyon içerisinde çözüldü.

9. Elektroforez Yürütme Tamponu

10X TBE tamponundan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1X TBE içerisinde 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde etidyum bromid (EtBr) konularak hazırlandı.

10. % 3'lük Agaroz Jel Solüsyonu

140 ml 1X TBE tamponu içerisinde 4.2 gr agaroz (Agarose plus) mikrodalga fırında eritildikten sonra 0.5 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde EtBr eklenerek hazırlandı.

11. Dietilpirokarbonat (DEPC) H₂O

1000 ml deiyonize su içine 2 damla DEPC konup iyice çalkalandı.

Bir gece oda ısısında bırakıldı.

60 °C'de 2 saat kapağı hafifçe gevşetilerek tutulur ve ardından otoklavlandı.

+4 °C'de saklanır. Bu ısıda 1 yıl stabildir.

12. 0.75 M Sodyum Sitrat

Sodyum sitrat 5.5 H₂O 15.78 g

DEPC H₂O ile 100 ml' ye tamamlandı (pH 7.0)

Otoklavlayarak sterilize edildi.

Oda ısısında 6 ay stabildir

13. %10 Sarkozil

Sarkozil 1 g

DEPC H₂O 10 ml

Oda ısısında en az 3 ay stabildir

14. 4M Guanidinyum Tiyosiyanat (GSCN) 4M

Guanidinyum tiyosiyanat 25 g (4M)

0.75 M sodyum sitrat 5 ml (75 mM)

%10 Sarkozil 2.5 ml

DEPC H₂O 50 ml'ye tamamla

Bu karışım oda ısısında 3 ay stabildir

15. Denatürasyon Çözeltisi (Solusyon D)

GSCN 4M çözeltisi 9.9 ml

2-merkaptoetanol(14 M) 0.1 ml

Bu karışım oda ısısında 1 ay stabildir

3.3. Yöntemler

3.3.1. RNA izolasyonu

RNA izolasyonu, Asid Guanidinyum- Fenol-Kloroform (AGPC) yöntemi ile yapıldı (94):

1. İçinde EDTA'lı 6 ml kan bulunan 15 ml'lik santrifüj tüpü üzerine soğuk steril distile su ilave edilerek yaklaşık 13 ml'ye tamamlandı.
2. Karışım 2-3 dk hızlı olarak aşağı yukarı karıştırıldı.
3. 10 dk 2000 rpm'de oda ısısında santrifüj edildi.
4. Supernatant atıldıktan sonra peletin üzerine soğuk steril distile su ilave edilerek yaklaşık 13 ml'ye tamamlandı.
5. 10 dk 2000 rpm de santrifüj edilir ve süpernatant atıldı.
6. Bu işlem yaklaşık 4-5 kez tekrarlandı.
7. Oluşan peletin 200µl'si RNA izolasyonu için 1,5 ml'lik ependorf tüpe ayrılarak 500µl serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) ile sulandırıldı.
8. 1.5 ml'lik steril ependorf tüplere, 500µl denatürasyon solüsyonu bırakıldı. Üzerine serum fizyolojik ile sulandırılmış lenfosit peletinden 200µl ilave edip birkaç saniye vortekslenerek buz içinde 15 dk bekletildi.
9. Karışımların üzerine 700 µl fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1) ekleyip buz içinde 15 dk daha bekletildi.
10. Tüpler 4 dk 10 000 rpm'de santrifüj edildi.
11. Üst faz alınıp yeni bir 1.5 ml lik steril ependorf tüplere aktarıldı.
12. Yeni tüplere 700 µl kloroform-izoamil alkol (24:1) ekleyip 2 dk 10.000 rpm'de santrifüj edildi.
13. Üst sıvı fazı yeni bir 1.5 ml lik steril ependorf tüpe aktarılıp, alınan bu üst faza 1 ml absolü etanol eklendi ve -20 °C'de bir gece bırakıldı.
14. Tüpler -20 °C'den alınıp 15 dk 12.500 rpm'de santrifüj edildi.
15. Tüplerdeki etanol dökülüp 500µl %70'lik etanol eklendi ve birkaç saniye vortekslendikten sonra 5 dk 12.500 rpm'de santrifüj edildi.
16. Süpernatantı dökülüp tüplerin dibinde kalan etanol pipetle uzaklaştırıldı.

17. Tüplerin ağzı açık olarak en az 10 dk bekletilip pelet üzerine, 50 µl DEPC-distile su eklendi.

18. RNA'nın çözülmesi için 70 °C'de 1 saat bekletildi.

3.3.2. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu, tuz çöktürme yöntemine göre yapıldı. Yöntem, lökositlerde bulunan DNA dışındaki tüm yapıların bozularak parçalanması, yoğun bir tuz çözeltisi ile çöktürülmesi ve üstte kalan sıvı kısımda bulunan DNA'nın etil alkol yardımı ile yoğunlaştırılarak DNA'nın elde edilmesi esasına dayanır (93)

1.GÜN

1. İçinde yaklaşık 7-8 ml kan bulunan 15 ml'lik santrifüj tüpü üzerine soğuk steril distile su ilave edilerek yaklaşık 13 ml'ye tamamlandı.
2. Karışım 2-3 dk hızlı olarak aşağı yukarı çalkalandı.
3. 10 dk 2000 rpm'de oda ısısında santrifüj edildi.
4. Supernatant atıldıktan sonra peletin üzerine soğuk steril distile su ilave edilerek yaklaşık 13 ml'ye tamamlandı.
5. 10 dk 2000 rpm'de santrifüj edildi ve supernatant atıldı.
6. Bu işlem yaklaşık 4-5 kez tekrarlandı.
7. Pelet üzerine 3 ml nüklei lizis buffer eklendi.
8. 50µl proteinaz K (10mg/ml), 500µl 5M sodyum perklorat ve 200µl %10 SDS eklendi.
9. Tüp aşağı yukarı alt üst edilerek bir gece 37 °C'de etüvde inkübe edildi.

2. GÜN

10. 2 ml amonyum asetat ilave edilip hızlıca yaklaşık 20 defa aşağı yukarı karıştırıldı.
11. Oda ısısında 10 dk bırakıldı ve 15 dk 3500 rpm'de santrifüj edildi.

12. Supernatant başka bir tüpe alındı ve 2 katı oranında soğuk absolü etanol eklendi. Dikkatli olarak karıştırıldı ve DNA otomatik pipet ucuyla çekmeden, uca sarılarak alındı.
13. 500 µl TE içeren tüpe alındı ve oda ısısında çözüldü (24 saat oda ısısında tutuldu).
14. DNase inaktivasyonu için 80 °C'de 10 dk tutuldu.

3.4. Moleküler Analiz

3.4.1. DRD3 geni mRNA düzeylerinin belirlenmesi

1. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

a) RT-PCR'de kullanılan primerler;

cDNA elde etmek için kullanılan primer oligo T;

PolyT 5'-TTTTTTTTTTTTTTTA-3'

DRD3 geni mRNA'sına özgü primerler;

D3RT F-5'-GGAGACGGAAAAGGATCCTCACTCG -3'

D3RT R-5'-TCAGCAAGACAGGATCTTGAGGAAGG -3'

İnternal kontrol olarak kullandığımız beta aktin geni mRNA'sına özgü primerler;

BRT F-5'-TGAAGTGTGACGTGGACATCCG -3'

BRT R-5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCCAG -3'

b) cDNA eldesi için PCR ortamı (I. Aşama)

5XRT Buffer	4µl
dNTP	10µl
polydT primer	1µl
MMVRT(20U/µl)	1µl
RNAse inhibitör(40U/µl)	0,5 µl
Su	12 µl
RNA	1 µl

Her bir örnek için final hacim 30 µl olacak şekilde hazırlandı.

c) cDNA eldesi için PCR şartları

37 °C'de	60 dk	} 1 döngü	bekletilerek cDNA elde edildi.
95 °C'de	5 dk,		
buz üzerinde	5 dk		

d) DRD3 ve beta aktin gen cDNA için multipleks kantitatif PCR ortamı (II. aşama)

Distile su	12 µl
10XRT Buffer	2,5µl
2 mM dNTP mix	2,5µl
Primer F (D3RT)	0,9µl
Primer R (D3RT)	0,9µl
Primer F (BRT)	0,9µl
Primer R (BRT)	0,9µl
25 mM MgCl ₂	1,5 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0,2µl
cDNA	1 µl

Her bir örnek için, final hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

e) Kantitatif PCR şartları;

95 °C'de	2 dk	} 35 döngü	
95 °C'de	45 sn		
62 °C'de	1 dk		
72 °C'de	1,5 dk		
72 °C'de	7 dk		
+4 °C'de			bekleme olarak düzenlendi

Elde edilen RT-PCR ürünleri, etidyum bromid içeren %4'lük agaroz jel ile 120 V elektrik akımı kullanılarak elektroforez işlemi yapıldı. Bantlar, "Vilber Lourmat Marne La Vallée, France" marka jel görüntüleme sistemi ile görüntülenerek bilgisayar ortamına aktarıldı ve "Photo-CaptMw version 99.03" programı kullanılarak DRD3 geni mRNA yoğunlukları ile β aktin geni mRNA yoğunlukları değerlendirildi.

"Photo-CaptMw version 99.03" programı kullanılarak belirlenen PBL'deki DRD3 geni ve β aktin geni mRNA yoğunlukları birbirine oranlandı. Elde edilen değerler, % 25'lik ve %75'lik persentillere göre, düşük (0,6777'den küçük değerler), orta (0,6777 ile 0,9234 arasındaki değerler) ve yüksek (0,9234'ten büyük değerler) olarak 3 gruba ayrılarak karşılaştırıldı.

3.4.2. DRD3 Geni Ser9Gly Polimorfizminin Belirlenmesi

DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin belirlenmesi için, araştırma grubu bireylerinden alınan venöz kan örneklerinden elde edilen DNA'lar kullanıldı. DRD3 geninin ilgili bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Bunun için, bu bölgeye özgü F-5'-GCT CTATCTCCA ACTCTCACA-3' ve R-5'-AAGTCTACTCACCTCCAGGTA-3' primerleri kullanıldı.

a) PCR ortamı

Distile su	17 μ l
10x PCR Buffer (NH ₄) ₂ SO ₄	2,5 μ l
2 mM dNTP Mix	2,5 μ l
Primer F	0,5 μ l
Primer R	0,5 μ l
25 mM MgCl ₂	1,5 μ l
Taq DNA Polimeraz (5U/ μ l)	0,2 μ l
Genomik DNA	1 μ l

PCR reaksiyon karışımı her bir örnek için final hacim 25 μ l olacak şekilde hazırlandı.

b) PCR şartları

95 °C de	2 dk	
95 °C de	45 sn denatürasyon	} 35 döngü
56 °C de	1 dk bağlanma	
72 °C de	2 dk uzama	
72°C de	7 dk son bağlanma	
4 °C de	bekleme olarak düzenlendi	

Elde edilen PCR ürünleri her bir örnek için 10 U olacak şekilde Bal I endonükleaz restriksiyon enziminin izoşizomeri olan Mls I (Fermantes) endonükleaz restriksiyon enzimi ve Buffer R ile 37 °C de 1 gece inkübe edildi. Daha sonra PCR ürünleri, % 3'lük agaroz jelde 120 V elektrik akımı kullanılarak elektroforez işlemi yapıldı ve görüntüleme cihazı ile oluşan PCR ürünleri;

304 bp, 111 bp ve 47 bp'lik fragmentler; **Ser9Ser** genotipi, 304 bp, 206 bp, 111 bp, 98 bp ve 47 bp'lik fragmentler; **Ser9Gly** genotipi ve 206 bp, 111 bp, 98 bp ve 47 bplik fragmentler **Gly9Gly** genotipi olarak değerlendirildi (32,35,38).

DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin genotip frekanslarının Hardy Weinberg dengesinde olup olmadığı belirlendi.

Hardy Weinberg yasasına göre; gen sıklığını değiştiren etmenler olmadığı sürece, homozigot dominant, homozigot resesif ve heterozigot genotiplerin sıklığı kuşaklar boyunca sabit kalır. Dominant genin görel sıklığı p, resesif alel sıklığı q ile gösterilir.

Hardy Weinberg yasası, toplumdaki gen sıklıklarına ilişkin iki kuralı içerir:

- 1- Toplumdaki herhangi bir otozomal resesif gen tarafından oluşturulan hastalığın sıklığı o resesif genin toplumdaki sıklığının karesine eşittir ya da genin sıklığı, bu gen için homozigot olan bireylerin sıklığının kareköküne eşittir
- 2- Heterozigot sıklığı, bir alel sıklığının diğer alel sıklığı ile çarpımının iki katına eşittir.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 10.0) Paket Programı, Helix Tree Genetics Data Analysis Software ve Statistica Paket Programları kullanılarak yapıldı.

DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin genotip frekanslarının Hardy Weinberg dengesinde olup olmadığı, Helix Tree Genetics Data Analysis Software Paket Programı kullanılarak belirlendi.

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı normal dağılıma sahip olmadığından dolayı iki grup karşılaştırmasında, Mann Whitney U Testi kullanıldı. Genotip dağılımları ve alel frekanslarının gruplar arasında karşılaştırılmalarında ki kare testi kullanıldı.

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni tiplerinin karşılaştırılmasında, statistica paket programı ile Kruskal-Wallis testi uygulandı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, şizofreni hastalarında DRD3 geni mRNA düzeyleri ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla, Adana Ruh Sağlığı Hastalıkları Hastanesi Psikiyatri Polikliniği'ne başvuran, DSM-IV kriterlerine göre şizofreni tanısı konmuş, 12'si kadın, 43'ü erkek toplam 55 birey ile hasta grubu oluşturuldu. Ayrıca, kontrol grubu oluşturmak için, kendisinde ve ailesinde herhangi bir nöropsikiyatrik hastalığı olmayan, 25'i kadın, 26'sı erkek toplam 51 sağlıklı birey çalışma grubuna dahil edildi. Kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması 32.04 ± 6.841 , hasta grubunda ise yaş ortalaması 32.78 ± 7.7 olarak belirlendi (Çizelge 4.1).

Hasta ve kontrol grubu bireylerinde, DRD3 geni mRNA düzeyleri, RT-PCR yöntemi ve "Photo-CaptMw version 99.03" programı kullanılarak, DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi alel ve genotipleri PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak belirlendi.

Çizelge 4.1. Kontrol ve hasta gruplarında yaş ortalamaları.

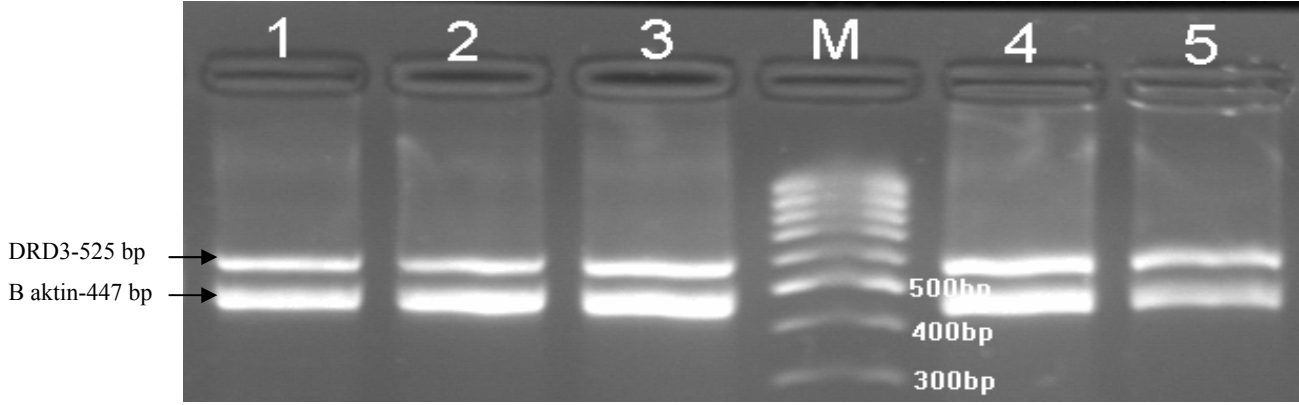
Grup	Cinsiyet	N	Ortalama \pm Std Sapma
Kontrol	Kadın	25	$30,32 \pm 6,349$
	Erkek	26	$33,69 \pm 7,007$
Şizofreni Hasta	Kadın	12	$36,42 \pm 5,869$
	Erkek	43	$31,77 \pm 7,898$

N= Birey sayısı

4.1. Şizofreni Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait DRD3 Geni mRNA Düzeyi Bulguları

RNA izolasyonu, Asid Guanidinyum-Fenol-Kloroform (AGPC) yöntemi ile yapıldı. RT-PCR ile cDNA'lar elde edildi ve elektroforez sonucu elde edilen bantlar "Vilber Lourmat Marne La Vallée, France" marka jel görüntüleme sistemi ile görüntülenerek bilgisayar ortamına aktarıldı, "Photo-CaptMw version 99.03" programı kullanılarak değerlendirildi (Şekil 4.1). DRD3 geni mRNA yoğunlukları, internal

kontrol β aktin geni mRNA yoğunlukları ile karşılaştırılıp oranlanarak (DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi) değerlendirildi.



Şekil 4.1. DRD3 geni ve internal kontrol beta aktin geni cDNA'larının elektroforez sonrası fotoğrafı; M: DNA Marker, 1-5: bireylere ait DRD3 ve beta aktin genleri cDNA fragmentleri

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni hastalar kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırıldığında, kontrol grubu bireylerinde ortalama $0,7988 \pm 0,37309$, şizofreni hasta grubunda $0,8993 \pm 0,49553$ olarak belirlendi (Çizelge 4.2). Şizofreni hasta grubunda DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranında, kontrol grubuna göre bir artış gözlenmekle birlikte önemli bir farklılık bulunmadı ($p=0,411$).

Çizelge 4.2. Gruplarda gözlenen DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı

Grup	N	Ortalama \pm Std Sapma	P
Kontrol	51	$0,7988 \pm 0,37309$	0,411
Şizofreni Hasta	55	$0,8993 \pm 0,49553$	

N: Birey sayısı

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları, % 25'lik ve %75'lik persentillere göre, düşük ($0,6777$ 'den küçük değerler), orta ($0,6777$ ile $0,9234$ arasındaki değerler) ve yüksek ($0,9234$ 'ten büyük değerler) olarak 3 gruba ayrıldı.

Şizofren hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, oran düzeyi grupları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubundaki toplam 51 bireyden, 14'ü (%27,5) düşük düzey, 25'i (% 49) orta düzey, 12'si (%23,5) ise yüksek düzey olarak belirlendi. Şizofren hastalarda ise toplam 55 bireyden 12'si (%21,8) düşük düzey, 29'u (%52,7) orta düzey, 14'ü (%25,5) yüksek düzey olarak belirlendi (Çizelge.4.3). DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofren hastalar, kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi (p=0,797).

Çizelge 4.3. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması.

mRNA Düzeyi Oran Grupları	Grup		P
	Kontrol N (%)	Şizofreni Hasta N (%)	
Düşük düzey (< 0,6777)	14 (%27,5)	12 (%21,8)	0,797
Orta düzey (0,6777–0,9234)	25 (%49,0)	29 (%52,7)	
Yüksek düzey (>0,9234)	12 (%23,5)	14 (%25,5)	
Toplam	51(%100)	55 (%100)	

N: Birey sayısı

Şizofreni alt tipleri (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları, atipik şizofren hastalarda ortalama $1,0338 \pm 79704$, dezorganize şizofren hastalarda $0,9371 \pm 28873$ ve paranoid şizofren hastalarda ise ortalama $0,7410 \pm 20867$ olarak belirlenirken kontrol grubunda, $0,7988 \pm 37309$ olarak belirlendi. (Çizelge 4.4). DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofren alttiplerinden atipik şizofreni ve paranoid şizofreni alt tip grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken (sırasıyla P=0,692, P=0,409) dezorganize şizofreni grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlendi (p=0,030).

Çizelge 4.4. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni alt tiplerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.

Grup	N	Ortalama± Std Sapma	P
Atipik şizofreni/ Kontrol	17/51	1,0338±79704/0,7988±37309	0,692
Dezorganize şizofreni/ Kontrol	19/51	0,9371±28873/0,7988±37309	0,030*
Paranoid şizofreni/ Kontrol	19/51	0,7410±20867/0,7988±37309	0,409

* p<0,05

Şizofreni alt tipleri (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) kendi aralarında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarını atipik şizofren hastalarda ortalama 1,0338±79704, dezorganize şizofren hastalarda 0,9371±28873 ve paranoid şizofren hastalarda ise ortalama 0,7410±20867 olarak belirlendi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni alt tiplerinin karşılaştırılması.

Şizofreni	N	Ortalama ± Std Sapma
Atipik şizofreni	17	1,0338±79704
Dezorganize şizofreni	19	0,9371±28873
Paranoid şizofreni	19	0,7410±20867
P		0,026*

*p<0,05

Çizelge 4.6 DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni alt tiplerinin çoklu karşılaştırılmasının p değerleri.

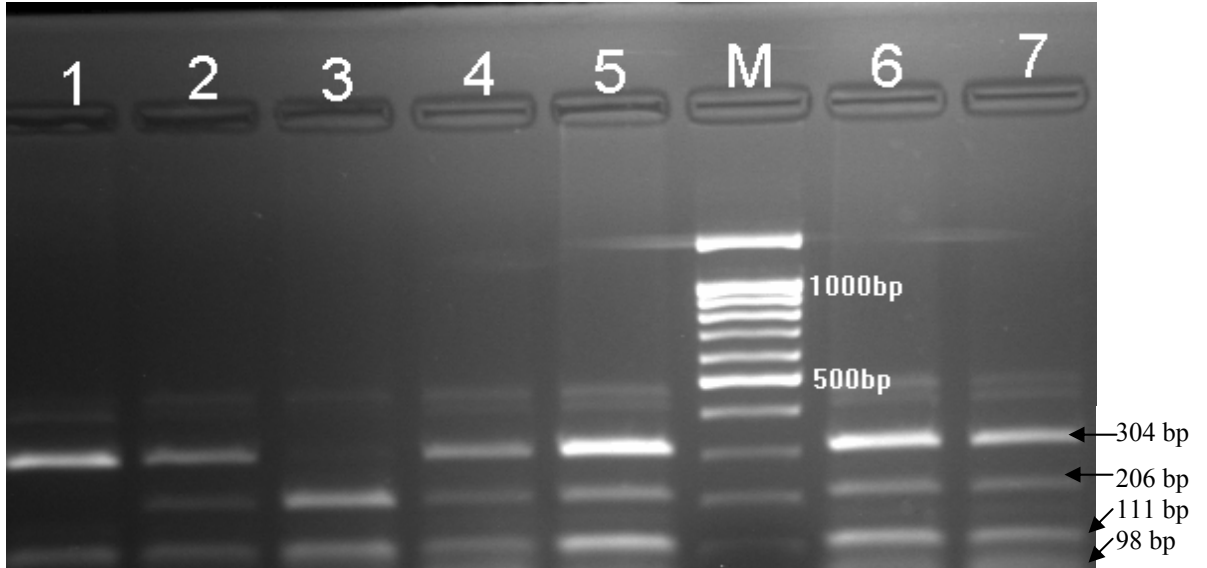
Şizofreni	Atipik şizofreni	Dezorganize şizofreni	Paranoid şizofreni
Atipik şizofreni	-	0,520119	0,616609
Dezorganize şizofreni	0,520119	-	0,020581*
Paranoid şizofreni	0,616609	0,020581*	-

*p<0,05

Şizofreni alt tipleri kendi aralarında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p=0,026$). Şizofreni alt tiplerinden dezorganize şizofreni grubu ile paranoid şizofreni grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p:0,020$) (Çizelge 4.6).

4.2. Şizofreni Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait DRD3 Geni Ser9Gly Polimorfizmi Genotip Dağılımı ve Alel Frekansı Bulguları

DNA izolasyonu tuz çöktürme yöntemine göre yapıldı. DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin belirlenmesi için elde edilen PCR ürünleri, Bal I endonükleaz restriksiyon enziminin izoşizomeri olan Mls I ile kesildi. Kesim sonucunda 304 bp, 111 bp ve 47 bp'lik fragmentlere sahip bireyler homozigot **Ser9/Ser9 (Ser9Ser)**, 304 bp, 206 bp, 111 bp, 98 bp ve 47 bp'lik fragmentlere sahip bireyler heterozigot **Ser9/Gly9 (Ser9Gly)**, 206 bp, 111 bp, 98 bp ve 47 bp'lik fragmentlere sahip bireyler ise homozigot **Gly9/Gly9 (Gly9Gly)** genotipine sahip bireyler olarak değerlendirildi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmine ait alellerin elektroforez sonrası fotoğrafı. M: DNA marker; 1.örnek Ser9Ser, 2, 4, 5, 6 ve 7. örnekler Ser9Gly, 3. örnek Gly9Gly genotipine sahiptirler

Toplam 55 şizofren bireyden 5'i, 51 kontrol bireyden ise 1'i, genomik DNA'ları elde edilemediğinden çalışmanın "Şizofreni Hasta ve Kontrol Gruplarına ait DRD3 Geni Ser9Gly Polimorfizmi Genotip Dağılımı ve Alel Frekansı Bulguları" bölümüne dahil edilmedi.

DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi genotipleri dağılımı, kontrol grubu bireylerinde, toplam 50 kişiden 30'u (%60) Ser9Ser genotipine, 18'inin (%36) Ser9Gly genotipine, 2'sinin ise (%4) Gly9Gly genotipine sahip olduğu belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise toplam 50 bireyden 29'u (%58) Ser9Ser genotipine, 17'si (%34) Ser9Gly genotipine, 4'ü (%8) ise Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlendi (Çizelge 4.7). Genotip dağılımı bakımından iki grup karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p=0,700$).

Çizelge 4.7. Gruplarda DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımları

Genotip	Grup		P
	Kontrol N (%)	Şizofreni Hasta N (%)	
Ser9Ser	30 (%60)	29 (%58)	0,700
Ser9Gly	18 (%36)	17 (%34)	
Gly9Gly	2 (%4)	4 (%8)	
Toplam	50 (%100)	50 (%100)	

N: Birey sayısı,

Kontrol ve hasta gruplarında Ser9Ser, Ser9Gly, Ser9Gly genotip dağılımı Hardy Weinberg dengesindeydi [kontrol grubu ($p=0,757$) hasta grubu ($p=0,509$)].

Şizofreni hasta ve kontrol grupları DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi alel frekanslarına göre karşılaştırıldı. Kontrol grubunda 78 (%78) Ser9 aleli bulunurken 22 (%22) Gly9 aleli bulunmaktadır. Şizofreni grubunda ise 75 (%75) Ser9 aleli bulunurken 25 (%25) Gly9 aleli olduğu belirlendi (Çizelge 4.8).

Çizelge.4.8. Gruplarda DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi alel frekansları

Alel	GRUP		P
	Kontrol n (%)	Şizofreni Hasta n (%)	
Ser9	78 (%78)	75 (%75)	0,617
Gly9	22 (%22)	25 (%25)	
Toplam	100 (%100)	100 (%100)	

n: Alel sayısı

Şizofreni hasta ve kontrol bireyleri, alel frekansları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,617$)

Şizofreni ve kontrol grupları Ser9 veya Gly9 aleline sahip olup olmamalarına göre karşılaştırıldı. Kontrol grubu bireylerinde, 48 kişi Ser9Ser veya Ser9Gly genotipine, 20 kişi Gly9Gly veya Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise 46 kişi Ser9Ser veya Ser9Gly genotipine, 21 kişi de Gly9Gly veya Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlendi (Çizelge 4.9)

Şizofreni ve kontrol gruplarında Ser9 veya Gly9 aleline sahip olup olmama bakımından anlamlı bir fark gözlenmedi ($P=0,674$, $P=0,839$).

Çizelge.4.9. Grupların Ser9 veya Gly9 aleline sahip olup olmamalarına göre karşılaştırılması

Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma	GRUP		P
	Kontrol N	Şizofreni hasta N	
Ser9Ser+Ser9Gly	48	46	0,674
Gly9Gly +Ser9Gly	20	21	0,839

N: Birey sayısı

Şizofreni alt tipleri (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) ile DRD3 Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımları karşılaştırıldı. 16 atipik şizofren hastanın 10'u (%62,5) Ser9Ser genotipine, 5'i (%31,25) Ser9Gly genotipine ve 1'i (%6,25) Gly9Gly genotipine sahip olarak belirlendi. 17 dezorganize şizofren kişiden 9'u (%52,94) Ser9Ser genotipine, 5'i (%29,41) Ser9Gly genotipine ve 3'ü (%17,65) Gly9Gly

genotipine sahip olarak belirlendi. Paranoid şizofrenlerden ise 10'u (%58,8) Ser9Ser genotipine, 7'si (%41,2) Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlendi. Paranoid şizofreni bireylerinde Gly9Gly genotipi gözlenmedi. Kontrol grubu bireylerinden 30'u (%60) Ser9Ser genotipine, 18'i (%36) Ser9Gly genotipine ve 2'si (%4) Gly9Gly genotipine sahip olarak belirlendi (Çizelge 4.10). Şizofreni alttipleri DRD3 Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımları bakımından kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (p=0,481).

Çizelge 4.10. Şizofreni alt tipleri ile kontrol gruplarının DRD3 Ser9Gly genotip dağılımlarının karşılaştırılması.

Genotip	Şizofreni Alt Tipleri			Kontrol N (%)	P
	Atipik N (%)	Dezorganize N (%)	Paranoid N (%)		
Ser9Ser	10 (%62,5)	9 (%52,94)	10 (%58,8)	30(%60)	0,481
Ser9Gly	5 (%31,25)	5 (%29,41)	7 (%41,2)	18(%36)	
Gly9Gly	1 (%6,25)	3 (%17,65)	0(%0)	2(%4)	
Toplam	16 (%100)	17 (%100)	17(%100)	50(%100)	

N: Birey sayısı

Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre şizofreni grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Kontrol grubunda 32 (%64,) birey homozigot Ser9Ser veya Gly9Gly genotipine, 18 (%36,) birey heterozigot Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlenirken, şizofren grupta 33 (%66,) birey homozigot Ser9Ser veya Gly9Gly genotipine, 17 (%34,0) birey heterozigot Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlendi (Çizelge 4.11).

Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (P=0,739).

Çizelge 4.11. Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması.

Genotip	GRUP		P
	Kontrol N (%)	Şizofreni Hasta N (%)	
Homozigot (Ser9Ser-Gly9Gly)	32 (%64)	33 (%66,0)	0,739
Heterozigot (Ser9Gly)	18 (%36)	17 (%34,0)	
Toplam	50 (%100)	50 (%100)	

N: Birey sayısı

4.3. DRD3 Geni mRNA Düzeyleri ile Ser9Gly Polimorfizmi Genotip Dağılımları ve Alel Frekansları Arasındaki İlişkiye Ait Bulgular

Şizofreni hasta ve kontrol grupları, DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubu bireylerinde, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı, Ser9Ser genotipine sahip 30 kişide ortalama $0,7633 \pm 19967$, Ser9Gly genotipine sahip 18 kişide $0,8628 \pm 57811$ Gly9Gly genotipine sahip 2 kişide ortalama $0,7382 \pm 04828$ olarak belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı, Ser9Ser genotipine sahip 29 kişide ortalama $0,9467 \pm 62326$, Ser9Gly genotipine sahip 17 kişide $0,7989 \pm 21388$, Gly9Gly genotipine sahip 4 kişide ortalama $1,1195 \pm 58220$ olarak belirlendi. (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Hasta ve kontrol grupları arasında DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması.

GENOTİP	GRUP			
	KONTROL		ŞİZOFREN	
	N	Ortalama± Std. Sapma	N	Ortalama± Std. Sapma
Ser9Ser	30	$0,7633 \pm 19967$	29	$0,9467 \pm 62326$
Ser9Gly	18	$0,8628 \pm 57811$	17	$0,7989 \pm 21388$
Gly9Gly	2	$0,7382 \pm 04828$	4	$1,1195 \pm 58220$
Toplam	50	$0,7981 \pm 37685$	50	$0,9103 \pm 51607$
P	0,667		0,460	

Şizofreni hasta ve kontrol grubu, DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldığında şizofren hasta grubunda Gly9Gly genotipine sahip bireylerde DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları yönünden bir artış gözlenmekle birlikte istatistiksel bir anlamlılık taşımamaktadır ($p=0,667$, $p=0,460$).

Şizofreni ve kontrol gruplarında Ser9 veya Gly9 aleline sahip bireyler, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı.

Kontrol grubu bireylerinde, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı, Ser9Ser veya Ser9Gly genotipine sahip 48 kişide ortalama $0,8006\pm38451$, Gly9Gly veya Ser9Gly genotipine sahip 20 kişide $0,8503\pm54829$ olarak belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı, Ser9Ser veya Ser9Gly genotipine sahip 46 kişide ortalama $0,8921\pm51300$, Gly9Gly veya Ser9Gly genotipine sahip 21 kişide ortalama $0,8600\pm32262$ olarak belirlendi. (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Hasta ve kontrol gruplarında Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması

Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma	GRUP				P
	Kontrol		Şizofreni		
	N	Ortalama± Std Sapma	N	Ortalama± Std Sapma	
Ser9Ser+Ser9Gly	48	$0,8006\pm38451$	46	$0,8921\pm51300$	0,530
Gly9Gly+Ser9Gly	20	$0,8503\pm54829$	21	$0,8600\pm32262$	0,566
P		0,6712		0,7931	

N: Birey sayısı

Şizofreni ve kontrol gruplarında Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (kontrol grubu için $p=0,6712$, şizofreni hasta grubu için $P=0,7931$).

Şizofreni ve kontrol grupları arasında Ser9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0,530$). Aynı şekilde, Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında da bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0,566$).

Gruplarda homozigot Ser9Ser genotipine sahip olan bireyler ile homozigot Gly9Gly ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan bireyler mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubu bireylerinde; homozigot Ser9Ser genotipine sahip olan 30 kişinin mRNA düzeyi oranı ortalamaları 7633 ± 19967 , homozigot Gly9Gly ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan 20 bireyin ortalamaları ise $0,8603 \pm 54829$ olarak belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise homozigot Ser9Ser genotipine sahip olan 29 kişinin mRNA düzeyi oranı ortalamaları $0,9476 \pm 62326$ olarak belirlenirken, homozigot Gly9Gly ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan 21 bireyin ortalamaları $0,8600 \pm 32262$ olarak belirlendi (Çizelge 4.14). Gruplarda homozigot Ser9Ser genotipine sahip olma ile mRNA düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla $p=0,953$, $p=0,914$).

Çizelge 4.14 Hasta ve kontrol gruplarında homozigot Ser9Ser genotipine sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması

	Grup			
	Kontrol		Şizofreni	
	n	Ortalama±Std Sapma	n	Ortalama ± Std Sapma
Ser9Ser	30	7633 ± 19967	29	$0,9476 \pm 62326$
Gly9Gly+Ser9Gly	20	$0,8603 \pm 54829$	21	$0,8600 \pm 32262$
P		0,953		0,914

Gruplarda homozigot Gly9Gly genotipine sahip olan bireyler ile homozigot Ser9Ser ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan bireyler, mRNA düzeyleri bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubu bireylerinde; homozigot Gly9Gly genotipine sahip olan 2 kişinin mRNA düzeyi ortalamaları $0,7382 \pm 04828$ olarak, Ser9Ser ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan 48 bireyin ortalamaları ise $0,80061 \pm 38451$ olarak belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise homozigot Gly9Gly genotipine sahip olan 4 kişinin mRNA düzeyi ortalamaları $1,1195 \pm 58220$ olarak, Ser9Ser ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan 46 bireyin ortalamaları ise $0,8921 \pm 51300$ olarak belirlendi (Çizelge 4.15).

Gruplarda homozigot Gly9Gly genotipine sahip olan bireyler ile homozigot Ser9Ser ve ya heterozigot Ser9Gly genotipe sahip olan bireyler mRNA düzeyleri

bakımından karşılaştırıldığında, homozigot Gly9Gly genotipine sahip bireylerde mRNA düzeyi ortalamalarında bir artış gözlenmekle birlikte anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla $p= 0,720$, $p= 0,317$).

Çizelge 4.15 Hasta ve kontrol gruplarında homozigot Gly9Gly genotipine sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması

	Grup			
	Kontrol		Şizofreni	
	N	Ortalama±Std Sapma	N	Ortalama±Std Sapma
Gly9Gly	2	0,7382±04828	4	1,1195±58220
Ser9Ser+Ser9Gly	48	0,80061±38451	46	0,8921±51300
P	0,720		0,317	

N: Birey sayısı

Şizofreni hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubunda, düşük düzey grubundaki 14 bireyden 9'u (%30) Ser9Ser genotipine sahip, 5'i (%27,8) Ser9Gly genotipine sahip olarak belirlendi. Orta düzey grubundaki 24 bireyden 14 'ü (%46,7) Ser9Ser genotipine sahip, 8'i (%44,4) Ser9Gly genotipine 2 'si Gly9Gly sahip olarak belirlendi. Şizofreni hasta grubunda, düşük düzey grubundaki 10 bireyden 4'ü (%13,8) Ser9Ser genotipine sahip, 5'i (%29,4) Ser9Gly genotipine sahip, 1'i (%25) Gly9Gly genotipine sahip olarak belirlendi. Orta düzey grubundaki 28 bireyden 19'u (%65,5) Ser9Ser genotipine sahip, 8'i (%47,1) Ser9Gly genotipine sahip, 1'i (%25) Gly9Gly genotipine sahip olarak belirlendi. Yüksek düzey grubundaki 12 bireyden 6'sı (%20,7) Ser9Ser genotipine sahip, 4'ü (%23,5) Ser9Gly genotipine sahip, 2'si (%50) Gly9Gly genotipine sahip olarak belirlendi (Çizelge 4.16).

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımı karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Kontrol grubunda $P=0,534$, şizofreni hasta grubunda ise $P=0,420$ ' dir.

Çizelge 4.16 Hasta ve kontrol gruplarında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımı.

mRNA Düzeyi Oran Grupları	Grup							
	Kontrol N (%)				Şizofreni N (%)			
	Ser9Ser	Ser9Gly	Gly9Gly	Toplam	Ser9Ser	Ser9Gly	Gly9Gly	Toplam
Düşük düzey (< 0,6777)	9 (%30)	5 (%27,8)	0 (%0)	14	4 (%13,8)	5 (%29,4)	1 (%25)	10
Orta düzey (0,6777–0,9234)	14 (%46,7)	8 (%44,4)	2 (%100)	24	19 (%65,5)	8 (%47,1)	1 (%25)	28
Yüksek düzey (>0,9234)	7 (%23,3)	5 (%27,8)	0 (%0)	12	6 (%20,7)	4 (%23,5)	2 (%50)	12
Toplam	30 (%100)	18 (%100)	2 (%100)	50	29 (%100)	17 (%100)	4 (%100)	50
P	0,534				0,420			

N: Birey sayısı

Şizofren hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi alel frekansları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubunda, düşük düzey grubunda 23 (%29,5) Ser9 aleli, 5 (% 22,7) Gly9 aleli olduğu, orta düzey grubunda 36 (%46,2) Ser9 aleli, 12(%54,56) Gly9 aleli olduğu ve yüksek düzey grubunda 19 (%24,4) Ser9 aleli, 5 Gly9 aleli (% 22,72) olduğu belirlendi. Şizofreni hasta grubunda ise düşük düzey grubunda 13 (%17,3) Ser9 aleli, 7 (% 28) Gly9 aleli olduğu, orta düzey grubunda 46 (%61,3) Ser9 aleli, 10 (%40) Gly9 aleli olduğu ve yüksek düzey grubunda 16 (%21,3) Ser9 aleli, 8 (%32) Gly9 aleli olduğu belirlendi (Çizelge 4.17)

Kontrol grubu ile Şizofren hasta grubu bireyleri arasında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi alel frekansları bakımından anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi (sırasıyla P=0,759, P=0,176).

Çizelge 4.17 Hasta ve kontrol gruplarında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre DRD3 Ser9Gly polimorfizmi alel frekansları.

mRNA Düzeyi Oran Grupları	Grup			
	Kontrol		Şizofreni Hasta	
	Alel Frekansı			
	Ser9	Gly9	Ser9	Gly9
Düşük düzey (< 0,6777)	23 (%29,5)	5 (%22,72)	13 (%17,3)	7 (%28)
Orta düzey (0,6777–0,9234)	36(%46,2)	12(%54,56)	46 (%61,3)	10 (%40)
Yüksek düzey (>0,9234)	19(%24,4)	5(%22,72)	16 (%21,3)	8 (%32)
Toplam	78(%100)	22(%100)	75 (%100)	25 (%100)
P	0,759		0,176	

n: Alel Sayısı

Şizofreni alttipleri ile kontrol gruplarında DRD3 Ser9Gly genotip dağılımı ile mRNA düzeyleri bakımından karşılaştırılması paranoid şizofrenili hastalarda Gly9Gly genotipine hiç rastlanmaması nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

5. TARTIŞMA

Etiyolojisi tam olarak bilinmeyen bir hastalık olan şizofrenide klinik tabloyu belirleyebilmek ve bu durumu başka bozukluklardan ayırt edebilmek amacıyla uzun yıllar süren çalışmalar ve araştırmalar sonucu bir dizi farklı bulgu ve belirti tanımlanmıştır. Son yıllarda bozukluğun varlığını doğrulayabilecek, klinikte yararlı olabilecek labarotuar testleri ya da biyolojik belirteçler ortaya koymak üzere çok sayıda girişimde bulunulduğu halde tanı hala klinik ölçütlere dayalıdır (5,7,23). Ancak pozitron emisyon tomografi (PET) ve postmortem beyin doku çalışmaları, şizofreni hastalarında, şizofrenik olmayan hastalarla karşılaştırıldığında D2 benzeri dopamin reseptör (DRD2, DRD3, DRD5) düzeylerinin arttığını göstermektedir (7,23,24).

Son yıllarda, bazı dopamin reseptör alt tip (DRD3, DRD4, DRD5) mRNA'larının, insan PBL'lerindeki varlığı ve dopaminerjik ligandların bunlara yüksek affinite ile bağlandığı rapor edilmiştir (23). Lenfositlerdeki dopamin reseptörlerinin de beyindeki reseptörleri yansıttığı ileri sürülmektedir. Birçok çalışma, sağlıklı kontrol bireyleriyle karşılaştırıldığında şizofreni hastalarının lenfositlerinde dopamin antagonistlerinin bağlanmalarının arttığını göstermiştir (7,23,24,33). Bu tür çalışmaların sonuçları doğrultusunda, eğer uygun bir periferal dokuda, dopamin reseptör düzeyi analiz edilebilirse, şizofreni için marker olarak kullanılabilceği fikri öne çıkmaktadır (23,33).

Şizofreni hastalığı ile birçok genin polimorfizmleri arasındaki ilişki daha önce yapılan çalışmalarda araştırılmıştır. Bunlar arasında DRD3 geninde Bal I endonükleaz restriksiyon bölgesi yaratan bir Ser9Gly polimorfizmi tanımlanmış ve bu varyantın şizofreniyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (34,37,39,44,53).

Bu çalışma, şizofreni hastalarında PBL DRD3 geni mRNA düzeylerinin şizofreni tanısında bir marker olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek ve PBL DRD3 geni mRNA düzeyleri ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak amacıyla, DSM-IV kriterlerine göre şizofreni tanısı konmuş 55 hasta ve kendisinde ve ailesinde herhangi bir nöropsikiyatrik hastalığı olmayan 51 sağlıklı birey ile çalışma grubu oluşturularak yapıldı.

Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler, SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 10.0) Paket Programı, Helix Tree Genetics Data Analysis Software ve Statistica Paket Programları kullanılarak değerlendirildi.

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni hastalar kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırıldığında, şizofreni hasta grubunda DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranında, kontrol grubuna göre bir artış gözlenmekle birlikte önemli bir farklılık bulunmadı ($p=0,411$).

Ilani ve ark (23), şizofrenlerde, PBL DRD3 mRNA'ları ile şizofreni arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırdıkları çalışmada, PCR–elisa metod ve dansitometre ile spesifik D3 reseptör cDNA bandların yoğunluk miktarını 14 şizofren hasta ile 11 kontrol bireyde ölçmüşler ve şizofrenlerde kan lenfositlerdeki DRD3 mRNA düzeylerinde kontrollere göre en az iki kat kadar önemli bir artış olduğunu gözlemişlerdir. Aynı çalışmada kan lenfositlerindeki D3 reseptör mRNA'larının şizofreni tanısı ve takibinde bir marker olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. Bulgularımız, Ilani ve ark'nın (2001) yaptıkları bu çalışma ile uyumluluk göstermemektedir.

Weide ve ark (7), 8 şizofren hasta ve 8 sağlıklı kontrol bireyle yaptıkları çalışmada DRD3 PBL mRNA ekspresyonunda bir artış gözlememiş, antipsikotik ilaçların D3 reseptör ürünlerini azaltmış olabileceklerini ileri sürmüşlerdir. Lenfositlerdeki DRD3 mRNA düzeylerinin, şizofreninin tanısında bir değeri olduğunu ortaya koymuşlardır. Weide ve ark'nın yaptıkları çalışma sonuçlarının Ilani ve ark yaptıkları çalışma ile uyumluluk göstermediğini ve bu durumun da laboratuvarlarındaki teknik yetersizlikten olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yapılan bu çalışmanın sonucu, bizim çalışmamızla uyumluluk göstermektedir.

Schmauss ve ark (95) şizofreni hastaları ve kontrollerle yaptıkları postmortem çalışmada; beyinin bazı anatomik bölgelerinde D3 mRNA düzeyini ölçmüşlerdir. Kronik şizofrenlerde pariyatal ve motor kortekslerinde D3 mRNA düzeyinde selektif olarak bir azalma olduğunu gözlemişlerdir.

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarını % 25'lik ve %75 persentillere göre, düşük (0,6777'den küçük değerler), orta (0,6777 ile 0,9234 arasındaki değerler) ve yüksek (0,9234'ten büyük değerler) olarak 3 gruba ayrıldı. Şizofren hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, oran düzeyi grupları (düşük, orta,

yüksek) bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofren hastalar, kontrol grubu bireyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. Bu bulgumuza benzer bir çalışmaya rastlamadık.

Hasta grubu, şizofreni tiplerine (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) göre ayrılıp, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni tiplerinden dezorganize şizofreni alt tipi ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenirken ($p=0,030$), atipik şizofreni ($p=0,692$) ve paranoid şizofreni alt tipleri ($P=0409$) ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Şizofreni alt tipleri (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) kendi aralarında da DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni tipleri arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,026$). Şizofreni alt tipleri arasında ikişerli olarak çoklu karşılaştırma sonucu, dezorganize şizofreni grubu ile paranoid şizofreni grubu arasında oran düzeyi bakımından anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,20581$).

Şizofreni alt tipleri ile PBL DRD3 mRNA ekspresyonları arasında bir ilişkinin bulunmasından dolayı şizofreni alt tiplendirilmesinde periferik bir marker olarak kullanılabilmesi önerilebilir. PBL DRD3 mRNA ekspresyonu artışının kliniksel bir önemi olabilir.

Kwak ve ark (31) yaptıkları çalışmada, üç yıldan fazla süredir ilaç alan 44, üç aydan fazla ilaç kullanmayan 28 ve hiç ilaç kullanmayan 15 şizofreni hasta ile 31 sağlıklı kişinin, PBL DRD3 mRNA ekspresyonu moleküler biyolojik olarak artmış olduğu belirlenmiş ve PBL DRD3 ekspresyonu artışının şizofreni alt gruplarında kliniksel önemi olabileceğini göstermişlerdir. Bu bulgu, bizim çalışmamızla uyumluluk göstermektedir. Aynı çalışmada, ilaç alan hasta ve kontrollere göre ilaç almayan hastalarda PBL DRD3 mRNA ekspresyonunda önemli bir artış gözlenmiştir. Daha az ilaç alanlarda biraz artmış ancak istatistiksel bir önemi bulunmamıştır.

Vogel ve ark (51), 13 şizofrenik ve 11 bipolar hastayla yaptıkları çalışmada şizofreni hastalarında ve bipolar hastalarda, kontrollere göre DRD3 mRNA düzeyinde bir azalma gözlemişlerdir. Pozitif semptomların ve medikasyon öyküsünün DRD3

ekspresyonunda önemli olmadığını ileri sürmüşlerdir. PBL DRD3 mRNA ekspresyonunda kontrollere göre önemli derecede azalma gözlenmiş ($p=0,009$) ve negatif şizofrenik semptomlarla ilişkilendirilmiştir.

Dopaminerjik nörotransmisyon sistemin çeşitli psikotik hastalıklar ile kişilik özelliklerinin etiyolojisinde bulunmalarından dolayı, dopamin iletimi ve dopamin reseptörlerindeki değişikliklerin şizofreniden başka, Parkinson, Alzheimer gibi nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde de önemli bir rolü olduğu, çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (1,2,6,23,31,49,50,51).

Czermak ve ark'nın (49) kişilik özellikleri ile PBL DRD3 mRNA ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada, 30 sağlıklı kişide negatif bir korelasyon bulmuşlardır ($p=0,003$). Bu durumun cinsiyete göre farklılık gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Czermak ve ark (52) sigara içen kişileri DRD3 geni mRNA ekspresyon düzeyleri bakımından kontrollerle karşılaştırdıkları çalışmada, PBL DRD3 mRNA düzeylerinin içmeyen kişilere göre %30 azaldığı gözlenmiştir.

Barbanti ve ark (47), migren ile PBL DRD3 mRNA ekspresyonu arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla yaptıkları çalışmada migrenli hastalarda PBL DRD3 mRNA ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlemişlerdir ($p=0,0006$).

Toplam 55 şizofren bireyden 5'i, 51 kontrol bireyden ise 1'i genomik DNA'ları elde edilemediği için çalışmamızın "Şizofreni hasta ve kontrol gruplarına ait DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımı ve alel frekansları" bölümüne dahil edilemedi.

Kontrol ve hasta gruplarında DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi Ser9Ser, Ser9Gly, Gly9Gly genotip dağılımının Hardy Weinberg dengesinde olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,757$, $p=0,509$).

DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımlarına göre şizofreni hastalarını kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,700$). İki grubu alel frekansları bakımından da karşılaştırıldı ve anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=0,617$).

Serreti ve ark (84), şizofreni hastalarını kontrol grubu ile karşılaştırdıkları çalışmada majör psikoz semptomatoloji ile genotip dağılımı ile alel frekansları arasında bir fark bulamamışlardır.

Staddon ve ark (26) 118 şizofren hasta ile 162 sağlıklı kontrol bireyde, Ambrosio ve ark (65) Portekiz popülasyonunda yaptıkları çalışmada şizofreni ile genotip dağılımı ve alel frekansları arasında bir ilişki bulamamışlardır ($p=0,642$).

Nimgaokar ve ark (85) şizofrenlerde yaptıkları çalışmada, şizofreni ile genotip dağılımı arasında bir ilişki olmadığını gözlemişlerdir ($p>0,1$). Chen ve ark (4) 178 şizofren hasta ile 100 sağlıklı kontrol bireyde yaptıkları çalışmada, şizofreni ile genotip dağılımı ($p=0,58$) ve alel frekansları ($p=0,65$) arasında bir ilişki bulamamışlardır.

Bunun aksine, Morrel ve ark'nın (87) belirttiğine göre Croq ve ark (1992)'nin Fransız ve İngiliz bireylerle yaptıkları çalışmada şizofreni ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin herhangi bir alelinin homozigositesi arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Bu çalışma, bizim sonuçlarımız ile uyumlu değildir.

Çalışmamızda, Serin (Ser9) ya da Glisin (Gly9) alellerinden herhangi birine sahip olup olmamaları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ($p=0,674$, $p=0,839$).

Şizofreni hastaları şizofreni tiplerine göre (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) ayrılarak DRD3 Ser9Gly polimorfizmi genotip dağılımları bakımından karşılaştırıldı. Şizofreni alt grupları arasında genotip dağılımı bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0,481$).

Griffon ve ark (39), şizofreni alt gruplarının bazılarında, DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminde herhangi bir alelin homozigositesi bakımından dezorganize şizofrenlerde anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. Dezorganize şizofrenlerde $p=0,008$, katatonik şizofrenlerde $p=0,570$, paranoid şizofrenlerde $p=0,605$ ve atipik şizofrenlerde $p=0,11$ olarak bulunmuştur. Çalışmamızın bulguları bu sonuçlarla uyumlu değildir.

Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre şizofreni grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldı ve homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P=0,739$).

Jönson ve ark (34), 110 şizofren hasta ile 83 sağlıklı kontrol bireyde ($p=0,710$), Meszaros ve ark (35) 95 şizofren hasta ile 83 sağlıklı kontrol bireyde ($p=0,056$), Staddon ve ark (26) 118 şizofren hasta ile 162 sağlıklı kontrol bireyde, Joober ve ark (96) şizofren hastalarında ($p=0,07$) yaptıkları çalışmalarda, şizofreni ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin herhangi bir alelinin homozigositesi arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur.

Spurlock ve ark (53) yaptıkları çalışmada şizofreni ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin herhangi bir alelinin homozigositesi (Ser9Ser yada Gly9Gly) arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır ($p=0,003$). Aynı çalışmada Ser9Ser genotipi dağılımında kontrol grubuna göre şizofreni hastalarında önemli bir farklılık gözlenmiştir ($p=0,004$).

Dubertret ve ark (37) yaptıkları meta analiz çalışmasında 982 şizofren hasta ve 1013 sağlıklı birey, şizofreni ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizminin herhangi bir alelinin homozigositesi bakımından karşılaştırılmış ve, şizofreni hastalar ile kontrol grubu arasında Ser9Ser genotipi dağılımı bakımından önemli bir fark olduğu gösterilmiştir ($p=0,05$). Bu sonuçlar çalışmamızın bulgularıyla uyumlu değildir.

Şizofreni hasta ve kontrol grupları, DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni hasta ve kontrol grubu, karşılaştırıldığında şizofren hasta grubunda Gly9Gly genotipine sahip bireylerde DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları yönünden bir artış gözlenmekle birlikte istatistiksel bir anlamlılık taşımamaktadır ($p= 0,460$).

Şizofreni ve kontrol gruplarında Ser9 veya Gly9 aleline sahip bireyler, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. Gruplarda Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (kontrol grubu için $p=0,6712$, şizofreni hasta grubu için $P=0,7931$). Şizofreni hasta ve kontrol grupları arasında Ser9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0,530$). Aynı şekilde, Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında da bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0,566$).

Şizofreni hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı gruplarına göre DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımı karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Kontrol grubunda $P=0,534$, şizofreni hasta grubunda ise $P=0,420$ 'dir.

Şizofren hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta

aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi alel frekansları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile Şizofren hasta grubu bireyleri arasında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi alel frekansları bakımından anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi (sırasıyla $P=0,759$, $P=0,176$).

Şizofreni alt tipleri ile kontrol gruplarında DRD3 Ser9Gly genotip dağılımı ile mRNA düzeyleri bakımından karşılaştırılması paranoid şizofrenili hastalarda Gly9Gly genotipine hiç rastlanmaması nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

Çalışmamızda PBL DRD3 mRNA düzeyleri ile şizofreni alt tipleri arasında bir anlamlılık saptanmıştır. Bu nedenle, şizofreni alt tiplendirme tanısında DRD3 geni PBL mRNA düzeylerinin periferik bir marker olarak kullanılabileceği ileri sürülebilir.

DRD3 Ser9Gly polimorfizmi ile şizofreni arasında yapılan birçok çalışmada ilişki bulunması ve bizim çalışmamızda böyle bir ilişkinin gözlenmemesi, polimorfizm çalışmalarında popülasyonun daha geniş tutulması gerekliliğini göstermektedir. Bu nedenle polimorfizm ile ilgili çalışmalar daha geniş bir çalışma grubuyla yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı bakımından şizofreni hasta grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, şizofreni hasta grubunda DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranında, kontrol grubuna göre bir artış gözlenmekle birlikte istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmadı ($p=0,411$).

DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarını % 25'lik ve %75'lik persentillere göre, düşük (0,6777'den küçük değerler), orta (0,6777 ile 0,9234 arasındaki değerler) ve yüksek (0,9234'ten büyük değerler) olarak 3 gruba ayrıldı. Şizofreni hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, oran düzeyi grupları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofren hastalar, kontrol grubu bireyleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,797$).

Hasta grubu, şizofreni tiplerine (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) göre ayrılıp, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni tiplerinden dezorganize şizofreni alt tipi ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenirken ($p=0,030$), atipik şizofreni ($p=0,692$) ve paranoid şizofreni alt tipleri ($P=0409$) ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Şizofreni alt tipleri (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) kendi aralarında da DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni tipleri arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,026$). Şizofreni alt tipleri arasında ikişerli olarak çoklu karşılaştırma sonucu, dezorganize şizofreni grubu ile paranoid şizofreni grubu arasında oran düzeyi bakımından anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,20581$).

DRD3 geni Ser9Gly Polimorfizmi genotipleri dağılımı, kontrol ve hasta gruplarında Hardy Weinberg dengesindedir [kontrol grubu ($p=0,757$) hasta grubu ($p=0,509$)].

Genotip frekansları bakımından iki grubu karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p=0,700$). Alel frekansları bakımından karşılaştırdığımızda da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p=0,617$).

Serin (Ser9) veya Glisin (Gly9) aleline sahip olup olmamalarına göre şizofreni grubunu kontrol grubuyla karşılaştırıldı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (sırasıyla; $p=0,674$, $p=0,839$).

Şizofren hastaları, şizofreni alt tipleri (atipik, dezorganize ve paranoid şizofreni) arasında, DRD3 Ser9Gly polimorfizmi genotip frekansları bakımından karşılaştırıldı. Şizofreni alt tipleri DRD3 Ser9Gly polimorfizmi genotip frekansları bakımından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ($p=0,481$).

Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre şizofreni grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Homozigot genotipe sahip olup olmamalarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir ($P=0,739$).

Şizofreni hasta ve kontrol grupları, DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 Ser9Gly genotip dağılımları ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından şizofreni hasta ve kontrol grubu, karşılaştırıldığında şizofren hasta grubunda Gly9Gly genotipine sahip bireylerde DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları yönünden bir artış gözlenmekle birlikte istatistiksel bir anlamlılık taşımamaktadır ($p= 0,460$).

Şizofreni ve kontrol gruplarında Ser9 veya Gly9 aleline sahip bireyler, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı. Gruplarda Ser9 veya Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (kontrol grubu için $p=0,6712$, şizofreni hasta grubu için $P=0,7931$).

Şizofreni hasta ve kontrol grupları arasında Ser9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0,530$). Aynı şekilde, Gly9 aleline sahip olma ile DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında da bir ilişki gözlenmemiştir ($p=0,566$).

Şizofreni hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımları bakımından karşılaştırıldı. DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı

gruplarına göre DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi genotip dağılımı karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi. Kontrol grubunda $P=0,534$, şizofreni hasta grubunda ise $P=0,420$ 'dir.

Şizofren hasta grubu ile kontrol grubu bireyleri, DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi alel frekansları bakımından karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile Şizofren hasta grubu bireyleri arasında DRD3 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı grupları ve DRD3 Ser9Gly Polimorfizmi alel frekansları bakımından anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi (sırasıyla $P=0,759$, $P=0,176$).

Şizofreni alt tipleri ile kontrol gruplarında DRD3 Ser9Gly genotip dağılımı ile mRNA düzeyleri bakımından karşılaştırılması paranoid şizofrenili hastalarda Gly9Gly genotipine hiç rastlanmaması nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirilemedi.

Şizofreni hastalarında PBL DRD3 geni mRNA düzeylerinin şizofrenide bir marker olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek ve PBL DRD3 geni mRNA düzeyleri ile DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak amacıyla planladığımız bu çalışma sonucunda; şizofreni alt tiplendirme tanısında, PBL DRD3 mRNA düzeylerinin periferal bir marker olarak kullanılabileceğini önerebiliriz.

Dünyada şizofreni insidansının herhangi bir aile öyküsü bulunmayan kişilerde %1 kadar olması ve hala etiolojisinin bilinmemesi, şizofreninin tanı ve tedavisiyle ilgili çalışmaların önemini arttırmaktadır. Uzun yıllar süren çalışmalara rağmen şizofreni tanısının hala klinik ölçütlere dayalı olması ve en az 6 aylık bir süreye ihtiyaç duyulması, periferal biyolojik bir marker gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle PBL dopamin reseptörleri mRNA ekspresyon düzeylerinin şizofreni için bir periferal marker olarak görev yapıp yapmayacağına dair çalışmalar çok önemlidir. Çalışmamıza benzer çalışmalar arttıkça şizofreni ve diğer nöropsikiyatrik hastalıkların tanısında daha hızlı ve daha kesin belirteçler kullanılıp kullanılmayacağı açıklık kazanacaktır.

Çeşitli gen polimorfizmleri ile şizofreni arasındaki ilişkinin araştırılması ve bu çalışmalar sonucu anlamlı bir ilişki bulunması şizofreniye eğilimi daha önce saptayacak ve hastalığın erken evrelerinde müdahaleyi mümkün kılacaktır. Biz de bu amaçla şizofrenili hastalarda DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi ile PBL DRD3 geni mRNA düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığını araştırdık.

DRD3 geni Ser9Gly polimorfizmi Gly9Gly genotipine sahip bireylerde PBL DRD3 geni mRNA düzeylerinde bir artış bulunmakla birlikte, bu artışın istatistiksel bir anlamlılığı olmadığı gözlemlendi. Daha geniş bir çalışma grubuyla. DRD3 Ser9Gly polimorfizmi ile şizofreni arasında yapılan birçok çalışmada anlamlı bir ilişki bulunması ve bizim çalışmamızda anlamlı bir ilişki gözlemlenmemiş olmamız, polimorfizm çalışmalarında populasyonun daha geniş tutulması gerekliliğini göstermektedir. Bu nedenle, polimorfizm ile ilgili çalışmaların daha geniş bir çalışma grubuyla yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Review of Literature; <http://herkules.oulu.fi/isbn9514267672/html/i43211.html#I43233> **Erişim Tarihi: 07.06.2006**
2. **Jönsson EG, Nöthen MM, Neidt H, Forslund K, Rylander G, Matilla-Evenden M, Asberg M, Propping P, Sedvall GC.** Association between a promoter polymorphism in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Schizophrenia Research*. **1999**; 40: 31-36.
3. **Ohara K, Nagai M, Tani K, Nakamura Y, Ino A, Ohara K.** Functional polymorphism of –141 ins/del in the dopamine D2 receptor gene promoter and schizophrenia. *Psychiatry Research*, **1998**; 81: 117-123.
4. **Chen CH, Liu MY, Wei FC, Koong FJ, Hwu H-G, Hsiao KJ.** Further Evidence of No Association Between Ser9Gly Polymorphism of Dopamine D3 Receptor Gene Schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1997**; 74: 40-43.
5. **Kaplan IH, Sadock BJ, Çev: Abay E.** *Klinik Psikiyatri*. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. **2004**; 121-138.
6. **Prasad S, Deshpande SN, Bhatia T, Wood J, Nimgaonkar VL, Thelma BK.** Association Study of Schizophrenia among Indian Families. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1999**; 88: 298-300.
7. **Weide VDJ, Steijin LSW, Van Der Geld M, De Groot PA.** D3 Dopamine Receptor mRNA Expression in Lymphocytes: A Peripheral Marker for Schizophrenia?. *Acta Neuropsychiatrica*, **2003**; 15: 91–93.
8. **Sobell JL, Mikesell, MJ, McMurray, CT.** Genetics and Etiopathophysiology of Schizophrenia, *Mayo Clin. Proc.* **2002**; 7: 1068-1082.
9. **Breen G, Brown J, Maude S, Fox H, Collier D, Li T, Arranz M, Shaw D, St.Clair D.** –141 C Del/Ins Polymorphism of The Dopamine Receptor 2 Gene is Associated with Schizophrenia in British Population. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1997**; 88: 407-410.
10. **Virgos C, Martorell L, Valero J, Figuera L, Civeira F, Joven J, Labad A, Vilella E.** Association Study of Schizophrenia with Polymorphisms at Six Candidate Genes. *Schizophrenia Research*, **2001**; 49: 65-71.

11. **Gelernter J, Kranzler H, Cubells JF, Ichinose H, Nagatsu T.** DRD2 Alele Frequencies and Linkage Disequilibria, Including the -141 C Ins/Del Promoter Polymorphism, in European-American, African-American, and Japanese Subjects. *Genomics*. **1998**; 5: 21-26.
12. **Itokawa M, Arinami T, Futamura N, Hamaguchi H, Toru M.** A Structural Polymorphism of Human Dopamine D2 Receptor, D2 (Ser311Cys). *Biochemical and Biophysical Research Communications*,**1993**; 196 (3): 1369-1375.
13. **Gelernter J, Kranzler H.** D2 Dopamine Receptor Gene (DRD2) Alele and Haplotype Frequencies in Alcohol Dependent and Control Subjects: No Association with Phenotype or Severity of Phenotype. *Neuropsychopharmacology*, **1999**; 20 (6): 640-649.
14. **Hori H, Ohmori O, Shinkai T, Kojima H, Nakamura J.** Association Analysis Between Two Functional Dopamine D2 Receptor Gene Polymorphisms and Schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **2001**; 105: 176-178.
15. **Arinami T, Itokawa M, Enguchi H, Tagaya H, Yano, S, Simizu, H, Hamaguchi, H, Toru M.** Association of Dopamine D2 Receptor Molecular Variant With Schizophrenia. *The Lancet*, **1994**; 343: 703-704.
16. **Harrison JP, Owen JM.** Genes For Schizophrenia Recent Findings and Their Pathophysiological Implications. *The Lancet*, **2003**; 361: 417-419.
17. **Jones WK, Peroutka JS.** Step-Wise Analysis of Polymorphisms In The Human Dopamine D2 Receptor Gene. *Neuropharmacology*, **1998**; 37: 803-814.
18. **Atilla G, Maytar S.** Nörotransmitterler: Etki Mekanizmaları Ve Fonksiyonları. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2002**; 2: 197-200.
19. **Kayaalp O.** *Tıbbi Farmakoloji*. Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti. Ankara. **1998**. 729-736.
20. **Rothschild LG, Badner J, Cravchik A, Gershon S, Gejman PV,** No Association Detected Between a D3 Receptor Gene-Expressed Variant and Schizophrenia, *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetic)*, **1996**; 67: 232-234.
21. **Ntzani EE, Ioannidis PA.** Pharmacogenetics and Association Studies in Schizophrenia. *Drug Development Resarch*, **2003**; 60: 152-163.
22. **Tanaka T, Igarashi S, Onodera O, Tanaka H, Takahashi M, Maeda M, Kameda K, Tsuji S, Ihda S.** Association Study Between Schizophrenia and Dopamine D3 Receptor Gene Polymorphisim. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*. **1996**; 67: 366-368.
23. **Ilani T, Ben-Shachar D, Strous RD, Mazor M, Sheinkman A, Kotler M, Fuchs S.** A Peripheral Marker for Schzphrenia: Increased Levels of D3 Dopamine Receptor mRNA in Blood Lymphocytes. *PNAS*, **2001**; 98 (2): 625-628.

24. **Czermak C, Lehofer M, Wagner EM, Prietl B, Lemonis L, Rohrhofer A, Schauenstein K, Liebmann PM.** Reduced Dopamine D4 Receptor mRNA Expression in Lymphocytes of Long-Term Abstinent Alcohol and Heroin Addicts. *Society for the Study of Addiction*, **2004**; 99: 251-257.
25. **Amenta F, Ricci A, Tayebati SK, Zaccheo D.** The Peripheral Dopaminergic System: Morphological Analysis, Functional and Clinical Applications. *Ital. J. Anat. Embryol.* **2002**; 107 (3): 145-167.
26. **Staddon S, Arranza MJ, Mancama D, Perez-Nievas F, Arrizabalaga I, Anney R, Buckland P, Elkina A, Osborne S, Munro J, Mata I, Kerwina RW.** Association between dopamine D3 receptor gene polymorphisms and schizophrenia in an isolate population. *Schizophrenia Research*, **2004**; 96: 51-57.
27. **Sanyal S, Van Tol HHM,** Review The Role of Dopamine D4 Receptors in Scizophrenia and Antipsychotic Action. *J Psychol Res*, **1997**; 31 (2): 219-232.
28. Dopamine hypothesis of schizophrenia http://en.wikipedia.org/wiki/Dopamine_hypothesis_of_schizophrenia; **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
29. **Strange PG.** Dopamine receptors. www.tocris.com, **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
30. **Civelli O.** Molecular Biology of The Dopamine Receptor Subtypes <http://www.acnp.org/G4/GN401000014/CH014.htm> | **Erişim Tarihi: 25 05.2006.**
31. **Kwak Y T, Koo MS, CH Choi, Sunwoo IN.** Change of dopamine receptor mRNA expression in lymphocyte of schizophrenic patients, *BMC Medical Genetics*; **2001**; 2 (3): 471-478.
32. **Cravchik A, Sibley DR, Gejman PV,** Functional Analysis of the Human D2 Dopamine Receptor Missense Variants. *The Journal of Biological Chemistry*, **1996**; 271 (42): 26013-26017.
33. DRD3 Gene. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=126451>- **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
34. **Jönsson EG, Nimgaonkar VL, Zhang XR, Shaw SH, Burgert E, Crocq MA, Chakravarti A, Sedvall GC.** Trend for an Association Between Schizophrenia and D3S1310, a Marker in Proximity to the Dopamine D3 Receptor Gene. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1999**; 88: 352-357.
35. **Meszaros K, Lenzinger E, Hornik K, Fureder T, Stomped V, Willinger U, Heiden A, Fathic N, Gerhard E, Fuchs K, Sieghart W, Kaspera S, Aschauera HN.** Brief report, Association study of schizophrenia spectrum disorders and dopamine D3 receptor gene: is schizoaffective disorder special? *Psychiatry Research* , **2000**; 96: 179-183 .
36. **Lerer B, Segman R H, Fangerau H, Daly A K, Basile V S, Cavallaro R, Aschauer H N, McCreadie R G, Ohlraun S, Ferrier N, Masellis M, Verga M, Scharfetter J, Rietschel M,**

- Lovlie R, Levy U H, Meltzer H Y.** Pharmacogenetics of Tardive Dyskinesia: Combined Analysis of 780 Patients Supports Association with Dopamine D3 Receptor Gene Ser9Gly. *Polymorphism Neuropsychopharmacology*, **2002**; 27 (1): 34-39.
37. **Dubertret C, Gorwood P, Ades J, Feingold J, Schwartz J-C, Sokoloff P.** Meta-Analysis of DRD3 Gene and Schizophrenia: Ethnic Heterogeneity and Significant Association in Caucasians American Journal of Medical Genetics. *Neuropsychiatric Genetics*, **1998**; 81: 318-322.
38. **Woo SI, Kim JW, Rha E, Han SH, Hahn KH, Park CS, Sohn JW.** Regular Article Association of the Ser9Gly polymorphism in the dopamine D3 receptor gene with tardive dyskinesia in Korean. *Schizophrenics Psychiatry and Clinical Neurosciences*, **2002**; 56: 469-474.
39. **Griffon N, Crocq MA, Pilon C, Martres MP, Mayerova A, Uyanik G, Burgert E, Duval F, Macher JP, Javoy-Agid F, Tamminga CA, Schwartz JC, Sokolof P,** Dopamin D3 Receptor Gene : Organization, Transcript Variants, and Polymorphisms Associated With Schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1996**; 67: 63-70.
40. **Kojima H, Ohmori O, Shinkai T, Terao T, Suzuki T, Abe K,** Dopamine D1 Receptor Gene Polymorphism and Schizophrenia in Japan. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1999**; 88: 116-119.
41. DRD4. http://alfred.med.yale.edu/alfred/recordinfo.asp?condition=loci.locus_uid='LO000227L. **Erişim Tarihi, 25.05.2006.**
42. **Xing QH, Wua SN, Linc ZG, Lic HF, Yanga JD, Fenge GY, Wang MT, Yang WW, Hea L.** Association analysis of polymorphisms in the upstream region of the human dopamine D4 receptor gene in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, **2003**; 65: 9-14.
43. DRD3. http://genecards.weizmann.ac.il/cgi-bin/geneloc/gene_densities, GeneCard for gene DRD3, GC03M115168. **Erişim Tarihi, 25.05.2006.**
44. **Sivagnanasundaram S, Morrissa AG, Gaitonde EJ, McKenna PJ, Mollon JD, Hunt DM.** A cluster of single nucleotide polymorphisms in the 50-leader of the human dopamine D3 receptor gene (DRD3) and its relationship to schizophrenia. *Neuroscience Letters* **2000**; 279: 13-16.
45. **Muglia P, Jain U, Kennedy J L.** A transmission disequilibrium test of the Ser9/Gly dopamine D3 receptor gene polymorphism in adult attention-deficit hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research*, **2002**; 130: 91-95.
46. **Basile VS, Masellis M, Badri F, Paterson AD, Meltzer HY, Lieberman JA, Potkin SG.** Association of the MscI Polymorphism of the Dopamine D3 Receptor Gene with Tardive Dyskinesia in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, **1999**; 21 (1): 17-27.

47. **Barbanti P, Fabbrini G, Ricci A, Paola Pascali M, Bronzetti E, Amenta F, Lenzi GL, Cerbo R.** Migraine patients show an increased density of dopamine D3 and D4 receptors on lymphocytes. *Cephalalgia*, **2000**; 20: 15-19.
48. **Rocca P, De Leoa C, Evab C, Marchiaroa L, Milania A M, Mussoa R, Ravizza L, Zanalda E, Bogettoa F.** Decrease Of The D4 Dopamine Receptor Messenger Rna Expression in Lymphocytes From Patients With Major Depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **2002**; 26: 1155-1160.
49. **Czermak C, Lehofer M, Renger H, Wagner E M, Lemonis L, Rohrhofer A, Schauenstein K, Liebmann P M.** Dopamine receptor D3 mRNA expression in human lymphocytes is negatively correlated with the personality trait of persistence. *Journal of Neuroimmunology*, **2004**; 150: 145-149.
50. **Ricci A, Bronzetti E , Mignini F, Tayebati S K, Zaccheo D, Amenta F.** Dopamine D1-like receptor subtypes in human peripheral blood lymphocytes. *Journal of Neuroimmunology*, **1999**; 96: 234-240.
51. **Vogel M, Pfeifer S, Schaub RT, Grabe H-J Barnowa V, Freybergera HJ, Cascorbi I.** Decreased Levels of Dopamine D3 Receptor mRNA in Schizophrenic and Bipolar Patients. *Neuropsychobiology*, **2004**; 50: 305-310.
52. **Czermak C, Lehofer M, Wagner EM, Prietl B, Gorkiewicz G, Lemonis L, Rohrhofer A, Legl T, Schauenstein K, Liebmann PM.** Reduced dopamine D3 receptor expression in blood lymphocytes of smokers is negatively correlated with daily number of smoked cigarettes: A peripheral correlate of dopaminergic alterations in smokers. *Nicotine & Tobacco Research*. **2002**; 6 (1): 49-54.
53. **Spurlock G, J Williams P, McGuffin HN, Aschauer E, Lenzinger K, Fuchs WC, Sieghart K, Meszaros N, Fathi C, Laurent J, Mallet F, Macciardi S, Pedrini M, Gill Z, Hawi S, Gibson, Jazin EE,, Yang HT, R. Adolfsson, Pato CN, Dourado AM, Owen MJ.** European Multicentre Association Study of Schizophrenia: A Study of the DRD2 Ser311Cys and DRD3 Ser9Gly Polymorphisms *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* **1998**; 81: 24–28.
54. **Eichhammer P, Albus M, Borrmann-Hassebach M, Schoeler A, Putzhammer A, Frick U, Klein HE, Rohrmeier T,** Association of Dopamine D3-Receptor Gene Variants With Neuroleptic Induced Akathisia in Schizophrenic Patients: A Generalization of Steen’s Study on DRD3 and Tardive Dyskinesia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **2000**; 96: 187-191.
55. **Akyol Ö.** Şizofrenide Oksidatif Stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **2004**; 5: 15-25.
56. **Ceylan E.** *Biyolojik Psikiyatri Şizofreni*. 2.Baskı, 1.Cilt, Astra Zeneca. İstanbul. **2001**.
57. **Meltzer HY, Fatemi H.** (Çev: İpekçi S.) *Şizofreni*. 19.Bölüm, Güneş Kitapevi Ltd. Şti. Ankara. **2003**; 260-277.

58. **Gershan SE.** Psychiatric Genetics (Strategies to İdentify Genes for Schizophrenia-Byerley, W Cooh , H. 361-382). Review of Psychiatry, 14, Eds. Oldham JM, MB Riba.Washington DC, American Psyciatric Press, 4. Editions, **1998**; 7 (2): 495-514.
59. **Köroğlu, E** (Çev). Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı (2).Kitap. 4. Baskı (DSM-IV), Amerikan Psikiyatri Birliği, Washington DC. 1994, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, **1996**; 337-365.
60. **Stober G, Jatzke S, Heils A, Jungkunz G, Knapp M, Mossner R, Riederer P, Lesch KP.** Insertion/Deletion Variant (-141 C Ins/Del) In The 5' Regulatory Region of The Dopamine D2 Receptor Gene :Lack of Association With Schizophrenia and Bipolar Affective Disorder, J Neural Transm , **1998**; 105: 101-109.
61. **Segura JW, Toller DA.** *Şizofreni* .1.Baskı, And Danışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. İstanbul . **2002**.
62. **Dewan N.** Schizophrenia. *Annual*, **2002**; 2 (7): 2774.
63. **Himei A, Koh J, Sakai J, Inada Y, Akabame K, Yoneda H.** Regular Article The influence on the schizophrenic symptoms by the DRD2 Ser/Cys311 and -141C Ins/Del polymorphisms. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, **2002**; 56: 97–102.
64. **Barr C L, Kennedy J B, Lichter J B, Van Tol H Hm, Wetterberg L, Livak K J, Kidd K K.** Alleles at The Dopamine D4 Receptors Lokus do Not Contribute to The Genetic Susceptibility to Schizophrenia in A Large Swedish Kindred. *Neuropsychiatric Genetics*, **1993**; 48: 218-222.
65. **Ambrosio AM, Kennedy JL, Macciardi F, Macedoc A, Valentec J, Douradoc A, Oliveiraa CR, Patod C.** Family association study between DRD2 and DRD3 gene polymorphisms and schizophrenia in a Portuguese population. *Psychiatry Research*, **2004**; 125: 185–191.
66. **Muir WJ,Thomson ML, McKeon P, Jhonson LM, Whitton C, Evans KL, Porteous DJ, Blackwood DHR,** Markers Close to The Dopamine D5 Receptor Gene (DRD5) Show Significant Association with Schizophrenia but not Bibolar Disorder. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **2001**; 105: 152-158.
67. **Tarazi FI.** Neuoro Pharmacology of Dopamine Receptors: İmplications in Neuropsychiatric Diseases. *Medical Sciences*, **2001**; 3 (2): 87-104.
68. **Hallmayer J.** Research Report The Epidemiology of The Genetic Liability For Schizophrenia Australian and New Zealand *Journal of Psychiatry* **2000**; 34: 47–55.
69. **Pearlson Godfrey D.** Neurobiology Of Schizophrenia. *Annals Of Neurology Neurological Progress* **2000**; 48 (4): 278-284.
70. **Mowry B J and Nancarrow D J.** Proceedings of the Australian Neuroscience Society Symposium: Schizophrenia, Molecular Genetics Of Schizophrenia Clinical and Experimental

Pharmacology and Physiology **2001**; 28: 66–69.

71. **Wickhama H, Walshb C, Ashersonc P, Gilld M, Owen M J, McGuffinc P, Murraya R, Shama P.** Familiality of clinical characteristics in schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research* **2002**; 36: 325–329.
72. **Laurance D R, Bennet P N, Brown M J.** Clinical Pharmacology. Eight Edition.
73. [http://salmon.psy.plym.ac.uk/year3/PSY337BiologicalTheoriesOfSchizophrenia/PSY337BiologicalTheories of Schizophrenia.htm](http://salmon.psy.plym.ac.uk/year3/PSY337BiologicalTheoriesOfSchizophrenia/PSY337BiologicalTheories%20of%20Schizophrenia.htm). **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
74. **Levant B.** The D3 dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance., *Pharmacol Rev.* **1997** 49 (3): 231-52.
75. <http://www.aderis.com/science/receptors.htm> **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
76. **Tohgi H, Utsugisawa K, Yoshimura M, Nagane Y, Mihara M,** Age- related changes in D1 and D2 receptor mRNA ex pression in postmortem human putamen with and without multiple small infarcts. *Neuroscience Letters*, **1998**; 243:37-40.
77. DRD1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=126449> **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
78. http://genecards.weizmann.ac.il/cgi-bin/geneloc/ gene_densities, GeneCard for gene DRD1, GC05M174848. **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
79. DRD5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=126453> **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
80. Gene Card for Gene DRD5, http://genecards.weizmann.ac.il/cgi-bin/geneloc/ gene_densities, GC04P009534. **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
81. DRD2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=126450>. **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
82. DRD2. http://genecards.weizmann.ac.il/cgi-bin/geneloc/ gene_densities, GeneCard for gene DRD2, GC11M112817 **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
83. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=AC092902.10>, Homo sapiens chromosome 3 genomic contig. **Erişim Tarihi: 25.05.2006.**
84. **Serretti A, Lattuada E, Cusin C, Lilli R, Lorenzi C, Smeraldi E.** Dopamine D3 Receptor Gene not Associated With Symptomatology of Major Psychoses. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1999**; 88: 476–480.

85. **Nimgaonkar VL, Zhang XR, Cladwell JG, Ganguli R, Chakravarti A.** Association Study of Schizophrenia with Dopamine D3 Receptor Gene Polymorphism: Probable Effects of Family History of Schizophrenia? *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1993**; 48: 214-217.
86. **Gorwood P, Limosin F, Batel P, Daux E, Gouya L, Adès J.** The genetics of addiction: alcohol-dependence and D3 dopamine receptor gene. *The genetics of addiction* **1998**; 89: 76-80.
87. **Morell R. J.** Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene, *J Med Genet* **1993**; 30: 708-712.
88. **Joyce P R, Rogers G R, Miller A L, Muldera R T, Luty S E, Kennedy M A.** Polymorphisms of DRD4 and DRD3 and risk of avoidant and obsessive personality traits and disorders. *Psychiatry Research* **2003**; 119: 1-10.
89. http://genecards.weizmann.ac.il/cgi-bin/geneloc/gene_densities, GeneCard for gene DRD4, GC11P000627. **Erişim Tarihi, 25.05.1006.**
90. DRD4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=126452> **Erişim Tarihi, 25.05.1006.**
91. **Hong CJ, Lee YL, Sim CB, Hwu HG.** Dopamine D4 Receptor Variants in Chinese Sporadic and Familial Schizophrenics. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, **1997**; 74: 412-415.
92. **Midtsuyasu H, Hirata N, Sakai Y, Shibata H, Takeda, Y, Ninomiya H, Kawasaki H, Tashiro N, Fukumaki Y.** Association Analysis of Polymorphisms in the Upstream Region of the Human Dopamine D4 Receptor Gene (DRD4) with Schizophrenia and Personality Traits, *J. Hum. Genet.*, **2001**; 46, 26-31.
93. **Miller SA, Dykes DD, Polesky HF.** A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, **1988**; 16: 12-15.
94. **Chomczynski P, Sacchi N.** Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate-Phenol-Chloroform Extraction. *Analytical Biochemistry*, **1987**; 162: 156-159.
95. **Schmauss C, Haroutunian V, Davis KL, Davidson M.** Selective loss of dopamine D3-type receptor mRNA expression in parietal and motor cortices of patients with chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **1993**; 90 (19): 8942-8946.
96. **Joober R, Toulouse A, Benkelfat C, Lal S, Bloom D, Labelle A, Lalonde P, Turecki G, Rouleau GA.** DRD3 and DAT1 genes in schizophrenia: an association study. *J Psychiatr Res.* **2000**; 34 (4-5): 285-91.

Meral URHAN KÜÇÜK'ÜN Özgeçmişi

1974 yılında Antakya'da doğdu. İlköğrenimini Cengiz Topel İlkokulu'nda, orta öğrenimini Elektrik Ortaokulu'nda lise öğrenimini ise 23 Temmuz Lisesi'nde tamamladı. 1998 yılında Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 1998–2001 yılları arasında Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansını tamamladı. 2001 yılında Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Doktora başladı. Oradan ayrılıp, 2002 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Doktora başladı. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda doktora yapmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.