

آنالیز پلی مورفیسم در ارتباط با بروز بیماری اسکیزوفرنی

سعید حیدری کشل¹، سعید رحمان زاده^{2*}، فریبا قاسم وند²، محمدحسین ملکی³

- (1) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
 (2) دپارتمان بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران
 (3) گروه میکروپ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ پذیرش: 91/11/18

تاریخ دریافت: 91/8/13

چکیده

مقدمه: اسکیزوفرنی یک بیماری و اختلال روانی پیچیده و ناتوان کننده است. شواهدی مبنی بر ارتباط ژنتیکی ژن پرولین دهیدروژناز با بروز اسکیزوفرنی وجود دارد. در این تحقیق ارتباط این ژن را با بررسی یک پلی مورفیسم ژنی مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش ها: در این پروژه از 150 فرد مبتلا به اسکیزوفرنی حاد و 160 فرد سالم برای این بیماری که داوطلب اجرای این کار بودند خون گیری به عمل آمد. تست های مرتبط با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام گرفت. انجام واکنش PCR، برش آنزیمی و سپس بررسی الگوی برش قطعات بر روی ژل آگارز 4 درصد برای تعیین نوع ژنوتیپ هر یک از نمونه ها صورت گرفت. سپس مقایسه ژنوتیپ های به دست آمده بین دو گروه کنترل و شاهد با آنالیز آماری با نرم افزار SPSS v.16 نتیجه نهایی تحقیق را مشخص ساخت. در این بررسی SNP 1945T>C و ارتباطش یا این بیماری را در جمعیت آماری خود را مورد تحقیق قرار دادیم.

یافته های پژوهش: یافته ها نشان دادند که ارتباط معنی داری بین بروز این جهش تک نوکلئوتیدی و فراوانی آن در بین افراد بیمار وجود دارد. ($P=0.00$)

بحث و نتیجه گیری: نتیجه نهایی، حاکی از این است که ژن PRODHD می تواند به عنوان یک ژن کاندیدای مهم در جمعیت به عنوان عاملی در بروز اسکیزوفرنی مورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: اسکیزوفرنی، پرولین دهیدروژناز، پرولین

*نویسنده مسئول: دپارتمان بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران

مقدمه

اسکیزوفرنی یک بیماری روانی قوی و بسیار شدید است، میزان شیوع این بیماری تقریباً 1 درصد در جمعیت جهانی است، (۱،۴). این بیماری اساساً در اواخر دوره جوانی و اوایل بزرگسالی بروز می یابد، در این زمان است که علائم و ویژگی های روان شناختی بیماری بروز می یابد و اغلب منجر به یک دوره زندگی سخت و همراه با رنج هم برای فرد بیمار و هم برای خانواده او می گردد. در گزارشی از سازمان بهداشت جهانی در مورد میزان سنگینی این بیماری که بر کشور های توسعه یافته تحمیل می شود، اسکیزوفرنی را در بین همه بیماری های موجود در تعداد سال هایی که این بیماری باعث ناتوانی فرد در زندگی اش می شود در رده پنجم رده بندی کرده اند، (12). و این امر هم به میزان مرگ و میر بسیار بالایی در حدود 4-14 درصد در بین افراد مبتلا به این بیماری مربوط می شود که به واسطه ارتکاب به خود کشی در این افراد است، (5). مهم ترین جنبه این گروه از بیماری ها شامل تغییرات در شکل گیری و محتوی تفکر و تخریب در کارکردهای روان شناختی است که این امر به نوبه خود منجر به اختلال در شرایط اجتماعی این افراد می گردد. گزارشی که از عکس برداری مغزی آمده است نشان می دهد که این بیماری حاصل اختلال در ساختار و عملکرد مغز در بخش لوپ تمپورال چپ مغز است. از طرفی بررسی ها بر روی دوقلوهای تک تخمکی نشان داده اند که این بیماری دارای اساس ژنتیکی می باشد. مطالعه بر روی وراثت اسکیزوفرنی حاکی از این است که این بیماری یک اختلال ژنتیکی بسیار پیچیده ای است که می تواند تحت اثر چندین ژن باشد. به عبارتی الگوی اختلال آن به صورت مولتی ژنیک است. تخمین زده شده است که احتمال وراثت پذیری این بیماری در حدود 84-82 درصد است، (15). بر اساس متا آنالیزهایی که از اسکن ژنومی انجام شده است، (11)، و آنالیزهای پیوستگی ژنی وجود جایگاه های ژنی بسیار مستعدی را بر روی کروموزوم های 1q,3p,5q,6p,8p,11q,14p,20q,22q نشان داده اند که در بروز اسکیزوفرنی دخیل

می باشند، (۶،۱۴). در این بین یکی از مهم ترین ژن های دخیل در این بیماری ژن PRODH است که در کروموزوم 22q11 واقع شده است. بیان این ژن در مغز بسیار زیاد است و پروتئینی را کد می کند تحت نام پرولین دهیدروژناز (اکسیداز) که اولین مرحله از تجزیه پرولین را کاتالیز می نماید. (به دلنا-1- پیرولین-5- کربوکسیلات) که این محصول در نهایت به گلوتامات و گاما-آمینو بوتیریک اسید تبدیل می شوند که دو نوروترانسمیتر مهم مغزی می باشند، (17). بالطبع نقص در این ژن می تواند این روند را تحت تاثیر قرار دهد. گزارش شده است که تعدادی از جهش ها در این ژن می تواند باعث کاهش در بیان این ژن شده و در نتیجه میزان پرولین در پلاسما خون را بالا ببرد و منجر به هایپر پرولین تیپ 1 شود که دیده شده این افراد بسیار مستعد برای اسکیزوفرنی هستند. از طرفی شواهدی هم نشان داده اند که تعدادی از جهش ها در این ژن می توانند باعث هایپراکتیویته این ژن شوند و میزان بیان آن را بالا ببرند در نتیجه میزان بیان آنزیم مربوطه افزایش یافته و طبعاً میزان پرولین پلاسمایی کاهش یافته و در عوض گلوتامات زیاد تر می شود. شواهدی نشان داده اند که پرولین در مغز نقش عملکردی دارد، شامل تنظیم عملکرد Ach و نیز به عنوان یک پیش ساز متابولیکی برای گلوتامات در یک زیرگروهی از نورون های گلوتاماتی. کارکرد عمده این ژن در سبب شناسی این بیماری، اساساً بر پایه نقش L-prolin/P5C- پرولین به عنوان یک تنظیم گر انتقال گلوتاماتی در مغز و بیان آنزیم پرولین اکسیداز و مسیر P53 و آپوپتوز می باشد. در سرکوبی رشد وابسته به P53 و آپوپتوز می باشد. تحقیقاتی که در جمعیت های مختلف بر روی این ژن انجام شده است نشان داده اند که تعدادی از جهش های موجود در این ژن فرد را مستعد برای بروز اسکیزوفرنی ساخته اند در حالی که تعدادی دیگر تاثیرگذار در روند بیماری نبوده اند، (۳،۷،۱۹) این ژن واجد 15 اگزون بوده و در حدود 23/77 kb و در نزدیکی انتهای سنترومیک ناحیه ای که در سندروم دایجورج و ولوکاردا فشیال حذف شده اند، قرار گرفته است در واقع اولین شک به منطقه و شناسایی این ژن به عنوان یک ژن کاندید برای این بیماری بر این

تقریباً از مناطق مشابهی جمع آوری شوند. این طرح بر اساس ارزیابی کمیته اخلاق بیمارستان روان پزشکی رازی انجام گرفت.

ژنوتایپینگ

برای همه نمونه ها، خون گیری به میزان 5-8 ml و در لوله های EDTA دار انجام گرفت. نمونه ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافتند و سپس DNA آن ها با استفاده از روش استخراج نمکی جداسازی شدند. در ادامه، برای ژنوتایپینگ ژن PRODH، بر اساس جفت پرایمرهایی که از قبل و بر مبنای SNP مورد نظر طراحی شده بودند واکنش زنجیره پلی مرازی (PCR) جهت تکثیر اگزون مورد بررسی انجام شد. در ادامه محصول PCR تحت اثر آنزیم محدودالایر مناسب قرار گرفت و برای مشاهده الگوی مهاجرت قطعات مخلوط واکنش به روی ژل آگارز 4 درصد برده شد.

در این بررسی مارکر SNP1945 T>C (rs 372055) را به عنوان یک مارکر ژنتیکی برای این ژن مورد تجزیه و تحلیل قرار دادیم و از آنزیم PvuII برای تعیین ژنوتایپ بهره بردیم. این مارکر قبلاً در تحقیقاتی در جمعیت های دیگری بررسی شده بود که در برخی از این جمعیت ها دارای ارتباط معنی داری در ارتباط با بروز این بیماری گزارش شده بود. ما در این تحقیق برای نخستین بار این مارکر را بر روی ژن PRODH در جمعیت ایرانی مورد تحقیق قرار دادیم. برای این منظور پرایمری (PI, PII جدول شماره 1) با نرم افزار Oligo 7 طراحی شد و واکنش PCR برای تکثیر اگزون شماره 2 این ژن که جایگاه این مارکر می باشد، انجام شد. بعد از این مرحله، برای اطمینان از صحت و درستی تکثیر آمپلیکون مورد نظر، محصول PCR را بر روی ژل آگارز 1 درصد انتقال داده شد، در ادامه این محصول را تحت اثر آنزیم PvuII قرار داده و در نهایت محصول عمل را برای بررسی بر روی ژل آگارز 4 درصد انتقال داده شد.

اساس بود که دیدند افراد مبتلا به سندرم دایجورج و ولو کاردیا 20-30 درصد بیشتر از افراد دیگر مستعد برای بروز اسکیزوفرنی هستند، (۲،۱۳)، بنا بر این با غربالگری ژنی که در این منطقه انجام شد منجر به شناسایی تعدادی از ژن های مستعد در بروز این بیماری شدند که یکی از مهم ترین این ژن ها ژن پرولین دهیدروژناز بود. همان گونه که اشاره شد مطالعات مختلفی بر روی پلی مورفیسم این ژن و ارتباطشان با اسکیزوفرنی انجام شده است، (10،11). در این تحقیق به بررسی ارتباط SNP 1945 T>C پرداختیم، که در اگزون 2 این ژن واقع شده است و جایگزینی نوکلئوتیدی C به جای T منجر به جایگزینی آمینواسید ایزولوسین به جای لوسین در جایگاه آمینو اسیدی 581 آنزیم پرلین اکسیداز می گردد که به نظر می رسد این جایگزینی منجر به کاهش عملکرد این آنزیم می گردد. این تحقیق برای اولین بار در ایران صورت می گرفت.

مواد و روش ها

نمونه ها

در این پروژه، همه نمونه ها ایرانی مربوط به نقاط مختلف ایران انتخاب شدند. در این کار از حدود 150 نمونه بیمار خون گیری به عمل آمد که دارای میانگین سنی $41/7 \pm 13/5$ سال و شامل 80 مرد و 70 زن که از بیمارستان ها و کلینیک های روان پزشکی و زیر نظر روان پزشکان متخصص جمع آوری شده بودند. این بیماران بر اساس متد شناخته شده DSMIV (Diagnostic & Statistical Manual of mental disorder) و با نظر پزشک معالج انتخاب شدند که این بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی حاد بودند. 160 نمونه کنترل هم که به صورت داوطلبانه در این طرح شرکت داشتند، مورد استفاده قرار گرفتند. این افراد برای این بیماری سالم بودند. این افراد دارای میانگین سنی $40/5 \pm 13/2$ و شامل 82 زن و 78 مرد بودند. سعی بر این شد که نمونه های بیمار و کنترل

جدول شماره 1. ویژگی های پرایمر مورد استفاده

T1945C Amplicon length: 499 bp RE: PvuII	PI) Forward primer: 5'-3'	CTCCTGGTGGCGATGGGGTAC Tm: 71 GC: 66.7% 21 mer attachment site: 22877
	PII) Reverse primer: 5'-3'	GGGCCACACATTCGAGGAG Tm: 71.2 GC: 65% 20 mer attachment site: 23375

PRODH واقع شده است، در حالت طبیعی این کدون برای آمینواسید 581 Lue در پروتئین پرولین دهیدروژناز کد می شود، در حالی که بروز این جهش و جایگزینی T>C در این جایگاه منجر به جایگزینی Ile در پروتئین مربوطه می گردد. ژنوتیپ این کدون با استفاده از آنزیم محدودالایر PvuII مورد بررسی قرار گرفت. در افراد با ژنوتیپ هموزیگوت سالم TT می بایست یک جایگاه برشی برای این آنزیم وجود داشته باشد که در نتیجه دو باند شامل حدوداً 200bp و 300 bp را بر روی ژل مشاهده خواهیم کرد و برای افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت TC دو جایگاه برشی و در نتیجه 3 باند شامل حدوداً 100bp، 200bp و 300bp را بر روی ژل داریم و در افراد دارای ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب CC می بایست 3 باند مشاهده شود که البته بدین صورت است که دو باند 200bp و یک باند حدوداً 100bp که طبعاً زمان مشاهده بر روی ژل آگارز دو باند 200bp را روی هم و به صورت یک باند شارپ تر و مشخص تر می بینیم به همراه یک باند 100bp که کم رنگ تر مشاهده می شود. (شکل شماره 1) بر اساس این داده ها، در بررسی به 7 فرد با ژنوتیپ مغلوب CC در گروه بیماران مواجه شدیم که این ژنوتیپ را در هیچ یک از افراد گروه کنترل مورد مطالعه مشاهده نشده بود. هم چنین 26 فرد با ژنوتیپ هتروزیگوت TC را در افراد بیمار مشاهده شد که این ژنوتیپ را در 3 فرد گروه کنترل نیز قابل رویت بود.

آنالیز آماری

در این مطالعه تعادل هاردی واینبرگ بر اساس تست جدول کی دو برای SNP مورد نظر انجام شد، آنالیز آماری با برنامه نرم افزاری SPSS v.16 صورت گرفت. در این بررسی $P < 0.05$ دارای معنی آماری بود.

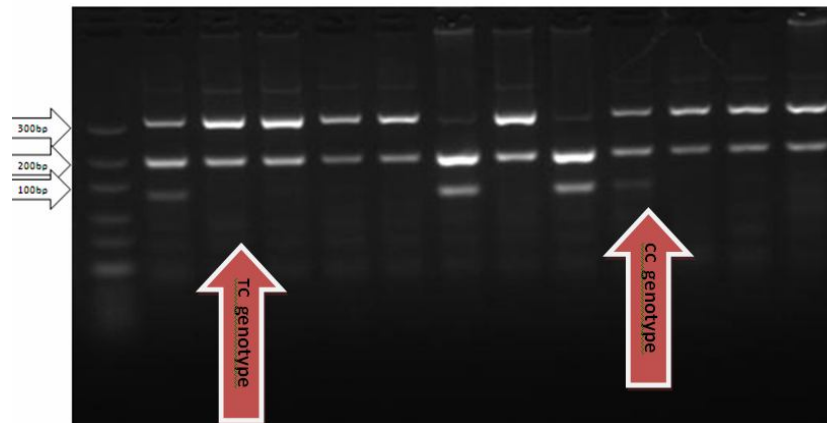
یافته های پژوهش

ویژگی های جمعیتی

در این کار، 150 فرد بیمار شامل 80 زن و 70 مرد در رنج سنی بین 18-60 سال به همراه 160 فرد سالم برای این بیماری شامل 2 زن و 78 مرد در رنج سنی بین 20-58 سال به خدمت گرفته شدند. در مجموع در این کار 162 زن و 148 مرد مورد مطالعه قرار گرفتند. در این بررسی مشخص شد که از لحاظ میزان سطح آموزش، سطح سواد افراد بیمار کمتر از افراد سالم بود. میانگین سن بروز این بیماری در زنان $26/5 \pm 10/2$ سال و در مردان $22/8 \pm 7/6$ سال بود هم چنین در بررسی ها مشخص شد که 32 درصد از بیماران ازدواج کرده بودند، در حالی که این میزان در افراد کنترل 79/5 درصد بود.

ارتباط بروز اسکیزوفرنی با SNP مورد مطالعه در ژن *PRODH*

همان گونه که اشاره شد در این تحقیق، از یک مارکر SNP برای بررسی ارتباط ژن *PRODH* با بیماری اسکیزوفرنی بهره بردیم. که شامل T>C SNP1945 (rs 372055) می باشد. طبق بررسی های قبلی این مارکر در اگزون 2 ژن



شکل شماره 1. برش آنزیمی با PvuII: در این تصویر مشاهده می کنیم که ژنوتیپ CC عملاً دو باند را نشان می دهد که شامل یک باند پر رنگ که از روی هم افتادن 2 باند 200bp حاصل شده است و یک باند کم رنگ 100bp و در افراد با ژنوتیپ TC نیز 3 باند را می بینیم که شامل 100, 200, 300bp می باشد. در افراد هموزیگوت وحشی TT نیز دو باند 200, 300 bp را مشاهده می کنیم.

بعدها دچار اسکیزوفرنی می گردند احتمال بیشتری هست که در زمستان و اوایل بهار متولد شده باشند و احتمال کمتری هست که در اواخر بهار و تابستان به دنیا آمده باشند. (15)

بر اساس نتایج این آنالیز، بیشترین افراد بیمار در فصل زمستان متولد شده اند و از این نظر اختلاف معنی داری بین افراد گروه کنترل و بیمار وجود داشت. ($P < 0.001$)

بررسی استعمال سیگار و تاثیر آن بر این بیماری

در پاره ای از بررسی هایی که افراد مختلف انجام داده اند مشخص شده است که سیگاری بودن می تواند در ارتباط مستقیم با بروز علائم اسکیزوفرنی باشد. (9) در این جا این امر را در بین جامعه آماری خود مورد آنالیز آماری قرار دادیم که نتایج آن به شرح ذیل است. بررسی از لحاظ سیگاری بودن افراد به عنوان یک عامل محیطی و جانبی و اثر بر روی این بیماری، مقایسه بین گروه کنترل و شاهد نشان داد که تعداد افراد سیگاری در بین گروه بیمار خیلی بیشتر از گروه کنترل می باشد و رابطه معنی داری را با این بیماری نشان داد. ($P < 0.001$)

بررسی اثر متقابل سیگار و جنسیت با پلی مورفیسم مورد نظر

نتایج بررسی اثر متقابل سیگاری بودن و جنسیت و ارتباطش با پلی مورفیسم مورد نظر نشان داد که ارتباط

بر اساس داده های آماری برای این ژنوتیپ مورد بررسی، تفاوت معنی داری را مابین گروه کنترل و بیمار برای فراوانی آللی C جهش یافته مشاهده کردیم. فراوانی آللی این آلل جهش یافته در گروه بیمار بسیار بیشتر از گروه کنترل مشاهده شد، به طوری که این امر نشان می دهد که پلی مورفیسم T1945C در این جمعیت می تواند دارای ارتباط با بروز بیماری اسکیزوفرنی باشد. به عبارت دیگر مارکر SNP1945 T>C در جمعیت مورد بررسی ارتباط معنی داری با بیماری اسکیزوفرنی نشان داد. ($P < 0.001$)

بررسی اثر عوامل مستقل بر بروز بیماری

در این کار در کنار بررسی اثر ژنتیکی مارکر مورد نظر بر بیماری، اثر یک سری از عوامل مستقل از ژنتیک را هم مورد آنالیز آماری قرار دادیم از جمله فصل تولد، سن، جنسیت و سیگاری بودن افراد بیمار در مقایسه با گروه کنترل.

بررسی فصل تولد

در نیمکره شمالی بسیاری از بیماران اسکیزوفرنی در سه ماهه اول سال یعنی بین ماه های ژوئیه و سپتامبر متولد می شوند. در نیمکره جنوبی بروز این بیماری در بین متولدین ماه های ژوئیه و سپتامبر کمتر است. این تفاوت ها احتمالاً ناشی از تاثیر محیط بر روی مادر و یا بر روی رشد جنین است. یک یافته مهم در پژوهش های اسکیزوفرنی این است که کسانی که

معنی داری در مقایسه بین دو گروه کنترل و بیمار وجود ندارد. ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه گیری

ژن پرولین دهیدروژناز که بر روی کروموزوم 22q11.2 و در منطقه ای کاملاً مستعد برای بروز جهش ها و میکرودلشن هایی که منجر به وقوع بیماری های روانی به خصوص اسکیزوفرنی می شوند، واقع شده است. (۱۰،۱۹)، و با توجه به این که در برخی از جمعیت ها این ژن به عنوان یکی از مهم ترین ژن های مستعد برای این بیماری گزارش شده بود و پلی مورفیسم های متعددی از این ژن در کدون های مختلف بررسی شده بود که حاصل آن در برخی از جمعیت ها نشان از ارتباط شان با بیماری داشت و در برخی دیگر هم ارتباطی را نشان نمی داد. (۲،۱۶،۱۸،۱۹) فرضیه این بود که ژن پرولین دهیدروژناز به عنوان یکی از مهم ترین ژن های دخیل در بروز اسکیزوفرنی که اثر آن در مستعد ساختن افراد برای ایجاد اسکیزوفرنی در برخی از جمعیت های مختلف اثبات شده است، در جمعیت ایران هم می تواند در بروز این بیماری دخیل باشد. به واقع می خواهیم بیان کنیم که ژن پرولین دهیدروژناز یکی از ژن های مستعد کننده در بروز بیماری اسکیزوفرنی در ایران است.

و در این فرضیه از یک پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی گزارش شده در جمعیت های دیگر، که البته در برخی از جمعیت ها نیز همان طور که اشاره شد این SNP ها فاقد ارتباط با بیماری دیده شد، استفاده کردیم که این SNP عبارت است از (1945T/C rs372055) می باشند. هم چنین عواملی چون جنسیت و سیگاری بودن و فصل تولد نیز مورد نظر بود.

همان گونه که بیان شد آلل، T1945C در اگزون شماره 2 این ژن واقع شده است و به طور طبیعی این کدون، کدکننده آمینواسیدلوسین در موقعیت 581 در این آنزیم می باشد. این پلی مورفیسم در جمعیت های دیگری هم مورد بررسی قرار گرفته مثلاً در سال 2006 در تحقیقی بر روی جمعیتی اروپایی این کدون بررسی شد، در این کار آن ها از 488 نفر به صورت

خانواده های 3 تایی شامل والدین و فرزند بیمار در جمعیت بلغاری استفاده کردند، نتایج نشان می داد که این آلل جهش یافته در بروز این بیماری فراوانی معنی داری را ندارد و یا در سال 2003 یک گروه تحقیقاتی در چین ارتباط این پلی مورفیسم را با اسکیزوفرنی در جمعیت شرق چین مورد آنالیز قرار دادند، آن ها نیز در این کار از 166 والد به همراه فرزند بیمارشان استفاده کردند و این منطقه از ژن را مورد بررسی ژنوتایپی قرار دادند در این جا نیز ارتباط معنی داری در ارتباط با آلل 1945 مشاهده نشد. نتایج مطالعه حاضر نشان از آن داشت که این کدون می تواند در بروز این بیماری در جامعه آماری موثر باشند. نتایج به دست آمده بدین صورت بودند که در جمعیت بیمار 8 فرد هموزیگوت مغلوب CC را داشتیم و این ژنوتیپ را در هیچ یک از افراد گروه کنترل خود مشاهده نکردیم، هم چنین 28 فرد هتروزیگوت TC را در جمعیت بیمار و 3 فرد هتروزیگوت را در گروه کنترل خود مشاهده کردیم. تعداد افراد هموزیگوت سالم نیز در جمعیت بیمار 113 مورد و در جمعیت کنترل 157 مورد بود. با توجه به تست Chi-Square نشان داده شد که این پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی $T > C$ می تواند با توجه به $P < 0.001$ از نظر آماری در بروز بیماری در جمعیت مورد بررسی تاثیر گذار باشد.

باز هم پلی مورفیسم دیگری در این ژن در جمعیتی دیگر بررسی شد که نشان می داد، در مورد کدون A1766G، این کدون در اگزون شماره 13 این ژن واقع شده است. در سال 2009 در کشور یونان این کدون به همراه کدون 1945 و 1852 در 217 نفر بررسی شد و هاپلوئید CGA برای این 3 کدون را در مقایسه با گروه کنترل دارای ارتباط معنی دار در مستعد ساختن فرد در ابتلا به اسکیزوفرنی گزارش کردند. در یک جمعیت چینی این کدون فاقد ارتباط با بیماری گزارش شده بود. (16)

کدون C1482T هم که در اگزون 11 به عنوان یک جایگاه با ریسک پذیری بالا برای بروز انواع جهش ها در این ژن گزارش شده بود. نتیجه کلی که از این نتایج می توان گرفت این است که ژن پرولین

گرفتند که نتایج آماری نشان می دهند که سن ارتباط معنی داری با این بیماری دارد، میانگین سنی افراد بیمار $41/7 \pm 13/5$ و افراد سالم $40/5 \pm 13/2$ می باشد. میانگین سن بروز بیماری در مردان $22/8 \pm 7/6$ و در زنان $26/5 \pm 10/2$ می باشد. اختلاف مشاهده شده از لحاظ آماری معنی دار بود. ($P=0.009$) در مورد جنسیت نیز ارتباطی بین جنسیت با پلی مورفیسم های مورد نظر مشاهده نشد. فصل تولد هم با نظریات پیشنهاد شده قبلی که بیان می کرد در نیمکره جنوبی احتمال بروز بیماری در متولدین فصل زمستان بیشتر است، مطابقت معنی داری دارد. به طوری که 58 درصد از بیماران مورد بررسی در این فصل متولد شده بودند. سیگاری بودن هم در ارتباط کلی با بیماری داری ارتباط معنی داری بود اما در ارتباط با پلی مورفیسم های آنالیز شده ارتباطی را نشان نداد.

References

1-Vrijenhoek T, Buizer-Voskamp JE, van der Stelt I, Strengman E; Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP) Consortium, Sabatti C, et al. Recurrent CNVs disrupt three candidate genes in schizophrenia patients. *Am J Hum Genet* 2008;83:504-10.
 2-Glaser B, Moskvina V, Kirov G, Murphy KC, Williams H, Williams N, et al. Analysis of ProDH, COMT and ZDHHC8 risk variants does not support individual or interactive effects on schizophrenia susceptibility. *Schizophr Res* 2006;87:21-7.
 3-O'Tuathaigh CM, Babovic D, O'Meara G, Clifford JJ, Croke DT, Waddington JL. Susceptibility genes for schizophrenia: characterisation of mutant mouse models at the level of phenotypic behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2007;31:60-78.
 4-Goldner EM, Hsu L, Waraich P, Somers JM. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: asystematic review of the literature. *Can J Psychiatry* 2002;47:833-43.
 5-Newman SC, Bland RC, Thompson AH. Long-term course and outcome in schizophrenia: a 34-year follow-up study in Alberta, Canada. *Psychol Med* 2012;42:2137-43.

دهیدروژناز می تواند به عنوان یک ژن کاندیدای مهم در بروز اسکیزوفرنی در جمعیت مورد بررسی باشد. البته همان گونه که بیان شد این بیماری از یک طرف تحت اثر عوامل محیطی نیز به وجود می آید و نیز از طرفی یک بیماری با الگوی وراثتی پیچیده گزارش شده است که ژن های مختلفی را هم برای آن کاندید می دانند. از جمله در همین منطقه کروموزومی که ژن پرولین دهیدروژناز قرار دارد ژن های مهمی چون COMT و ZDHHC8 قرار دارند که گزارش هایی مبنی بر اهمیت آن در بروز بیماری گزارش شده است، (2). به همین جهت نمی توان بیان کرد که نتایج نشان می دهد که فقط ژن پرولین دهیدروژناز در بیماران باعث بروز بیماری شده است. ولی از نتایج حاصل بر می آید که این ژن می تواند ژن مهمی در مستعد سازی جمعیت برای این بیماری باشد. بررسی های ارتباط سن و جنسیت و فصل تولد و سیگاری بودن در بروز بیماری نیز مورد بررسی قرار

6-Harrison PJ, Owen MJ. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet* 2003; 361:417-9.
 7-Ishiguro H, Horiuchi Y, Koga M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, et al. RGS4 is not a susceptibility gene for schizophrenia in Japanese: association study in a large case-control population. *Schizophr Res* 2007;89:161-4.
 8-Gogos JA, Gerber DJ. Schizophrenia susceptibility genes: emergence of positional candidates and future directions. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:226-33.
 9-Williams JH, Wellman NA, Rawlins JN. Tobacco smoking correlates with schizotypal and borderline personality traits. *Addiction* 1996; 91:869-77.
 10-Liu H, Abecasis GR, Heath SC, Knowles A, Demars S, Chen YJ, et al. Genetic variation in the 22q11 locus and susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:16859-64.
 11-Liu H, Heath SC, Sobin C, Roos JL, Galke BL, Blundell ML, et al. Genetic variation at the 22q11PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:3717-22.

12-Potera C. Global burden of disease study uncovers new challenges of longevity. *Am J Nurs* 2013;113:15.

13-Williams NM, O'Donovan MC, Owen MJ. Chromosome 22 deletion syndrome and schizophrenia. *Int Rev Neurobiol* 2006; 73:1-27.

14-O'Donovan MC, Williams NM, Owen MJ. Recent advances in the genetics of schizophrenia. *Hum Psychiatry* 2003;8:217-24.

15-Ayalew M, Le-Niculescu H, Levey DF, Jain N, Changala B, Patel SD, et al. Convergent functional genomics of schizophrenia: from comprehensive understanding to genetic risk prediction. *Mol Psychiatry* 2012;17:887-905.

16-Roussos P, Giakoumaki SG, Bitsios P. A risk PRODHD haplotype affects sensori-

motor gating, memory, schizotypy, and anxiety in healthy male subjects. *Biol Psychiatry* 2009;65:1063-70.

17-Pearlson GD. Neurobiology of schizophrenia. *Ann Neurol* 2000;48:556-66.

18-Ohtsuki T, Tanaka S, Ishiguro H, Noguchi E, Arinami T, Tanabe E, et al. Failure to find association between PRODHD deletion and schizophrenia. *Schizophr Res* 2004;67:111-3.

19-Ma X, Sun J, Yao J, Wang Q, Hu X, Deng W, et al. A quantitative association study between schizotypal traits and COMT, PRODHD and BDNF genes in a healthy Chinese population. *Psychiatry Res* 2007;153:7-15.

Analysis of Polymorphisms in Relation to Schizophrenia Susceptibility

Heidari keshel S¹, Rahman zadeh S^{2*}, Ghasemvand F², Maleki M.H³

(Received: 3 Nov. 2012

Accepted: 6 Feb. 2013)

Abstract

Introduction: Schizophrenia is a complicated, debilitating mental disorder. Evidence is emerging for the association of polymorphisms in PRODHD gene and the increased risk of schizophrenia. In the present research we investigated the relationship between this gene and schizophrenia disease by means of a gene polymorphism using PCR-RFLP technique.

Materials & Methods: Blood samples were prepared from 150 persons suffering from acute Schizophrenia and 160 healthy persons volunteering for this project. Based on intended SNP, a pair of primers was designed by Oligo7 program and the polymerase chain reaction (PCR) was performed on a thermocycler set. Then the PCR product was treated by appropriate restriction enzymes. Finally, the fragments of digested PCR product were electrophoresed on the gel agarose (4%) and migration pattern of

resulted components were compared in healthy and patient subjects, whereby obtaining genotypes of different persons in polymorphic position. We utilized SPSS 16.0 program for statistical investigation of the work and studied SNP 1945T>C and its relation with the disease in statistical population.

Findings: The findings of the research showed a meaningful relation between the occurrence of this nucleotide mutation and its frequency in patients.(P=0.001)

Discussion & Conclusion: Final results of this work indicated that PRODHD gene can be considered to be a significant candidate in the population under study as a factor influencing the occurrence of Schizophrenia.

Keyword: schizophrenia, PRODHD, proline

1. proteomics research center, ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Dept of Biochemistry, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

3. Dept of Microbiology, Faculty of medicine, Ilam, Iran

*(corresponding author)