

**MANİSA'DA ŞİZOFREN HASTALARIN SİTOGENETİK ANALİZİ VE
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE COMT(21q11.2) GENİNİN TEŞHİSİ***
**Identification of COMT Gene (22q11.2) by Polymerase Chain Reaction and
Cytogenetic Analysis in Patients with Schizophrenia in Manisa**

**Elvan ARSLAN¹, Nuray ALTINTAŞ², Ahmet AYER³, Ayşen Esen DANACI⁴,
Mustafa AŞÇI¹, Seda ÖRENAY¹**

Özet: Şizofreni birçok davranış ve düşünce bozukluğuna neden olan çok sistemli psikiyatrik bozukluklardan biridir. Erken yaşlarda başlayarak hayat boyu süren, sonlanımı kötü olan bir hastalıktır. Biyokimyasal, anatomik ve genetik alanlardaki birçok ilerlemelere karşın şizofreni kendine özgü yaşantıları ve davranışsal belirtileri olan ve ancak bu belirtilerin gözlenmesi ile tanı konabilen bir hastalık olarak kalmaya devam etmektedir. Çalışmamızın amacı, DSM-IV (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı) kriterlerine göre şizofreni tanısı konmuş 50 hastanın (25 kadın ve 25 erkek) sitogenetik analizlerini yaparak, sayısal ve yapısal kromozom anomalilerini belirlemek ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile 22q11.2 bölgesindeki catechol-O-methyltransferase (COMT) genini belirlemektir. Araştırmamızın sitogenetik analizinde lenfosit kültürü ve Giemsa-Tripsin (GTG) bantlaması yapılarak ışık mikroskopunda incelendi. Genomik DNA, periferik kandan Nucleospin izolasyon kiti ile elde edildi. Oligonukleotid primerler kullanılarak PZR yöntemi ile kromozom 22q11.2 bölgesindeki 109 baz çifti uzunluğundaki COMT geni elde edildi. PZR ürünü, %2 lik agaroz jelde yürütülüp jel görüntüleme sisteminde resimlendi. Bu ön çalışmada Manisa'da yaşayan şizofren hastalarda şizofrene yakınlıkta aday genlerden catechol-O-methyltransferase (COMT) olarak kodlanan COMT (22.q11.2) geni saptanmış oldu.

Anahtar kelimeler: Şizofreni, 22q11.2 mikrodelesyonu, PZR, COMT

Summary: Schizophrenia is one of the multisystemic diseases that cause many behavioral and thinking problems. It is an evil disease that begins in the childhood and goes till the end of life. Although there are lots of advances in biochemical, anatomical and genetical areas, schizophrenia remains to be a disease with its unique characteristics having its own life and behavioral symptoms. It is by means of observing these symptoms that the aim of our study is to determine the numerical or structural abnormalities with the disease is diagnosed cytogenetic analysis of 50 patients (25 female, 25 male) who were diagnosed as schizophrenia by using the DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders), criteria and to identify the Catechol-O-Methyltransferase (COMT) gene on 22q11.2 region by using Polymerase Chain Reaction (PCR) method. In cytogenetic analyse of our study lymphocyte culture and Giemsa-Tripsin (GTG) banding have been done and examined under light microscope. Genomic DNA was extracted from peripheral blood by using Nucleospin isolation kits. COMT gene which is 109 bp length and belongs to 22q11.2 chromosome is duplicated by PCR method using oligonucleotid primers. PCR product has been performed in %2 agarose gel and imaged by gel screening system. With this preliminary study the COM (22.q11.2) gene encoding catechol-O-methyltransferase (COMT) a functional candidate gene for schizophrenia, was found in the patients with schizophrenia who were living in Manisa province.

Keywords: Schizophrenia, 22q11.2 microdeletion, PCR, COMT

¹ Uzm.Biyolog, Celal Bayar Ün.Tıp Fak, Tıbbi Biy.Gen.AD, Manisa

² Yrd.Doç.Dr. Celal Bayar Ün.Tıp Fak, Tıbbi Biy.Gen.AD, Manisa

³ Uzman Dr. Manisa Ruh ve Akıl Sağlığı Hastanesi, Manisa

⁴ Prof.Dr.Celalbayer Ün.Tıp Fak, Psikiyatri AD, Manisa

Geliş Tarihi : 17.02.2011 Kabul Tarihi : 27.04.2011

* Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Şizofreni populasyonun yaklaşık %1'ini etkilemektedir, genellikle 25 yaşından önce başlayıp yaşam boyu devam etmekte ve sosyal sınıflardaki insanlarda görülmektedir. Şizofreni tek bir hastalık olarak tartışılmış olsa da, heterojen etiyojili bir grup bozukluğu içermektedir. Kapsadığı hastaların klinik görünümü, tedaviye yanıtları ve gidişleri farklı olmaktadır. Genetik yatkınlığın şizofrenide önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Ancak bu durum, şizofreni tanısı alan tüm olguların kromozomlarında söz konusu yatkınlığı taşıdıkları anlamına gelmemektedir. Genel kanı, genetik ve çevresel etkenlerin değişik oranlarda rol oynadıkları farklı şizofreni alt grupları olduğu şeklindedir (1-3).

Son yıllarda diğer klinik dallarda olduğu gibi psikiyatrik hastalıkların incelenmesinde de genetik epidemiyoloji kullanımı giderek artan bir ivme kazanmıştır. Genetik epidemiyoloji 1970'li yıllarda popülasyon genetiği, medikal genetik ve epidemiyoloji yöntemlerinden yararlanarak ortaya çıkmıştır. İlk kez Morton tarafından, "akrabalar arasında hastalıkların nedenleri, dağılımları ve kontrolü ile ilgilenen veya toplumlarda hastalıkların genetik nedenlerini araştıran bilim" olarak tanımlanan genetik epidemiyoloji kapsamında, daha sonraları çevrenin etkilerinin de incelenmesi gerektiği vurgulanmıştır (4-6).

Moleküler yöntemlerdeki önemli ilerlemeler, araştırmacıların genetik çalışmalara yoğunlaşmalarını sağlamış ve genomik DNA içerisindeki varyasyonları ölçen tekniklerin bulunması ile hastalık genlerini lokalize etmede DNA belirleyicileri kullanılmaya başlanılmıştır. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmleri (RFLP) ve 1980'li yılların sonlarına doğru Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) kullanıma girmesi ile DNA belirleyicilerinin sayısı ve niteliği hızla artmıştır. Son yıllarda insan genomunun her bölgesi için DNA belirleyicileri geliştirilmiştir (7).

22. kromozom, insan genomunun %1.6-1.8'lik kısmını içeren ikinci en küçük insan kromozomudur. Akrosentrik kromozomun uzun kolu (22q) protein kodlayan genleri içerirken kısa kolu (22p) ribozomal genleri içerir ve dizilenen bölgesi 22q'dur. Diğer kromozomlarla karşılaştırıldığında gen bakımından zengindir. Her Mb'sinde 16.3 gen

vardır. 22.kromozomda yaklaşık 600 gen belirlenmiştir. Bu genlerin çoğu geniş spektrumlu hastalıklar, örneğin; şizofreni ve mental retardasyon gibi psikiyatrik hastalıklar, DiGeorge-Velo-cardiofacial sendrom gibi konjenital gelişimsel hastalıklar, Ewing Sarcoma, Kronik Myeloid Lösemi (KML), Tip 2 Nörofibromatoz, Dermatofibrosarcoma protuberans, meme kanseri gibi kanserler ile ilişkilendirilmektedir (8-11).

COMT, katekolamin ve katekolamin içeren ilaçların metabolizmasında rol oynayan bir enzimdir. COMT enzimi çeşitli memeli dokularında, meme, endometrium ve eritrositlerde önemli miktarlarda, karaciğer ve böbreklerde ise yüksek miktarda yer alır. COMT enzimi membrana bağlı (M-COMT) ya da eriyebilir (S-COMT) formda bulunabilir. Bu enzimin M-COMT ve S-COMT formları, iki farklı transkripsiyon başlama bölgesine sahip olan ve insanda 22q11.2 bölgesine yerleşmiş olan COMT geni tarafından kodlanır (12-15).

COMT, kromozom 22q11.2 üzerinde en çok incelenen genlerdendir. Şizofreni ve COMT geni arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla pek çok çalışmada COMT geninin şizofreniyi belirlemede ümit verici bir yatkınlık geni olduğu üzerinde durulmaktadır. COMT genindeki bu polimorfizmin şizofrenide, bipolar bozuklukta, migrende, agresif ve antisosyal davranış gösterenlerde, intihar girişiminde bulunanlarda ve Parkinson hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynadığı ve ırksal farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Bazı çalışmalarda ise anksiyete, depresyon, alkol bağımlılığı ve şizofreni gibi hastalıklarla ilişkisinin olmadığı fakat bozukluğun kliniğini etkilediği ileri sürülmüştür (16-18).

Çalışmamızda DSM-IV (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı) kriterlerine (19) göre şizofreni tanısı konmuş, 50 (25 kadın ve 25 erkek) şizofren hastanın kromozomlarının sayısı ve yapısal anomali açısından sitogenetik incelenmesi ve kromozom 22q11.21 üzerinde yer alan şizofreni yatkınlıkda aday genlerden COMT gen ürününün internal kontrol β-aktin kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma ileride yapacağımız genotipleme ve sekans çalışmalarımız için ön çalışma niteliğindedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gereç

Çalışmamıza Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi ile Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi (C.B.Ü.T.F) Psikiyatri Anabilim Dalında DSM-IV kriterlerine göre şizofreni tanısı konmuş 50 şizofren hasta (25 kadın, 25 erkek) alındı. Hastalara ait kan örnekleri C.B.Ü.T.F. Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınarak gerçekleştirildi.

Yöntem

a) Sitogenetik Çalışma

Sitogenetik çalışmada toplam 50 şizofren olgudan (25 kadın, 25 erkek) standart periferik hücre kültür yöntemi metafaz kromozomları elde edildi. Tripsin Giemsa Bandlama Yöntemi (GTG) kullanılarak kromozomlar bandlandı. Her olgu için 20'şer metafaz alanı sayısal ve yapısal yönden kromozomal anormallikler Uluslararası İnsan Sitogenetik Sınıflandırma Sistemi (ISCN: International System for Human Cytogenetic Nomenclature)'e göre rapor edildi.

b) Moleküler Çalışma

DNA İzolasyonu

COMT (22q11) genini belirlemek amacıyla 50 şizofren hastanın (25 kadın ve 25 erkek) periferik kanlarından DNA izolasyonu için her hastadan EDTA'lı tüplere 2 ml periferik kan alındı. DNA izolasyonu için Nucleospin DNA izolasyon kiti kullanıldı. Örneklerin DNA konsantrasyonu tayini için, DNA örneğinden 25 µl alındı ve 425 µl TE ile seyreltildi. İyice karıştırılarak homojenize edilen DNA örneğinin optik dansitesi, spektrofotometrede 260 ve 280 nm'de TE'ye karşı okundu. 50µg/ml çift iplikli DNA içeren çözeltinin spektrofotometrede 260 nm'de 1.0 optik dansite (OD) değerinde bir okuma verdiği kabul edilmektedir. A260/280 oranları değerlendirildi. Değerlendirilen hasta örneklerinin hepsinde bu oranın 1.75-2.0 arasında değiştiği gözlemlendi. Bu oran, DNA saflığının moleküler çalışmalar için uygun olduğu anlamına gelmektedir.

Şizofren hastalarda COMT Geni (22q11.21)'nin elde edilmesi:

COMT geninin çoğaltılmasında kullanılan oligonukleotid primerleri;

COMT F: 5'-CTCATCACCATCGAGATCAA-3'

COMT R: 5'-CCAGGTCTGACAACGGGTCA-3'(20).

COMT (109 baz çifti;bç) geninin PZR'ürününün doğruluğunu belirlemek amacıyla β-actin (447 bç) internal kontrol olarak kullanıldı.

ACTİN geninin çoğaltılmasında internal kontrol olarak kullanılan oligonukleotid primerleri;

β-ACTİN F:

5'-TGAAGTGTGACGTGGACATCCG-3'

β-ACTİN R: 5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCCAG-3'(21).

PZR cihazında çift sarmal DNA moleküllerini denatüre etmek için bir döngüde 95°C'de 4 dakika, denatürasyon (melting) için 95°C'de 30 saniye, bağlanma (annealing) için 54°C'de 30 saniye, uzama (extension) için 72°C'de 30 saniye olmak üzere toplam 30 döngü gerçekleştirildi. En son döngüdeki uzama periyodu 72°C'de 7 dakika olacak şekilde gerçekleştirildi ve örnekler 4°C'ye kadar hızla soğutuldu. PZR sonucunda elde edilen PZR ürünü % 2'lik agaroz jelde yürütüldü ve COMT (22q11.2) genine ait 109 bç'lik ve internal kontrol β-actin'e ait 447 bç PZR ürünleri jel görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflandı.

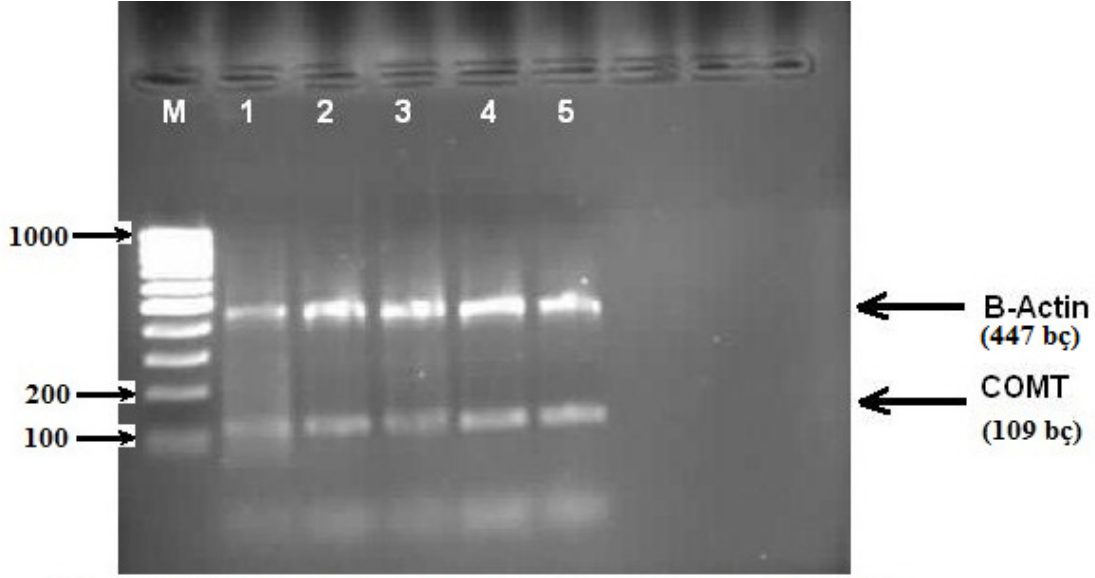
BULGULAR

Sitogenetik Bulgular

50 şizofren hastanın (25 kadın ve 25 erkek), periferik kan kültürlerinden hazırlanan prepatlarından 20 metafaz alanı incelenerek, sayısal ve yapısal düzensizlik yönlerinden değerlendirildi. 24 kadın hastada 46,XX, 1 kadın hastada 45,X0 ve 25 erkek hastada 46,XY karyotipleri saptandı (Tablo I).

Tablo I. 50 şizofren hastanın (25 kadın ve 25 erkek) sitogenetik sonuçları.

Hasta No	Klinik Tanı	Karyogram Sonucu	Hasta No	Klinik Tanı	Karyogram Sonucu
1	Kronik Psikoz	46,XX	26	Kronik Psikoz	46,XX
2	Kronik Psikoz	46,XX	27	Kronik Psikoz	46,XX
3	Psikoz	46,XX	28	Kronik Psikoz	46,XX
4	Şizofreni	46,XX	29	Psikoz	46,XY
5	Kronik Psikoz	46,XX	30	Psikoz	46,XY
6	Kronik Psikoz	46,XX	31	Kronik Psikoz	46,XY
7	Şizofreni	46,XX	32	Kronik Psikoz	46,XY
8	Paranoid Psikoz	45,X0	33	Kronik Psikoz	46,XY
9	Kronik Psikoz	46,XX	34	Kronik Psikoz	46,XY
10	Şizofreni	46,XX	35	Kronik Psikoz	46,XX
11	Kronik Psikoz	46,XX	36	Psikoz	46,XY
12	Şizofreni	46,XX	37	Kronik Psikoz	46,XX
13	Kronik Psikoz	46,XX	38	Kronik Psikoz	46,XX
14	Kronik Psikoz	46,XY	39	Kronik Psikoz	46,XY
15	Kronik Psikoz	46,XY	40	Kronik Psikoz	46,XX
16	Kronik Psikoz	46,XY	41	Kronik Psikoz	46,XY
17	Kronik Psikoz	46,XY	42	Şizofreni	46,XX
18	Kronik Psikoz	46,XY	43	Kronik Psikoz	46,XX
19	Kronik Psikoz	46,XY	44	Kronik Psikoz	46,XY
20	Kronik Psikoz	46,XY	45	Kronik Psikoz	46,XY
21	Şizofreni	46,XY	46	Psikoz	46,XX
22	Psikoz	46,XX	47	Kronik Psikoz	46,XY
23	Kronik Psikoz	46,XY	48	Kronik Psikoz	46,XX
24	Kronik Psikoz	46,XY	49	Kronik Psikoz	46,XY
25	Şizofreni	46,XX	50	Kronik Psikoz	46,XY



Resim 1.Şizofren hastalarda COMT geni

M-Marker; 1-5. Şizofren hastalar; COMT geni:109 bç; β -actin: 447 bç (internal kontrol).

COMT (22q11.21) genine ait PZR Bulgular

50 şizofren tanılı (25 kadın, 25 erkek) hastanın PZR analizinde, COMT genine ait PZR ürünleri β -actin internal kontrol olarak kullanılarak doğrulandı. Jel görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı (Resim1).

(22q11.2) ve internal kontrol β -actin'in jel görüntüsü.

TARTIŞMA

Şizofreni varsayılan risk genleri ve azalmış kortikal gri cevher ile ilgili birçok raporları ile kompleks genetik bir hastalıktır. Şizofrenide bu yapısal değişikliklere katkıda bulunan genetik lokusların belirlenmesinin, şizofreninin patofizyolojisini anlamaya yardımcı olabileceği bildirilmektedir (22).

Geniş aile çalışmaları, ikiz ve evlat edinme çalışmalarının yanı sıra, moleküler biyolojik yaklaşımlar etiyolojiye katkısı olan genetik etkenlerin var-

lığını desteklemektedir. Son yıllarda ruhsal hastalıklara yatkınlık yaratan genler üzerinde çok çalışılmaktadır. Hastalığın multigenik kalıtıma bağlı olmasından dolayı, sitogenetik analizlerinde herhangi bir sayısal ve yapısal kromozom anomalisine rastlanılmamaktadır (23).

Çalışmamızda DSM-IV kriterlerine göre tanısı konmuş şizofreni hasta grubunda sitogenetik incelememiz sonucunda, yapısal kromozom anomalisi saptanmamıştır. 25 hastadan sadece 1'inde 45,X0 karyotipi gözlenmiştir (Tablo I).

COMT geni kromozom 22'nin q11.2 bölgesi üzerinde en çok incelenen genlerdendir ve ilgili genin özellikle çalışma belleği ve dikkatte, kontrol etkinliğinde etkisi olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca, monoamin nörotransmitter metabolizmasındaki rolleri ve prefrontal biliş üzerindeki etkisi aracılığıyla şizofreniyle bağlantısı olduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda COMT gen türevlerinin şizofreni bilişsel fonksiyon, kortikal fizyoloji ve risk etkisi belirlenmiştir. Bu etkilerin de beyin yapısında, beyin fonksiyonu üzerinde val158met tara-

findan değiştirilmiş olduğunu tek nukleotid polimorfizm ve haplotip araştırmaları ile gösterilmiştir (11,24-26).

Şizofreni ve COMT geni arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda COMT geninin, şizofrenide ümit verici bir yatkınlık geni olduğu üzerinde durulmaktadır. COMT genindeki bu 22.q11 polimorfizminin şizofrenide, bipolar bozuklukta, migrende, agresif ve antisosyal davranış gösterenlerde, intihar girişiminde bulunanlarda ve Parkinson hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynadığı ve ırksal farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Bazı çalışmalarda ise anksiyete, depresyon, alkol bağımlılığı ve şizofreni gibi hastalıklarla ilişkisinin olmadığı fakat bozukluğun kliniğini etkilediği ileri sürülmüştür (11,17,18,26,27).

Şizofren hastalarda COMT geni polimorfizmi incelenmiş, kontrollerle hastalar arasında bir fark bulunmamıştır. Ancak şizofren hasta grubunda, şizofrenik hasta grubunda L/L genotipine sahip olan hastaların kısa psikiyatrik derecelendirme ölçeği (BPRS) skorlarının daha yüksek, hospitalizasyonlarının daha sık olduğunu tespit etmişler ve COMT gen varyasyonlarının şizofreniye yatkınlığı değil de, klinik tablonun ciddiyetini önceden belirleyebileceğini ifade etmişlerdir (28).

Çalışmamızın amacı, DSM-IV (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı) kriterlerine göre (19) şizofreni tanısı konmuş hastalarda sitogenetik inceleme yapılarak sayı ve yapısal anomali açısından incelenmesi ve kromozom 22q11.21 üzerinde yer alan COMT gen bölgesinin belirlenmesi şeklindeki ön çalışmadır. Çalışmamızda 50 şizofren hastada 22q11.21 bölgesinde yerleşik COMT genine ait PZR ürününün doğruluğu çalışmalarda internal kontrol olarak kullanılan (21) β-actin ile doğrulanmıştır. Çalışmamızda β-actin’in internal kontrol olarak kullanılması ile şizofren hastalara özgü 22q11.21’de yerleşik şizofrene yatkınlık genlerinden olan COMT geninin şizofren hastalarımızda 109 baz çifti uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz şizofrene yatkınlık genlerinden COMT geni ile ileride hedeflediğimiz genotipleme ve sekans çalışmaları-

mızda COMT gen varyasyonlarının şizofrenide klinik tablosuya yansımalarının ilişkisi incelenebilecektir. Manisa’da şizofreni tanısı almış hastalarda sitogenetik inceleme ve şizofrene yatkınlık genlerinden olan COMT geninin belirlenmesi çalışması ilk kez yapılmıştır.

Teşekkür

Sitogenetik inceleme ve PZR Yöntemi ile şizofreniye yatkınlıkta aday genlerden COMT (21q11.2) geninin belirlenmesi çalışmamız Yüksek Lisans Tezinin projelendirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Projemize maddi destek sağlayan Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Şahin M.V. Şizofreni: Klinik Özellikler, Tanı, Ayırıcı Tanı. *Psikiyatri Dünyası* 1999, 3:72-78.
2. Öztürk M.O. Ruh Sağlığı ve Bozuklukları. *Hekimler Yayın Birliği*,1994, 175-221.
3. Güleç. C, Köroğlu E. *Psikiyatri Temel Kitabı*.1997: 321-340.
4. Morton NE *Outline of Genetic Epidemiology*. Basel, S Karger, 1982.
5. Morton NE *Foundations of genetic epidemiology*. *J Genetics*, 1986, 65: 205-212.
6. Cohen BH. *Chronic obstructive pulmonary disease: a challenge in genetic epidemiology*. *Am J Epidemiol*, 1980, 112:274-288.
7. McGuffin P, Tandon K, Corsico A. *Linkage and association studies of scizophrenia*. *Curr Psychiatry Rep*. 2003, 5:121-7.
8. Dumanski JP, Carlom E, Collins VP. *A map of 22 loci on human chromosome 22*. *Genomics* 1991, 11: 709-719.

9. Collins J E, Cole JG, Smink L J. A high resolution integrated yeast artificial chromosome clone map of human chromosome 22. *Nature* 1995, 377: 367-379 .
10. Buckley P G, Mantipragada KK, Tapia-Paez I. A full coverage, high resolution human chromosome 22 genomic microarray for clinical and research applications. *Human Molecular Genetics* 2002, 11:3221-3229.
11. Williams JH, Owen JM, O'Donovan CM. Is COMT a susceptibility gene for schizophrenia? . *Schizophrenia Bulletin* . 2007, 33(3): 635-641.
12. Matsui A, Ikeda T, et al. Progression of human breast cancers to the metastatic state is linked to genotypes of Catechol-O-methyltransferase. *Cancer Lett* 2000, 15: 23-31.
13. Paguette B, Fortier PK, et al. Estrogen metabolism in lymphangioliomyomatosis: catechol-o-methyltransferase pathway is not involved. *Thorax* 2000, 55: 574-578.
14. Dunning AM, Healey CS, et al. A systemic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. Review. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 1999, 8: 843-854.
15. Lachman HM, Morrow B, et al. Association of codon 108/158 catechol-o-methyltransferase gene polymorphism with the psychiatric manifestation of velocardiofacial syndrome. *Am J Med Genet* 1996, 67: 468-472.
16. Daniels JK, Williams NM, Williams J, Jones LA, Cordna AG, Murphy KC, Spurlock G, Riley G, Scamber P, Asherson P, McGuffin P, Owen MJ. No evidence for allelic association between schizophrenia and a polymorphism determining high or low catechol-O methyltransferase activity. *Am J Psychiatry* 1996, 153: 268-270.
17. Henderson AS, Korten AE, Jorm AF, Jacomp PA, Christensen H, Radgers B, Tan X, Easteal S. COMT and DRD3 polymorphism, enviromental exposures, and personality traits related to common mental disorders. *Am J Med Genet* 2000, 7: 102-107.
18. Tursen U, Kaya I, Erdal ME, Dericci E, Gunduz O, Ikizoglu G. Association between catechol-O-methyltransferase polymorphism and vitiligo. *Arch Dermatol Res* 2002, 294: 143-146.
19. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition*, American Psychiatric Pres, Washington, DC, 1994.
20. Rotondo A, Mazzanti C, Dell'Osso L, Rucci P, Sullivan P, Bouanani S, Gonnelli C, Goldman D, Cassano B.C. Catechol O-Methyltransferase, Serotonin Transporter, and Tryptophan Hydroxylase Gene Polymorphisms in Bipolar Disorder Patients With and Without Comorbid Panic Disorder *Am J Psychiatry* January 2002, 159:23-29.
21. Haran B, Chebalco S, Flaishon L, Harpaz N, Valinsky L, Shachar I. Grb7 expression and cellular migration in chronic lymphocytic leukemia: a comparative study of early and advanced stage disease. *Leukemia* 2004, 18: 1948-1950.
22. Jagannathan K, Calhoun VD, Gelernter J. Genetic associations of brain structural networks in schizophrenia: a preliminary study. *Biol Psychiatry* 2010, 68: 657-66.
23. Trixler M, Tényi T, Kosztolányi G. Minor Physical Anomalies and Chromosomal Fragility as Potential Markers in Schizophrenia. Preliminary Report *Int J Hum Genet* 2005, 5: 173-177.
24. Diez-Martin J, Hoenicka J, Martínez I et al. COMT Val158Met Polymorphism and schizophrenia in a series of Spanish patients. *Med Clin (Barc)* 2007, 128:41-4.

25. DeRosse P, Funke B, Burdick EK, Lencz T, Goldberg ET, Kane MJ, Kucherlapati R, Malhotra KA. COMT genotype and manic symptoms in schizoprenia. *Schizophrenia Research* 2006, 87:28-31.
26. Ehlis AC, Reif A, Herrmann MJ, Lesch KP, Fallgatter AJ. Impact of catechol-O-methyltransferase on prefrontal brain functioning in schzophrenia spectrum disorders. *Neuropsychopharmacology* 2007, 32: 162-70.
27. Daniels JK, Williams NM, Williams J, Jones LA, Cordna AG, Murphy KC, Spurlock G, Riley G, Scamber P, Asherson P, McGuffin P, Owen MJ. No evidence for allelic association between schizoprenia and a polymorphism determining high or low catechol-O methyltransferase activity. *Am J Psychiatry* 1996, 153: 268-270
28. Herken H and Erdal ME. Cathecol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizoprenia: evidence for association between symptamotology and prognosis. *Psychiatr Genet* 2001, 11(2): 105-109