

# Serotonin Transporter Gen Polimorfizmi

M. Emin ERDAL\*, Hasan HERKEN \*\*, Ömer BARLAS\*\*\*, Nurten ERDAL\*\*\*\*

## ÖZET

Serotonin transporter (5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT, SERT) gen, serotoninin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) taşınmasındaki rolü nedeniyle psikiyatrik bozuklukların etyolojisinde rol oynadığı öne sürülmektedir. SERT gen polimorfizmlerinin, serotoninle ilgili davranışların düzenlenmesinde özellikle, anksiyete, depresyon, şizofreni, otizm, bipolar bozukluk ve mevsimsel affektif bozukluğunu içeren bazı psikiyatrik bozukluklarda ve fibromyalji ve migren gibi psikosomatik bozukluklarda etkili olabileceği bildirilmektedir. Bu gen için iki polimorfizm tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi; genin 2. intronunda 17 bp'lik bir bölgenin 9, 10 veya 12 defa tekrar etmesine bağlı VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) polimorfizmi, ikincisi ise; transkripsiyonel kontrol bölgesinde (5-HTT gene-linked polymorphic region 5-HTTLPR) 44 bp'lik bir dizinin farklı sayıda inserasyon/delesyon tekrarına bağlı olarak S ve L alellerinin oluşturduğu polimorfizmdir. SERT genindeki polimorfizmler, akraba olmayan 121 sağlıklı Türk bireyde, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle belirlendi. SERT genine ait 9, 10, 12, S ve L alellerinin gen sıklığı sırasıyla 0.000, 0.2686, 0.7314, 0.5083 ve 0.4917 olarak saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** Serotonin transporter gen, genetik polimorfizm, PCR.

KLİNİK PSİKİYATRİ 2000;3:192-196

## SUMMARY

### Polymorphisms in the Serotonin Transporter Gene

The serotonin transporter (5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT, SERT) gene is considered to be a promising candidate for genetic involvement in psychiatric disorders owing to its role in the regulation of serotonergic neurotransmission. The serotonin transporter (SERT) gene has long been implicated to be involved in the pathogenesis of major psychiatric disorders including anxiety, depression, schizophrenia, autism, bipolar affective disorder, seasonal affective disorder and some psychosomatic disorders as fibromyalgia, and migrain. Two polymorphic sites in serotonin transporter gene have attracted much interest: a variable-number-tandem-repeats (VNTR) of 17 bp sequence in intron 2 creating 9, 10 and 12 repeat alleles, and a 44 bp insertion/deletion in 5'-flanking promoter region (5-HTT gene-linked polymorphic region, or 5-HTTLPR) creating a short (S) and a long (L) allele. The polymorphisms of the SERT gene were detected by the polymerase chain reaction (PCR) in 121 healthy unrelated controls, all were Turkish origin. The frequencies of alleles 9, 10, 12, S and L of the SERT gene were observed 0.000, 0.2686, 0.7314, 0.5083 and 0.4917, respectively. In this study we aimed to evaluate the frame of serotonin transporter gene polymorphism in Turkish healthy controls.

**Key Words:** Serotonin transporter gene, genetic polymorphism, PCR.

## GİRİŞ

Serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) merkezi ve periferel sinir sisteminde önemli nörotransmitter bir maddedir. 5-HT, beyin sinapslarına salındıktan sonra, presinaptik nöronal membranlarda lokalize olmuş Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyonlarına bağımlı yüksek afiniteli sero-

\* Doç. Dr., Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, \*\*\*\* Doç. Dr., Biyofizik Anabilim Dalı, MERSİN

\*\* Yrd. Doç. Dr., Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı, \*\*\* Dr., Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, GAZİANTEP

tonin transporter (5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT, SERT, SLC6A4) protein adı verilen bir madde aracılığıyla sinaptik boşluktan etkin şekilde temizlenir (Stahl 1996, Gelernter ve ark. 1998, Catalano 1999). Böylece, 5-HT'nin sinaptik etkinliği 5-HTT tarafından sonlandırılır ve yeniden kullanılmak üzere nörotransmitter havuz içine yeniden gönderilir. Yani, 5-HTT, serotoninin geri alınımında ve serotonerjik fonksiyonun yürütülmesinde önemli role sahiptir.

5-HTT geni, SLC6A4 (Solute Carrier Family 6 Member 4) gen koduyla, kromozom 17q 11.1-q12'ye haritalanmıştır. 5-HTT geni 31 kb uzunluğunda ve 14 ekson içermektedir. Bu gen için iki genetik polimorfizm tanımlanmış ve bu polimorfizmin serotoninle ilgili davranışların düzenlenmesinde özellikle, anksiyete, depresyon, şizofreni, otizm, bipolar bozukluk ve mevsimsel affektif bozukluğunu içeren bazı psikiyatrik bozukluklarda (Lesch ve ark. 1996, Klauck ve ark. 1997, Flory ve ark. 1999, Lenziger ve ark. 1999, Ohara ve ark. 1999), fibromiyalji ve migren gibi psikosomatik bozukluklarda (Offenbecher ve ark. 1999, Ogilvie ve ark. 1998) etkili olabileceği bildirilmektedir. 5-HTT geni ile ilgili olarak iki polimorfizmden birincisi, genin 2. intronunda 17 bp'lik bir bölgenin 7, 9, 10 veya 12 defa tekrar etmesine bağlı VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) polimorfizmidir. Bu polimorfizme göre genotipler 12/12, 12/10, 10/10, 12/9, 10/9, 9/9, 12/7, 10/7, 9/7 ve 7/7 olarak değerlendirilmektedir. Fakat 7 ve 9 alelinin sıklığı çok az olduğundan bazı populasyonlarda rastlanmayabilir. İkinci polimorfizm ise 5-HTT geninin transkripsiyonel kontrol bölgesinde (5-HTT gene-linked polymorphic region 5-HTTLPR) 44 bp'lik GC (guanin, sitozin) zengin bir dizinin farklı sayıda insersiyon/delesyon tekrarına bağlı olarak tanımlanan polimorfizmdir. 44 bp'lik tekrar dizisi 16 defa tekrarlanırsa Long (L) formu, 14 defa tekrarlanırsa Short (S) formu olarak adlandırılan alelleri meydana gelir. Bu polimorfizme göre genotipler; L/L, L/S ve S/S olarak değerlendirilmektedir. Bu polimorfizmin de ender görülen bazı alelleri tanımlanmıştır. Bu aleller LJ (17 defa tekrar), XL (18 defa tekrar), XXL (20 defa tekrar) olarak adlandırılmaktadır (Michaelovsky ve ark. 1999). Bu ender görülen alellere de bazı populasyonlarda rastlanmayabilir.

5-HTT geninde tanımlanan bu iki polimorfizmin, psikiyatrik bozuklukların etiolojisinde rol oynadığı ayrıca, irksal değişim gösterdiği bildirilmektedir. Bu çalışmada, 5-HTT gen polimorfizminin toplumumuz-

daki sağlıklı kişilerdeki genotip dağılımını ve diğer populasyonlarla benzerlik veya farklılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, akraba olmayan 121 sağlıklı gönüllü bireyden, uygun bilgilendirme işleminden sonra 10 ml EDTA'lı kanlar kullanıldı. DNA, Fenol/Kloroform standart ekstraksiyon yöntemine göre elde edildi.

5-HTT geninin, intron 2'sindeki VNTR polimorfizmi ve transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon / delesyon polimorfizmi (5-HTTLPR), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle belirlendi.

5-HTT geninin intron 2'sindeki VNTR polimorfizmi F 5'-TGGATTTCCTTCTCTCAGTGA TTGG-3' ve R 5'-TCATGTTCTAGTCTTACGCCAGTG-3' primerleri kullanılarak PCR yöntemiyle belirlendi (Klauck ve ark. 1997). PCR işlemi; 20-100 ng DNA, 100 µm dNTPs, 20 pmol primer (F ve R'nin herbirinden), 1.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM Tris-HCl PH 8.6, 50 mM KCl, %0.2 (w/v) bovine serum albumin ve 1 U Taq polymerase (MBI Fermentas) içerecek şekilde distile su ile 50 µl hacminde gerçekleştirildi. PCR şartları: 94°C'de 2 dk ilk denaturasyondan sonra, 40 siklus; 94°C'de 1 dk denaturasyon, 57°C'de 1 dk primer bağlanma (annealing) ve 72°C'de 2 dk sentez (extension), en son 1 siklus 72°C'de 10 dk son sentez işlemleriyle gerçekleştirildi. PCR ürünleri; 0.5 µg/ml ethidium bromide içeren %2'lik agarose jelde 100 Voltta elektroforez işleminden sonra bir jel görüntüleme sistemiyle (Vilber Lourmat) 390 bp'lik ürün 12 aleli ve 360 bp'lik ürün 10 aleli olarak değerlendirildi. 7 ve 9 alellere rastlanmadı. Buna göre genotipler, 12/12, 12/10, 10/10 olarak belirlendi.

5-HTT genindeki transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi (5-HTTLPR)F 5'-GGCGTTGCCGCTCTGAATGC-3' ve R 5'-GAGGGACTGAGCTGGACAA CCAC-3' primerleri kullanılarak PCR yöntemiyle belirlendi (Klauck ve ark. 1997). PCR ortamı GC-Rich PCR Sistemi (Roche Molecular Biochemicals) ile 20-100 ng DNA, 100 µm dNTPs, 20 pmol primer (F ve R'nin herbirinden), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> kullanılarak distile su ile 50 µl'ye tamamlanarak gerçekleştirildi. PCR şartları ise; 1 siklus 95.5°C'de 3 dk ilk denaturasyon, sonra 35 siklus, 95.5°C'de 1 dk denaturasyon, 60°C'de 1 dk primer bağlanma (annealing) ve 72°C'de 1 dk sentez (extension), en son 1 siklus 72°C'de 7 dk son sentez kademelerinde gerçek-

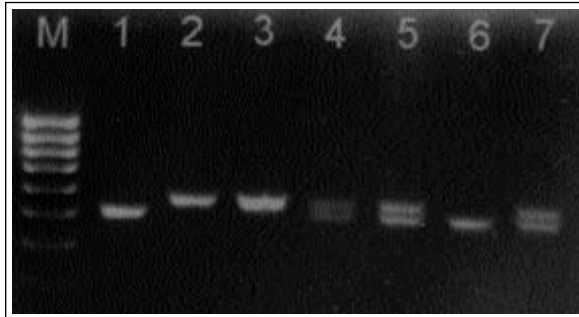
leştirildi. PCR ürünleri; 0.5 µg/ml ethidium bromide içeren %2'lik agarose jelde 100 Voltta elektroforez işleminden sonra bir jel görüntüleme sistemiyle (Vilber Lourmat), 484 bp'lik ürün S ve 528 bp'lik ürün L formu olarak değerlendirildi. xL, xxL ve LJ alellerine rastlanmadı. Buna göre, genotipler, L/L, L/S ve S/S olarak belirlendi. (Lesch ve ark. 1996). Her iki polimorfizm için de genotipleme işlemi sırasında aleller belirlenirken örneklerin yanında DNA Markını (100 bp DNA Ladder, MBI Fermentas) kullanılarak elektroforez işlemi gerçekleştirildi.

### BULGULAR

Akraba olmayan 121 sağlıklı gönüllü bireyde, 5-HTT geninin intron 2'deki VNTR polimorfizmi ve transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi (5-HTTLPR), PCR yöntemiyle araştırıldı. Bu gendeki polimorfizmler için genotipleme yapılarak, gen frekansları hesaplandı.

Buna göre; toplam 121 kişinin 5-HTT geninin intron 2'sindeki VNTR polimorfizmi genotiplenmesi yapıldığında; 63 (%52.07) bireyin 12/12, 51 (%42.15) bireyin 12/10 ve 7 (%5.78) bireyin 10/10 genotipinde olduğu saptandı. Araştırma grubumuzda ender görülen 9 ve 7 aleline sahip bireye rastlanmadı. Araştırılan popülasyonda 12 alelinin gen frekansı 0.7314 ve 10 alelinin gen frekansı 0.2686 olarak hesaplandı. Bazı bireylere ait 5-HTT geninin intron 2'sindeki VNTR polimorfizmini içeren elektroforez örnekleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

Toplam 121 kişinin, 5-HTT geninin transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizminin (5-HTTLPR), genotiplenmesi yapıldığında; 36



**Şekil 1.** Bazı bireylere ait 5-HTT geninin intron 2'deki VNTR polimorfizmini içeren elektroforez örnekleri (M: 100 bp DNA Ladder; 1, 2, 3, 4, 5 ve 10 numaralı örnekler 12/10; 6, 8 ve 9 numaralı örnekler 12/12; 7 numaralı örnek ise 10/10 genotipinde).



**Şekil 2.** Bazı bireylere ait 5-HTT geninin transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmini (5-HTTLPR) içeren elektroforez örnekleri (M: 100 bp DNA Ladder; 1 ve 6 numaralı örnekler S/S; 2 ve 3 numaralı örnekler L/L; 4, 5 ve 7 numaralı örnek ise L/S genotipinde).

(%29.8) bireyin L/L, 47 (%38.8) bireyin L/S ve 38 (%31.4) bireyin S/S genotipinde olduğu saptanmıştır. Araştırma grubumuzda ender görülen LJ, XL ve XXL alellerine sahip bireylere rastlanmadı. Araştırılan popülasyonda L alelinin gen frekansı 0.4917 ve S alelinin gen frekansı ise 0.5083 olarak hesaplandı. Bazı bireylere ait 5-HTT geninin transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmini (5-HTTLPR) içeren elektroforez örnekleri Şekil 2'de gösterilmiştir.

### TARTIŞMA

Farklı popülasyonlarda 5-HTT geninin intron 2'sindeki VNTR polimorfizmi sağlıklı bireylerde çalışılmıştır. Almanya'da (Klauck ve ark. 1997) gen frekansları 12 aleli için 0.541; 10 aleli için 0.445 ve 9 aleli için 0.014 olarak, İspanya'da (Gutierrez ve ark. 1998) 12 aleli için 0.6605; 10 aleli için 0.3210 ve 9 aleli için 0.0185; Avrupa kökenli Amerikalılarda (Gelernter ve ark. 1998) 12 aleli için 0.63; 10 aleli için 0.34 ve 9 aleli için 0.03; Afrika kökenli Amerikalılarda (Gelernter ve ark. 1998) 12 aleli için 0.75; 10 aleli için 0.24 ve 9 aleli için 0.01 olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışma popülasyonunda ise 12 alelinin gen frekansı 0.7314 ve 10 alelinin gen frekansı 0.2686 olarak hesaplandı. Bu polimorfizmin fonksiyonel etkileri halen gösterilememiştir.

5-HTT genindeki transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi (5-HTTLPR) de farklı popülasyonlarda çalışılmış olup elde edilen gen frekansları: Almanya'da (Klauck ve ark. 1997) gen frekansları L aleli için 0.60; S aleli için 0.40 olarak; yine

Almanya'da (Collier ve ark. 1996) L aleli için 0.60, S aleli için 0.40 olarak; İtalya'da (Collier ve ark. 1996) L aleli için 0.57, S aleli için 0.43 olarak; İngiltere'de (Collier ve ark. 1996) L aleli 0.55 ve S aleli 0.45 olarak; Avrupa kökenli Amerikalılarda (Gelernter ve ark. 1998) L aleli için 0.53; S aleli için 0.47; Afrika kökenli Amerikalılarda (Gelernter ve ark. 1998) L aleli için 0.66; S aleli için 0.26 ve XL aleli için 0.08 olarak; İspanya'da (Gutierrez ve ark. 1998); L aleli için 0.57; S aleli için 0.43 olarak; yine İspanya'da (Benedetti ve ark. 1999) L aleli 0.544, S aleli 0.465 olarak; Fransa'da (Hammoumi ve ark. 1999); L aleli için 0.61 ve S aleli için 0.29 olarak; Libya'da (Michaelovsky ve ark. 1999) L aleli için 0.52 ve S aleli için 0.46 olarak; Tunus'da (Michaelovsky ve ark. 1999) L aleli için 0.53 ve S aleli için 0.43 olarak; Fas'da (Michaelovsky ve ark. 1999) L aleli için 0.51 ve S aleli için 0.49 olarak; İsrail'de (Michaelovsky ve ark. 1999) L aleli için 0.44 ve S aleli için 0.56 olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışma popülasyonunda ise L alelinin gen frekansı 0.4917 ve S alelinin gen frekansı 0.5083 olarak hesaplandı. Bizim toplumumuz, SERT geninin 5-HTTLPR polimorfizmi bakımından Fas ve İsrail'de yapılan çalışma sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

5-HTT geninin polimorfizmleri; anksiyete, depresyon, şizofreni, otizm, bipolar bozukluk ve mevsimsel affektif bozukluğu içeren major psikiyatrik (Lesch ve ark. 1996, Klauck ve ark. 1997, Flory ve ark. 1999,

Lenzinger ve ark. 1999, Ohara ve ark. 1999) ve psikosomatik bozukluklarda (fibromiyalji ve migren) (Offenbacher ve ark. 1999, Ogilvie ve ark. 1998) çalışılmıştır.

5-HTT genindeki transkripsiyonel kontrol bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi, uzun (L, Long, 16 tekrar) veya kısa (S, Short, 14 tekrar) alellerden oluşur. S aleline sahip bireylerde, 5-HT gerilim aktivitesinin L aleline sahip bireylere göre iki kat daha düşük olduğu ileri sürülmektedir. S alelinin, gende transkripsiyonel etkinliğinin azalmasıyla; nöronda, 5-HTT ekspresyonunu azalacağı ve bunun sonunda da psikiyatrik bozuklukların ortaya çıkabileceği ileri sürülmektedir (Collier ve ark. 1996, Lesch ve ark. 1996).

Sonuç olarak; farklı 5-HTT gen polimorfizmine sahip bireylerde, biyolojik aktiviteleri farklı 5-HTT proteini oluşmaktadır. Bu proteinlerin özellikle serotonerjik reaksiyonlarda önemli rol almaları nedeniyle; serotonerjik bir çok hastalığın etiolojisinin anlaşılmasında, tanısında ve tedavisinde bu polimorfizmlerin önemi giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Bu polimorfizmin serotonin üzerinden etkili antipsikotik ve anti-depresanların etkisinin önceden öngörülebileceği beklentisini doğurmuştur. Önümüzdeki dönemde SERT gen polimorfizminin tedaviye etkisi ve bununla ilişkisi açıklık kazandırılmayı beklemektedir.

#### KAYNAKLAR

Benedetti F, Serretti A, Colombo C ve ark. (1999) Influence of a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene on the effects of total sleep deprivation in bipolar depression. *Am J Psychiatry*, 156:1450-1452.

Catalano M (1999) Psychiatric Genetics'99. The Challenges of Psychopharmacogenetics. *Am J Hum Genet*, 65:606-610.

Collier DA, Stober G, Li T ve ark. (1996) A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene : possible role in susceptibility to affective disorders. *Mol Psychiatry*, 1: 453-460.

Flory JD, Manuck SB, Ferrell RE ve ark. (1999) Neuroticism is not associated with the serotonin transporter (5-HTTLPR) polymorphism. *Mol Psychiatry*, 4:93-96.

Gelernter J, Kranzler H, Coccaro EF ve ark. (1998) Serotonin transporter protein gene polymorphism and personality measures in African American and European American subjects. *Am J Psychiatry*, 155:1332-1338.

Gutierrez B, Pintor L, Gasto C ve ark. (1998) Variability in the serotonin transporter gene and increased risk for major depression with melancholia. *Hum Genet*, 103:319-322.

Hammoumi S, Payen A, Favre JD ve ark. (1999) Does the short variant of the serotonin transporter linked polymorphic region constitute a marker of alcohol dependence? *Alcohol*, 17:107-112.

Klauck SM, Pautska F, Benzer A ve ark. (1997) Serotonin transporter (5-HTT) gene variants associated with autism. *Hum Mol Genet*, 6:2233-2235.

Lenzinger E, Neumeister A, Praschak-Reider N ve ark. (1999) Behavioral effects of tryptophan depletion in seasonal affective disorder associated with the serotonin transporter gene. *Psychiatry Res*, 22:241-246.

Lesch K-P, Bengel D, Heils A ve ark. (1996) Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 274:1527-1531.

Michaelovsky E, Frisch A, Rockah R ve ark. (1999) A novel allele in the promoter region of the human serotonin transporter gene. *Mol Psychiatry*, 4:97-99.

Offenbacher M, Bondy B, de Jonge S ve ark. (1999) Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Arthritis Rheum*, 42:2482-2488.

Ogilvie AD, Russel MB, Dhall P ve ark. (1998) Altered allelic distribution of the serotonin transporter gene in migraine without aura and migraine with aura. *Cephalgia*, 18:23-26.

Ohara K, Suzuki Y, Ochiani M ve ark. (1999) A variable-number tandem repeat of the serotonin transporter gene and anx-

xiety disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 23:55-65.

Stahl SM (1996) *Essential Psychopharmacology. Neuroscientific Basis and Practical Applications*. Cambridge University Press, s.69-130.