

**UNIVERSITATEA „BABEȘ – BOLYAI”
FACULTATEA DE BIOLOGIE ȘI GEOLOGIE
CLUJ NAPOCA**

**STUDII MOLECULARE ALE VARIABILITĂȚII
GENETICE UMANE ÎN CAZURI NORMALE ȘI
PATOLOGICE (SCHIZOFRENIE)**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Doctorand:
ANET MONICA CHILICI**

**Coordonator științific:
Prof. Dr. OCTAVIAN POPESCU**

2010

CUPRINS

Listă de abrevieri.....	3
Introducere.....	5
I. Importanța metodelor genetice în medicină.....	7
I.1. Etica tehnologiilor genetice.....	7
I.2. Clonarea umană.....	8
II. Amprente umane.....	10
II.1. Urme formă.....	10
II.1.1. Urmele mâinilor.....	10
II.1.2. Urmele picioarelor.....	11
II.1.3. Urmele buzelor.....	11
II.1.4. Urmele dinților.....	12
II.1.5. Urmele urechilor, nasului și ale altor părți ale feței și corpului uman.....	13
II.1.5.1.1. Urmele de urechi.....	13
II.1.5.2. Urmele de nas.....	14
II.1.5.3. Urmele ridurilor (încrêțiturilor) feței.....	14
II.2. Urme materie.....	15
II.2.1. Urmele de sânge.....	15
II.2.2. Urmele de salivă.....	16
II.2.3. Urmele de spermă.....	17
III. Amprenta genetică umană.....	17
III.1. Noțiuni generale.....	17
III.2. Utilitatea amprentei ADN.....	21
III.2.1. Dezvoltarea tratamentelor pentru maladii moștenite.....	21
III.2.2. Probele biologice.....	22
III.2.3. Identificarea persoanelor.....	24
III.2.4. Medicina veterinară.....	25
III.2.5. Studiul populațiilor.....	25
IV. Schizofrenia.....	26
IV.1. Descrierea maladiei.....	26
IV.2. Simptomele schizofreniei.....	28
IV.3. Tipurile schizofreniei.....	30
IV.4. Studii de asociere - gene candidate.....	31
V. Materiale și metode.....	32

V.1. Markeri ADN.....	33
V.1.1. Sateliții.....	34
V.1.2. Minisateliții.....	35
V.1.3. Microsateliții.....	37
V.1.4. Mini STR-urile.....	42
V.1.5. SNP –urile (single nucleotid polymorphisms)	42
V.1.6. Cum sunt utilizați microsateliții?	44
V.1.7. Analiza STR-urilor.....	48
V.1.8. Avantajele sistemelor STR.....	50
V.1.9. Utilizarea STR-urilor în studiile referitoare la populațiile umane.....	51
V.2. Bazele de date ADN.....	53
V.2.1. Bănci de ADN.....	53
V.2.1.1. STRBase.....	54
V.2.1.2. CODIS.....	57
V.2.1.3. NDNAD.....	59
V.3. Colectarea probelor.....	59
V.3.1. Prelevarea probelor de sânge pentru efectuarea amprentării ADN.....	59
V.3.2. Lotul necesar pentru studiile statistice.....	63
V.4. Studiul a 15 loci STR în populația din nord-vestul României.....	63
V.4.1. Izolarea și purificarea ADN-ului.....	64
V.4.2. Metoda de genotipare.....	66
V.4.3. Analiza și interpretarea electroferogramelor obținute prin tehnica automatizată.....	74
V.5. Analiza statistică a datelor obținute.....	74
V.6. Asocierea alelică a genei pentru metilentetrahidrofolat reductaza cu schizofrenia... ..	77
V.6.1. MTHFR și bolile psihice.....	81
V.6.2. Folatul și MTHFR în schizofrenie.....	83
V.6.3. Procesarea probelor pentru analiza alelelor MTHFR.....	84
VI. Rezultate și discuții.....	87
VI.1. Studiul a 15 loci STR în populația din nord-vestul României.....	87
VI.2. Asocierea alelică a genei pentru metilentetrahidrofolat reductază cu schizofrenia.....	90
VII. Concluzii.....	94
Bibliografie	95

Cuvinte cheie: 15 loci STR, frecvență alelică, Satu Mare, SNP, MTHFR, schizofrenie, C677T, A1298C

INTRODUCERE

Cele mai spectaculoase descoperiri științifice în epoca actuală s-au făcut în genetică, după cum se știe, identificarea ADN (amprenta genetică) fiind una dintre ele.

Secvențele ADN repetate în tandem, care sunt răspândite în întregul genom uman, au o natură polimorfă ceea ce le recomandă ca markeri genetici importanți pentru studiile de cartare genetică, în diagnosticul maladiilor și în testarea identității umane. Secvențele scurte repetate în tandem (**Short Tandem Repeats**, STR-urile) conțin o unitate repetitivă de 2-6pb și pot fi amplificate cu ajutorul reacției în lanț a polimerazei (**Polymerase Chain Reaction**, PCR).

Mutațiile punctiforme din anumite gene determină modificări ale proteinelor care provoacă apariția unor maladii. Astfel, o mutație punctiformă în gena care codifică metilentetrahidrofolat reductaza (MTHFR), enzima cu rol central în ciclul folatului, determină un fenotip caracterizat prin afectarea sistemului nervos și vascular.

Această teză de doctorat prezintă metodele de genotipare utilizate în amprentarea genetică umană și metodele de secvențizare pentru detectarea mutațiilor punctiforme implicate în schizofrenie. S-a efectuat un studiu la nivel de populație pe un eșantion de 214 indivizi în vederea întocmirii unei baze de date populaționale. Datele obținute în urma studiului populațional au fost comparate cu studii similare efectuate pe eșantioane din România și din alte țări ale lumii. În urma secvențializării ADN-ului obținut de la un lot de bolnavi de schizofrenie, s-a studiat corelația între două mutații punctiforme din gena pentru metilentetrahidrofolat reductaza și schizofrenie.

I.Importanța metodelor genetice în medicină

Genetica medicală studiază istoricul genetic al familiei, determinarea riscurilor genetice, furnizează sfaturi genetice în prevenirea și diagnosticarea bolilor genetice. Istoricul genetic al familiei poate identifica riscul dezvoltării bolilor mono- și multifactoriale.

II.Amprente umane

Omul poate crea la fața locului urme formă și urme materiale (urme biologice).

Din categoria urmelor formă fac parte: urmele mâinilor; urmele picioarelor; urmele buzelor; urmele dinților; urmele urechilor, nasului și ale altor părți ale corpului uman; urmele vocii și vorbirii; scrisul și maniera de execuție a nodurilor și legăturilor.

Urmele materie de natură umană mai sunt denumite și urme biologice (în limbajul de specialitate se mai folosește și termenul de urme biocriminalistice). În general, ele nu au formă exterioară bine conturată, excepție făcând oasele, unghiile și firele de păr.

III. Amprenta genetică umană

La fel ca și amprentarea digitală, care se folosește în laboratoarele poliției din anii 1930, fiecare persoană are o amprentă ADN unică. Spre deosebire de amprenta digitală care apare pe vârful (buricele) degetelor și poate fi modificată prin operație chirurgicală, amprenta ADN este aceeași pentru fiecare celulă, țesut și organ al unei persoane; nu se poate modifica prin tratamente cunoscute. Astfel, amprenta genetică umană a devenit rapid o metodă primară pentru identificarea și distingerea dintre indivizii umani (Church, 2006).

Amprenta ADN este folosită pentru:

1. Dezvoltarea tratamentelor pentru maladii moștenite - prin analiză genotipică pot fi depistate mai mult de 30 de maladii genetice (Serre, 2002).
2. Probele biologice - metoda amprentelor genetice permite nu doar discriminarea unui suspect, dar și incriminarea altuia prin identificarea ADN-ului și a urmelor lăsate la locul crimei (Betsch, 1994).
3. Identificarea persoanelor - amprenta ADN este necesară pentru identificarea morților sau a persoanelor dispărute în misiune (Betsch, 1994) așa cum a fost în cazul cadavrelor după atacul terorist din 11 septembrie 2007 de la Turnurile Gemene din Statele Unite al Americii.
4. Medicina veterinară - amprenta ADN poate fi utilizată în reproducerea selectivă prin stabilirea corectă a liniilor de reproducere la animalele de rasă (Epplen, 1999).
5. Studiul populațiilor - amprenta genetică umană se folosește și pentru compararea frecvențelor alelice între populații la un locus dat (Edwards, 2008).

IV. Schizofrenia

Schizofrenia este o afecțiune psihică cu evoluție îndelungată, continuă, intermitentă sau remitentă a cărei caracteristică esențială o constituie disocierea autistă a personalității. Strict etimologic, termenul se traduce prin “disocierea minții” (în limba greacă “schizein” înseamnă a despărți, iar “fren” înseamnă minte, spirit) (Carata-Dejoianu, 2008).

Una dintre cele mai răspândite ipoteze în studiul schizofreniei o reprezintă „ipoteza dopaminei” care sugerează că o disfuncție a sistemului de neurotransmitere dopaminergică duce

la o scădere a concentrației de dopamină în regiunile corticale și la un exces de dopamină în ariile striate ale creierului (Howes și Kapur, 2009).

Aberațiile cromozomiale mici reprezintă un risc în apariția schizofreniei. O astfel de aberație cromozomială este sindromul deleției 22q11.2 (22q11.2 DS). Acest sindrom comun de microdeleție prezintă caracteristici congenitale incluzând aici și predispoziția pentru schizofrenie (Karayiorgou et al, 1995; Bassett et al, 2005).

V. Materiale și metode

Pe baza caracteristicilor genetice ale populațiilor studiate pentru analizele criminalistice, cum ar fi respectarea echilibrului Hardy-Weinberg și a independenței alelelor din diferiți loci s-a ales un set de 13 loci (D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S51, D5S818, D13S137, D7S820, D16S539, CSF1PO, TPOX, TH01) cu scopul de a fi markeri genetici pentru analizele criminalistice și în testele de paternitate.

Microsateliții sau STR-urile cuprind repetiții de 1-5 nucleotide, numărul repetițiilor variind de la câteva zeci de baze la o sută sau chiar mai mult, deși unele repetiții trinucleotidice reprezintă excepții notabile. Microsateliții sunt răspândiți mai mult sau mai puțin întâmplător în întregul genom uman. Numărul repetițiilor totale al fiecărui microsatelit scade odată cu creșterea mărimii unității repetate (Brinkmann, 1998).

SNP-urile reprezintă mutații punctiforme în secvența ADN care pot fi găsite atât în regiunile codificatoare, dar mai ales în cele necodificatoare. SNP-urile se utilizează în diagnostic molecular, criminalistică, genetica populației și studii de evoluție (Linacre et al, 2002).

V.1. STUDIUL A 15 LOCI STR ÎN POPULAȚIA DIN NORD-VESTUL ROMÂNIEI

În studiul de față s-a lucrat pe un eșantion de 214 indivizi de diferite etnii, din județul Satu Mare (figura 1), cărora li s-au recoltat 2 ml sânge integral pe anticoagulant, ca probă biologică. De remarcat este faptul că în acest județ situat în nord-vestul țării și la granița cu Ungaria și Ucraina, există o imixtiune de populație română, maghiară, șvabă, ucraineană și rromă.

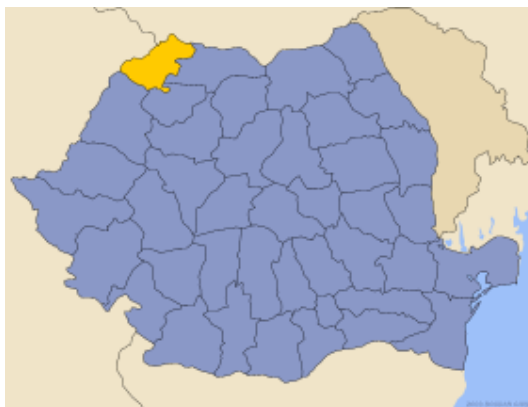


Figura 1. Localizarea județului Satu Mare

Utilizarea probelor pentru acest studiu s-a făcut cu acordul persoanelor de la care s-au recoltat mostrele de sânge.

Probele au fost colectate în perioada 2005-2006.

V.1.1. Izolarea și purificarea ADN-ului

O parte dintre probele colectate au fost supuse unei metode clasice de extracție a ADN-ului, metodă ce utilizează clorura de potasiu și proteinaza K, iar pentru restul probelor am folosit kitul Promega, Wizard Genomic DNA Purification kit-100 isolation.

Extracția ADN-ului genomic cu kit Promega, Wizard Genomic DNA Purification kit-100 isolation.

Se respectă pașii indicați de producător, însă pentru obținerea unui randament mai mare s-au modificat pașii de centrifugare, de incubare, precum și numărul etapelor de spălare ale sângelui.

Un lucru esențial pentru experimentele care utilizează ADN-ul este evitarea contaminării probelor de ADN. La fel de importante sunt calitatea și cantitatea materialul genetic.

Calitatea ADN-ului poate fi examinată prin electroforeză pe gel de agaroză sau spectrofotometric, selectând probele cu raportul A260/A280 cuprins între valorile 1,7-1,9. Rapoarte mai mici indică contaminarea cu proteine sau chimicale organice.

Cantitatea de ADN poate fi critică atât pentru succesul reacțiilor de secvențializare, cât și pentru identificarea umană (AbiPrism 310, User's Manual, 2001, AbiPrism 310, User's Guide, 2001).

V.1.2. Metoda de genotipare

Experimentele de genotipare, de analiză a fragmentelor, determină mărimea și cantitatea fragmentelor de ADN din probă, prin compararea datelor din probă cu datele obținute de la un marker de greutate moleculară.

Kitul utilizat pentru genotipare a fost AmpFISTR Identifiler. Kitul AmpFISTR Identifiler este o tehnologie multiplex ce amplifică 15 loci tetranucleotidici și locusul pentru amelogenină într-o singură reacție. Sunt amplificați toți cei 13 loci din sistemul CODIS și în plus 2 loci: D2S1338 și D19S433.

Aparatul folosit pentru amplificarea locilor studiați au fost Mastercycler (Eppendorf).

După reacția polimerazei, probele se pregătesc pentru migrare. Se pregătește un amestec și pentru markerul alelic, dar în loc de ADN se adaugă 1 μl produs amplificat Allelic Ladder aflat în componența kitului de amplificare.

Probele se denaturează în termobloc, după care se pun pe gheață. Apoi, probele se pun în tuburi speciale pentru genotipare și secvențializare și se așează în suporturi cu 96 de godeuri, care se introduc în analizorul genetic.

Cu ajutorul programului GeneScan v.3.7. (Applied Biosystems) are loc determinarea dimensiunii fiecărui fragment separat electroforetic prin comparație cu markerul de migrare ce conține fragmente de dimensiuni cunoscute.

V.1.3. Analiza statistică a datelor obținute

Pentru validarea locilor STR s-a realizat analiza statistică pentru confirmarea respectării echilibrului Hardy-Weinberg și calcularea parametrilor statistici de relevanță medico-legală: probabilitatea de potrivire, puterea de discriminare, informativitatea polimorfismului, puterea de excludere, indicele de paternitate, homozigoția și heterozigoția.

Testele statistice pentru echilibrul Hardy-Weinberg au fost executate cu programul GenePop.

V.2. Asocierea alelică a genei pentru metilentetrahidrofolat reductază cu schizofrenia

Există un consens printre cercetători conform căruia schizofrenia este o boală multifactorială. Metilentetrahidrofolat reductaza (MTHFR) este enzima cu rol central în ciclul folatului și contribuie la metabolizarea aminoacidului homocisteină. Ea catalizează reducerea 5,10-metilentetrahidrofolatului în 5-metilentetrahidrofolat, care generează forma activă a

folatului necesară pentru remetilarea homocisteinei la metionină (Goyette et al, 1993). Deficitul MTHFR se asociază frecvent cu hiperhomocisteinemie și homocistinurie cu distribuția alterată a folatului și un fenotip caracterizat prin afectarea sistemului nervos și vascular (Schwahn și Rozen, 2001; Földinger et al, 1999).

În forma homozigotă a *MTHFR*, o mutație C677T apare la peste 5% din populația adultă și produce o variantă termolabilă care reduce activitatea enzimei la sub 30% față de varianta normală (Bjelland et al, 2003).

V.2.1. Procesarea probelor pentru analiza alelelor *MTHFR*

ADN-ului genomic a fost izolat cu ajutorul kit-ului Qiagen (QIAmp®DNA Blood Mini Kit) din 300 μl de sânge recoltat pe EDTA.

V.2.2. Amplificarea fragmentelor ce conțin polimorfisme prin PCR

Pentru amplificarea fragmentului ce conține polimorfismul C677T din gena *MTHFR* s-au utilizat următoarele amorse:

C677T-forward 5'-CAG AAG CAT ATC AGT CAT GAG C-3'

C677T-reverse 5'-CCA AGC AAC GCT GTG CAA GT-3'

Amorsele flanchează un fragment de 500pb.

Pentru amplificarea fragmentului ce conține polimorfismul A1298C din gena *MTHFR* s-au folosit următoarele amorse:

A1298C-forward 5'-CAG ACC TTC CTT GCA AAT ATA TCT TTG- 3'

A1298C-reverse 5'-CGG CCC CCA ACA AAG ACC-3'

Amorsele flanchează un fragment de 510pb.

V.2.3. PCR-ul de secvențializare

Pentru determinarea exactă a succesiunii nucleotidelor din fragmentele de ADN amplificate a fost folosită metoda Sanger (metoda dideoxi). PCR-ul de secvențializare a fost realizat cu kitul BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) folosind ca ADN-matriță produșii PCR purificați din gel.

VI. REZULTATE ȘI DISCUȚII

VI.1. Studiul a 15 loci STR în populația din nord-vestul României

Pentru a obține rezultate cât mai bune, s-au efectuat mai multe diluții ale ADN-ului genomic.

Pentru obținerea datelor cât mai precise, a fost nevoie de optimizarea PCR-ului. În cazul în care cantitatea ADN-ului genomic a fost prea mare, s-au observat artefacte (alele false) în urma analizării datelor. În cazul în care cantitatea de ADN-ul genomic a fost prea mică, s-a observat pierderea de alele sau chiar loci.

În cazul analizării preliminare a datelor, sunt necesare respectarea unor pași pentru a obține rezultate cât mai precise. La fiecare electroforeză, este indicat ca întâi să se migreze Allelic Ladder-ul astfel încât să se poată observa micile variații ale condițiilor de electroforeză. Primul pas în analiza datelor este verificarea Allelic Ladder-ului. În urma analizei preliminare a probelor, se decide dacă concentrația de ADN a fost optimă, urmărindu-se artefactele (arc electric, "peek"-uri tăiate, alele false). Se analizează fiecare locus și se notează alelele prezente, ținând cont de Allelic Ladder-ul migrat în aceleași condiții cu probele respective și concentrația fragmentelor obținute. După determinarea alelelor, urmează evaluarea statistică a rezultatelor obținute: echilibrul Hardy-Weinberg, gradul de heterozigoție, alelele rare dacă e cazul, și astfel se obține o viziune de ansamblu asupra alelelor existente în populația studiată.

În urma analizei statistice, s-au obținut frecvențele pentru alelele locilor studiați, numărul homozigoților și a heterozigoților, precum și valoarea p pentru echilibrul Hardy-Weinberg (tabelul 1). În populația studiată, apar câteva alele rare, astfel: la locusul D21S11- alelele 33 și 34, la locusul D7S820- alela 13, la locusul D3S1358- alela 13, la locusul TH01- alela 4, la locusul D13S317- alela 15, la locusul D2S1338- alelele 10 și 14, la locusul D19S433 – alela 10, la locusul TPOX- alelele 7 și 13, la locusul D18S51- alelele 13,2 și 14,2, la locusul D5S818- alela 7 și la locusul FGA- alela 29. Se observă că pentru locii TH01, D2S1338, TPOX, D18S51 și FGA, valoarea p pentru echilibrul Hardy-Weinberg se situează sub 0,05 deci pentru acești loci populația analizată nu respectă echilibrul Hardy-Weinberg. Acest lucru se poate datora faptului că pe teritoriul județului Satu Mare conviețuiesc mai multe naționalități și majoritatea persoanelor provin din familii mixte.

Populația studiată a fost comparată cu alte populații de pe teritoriul țării. Astfel, dacă luăm în considerare populația județului Satu Mare și un eșantion din municipiul București, observăm că există un număr redus de valori semnificative ($P < 0.05$) dacă se aplică testul de comparare a populațiilor (F_{ST}) și testul exact pentru diferențierea populațiilor. Aceste diferențe apar în cazul locilor D21S11 și TH01 dacă comparăm populațiile cu F_{ST} și la locii D21S11,

TH01 și FGA dacă se utilizează testul exact. Dacă comparăm populația luată în studiu cu o populație din județul Timișoara, observăm că sunt diferențe în cazul locilor D13S17 și TPOX când aplicăm F_{ST} , respectiv D21S11, D13S17 când folosim testul exact.

Comparând populația județului Satu Mare cu populația maghiară din județul Harghita, 4 din cei 15 loci prezintă diferențe pentru ambele teste de comparație: D7S820, D13S317, TPOX și D5S818. Dacă utilizăm aceleași teste pentru compararea populației studiate cu populația ceangăilor din județul Harghita, obținem diferențe în cazul următorilor loci: D7S820, D13S317, TPOX și FGA pentru testul F_{ST} și D21S11, D7S820, D13S317, TPOX și FGA pentru testul exact.

Studiind diferențele între populația județului Satu Mare și populația de maghiari din județul Covasna, s-au înregistrat valori semnificative în cazul a 5 loci: D7S820, D13S317 și TPOX dacă se aplică F_{ST} , precum și D21S11, CSF1PO, D13S317 și TPOX pentru testul exact.

Efectuând o comparație cu populația generală a Transilvaniei, s-au obținut diferențe pentru locii D21S11, D13S317, D16S539, TPOX dacă aplicăm testul F_{ST} , iar pentru testul exact diferă valorile corespunzătoare locilor D21S11, D13S317, TPOX, D18S51, FGA.

Analizând rezultatele testului exact, 5 din cei 15 loci testați au prezentat valori semnificative (D21S11, D13S317, TPOX, D18S51, FGA) în comparația populației din județul Satu Mare cu populația generală a Moldovei. Dacă cele două populații au fost supuse testului F_{ST} , diferențe apar la locii D7S820, D13S317, TPOX.

Cele mai multe valori semnificative au fost obținute în comparația cu populația generală a Olteniei și Munteniei. În cazul F_{ST} , diferențele se observă la locii D21S11, D13S317, D16S539, D2S1338, TPOX și D19S51, iar pentru testul exact la locii D21S11, D13S317, D16S539, TPOX, D18S51 și FGA.

Testele statistice au evidențiat că locii D21S11, D7S820, D13S317, TPOX și FGA sunt cei mai polimorfici loci STR autozomali studiați până în prezent, specifici acestei regiuni. Astfel, observăm că pentru locii D21S11, D13S317 și TPOX există valori semnificativ diferite în comparația dintre populația județului Satu Mare cu toate celelalte populații luate în studiu.

Cu toate că populația studiată este relativ heterogenă, acești loci sunt specifici pentru nord-vestul României. Din acest motiv, eșantionul studiat poate fi utilizat pentru identificare umană și diferențieri între populații.

Prin analiza a 15 loci STR autozomali putem concludiona, că distanța genetică măsurată prin compararea frecvențelor alelice indică faptul că populația inclusă în prezentul studiu prezintă o diferență mai mică față de populația românilor din municipiul București și populația generală din vestul României (județul Timișoara) decât față de populația generală a Olteniei și Munteniei și a populațiilor din Harghita și Covasna.

Dacă comparăm populația județului Satu Mare pe rând cu câte o populație din Muntenegru, Rusia, Venezuela și Tanzania putem corela distanțele genetice măsurate prin compararea frecvențelor alelice care există între populații cu distanțele geografice dintre populațiile comparate (tabelul 2). Așa cum se putea presupune, populația studiată și populația din Rusia sunt cele mai puțin diferite. Diferențele cele mai mari se observă între populația luată în studiu și cea din Tanzania. Între populația studiată și populația din Muntenegru, respectiv, cea din Venezuela diferențele sunt mult mai mici. Dacă în cazul țărilor Rusia, Muntenegru și Tanzania diferențele genetice sunt comparabile cu distanța dintre populațiile comparate, populația din Venezuela (cea mai îndepărtată din punct de vedere geografic) prezintă diferențe mai mici decât ne-am fi așteptat. Cea mai mare varietate în ceea ce privește frecvența alelor, se observă la locii D7S820, TH01 și TPOX, iar distribuția cea mai omogenă a alelelor apare în cazul locusului D5S818.

Dacă comparăm populația județului Satu Mare pe rând cu câte o populație din Muntenegru, Rusia, Venezuela și Tanzania putem corela distanțele genetice măsurate prin compararea frecvențelor alelice care există între populații cu distanțele geografice dintre populațiile comparate. Așa cum se putea presupune, populația studiată și populația din Rusia sunt cele mai puțin diferite. Diferențele cele mai mari se observă între populația luată în studiu și cea din Tanzania. Între populația studiată și populația din Muntenegru, respectiv, cea din Venezuela diferențele sunt mult mai mici. Dacă în cazul țărilor Rusia, Muntenegru și Tanzania diferențele genetice sunt comparabile cu distanța dintre populațiile comparate, populația din Venezuela (cea mai îndepărtată din punct de vedere geografic) prezintă diferențe mai mici decât ne-am fi așteptat. Cea mai mare varietate în ceea ce privește frecvența alelor, se observă la locii D7S820, TH01 și TPOX (figurile 2, 3, și 4), iar distribuția cea mai omogenă a alelelor apare în cazul locusului D5S818 (figura 5).

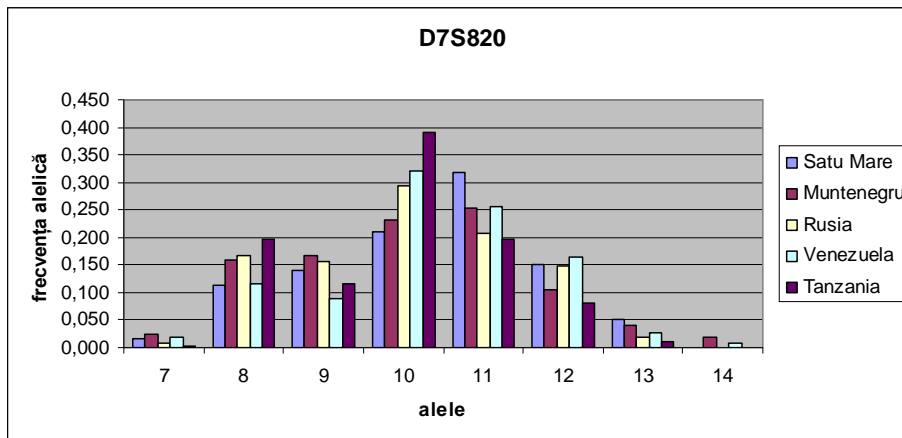


Figura 2. Frecvența alelor la locusul D7S820 pentru populațiile din Satu Mare, Muntenegru, Rusia, Venezuela și Tanzania

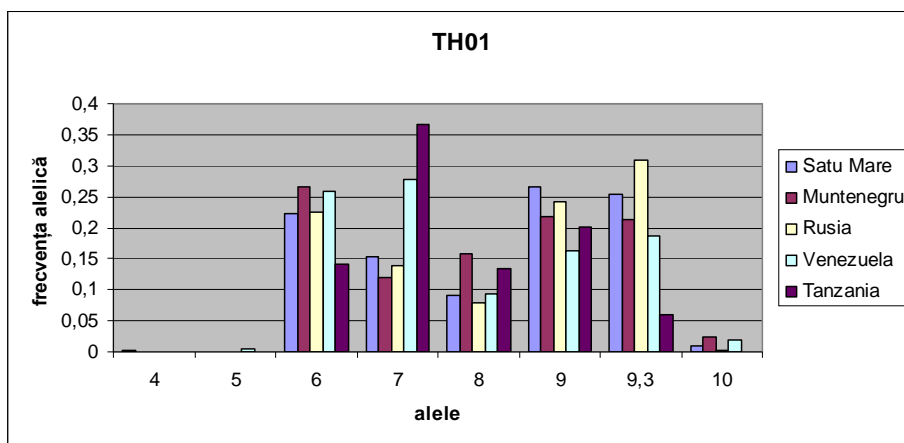


Figura 3. Frecvența alelor la locusul TH01 pentru populațiile din Satu Mare, Muntenegru, Rusia, Venezuela și Tanzania

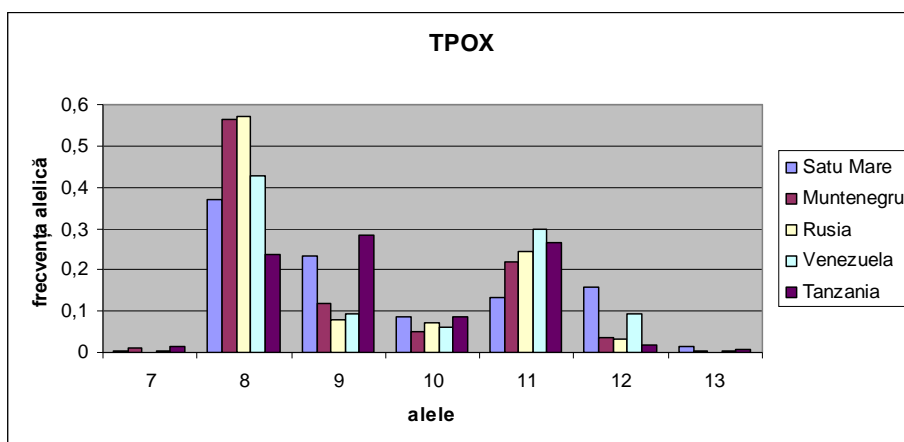


Figura 4. Frecvența alelor la locusul TPOX pentru populațiile din Satu Mare, Muntenegru, Rusia, Venezuela și Tanzania

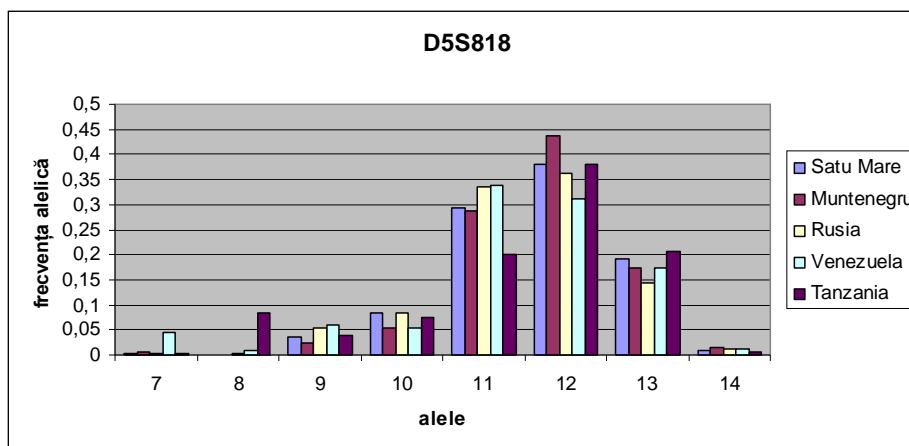


Figura 5. Frecvența alelor la locusul D5S818 pentru populațiile din Satu Mare, Muntenegru, Rusia, Venezuela și Tanzania

VI.2. Asocierea aleică a genei pentru metilentetrahidrofolat reductază cu schizofrenia

În cadrul acestui studiu au fost analizați loturi experimentale și de control pentru două mutații punctiforme din gena *MTHFR* în vederea observării gradului de corelație dintre anumite frecvențe genotipice și manifestări de tip schizoid.

Ampliconii au fost purificați din gel de agaroză 1%. Markerul utilizat a fost **pQE60** digerat cu *DraI* (godeul 1) (figurile 6 și 7).

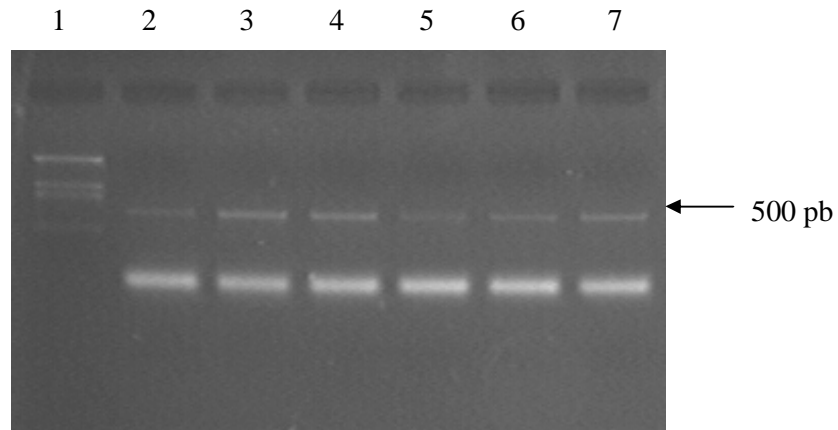


Figura 6. Verificarea PCR-ului cu amorsele specifice (C677T)

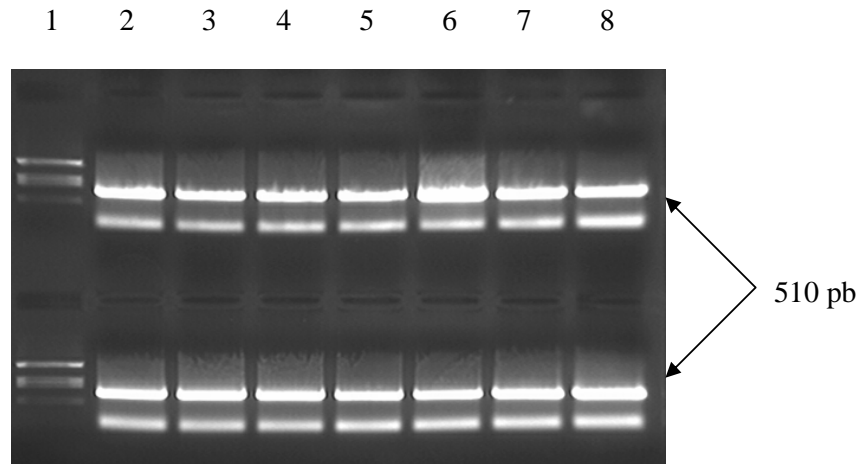


Figura 7. Verificarea PCR-ului cu amorsele specifice (A1298C)

Pentru purificarea ampliconilor s-a folosit Kit-ul Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega).

1. Polimorfismul genei *MTHFR*

S-a analizat polimorfismul C677T din gena *MTHFR* la 46 de probe din lotul de pacienți. Dintre aceștia, 13 prezintă alela sălbatică CC, 27 indivizi sunt heterozigoți CT, iar 6 indivizi sunt homozigoți, având alela defectă TT. În lotul de control au fost analizate 35 de probe, din care 23 de indivizi au alela sălbatică CC, 7 sunt heterozigoți CT, iar 5 indivizi sunt homozigoți, având alela „defectă” TT (figura 8).

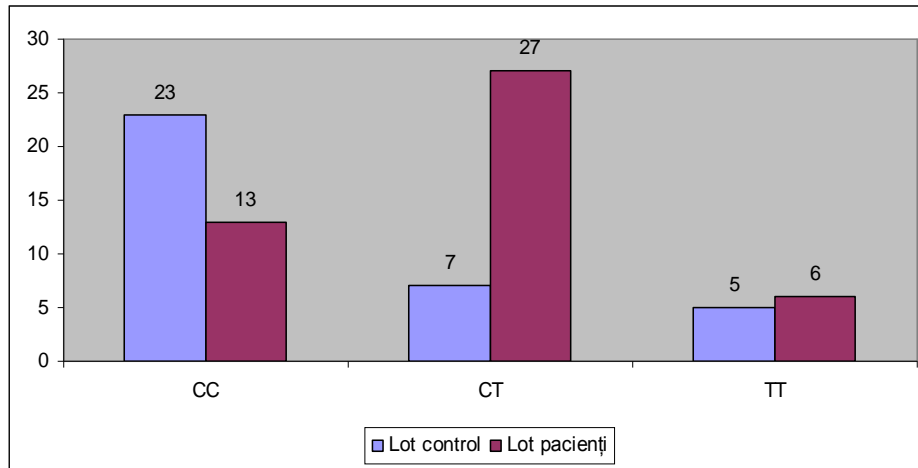


Figura 8. Polimorfismul C677T din gena *MTHFR*

Homozigoții TT mutați apar în procente similare la cele două loturi analizate ceea ce infirmă ipoteza conform căreia genotipul homozigot mutant ar fi implicat în instalarea schizofreniei. Se observă o inversare a proporțiilor pentru genotipurile CC și CT între loturile experimental și control (tabelul 3).

GENOTIP	LOT CONTROL			LOT PACIENȚI		
	Normal	Modificat		Normal	Modificat	
	CC	CT	TT	CC	CT	TT
Număr	23	7	5	13	27	6
%	65,7	20,0	14,3	28,3	58,7	13,0
%	65,7	34,3		28,3	71,7	

Tabelul 3. Polimorfismul C677T din gena *MTHFR*

În cazul polimorfismului A1298C din gena *MTHFR* au fost analizate 42 de probe din lotul de pacienți. Dintre indivizii analizați 24 au alela sălbatică AA, 20 sunt heterozigoți AC, iar 5 indivizi sunt homozigoți, având alela defectă CC. La lotul de control au fost analizate 40 de

probe, dintre acestea 17 au alela sălbatică AA, 20 indivizi sunt heterozigoți AC, iar 3 indivizi sunt homozigoți, având alela mutantă CC (figura 9).

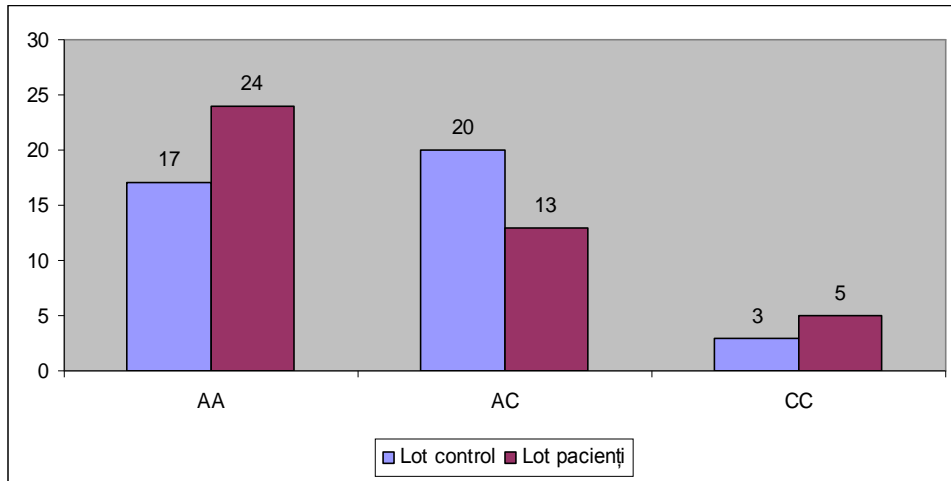


Figura 9. Polimorfismul A1298C din gena MTHFR

Numărul redus al indivizilor homozigoți, purtători ai alelei defecte TT (C677T)/CC(A1298C) poate fi explicat ca rezultat al selecției. În aceste cazuri rezultă o enzimă termolabilă cu activitate scăzută și cu urmări negative asupra organismului. Polimorfismul din pozițiile studiate se menține în populație în formă heterozigotă în decursul generațiilor, dar nu și în formă homozigotă (tabelul 4).

GENOTIP	LOT CONTROL			LOT PACIENȚI		
	Normal	Modificat		Normal	Modificat	
	AA	AC	CC	AA	AC	CC
Număr	17	20	3	24	13	5
%	42,5	50,0	7,5	57,1	31,0	11,9
%	42,5	57,5		57,1	42,9	

Tabelul 4. Polimorfismul A1298T din gena MTHFR

Un studiu similar pe un lot de 68 pacienți, a observat prezența alelei sălbatică CC în poziția 677 la 32 de persoane, în timp ce 25 de pacienți sunt heterozigoți CT, iar 11 prezintă alela mutantă TT în formă homozigotă. Comparând cu rezultatele noastre, acest lot de pacienți prezintă forma sălbatică CC în proporție de 47%, în timp ce în lotul studiat de noi genotipul CC

apare în 28% din cazuri. Heterozigoții CT sunt prezenți în proporție de 58,7% în lotul studiat de către noi și în procent de 36,8% în celălalt lot (figura 10).

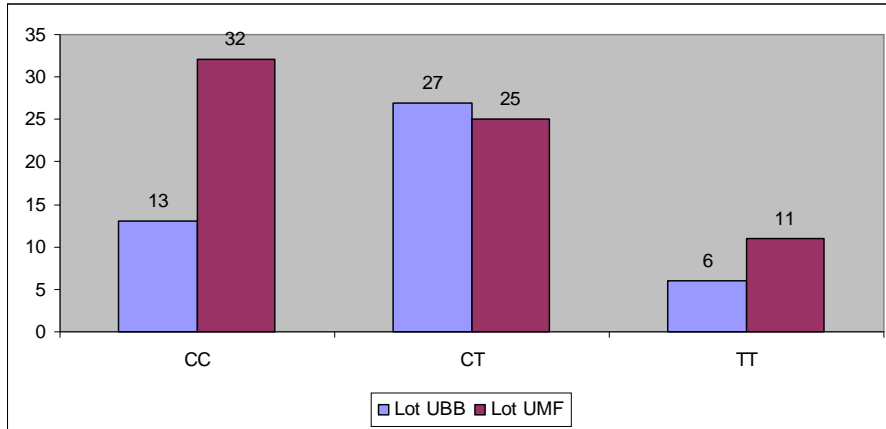


Figura 10. Polimorfismul genei *MTHFR* în poziția 677 la pacienții din lotul studiat la Universitatea „Babeș-Bolyai” și din lotul studiat la Universitatea „Iuliu Hațieganu”

În cazul polimorfismului A1298C, nu există diferențe semnificative între cele două loturi privind prezența alelei sălbatice homozigote AA, aceasta fiind prezentă în proporție de 57,1% în lotul studiat de noi și 58,2% în lotul celălalt. Se observă faptul că 31% din pacienții lotului nostru sunt heterozigoți AC, în timp ce din lotul paralel 41,2% prezintă ambele alele. Dintre pacienții studiați de către noi, 11,8% sunt homozigoți pentru alela mutantă CC, însă din lotul celălalt niciun pacient nu prezintă acest genotip (figura 11).

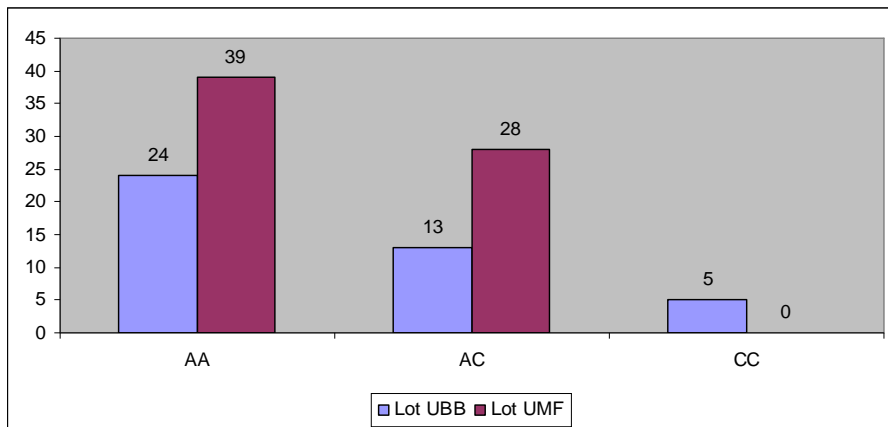


Figura 11. Polimorfismul genei *MTHFR* în poziția 1298 la pacienții din lotul studiat la Universitatea „Babeș-Bolyai” și din lotul studiat la Universitatea „Iuliu Hațieganu”

V. CONCLUZII

În urma analizării a 15 loci STR într-o populație din nord-vestul României (județul Satu Mare) și compararea rezultatelor cu date similare obținute pentru populații din alte regiuni ale României, din Rusia, Muntenegru, Tanzania și Venezuela s-a observat:

- cea mai semnificativă diferență dintre populația studiată și celelalte populații românești se observă pentru populația generală din Oltenia și Muntenia.
- pe plan mondial, populația studiată este mai apropiată în ordine de populațiile din Rusia, Venezuela, Muntenegru și, în ultimul rând, Tanzania. Similaritatea mai mare dintre populația sătmăreană și Venezuela decât față de cea muntenegreană, în pofida distanței geografice mai mari dintre primele două, se poate datora faptului că populația din Muntenegru este una izolată într-o zonă muntoasă, greu accesibilă, și mult consangvinizată.

Numărul redus al indivizilor homozigoți purtători ai alelelor mutante TT pentru locusul C677T și CC pentru locusul A1298C se datorează selecției negative care acționează asupra acestor genotipuri.

Pentru locusul C677T în lotul experimental domină forma heterozigotă CT cu o pondere de 58,7% față de 20% în lotul control. Pentru locusul A1298C, domină în lotul experimental cu o pondere de 57,1% fenotipul homozigot normal față de 42,5% în lotul control. Nu se observă o corelație directă și semnificativă între genotipurile mutante și manifestările schizoide.

Pentru bolile neuropsihice deoarece sunt boli cu etiologie complexă, multigenică, astfel încât este necesară studierea concomitentă a diferitelor gene (*MTFHR*, *PONI*, *COMT* etc).

Studii moleculare ale variabilității genetice umane în cazuri normale și patologice (schizofrenie)

Allele	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA
4	-	-	-	-	-	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	0.224	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	0.016	-	-	0.159	-	-	-	-	-	0.002	-	0.005	-
8	0.021	-	0.091	0.005	-	0.107	0.131	0.009	-	-	-	0.348	-	-	-
9	0.007	-	0.138	0.019	-	0.243	0.072	0.065	-	0.002	-	0.264	-	0.035	-
9.3	-	-	-	-	-	0.252	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.068	-	0.213	0.262	-	0.012	0.051	0.082	-	0.002	-	0.084	0.009	0.082	-
11	0.049	-	0.355	0.341	-	-	0.224	0.250	-	0.002	0.002	0.129	0.012	0.304	-
12	0.124	-	0.138	0.306	-	-	0.266	0.334	-	0.103	-	0.164	0.126	0.369	-
13	0.325	-	0.049	0.051	0.005	-	0.189	0.224	-	0.255	0.002	0.009	0.100	0.192	-
13.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.090	-	-	0.019	-	-
14	0.266	-	-	0.016	0.136	-	0.051	0.035	0.004	0.322	0.110	-	0.168	0.014	-
14.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.019	-	-	0.014	-	-
15	0.126	-	-	-	0.273	-	0.014	-	-	0.161	0.091	-	0.152	-	-
15.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.040	-	-	-	-	-
16	0.014	-	-	-	0.231	-	-	-	0.072	0.040	0.206	-	0.138	-	-
16.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.028	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	0.196	-	-	-	0.189	0.009	0.273	-	0.114	-	-
17.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.007	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	0.147	-	-	-	0.098	-	0.196	-	0.068	-	0.009
19	-	-	-	-	0.012	-	-	-	0.117	-	0.091	-	0.047	-	0.072
20	-	-	-	-	-	-	-	-	0.147	-	0.028	-	0.019	-	0.119
21	-	-	-	-	-	-	-	-	0.035	-	-	-	0.012	-	0.152
22	-	-	-	-	-	-	-	-	0.026	-	-	-	0.002	-	0.164
23	-	-	-	-	-	-	-	-	0.091	-	-	-	-	-	0.159
24	-	-	-	-	-	-	-	-	0.112	-	-	-	-	-	0.136
25	-	0.002	-	-	-	-	-	-	0.091	-	-	-	-	-	0.112
26	-	0.002	-	-	-	-	-	-	0.016	-	-	-	-	-	0.061
27	-	0.012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.014
28	-	0.180	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	0.245	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.002
29.2	-	0.002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	0.194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30.2	-	0.044	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	0.037	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.2	-	0.082	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	0.026	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32.2	-	0.079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	0.042	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33.2	-	0.035	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	0.012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34.2	-	0.005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H	0.827	0.836	0.762	0.696	0.785	0.715	0.738	0.738	0.846	0.785	0.794	0.626	0.832	0.696	0.771
MP	0.078	0.046	0.081	0.130	0.076	0.077	0.058	0.090	0.030	0.075	0.061	0.105	0.029	0.124	0.033
PD	0.922	0.954	0.919	0.870	0.924	0.923	0.942	0.910	0.970	0.925	0.939	0.895	0.971	0.876	0.967
PIC	0.750	0.830	0.750	0.670	0.760	0.760	0.790	0.730	0.870	0.760	0.790	0.720	0.870	0.680	0.860
PE	0.650	0.668	0.530	0.423	0.572	0.452	0.490	0.490	0.687	0.572	0.589	0.323	0.659	0.423	0.546
TPI	2.89	3.06	2.10	1.65	2.33	1.75	1.91	1.91	3.24	2.33	2.43	1.34	2.97	1.65	2.18
P	0.619	0.179	0.321	0.659	0.918	0.038	0.433	0.946	0.015	0.458	0.579	0.000	0.034	0.627	0.002

H-heterozigoția, **MP**-probabilitate de potrivire, **PD**-putere de discriminare, **PIC**-informativitatea polimorfismului, **PE**-puterea de excludere, **TPI**- indicele de paternitate, **p**- testul exact pentru echilibrul Hardy Weinberg

Tabelul 1. Frecvența alelică și parametri statistici pentru populația județului Satu Mare formată din 214 indivizi

Studii moleculare ale variabilității genetice umane în cazuri normale și patologice (schizofrenie)

Marker	Test	Population data	CJ-Hu	CV-Sze	HR-Sze	HR-Csn	B-Ro	Trsi	West	Moldova	Dobrogea	Oltenia and Muntenia
			n=146	n=278	n=257	n=220	n=243	n=1977	n=219	n=1321	n=569	n=1910
D8S1179	Fst	SM-Ro vs	0.58398+-0.0143	0.49707+-0.0152	0.31543+-0.0206	0.70215+-0.0138	0.25977+-0.0140	0.16016+-0.0108	0.44238+-0.0158	0.36621+-0.0159	0.19727+-0.0123	0.27246+-0.0165
	Exact test	SM-Ro vs	0.90666+-0.0051	0.80224+-0.0131	0.39188+-0.0197	0.60221+-0.0113	0.41800+-0.0165	0.23989+-0.0114	0.78764+-0.0111	0.65771+-0.0168	0.30948+-0.0200	0.36312+-0.0190
D21S11	Fst	SM-Ro vs	0.14453+-0.0115	0.31641+-0.0155	0.41895+-0.0141	0.10352+-0.0113	0.03809+-0.0053	0.04297+-0.0066	0.08496+-0.0092	0.11328+-0.0111	0.04492+-0.0063	0.01562+-0.0042
	Exact test	SM-Ro vs	0.03935+-0.0065	0.01303+-0.0042	0.10699+-0.0080	0.02369+-0.0049	0.00041+-0.0005	0.00000+-0.0000	0.01099+-0.0021	0.00000+-0.0000	0.00002+-0.0000	0.00000+-0.0000
D7S820	Fst	SM-Ro vs	0.01758+-0.0042	0.01465+-0.0037	0.00195+-0.0014	0.00000+-0.0000	nd	0.05273+-0.0061	0.08984+-0.0114	0.03906+-0.0055	0.06934+-0.0100	0.15723+-0.0111
	Exact test	SM-Ro vs	0.10347+-0.0070	0.07884+-0.0084	0.01037+-0.0022	0.00122+-0.0009	nd	0.06343+-0.0061	0.08678+-0.0087	0.10949+-0.0122	0.16529+-0.0075	0.26625+-0.0191
CSF1PO	Fst	SM-Ro vs	0.98633+-0.0027	0.24219+-0.0138	0.51172+-0.0146	0.87988+-0.0091	nd	0.90039+-0.0070	0.77246+-0.0105	0.69824+-0.0143	0.94141+-0.0063	0.97559+-0.0048
	Exact test	SM-Ro vs	0.93996+-0.0049	0.04996+-0.0085	0.44186+-0.0151	0.36834+-0.0135	nd	0.55183+-0.0210	0.85288+-0.0031	0.47035+-0.0104	0.86094+-0.0105	0.75232+-0.0143
D3S1358	Fst	SM-Ro vs	0.33691+-0.0105	0.20215+-0.0117	0.26465+-0.0120	0.28516+-0.0131	0.85156+-0.0084	0.35742+-0.0122	0.48438+-0.0148	0.48145+-0.0153	0.60645+-0.0120	0.15723+-0.0103
	Exact test	SM-Ro vs	0.51354+-0.0118	0.28015+-0.0163	0.35603+-0.0152	0.15460+-0.0093	0.90081+-0.0072	0.33840+-0.0130	0.59505+-0.0156	0.38096+-0.0100	0.83136+-0.0109	0.24812+-0.0135
TH01	Fst	SM-Ro vs	0.32422+-0.0113	0.18555+-0.0135	0.72852+-0.0153	0.14551+-0.0101	0.01758+-0.0037	0.30469+-0.0153	0.05469+-0.0076	0.16895+-0.0133	0.38477+-0.0110	0.12988+-0.0098
	Exact test	SM-Ro vs	0.50545+-0.0171	0.30468+-0.0223	0.76938+-0.0080	0.30201+-0.0142	0.03951+-0.0168	0.15612+-0.0211	0.06102+-0.0098	0.16656+-0.0068	0.43041+-0.0314	0.10284+-0.0089
D13S317	Fst	SM-Ro vs	0.01172+-0.0030	0.01660+-0.0046	0.02148+-0.0053	0.00000+-0.0000	nd	0.02637+-0.0050	0.00586+-0.0022	0.00586+-0.0026	0.00684+-0.0023	0.00195+-0.0014
	Exact test	SM-Ro vs	0.02277+-0.0031	0.00682+-0.0013	0.01849+-0.0029	0.00000+-0.0000	nd	0.00101+-0.0010	0.00450+-0.0016	0.00000+-0.0000	0.00012+-0.0001	0.00008+-0.0001
D16S539	Fst	SM-Ro vs	0.56152+-0.0138	0.11426+-0.0090	0.70117+-0.0131	0.24707+-0.0136	0.09766+-0.0068	0.03711+-0.0048	0.49609+-0.0193	0.23047+-0.0116	0.06250+-0.0087	0.00488+-0.0020
	Exact test	SM-Ro vs	0.84081+-0.0072	0.09541+-0.0065	0.68951+-0.0097	0.35600+-0.0227	0.07079+-0.0053	0.08556+-0.0084	0.68294+-0.0107	0.43492+-0.0150	0.14369+-0.0097	0.01482+-0.0027
D2S1338	Fst	SM-Ro vs	0.95605+-0.0058	0.90723+-0.0099	0.59766+-0.0178	0.39453+-0.0162	0.57227+-0.0155	0.62402+-0.0150	0.93066+-0.0083	0.62598+-0.0162	0.87305+-0.0109	0.49707+-0.0176
	Exact test	SM-Ro vs	0.99409+-0.0008	0.95735+-0.0061	0.59530+-0.0149	0.55020+-0.0162	0.44333+-0.0163	0.06738+-0.0114	0.88256+-0.0085	0.14671+-0.0181	0.66312+-0.0187	0.08443+-0.0129
D19S433	Fst	SM-Ro vs	0.83789+-0.0109	0.90625+-0.0103	0.59473+-0.0162	0.45215+-0.0190	0.38574+-0.0161	0.30664+-0.0141	0.41797+-0.0154	0.94824+-0.0077	0.37988+-0.0194	0.53125+-0.0145
	Exact test	SM-Ro vs	0.36183+-0.0110	0.92205+-0.0066	0.66935+-0.0179	0.42362+-0.0186	0.44635+-0.0211	0.59229+-0.0163	0.38028+-0.0157	0.92115+-0.0105	0.68269+-0.0108	0.60449+-0.0209
vWA	Fst	SM-Ro vs	0.90723+-0.0079	0.73242+-0.0156	0.61914+-0.0144	0.36621+-0.0128	0.91797+-0.0092	0.69043+-0.0123	0.98047+-0.0044	0.85840+-0.0098	0.93359+-0.0061	0.55273+-0.0169
	Exact test	SM-Ro vs	0.94020+-0.0030	0.52834+-0.0105	0.53429+-0.0200	0.15078+-0.0127	0.79558+-0.0155	0.35741+-0.0158	0.65802+-0.0149	0.77206+-0.0149	0.85927+-0.0119	0.17599+-0.0271
TPOX	Fst	SM-Ro vs	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	nd	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000
	Exact test	SM-Ro vs	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	nd	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000
D18S51	Fst	SM-Ro vs	0.57910+-0.0156	0.62500+-0.0147	0.55957+-0.0140	0.77246+-0.0113	0.24316+-0.0159	0.80762+-0.0118	0.36426+-0.0150	0.93359+-0.0082	0.41406+-0.0128	0.73145+-0.0124
	Exact test	SM-Ro vs	0.61956+-0.0105	0.21570+-0.0169	0.32835+-0.0230	0.63413+-0.0184	0.15329+-0.0100	0.00118+-0.0009	0.17251+-0.0104	0.01545+-0.0030	0.08280+-0.0113	0.00171+-0.0007
D5S818	Fst	SM-Ro vs	0.86523+-0.0095	0.98730+-0.0034	0.00000+-0.0000	0.96875+-0.0061	nd	0.56543+-0.0161	0.91406+-0.0095	0.99707+-0.0014	0.65625+-0.0126	0.87598+-0.0090
	Exact test	SM-Ro vs	0.94839+-0.0050	0.97169+-0.0019	0.00000+-0.0000	0.96260+-0.0015	nd	0.71274+-0.0209	0.81045+-0.0121	0.89155+-0.0079	0.87704+-0.0059	0.90950+-0.0124
FGA	Fst	SM-Ro vs	0.33496+-0.0179	0.45996+-0.0169	0.54199+-0.0152	0.04590+-0.0063	0.13672+-0.0088	0.07715+-0.0073	0.44434+-0.0144	0.11426+-0.0102	0.27832+-0.0148	0.23047+-0.0119
	Exact test	SM-Ro vs	0.28976+-0.0233	0.39253+-0.0283	0.26907+-0.0258	0.00052+-0.0003	0.00638+-0.0020	0.00811+-0.0036	0.47217+-0.0208	0.01929+-0.0045	0.09060+-0.0147	0.03515+-0.0077

Tabelul 2. Studiul comparativ al populației din județul Satu Mare cu alte populații din România

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Abi Prism GeneScan Analyzer, User's Guide**, Applied Biosystems, U.S.A., 2001
- AmpF/STR® Identifier PCR Amplification Kit - User's manual**, Applied Biosystems, U.S.A., 2001
- Abi Prism®310 Genetic Analyzer, User's manual**, Applied Biosystems, U.S.A., 2001
- ABI PRISM®310 Genetic Analyzer, GeneScan®References Guide**, Applied Biosystems, U.S.A., 2000
- Bassett, A. S., Chow, E. W., Husted, J., Weksberg, R., Caluseriu, O., Webb, G. D., Gatzoulis, M. A., 2005**, Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome, *Am. J. Med. Genet. A*, **138**, 307-313
- Betsch, D., 1994**, DNA Fingerprinting in Human Health and Society
- Bjelland, I., Ueland, P. M., Vollset, S. E. 2003**, Folate and Depression. *Psychotherapy and Psychosomatics*, **72**: 59-60
- Brinkmann B, Klintschar M, Neuhuber F, et al., 1998**, Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of tandem repeat. *Am J Hum Genet*, **62**:1408–15
- Carata – Dejoianu, T., 2008** - Schizofrenia, www.farmacziata.ro/SitFiles/articol_no_ph.php?id=45
- Church, G., 2006**, Genomes for All, *Scientific American*, vol. I
- Edwards, A. W. F., G. H., 2008**, Hardy (1908) and Hardy–Weinberg Equilibrium, *Genetics*, Vol. **179**, 1143-1150
- Epplen, J., T., 1999**, DNA Profiling and DNA Fingerprinting, Birkhauser, Verlag, CH-4010, Basel, Switzerland
- Földinger M., Walter H.H., Sunder-Plassmann G., 1999**, Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J. Nephrol.*, **13** (1), 20-33
- Goyette et al., 1993**, Isolation of a cDNA for Human Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Identification of Mutations in MTHFR-deficient Patients, *American Journal of Human Genetics* **53** (3):153 (Meeting Abstract)
- Howes, O.D., Kapur, S., 2009**, The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III – the final common pathway. *Schizophr. Bull.*, **35**, 549-562
- Karayorgou, M., Morris, M. A., Morrow, B., Shprintzen, R. J., Goldberg, R., Borrow, J., Gos, A., Nestadt, G., Wolyniec, P. S., Lasseter, V. K., Eisen, H., Childs, B., Kazazian, H. H., Kucherlapati, R., Antonarakis, S. E., Pulver, A. E., Housman, D. E., 1995**,

Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11.2, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**, 7612-7616

Linacre, A., Graham, D., 2002, Role of Molecular Diagnostics in forensic science, Future Drug LTD, ISSN, 1473-7159

Schwahn B.R., Rozen.R., 2001, Polymorphism in the tetrahydrofolate reductase: clinical consequences. *Am. J. Pharmacogenomics.*, **1** (3): 189-201

Serre, J., L., 2002, Les Diagnostics Genetiques, Biotech. Info, Dunod, Paris