

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEDUSKOND
EVOLUTSIOONILISE BIOLOOGIA ÕPPETOOL

Merike Saupõld

Dopamiinireseptori geeni DRD4 polümorfismid ja nende seos käitumisega

Bakalaureusetöö

Juhendaja: M.Sc. Jüri Parik

TARTU 2010

SISUKORD

Lühendid.....	3
Sissejuhatus	4
Kirjanduse ülevaade	5
1.1. Neurotransmitter dopamiin.....	5
1.1.1. Dopamiini mõju organismile	6
1.1.2. Dopamiini mõju käitumisele	6
1.2. Dopamiini retseptorid	7
1.2.1. Dopamiini retseptorite paiknemine ja funktsioonid	11
1.2.1.1 D ₁ pk. retseptorid.....	11
1.2.1.2. D ₂ pk. retseptorid.....	12
1.3. DRD4 geen ja polümorfismid.....	14
1.3.1. Klass: Linnud (<i>Aves</i>)	14
1.3.1.1. Selts: Värvulised (<i>Passeriformes</i>).....	15
1.3.1.2. Selts: Kanalised (<i>Galliformes</i>).....	16
1.3.2. Klass: Imetajad (<i>Mammalia</i>)	17
1.3.2.1. Sgk. Hobuslased (<i>Equus</i>).....	17
1.3.2.2. Sgk. Mereimetajad Sinivaallased (<i>Balaenidae</i>).....	18
1.3.2.3. Sgk. Koerlased (<i>Canidae</i>).....	19
1.3.2.4. Sgk. Inimlased (<i>Hominidae</i>).....	21
1.3.2.5. Inimene (<i>Homo sapiens</i>).....	23
1.4. DRD4 polümorfismid ja käitumine	28
1.4.1. Klass: Linnud (<i>Aves</i>)	28
1.4.1.1. Selts: Värvulised (<i>Passeriformes</i>).....	28
1.4.1.2. Selts: Kanalised (<i>Galliformes</i>).....	29
1.4.2. Klass: Imetajad (<i>Mammalia</i>)	29
1.4.2.1. Sgk. Hobuslased (<i>Equus</i>).....	29
1.4.2.2. Sgk. Mereimetajad Sinivaallased (<i>Balaenidae</i>).....	30
1.4.2.3. Sgk. Koerlased (<i>Canidae</i>).....	30
1.4.2.4. Sgk. Inimlased (<i>Hominidae</i>).....	31
1.4.2.5. Inimene (<i>Homo sapiens</i>).....	31
Arutelu.....	38
Kokkuvõte	41
Summary.....	42
KASUTATUD KIRJANDUS	43
KASUTATUD VEEBIAADRESSID	56
KASUTATUD RAAMATUD.....	56

Lühendid

ADHD – attention deficit hyperactivity disorder tähelepanu puudujäägiga hüperaktiivsuse häire

AC – adenülaadi tsüklaas

bp – basepair – aluspaar

cAMP – tsükliline adenosiin monofosfaat

D₁-D₅ – dopamiini retseptorid D1-D5

DA – dopamiin

DOPA – dihidroksüfenüülalaniin

DRD4 – dopamiini retseptor D4 geen

DSM-IV – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV – diagnostika ja statistika vaimsetest häiretest IV

EEB – early exploratory behaviour – varajane uudistav käitumine

GPCR – G protein couple receptor – guanosiin valguga seotud retseptor

GTP – guanosiintrifosfaat

In-del – insertioon deletsioon

NA – noradrenaliin

Pk. – perekond

PKA – proteiin kinaas A

2R-11R – 2 kuni 11 kordsed polümorfised VNTR kordused DRD4 geeni III eksonis

Sgk. – sugukond

SNP – single nucleotide polymorphism – üksiku nukleotiidi polümorfism

VNTR – variable number tandem repeat – tandemkorduste arvu varieeruvus (10 kuni 100 aluspaari pikkused üksteisele järgnevad kordused DNA ahelas)

Sissejuhatus

2009. aastal, kui algas ülemaailmne majanduskriis, mida võrreldakse eelmise sajandi kahekümnendate lõpu majanduskriisiga, jõudsid paljude populaarteaduslike ja ka kollase ajakirjanduse veergudele kommentaarid Kuhnen ja Chiao artiklist ajakirjas PLOS one (Kuhnen ja Chiao 2009).

Artikkel kandis väga intrigeerivat pealkirja „Genetic Determinants of Financial Risk Taking“. Pankurite liigsete riskide võtmist prooviti selles artiklis põhjendada või selgitada kahe geeni, millest üks on DRD4, teatud polümorfsete variantide kaudu.

DRD4 sai samalaadse laiema üldsuse huvi osaliseks juba 1996 aastal, kui ilmus ajakirjas Nature pea üheaegselt kaks artiklit, kus näidati selle polümorfse geeni teatud alleelide seotust psühholoogide poolt defineeritud nn. uudsusjanuga (*Novelty seeking*) (Ebstein jt., 1996; Benjamin jt., 1996).

Selle geeni polümorfisme on viimase 19 aasta jooksul uuritud paljudes laborites koostöös nii psühholoogide, psühhiaatrite kui ka kasvatusteadlastega. Rida töid on tehtud ka loomade käitumise uurijate poolt, esmajoonel on uuritud erinevaid koeratõuge, delfiine, ahve aga ka mitut liiki linde.

Dopamiin ajus mõjutab mootorika kujunemist, tunnetuslike protsesside reguleerimist ja hormoonide talitlust. Lisaks igapäevaste protsesside reguleerimisele mõjutab dopamiin veel erinevaid käitumuslikke funktsioone.

Dopamiini kogust kesknärvisüsteemis ja selle tagajärjel käitumist võivad mõjutada erinevad polümorfse variandid tema retseptori geenides, mis omakorda võib olla aluseks erinevate käitumishäirete kujunemisel. Dopamiini ebahühtlane annus võib mõjutada meeleolu, põhjustada depressiivset käitumist või isegi skisofreeniat ning lastel võib tekkida hüperaktiivsuse käitumishäire (ADHD-attention deficit hyperactivity disorder-tähelepanu defitsiit hüperaktiivsuse häire).

Antud töös toon ülevaate erinevate dopamiini retseptorite perekondade struktuurist. Dopamiini retseptorid on G valkudega seotud retseptorid, mis on suurim raku pinnaretseptorite perekond ja millega on seotud paljud haigused ja nende ravi. DRD4 on üks mitmest neurotransmitter dopamiini vahendavast retseptorist.

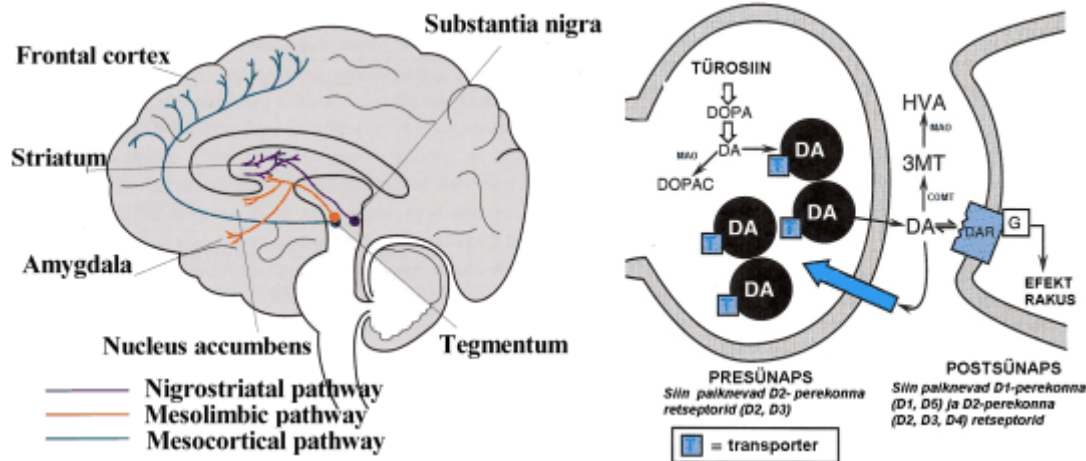
Käesoleva töö eesmärgiks on vaadelda DRD4 geeni polümorfisme ja nende võimalikku mõju käitumisele.

Kirjanduse ülevaade

1.1. Neurotransmitter dopamiin

Dopamiini keemiline valem on $C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH$ ja keemiline nimetus on 4-2 aminoetüül benzeen-1,2 diool ning lühend „DA“. Sünteesiti ta esmakordselt 1910. aastal Londonis (Welcome Laboratories). Tema funktsioon neurotransmitterina avastati 1958. aastal Arvid Carlssoni ja Nils-Ave Hillarpi poolt. 2000. aastal sai Arvid Carlsson Nobeli preemia dopamiini signaalmolekuli rolli avastamise eest.

Dopamiin etendab olulist osa KNS (kesknärvisüsteemi) kujunemises (Joonis. 1.) (Othani jt., 2003). Dopamiini süntees saab alguse aminohappest türosiin. Türosiini sünteesib organism maksas L-fenüülalaniinist, millest ensüümi fenüülalaniin hüdrosülaasi toimel moodustub türosiin. Nimetatud aminohapet leidub toidus suuremas hulgas näiteks juustus, lihas või piimas. Türosiin muudetakse ensüümi türosiin 3-monooksügenaas abil dihüdrosüfenüülalaniiniks (DOPA), mis omakorda muudetakse L-aminohappe dekarboksülaasi vahendusel dopamiiniks. Dopamiin on neuronite poolt loomulikult teel toodetud fenetüülamiin, mis on oluline virgatsaine ja neurohormoon. See aine on noradrenaliini (NA) ehk norepinefriini ja seeläbi ka adrenaliini (ehk epinefriini) prekursor (Cooper jt., 1996). Dopamiin on veeslahustuv signaalmolekul, mis oma toime avaldamiseks seostub raku pinnal oleva retseptoriga. Dopamiin aktiveerib viite tüüpi dopaminergilisi retseptoreid, mida tähistatakse D_1 - D_5 (Missale jt., 1998).



Joonis 1. Dopaminergilised juhteteed ajus ning dopamiini süntees presünaptilises neuronis ja dopamiini retseptorite paiknemine. Frontal cortex-ajukoor, Substantia nigra-mustollus, Striatum-juttkeha, Nucleus accumbens-naalduv tuum, Tegmentum-keskajukatend, Mesolimbic pathway-kesklimbiline jalgrada, Mesocortical pathway-keskkoore jalgrada, Nigrostriatal pathway- juhtetee, mis on ühenduses mustollusega juttkeha abil.

1.1.1. Dopamiini mõju organismile

Dopamiinil on organismis erinevaid funktsioone. Neist tuntumad on seotud liikumisega ja motoorikaga, mõjutades kõne ja liigutuste sujuvust. Peale selle mõjutab dopamiin kognitiivseid omadusi, nagu mälu, õppimist ja motivatsiooni. See aine mõjutab ka hormoonide sünteesi ning südameveresoonkonna ja neerude tegevust (Bergson jt., 2003; Jackson jt., 2005). Dopaminergiliste neuronite hävimine mustaines (substantia nigra) on parkinsonismi puhul esinevate motoorikahäirete põhjuseks (Rolland jt., 2009).

Dopamiini mõju avaldub läbi G-valkudega seotud retseptorite (Missale jt., 1998).

1.1.2 . Dopamiini mõju käitumisele

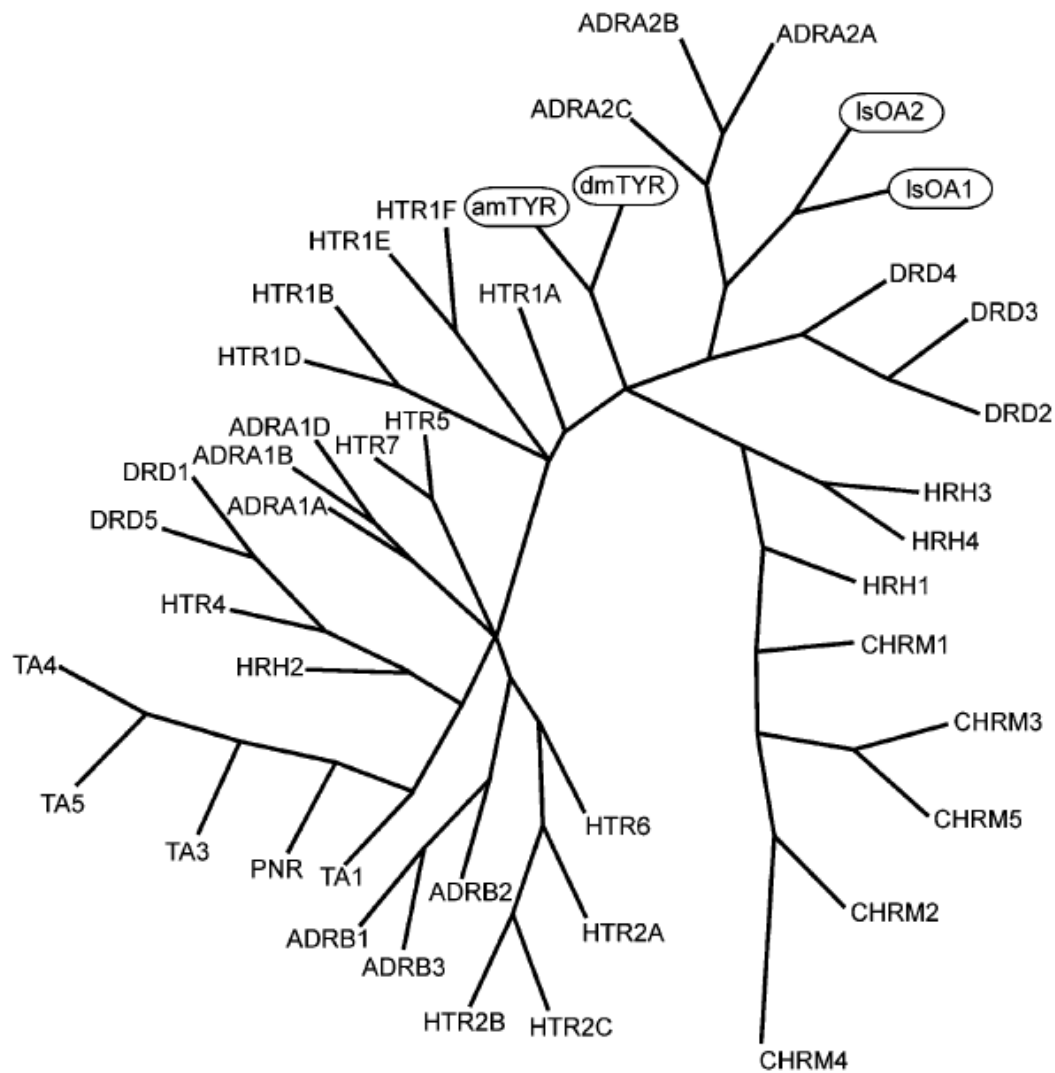
Dopamiin võib mõjutada emotsionaalset käitumist, toitumisharjumusi ja seksuaalkäitumist. Dopamiini kogust kesknärvisüsteemis mõjutavad dopamiini retseptori erinevad polümorfseid variandid, mille tagajärjel võivad tekkida käitumishäired, nagu ravimi ja narkosõltuvus, alkoholism ning mängurlus. (Jackson jt., 2005; Bergson jt., 2003).

Dopamiini üleküllust ajus seostatakse psühhooside tekkega. Teatud tüüpi depressioon võib aga olla põhjustatud vähesest dopamiini kogusest (Missale jt., 1998). Dopaminergilise süsteemi häiretega on seotud mitmed psühhoneuroloogilised haigused nagu skisofreenia, tähelepanu defitsiit ja hüperaktiivsuse häired (ADHD-attention deficit hyperactivity disorder) (Ebstein jt., 2000).

1.2. Dopamiini retseptorid

Membraanseoselisi valke, mis interakteeruvad rakuväliste molekulidega ning annavad signaali edasi raku sisemusse, nimetatakse retseptoriteks. Dopamiini retseptorite perekonnad jaotatakse kaheks suuremaks grupiks: D_1 ja D_2 . Postsünaptilise neuroni membraanis paiknevad D_1 perekonna retseptoritest D_1 ja D_5 ning D_2 perekonnast D_2 , D_3 ja D_4 retseptorid. Presünaptilise neuroni membraanis paiknevad D_2 perekonna retseptorid D_2 ja D_3 (Missale jt., 1998).

Kõik dopamiini retseptorid kuuluvad G-valk seoseliste retseptorite perekonda (G-protein coupled receptors-GPCR). G-valgud on tähtsad signaali teisendus molekulid rakkudes. G valgud on guanosiinfosfaate siduvad valgud. G-valkusid kutsutakse ka „molekulaarseteks lülititeks“. Nad asendavad inaktiveerides GDP-guanosiin difosfaadi ning aktiveerides GTP-guanosiin trifosfaadi, mille kaudu reguleerivad raku elutähtsaid protsesse. G-valgud avastasid Alfred G. Gilman ja Martin Rodbell, uurides raku stimulatsiooni adrenaliiniga. Nad leidsid, et kui adrenaliin on seotud retseptoriga, siis retseptor ei stimuleeri ensüümi otsekohe. Nad leidsid, et retseptor stimuleerib G-valku, mis stimuleerib ensüümi, näiteks adenülaadi tsüklaasi, mis omakorda aktiveerib cAMP sünteesi. Selle avastuse eest said nad 1994 aastal Nobeli preemia. G-valk seoseliste või analoogsete signaaliradade olemasolu on näidatud juba pärmides ning laiemalt taimedes ja loomsetes-organismides. Kui võrrelda selgrootuid ja selgroogseid organisme, siis on leitud, et selgroogsetel on G-valkudega seonduvate retseptorite olemasolu märksa laiem, kui selgrootutel (Gloriam jt., 2005) (Joonis. 2.).



Joonis. 2. G-alkudega seotud retseptorid. Ringidega on märgitud selgrootute (*Is-Lymnea stagnalis*, *dm-Drosophila melanogaster*, *am-Apis mellifera*) GPCR-ga seonduvad retseptorid ning kõik ülejäänud on inimese GPCR-ga seonduvad retseptorid (ADRA-adrenergilised retseptorid, CHRM-lihaste retseptorid, DRD-dopamiini retseptorid, HRH-histamiini retseptorid, HTR-serotoniini retseptorid, TA-amiinide raja retseptorid) (Gloriam jt., 2005)

G-alkudega seotud retseptorid aktiveerivad või inaktiveerivad mingit membraaniga seotud ensüümi või ioonkanalit kaudselt G-alkude vahendusel. G-alkudega seotud retseptorid on enim levinud retseptori tüüp. Nad vahendavad raku vastust väga erinevatele signaalmolekulidele: hormoonid, neurotransmitterid, lokaalsed mediaatorid. Kõik silma võrkkestas paiknevad fotoretseptorid ja tohutu hulk imetajate ninas olevaid haistmis-retseptoreid kuuluvad siia klassi. Vaatamata sellele, et G-alkudega seotud retseptoreid aktiveerivad väga erinevad ligandid, on retseptorid ise sarnase struktuuriga, nende primaarjärjestuses on märkimisväärne homoloogia, mis viitab nende evolutsioonilisele sugulusele. Neile retseptoritele on iseloomulik 7 transmembraanse domääni olemasolu, s.t., et polüpeptiidahel käib 7 korda edasi-tagasi läbi plasmamembraani. G-alkuga seondumist määrab tavaliselt nende retseptorite see osa, mis jääb membraani

tsütoplasmaatilisele poolele 5. ja 6. transmembraanse domääni vahele, ehk nn. C3 silmus (<http://cellbio.ebc.ee/rakubio/signal.html>).

Dopamiini retseptorite alatüüpe eristab esmajoones erinev afiinsus dopamiini suhtes ja spetsiifiline seondumine erinevate heterotrimeersete valkudega (Bergson jt., 2003). D₁ tüüpi retseptorid seonduvad G valkudega stimuleerivad ensüümi adenülaadi tsüklaasi (AC) aktiivsust, tulemuseks rakusisese efektori, tsüklilise adenosüüli monofosfaadi (cAMP), tootlikkuse kasv. D₂ perekonna retseptorid seostuvad G valkudega, vastupidi vähendavad või ei mõjuta AC aktiivsust ning cAMP tootlikkust (Reader jt., 1989; Sidhu ja Niznik 2000) (Joonis. 2.). Adenülaadi tsüklaas on ensüüm, mis katalüüsib ATP-i transformatsiooni tsükliliseks adenosüüli-3', 5' monofosfaadiks (cAMP-ks) (Kudlacek jt., 2003; Lallemand jt., 1994).

cAMP omakorda aktiveerib proteiinkinaasi A (PKA). Proteiinkinaasid on ensüümid, mis fosforüleerivad substraat-valke kandes ATP-lt fosfaatgrupi Ser, Thr või Tyr aminohappe jäägile, mõjutades nii raku jagunemise protsesse (Pinna ja Ruzzene 1996).

G-valkudega seotud retseptorid käivitavad sündmuste ahela, mis viib raku ühe või mitme rakusisese käskjalgmolekuli kontsentratsiooni muutumisele, millest sõltuvad eluliselt tähtsad organismi funktsioonid. Näiteks koolera toksiin tekitab muutusi G-valgus, nii, et see ei saa enam GTP-d hüdrolyüsida. Selle tulemusel on G-valk pidevalt aktiveeritud seisundis, see omakorda põhjustab soole epiteeli rakkudes pika-ajalise cAMP taseme tõusu, mis omakorda avab membraani ioonkanalid, kust väljuvad Na-ioonid ja vesi. Tulemuseks on organismi tohutu vee kaotus sooleepiteeli kaudu, mis võib lõppeda surmaga (<http://cellbio.ebc.ee/rakubio/signal.html>).

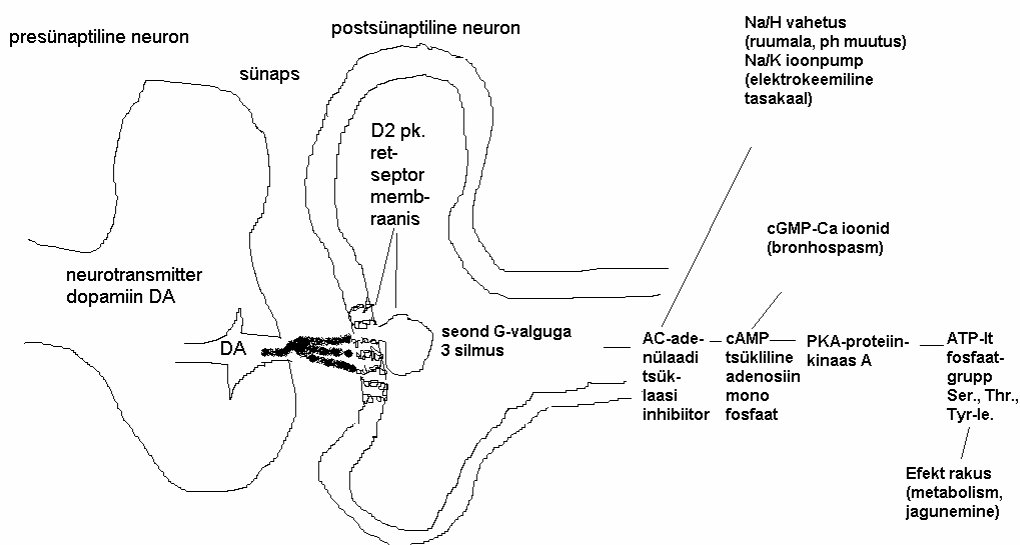
cAMP regulatsioon etendab olulist rolli veel bronhiaalastma bronhide silelihaste spasmi tekkemehhanismis. Bronhide silelihaste toonust reguleerib keerukas biokeemiliste reaktsioonide ahel. Selles etendavad erilist osa kaltsiumioonid. On selgitatud, et kaltsiumi passiivne juurdevool retiikulumist müofibrillidesse põhjustab lihaskontraktsiooni ja kaltsiumi aktiivne transport müofibrillidest viib lihaskontraktsioonile. See on energiat nõudev protsess ning seda reguleerivad intratsellulaarsed nukleotiidid:

- 1) tsükliline adenosüüli monofosfaat (cAMP), mis laseb Ca-pumbal töötada sakroplasmaatilise retiikulumi suunas (lõõgastab);
- 2) tsükliline guanosüüli monofosfaat (cGMP), mis pärsib Ca-pumpa ja tingib lihaskontraktsiooni (bronhospasm).

Sümpaatilise närvisüsteemi erutusel tõuseb cAMP sisaldus, vaagussüsteemi erutusel cGMP sisaldus. Lõpptulemuse, s.o. bronhiaaltoonuse määrab nende nukleotiidide vahetõrge bronhide silelihasrakkudes (Praks, 1990). Seega võivad dopamiini retseptorite

geeni polümorfismid, millest sõltub dopamiini kogus kesknärvisüsteemis kaudselt mõjutada ka bronhiaalastma puhul bronhide silelihaste spasmi tekkemehhanismi läbi G-valgu ja cAMP-i regulatsiooni.

D2 perekonna retseptorid, seondudes G-valguga, inhibeerivad ensüümi adenülaadi tsüklaasi, mõjutades niimoodi raku elektrokeemilist tasakaalu, cAMP ja cGMP vahekorda ning bronhospasmi teket astma puhul. cAMP-i regulatsioonist sõltub omakorda ensüümi proteiinkinaas A regulatsioon, mis mõjutab raku metabolismi ja jagunemise protsesse, kandes ATP-lt fosfaatgrupi Ser, Thr või Tyr-le, millest võib sõltuda kasvajate areng. (Joonis. 3.).



Joonis. 3. Dopamiini retseptori D2 perekonna seondumine G-valguga, selle mõju ja efekt rakus.

Kesknärvisüsteemis ekspresseeruvad dopamiini retseptorid laialdaselt, sest nad osalevad liikumis, tunnetus ja emotsionaalse kontrolli protsessis. Selle signaalirajaga on seotud paljude funktsioonide moduleerimine, nagu, õppimine, sõltuvuse teke (hasartmängud, uimastite kasut.) ja selle vahendamine (Missale jt., 1998).

Kesknärvisüsteemis leidub dopamiini retseptoreid juttkehas (*striatum*), s.h. sabatuumas (*nucleus caudatus*) ja putamenis ehk koorikus (*putamen*), naalduvas tuumas (*nucleus accumbens*), haisteköbukestes (*tuberculum olfactorium*) ja ajukoos (*cortex*).

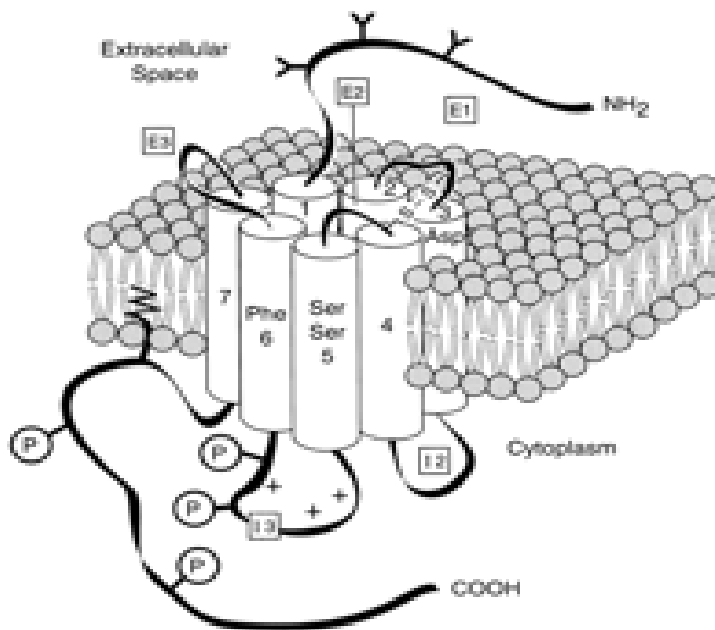
Perifeersetest kudedest leidub neid neerudes, silmavõrkkestas, aju- ja südameveresoontes, neeru-, peensoolekinniti- (*mesenterium*) ja bronhiaalarterite membraanides (Jin jt., 1995).

1.2.1. Dopamiini retseptorite paiknemine ja funktsioonid

1.2.1.1 D₁ pk. retseptorid

Dopamiini **D₁** ja **D₅** retseptorid kuuluvad D₁ tüüpi retseptorite perekonda. See retseptorite perekond eristub D₂ tüüpi retseptorite perekonnast selle poolest, et nad stimuleerivad ensüümi adenülaadi tsüklaasi aktiivsust, erinevalt D₂ tüüpi perekonna retseptoritest, mis vastupidiselt inhibeerivad selle ensüümi aktiivsust. Dopamiini D₁ retseptori geen asub inimesel 5 kromosoomi q õlas. Dopamiini D₅ retseptori geen asub inimesel 4 kromosoomis p õlas (Missale jt., 1998).

Retseptori D₁ struktuur on kirjeldatud joonisel 4., välja on toodud sõnaline selgitus teiste retseptorite iseloomustusest. Nii D₁, kui ka D₅ geeni kodeeriv osa on intronite vaene, erinevalt D₂ perekonna dopamiini retseptorite geenidest. Neil on transmembraanse osa sarnasus teiste G-valk seoseliste retseptoritega. Omavahel sarnanevad need retseptorid 80% nende transmembraansetes domeenides (Missale jt., 1998). D₁ retseptori aktiivsuse muutmine võib kaasa aidata niisuguste haiguste ravimisel nagu, parkinsonism ja skisofreenia (Derray jt., 1990).



Joonis 4. Dopamiini retseptori D₁ struktuur. D₂ retseptoril on lühem COOH terminaalne saba, kui D₁.l. D₃ on suurem raku sisene valgu ling, kui D₁-l. E1-E3 on rakuvälised valgu lingud. 1-7 transmembraansed domeenid. I2-I3 rakusisesed lingud (Missale jt., 1998).

D₁ retseptor ekspresseerub kõige laialdasemalt ja kõrgel tasemel võrreldes teiste dopamiini retseptoritega (Freneau jt., 1991). D₁ retseptorid on kindlaks tehtud limbilises süsteemis, thalamuses ja hüpotaalamuses (Gerfen jt., 1990). D₅ retseptor ekspresseerub väiksemal määral roti ajus võrreldes D₁ retseptoriga (Meador-Woodruff jt., 1992). D₅ mRNA-d on leitud hipokampuses, lateraalses e. külgmises nibutuumas, thalamuses ja eesaju piirkonnas (Cooper jt., 1996). Mõlemad retseptorid osalevad valdavalt liikumis protsessi juhtimises (Missale jt., 1998; Breese jt. 1987). Farmakoloogilised uuringud on näidanud, et mõlema rühma D₁ ja D₂ retseptorid vahendavad dopamiini efekti, mõjutades selle kaudu õppimist ja mälu (Levin jt., 1995; Backard jt., 1991; White jt., 1993).

1.2.1.2. D₂ pk. retseptorid

Dopamiini **D₂** retseptorite geeni variandid paiknevad inimesel 11 kromosoomis q õlas. Leitud on kahte retseptori vormi D_{2S} ja D_{2L}, millel on erinevad splaissingu variandid (Dal Toso jt., 1989). Inimese dopamiini D₂ retseptorite variandid erinevad 29 aminohappe poolest kolmandas raku sisises lingus (Dal Toso jt., 1989; Giros jt., 1989; Monsma jt., 1989). Inimesel on leitud DRD2 geenist, et üks polümorfism asub promootorregioonist üleval pool ja teine kuuenda eksoni kõrval, kus on kaks intronites asuvat SNP-d, mis mõjutavad splaissingut. Promootorregiooni polümorfism asub peaaegu 844 aluspaari

ülevalpool transkriptsiooni stardi kohast, mis mõjutab oluliselt DRD2 mRNA ekspressiooni inimese ajus. Kuigi nii rotil, kui inimesel sisaldab DRD2 regioon ligikaudu 300 aluspaari (Arinami jt., 1997; Minowa jt., 1992), mõjutab see polümorfism transkriptsiooni regulatsiooni (Minowa jt., 1992; Kamakura jt., 1997). Niisugused polümorfismid ja DRD2 erinevad splaisingu variandid võivad mõjutada töömälu efektiivsust ja tähelepanu kontrolli (Zhang jt., 2007).

D₂ retseptor põhjustab ensüümi adenülaat tsüklaasi inhibitsiooni, suurendab kaaliumi kanalite aktiivsiooni ja inhibeerib kaltsium ionide mobilisatsiooni (Monsma jt., 1989; Neve jt., 1991; Tal Toso jt., 1989). See retseptorite rühm mõjutab arahhidoonhappe vabanemist ning Na⁺/H⁺ vahetust, mõjutades rakusisest pH-d ja ruumala ning Na⁺/K⁺ ATPaasi ehk ionpumpa, mis vastutab raku elektrokeemilise gradiendi säilimise eest (Missale jt., 1998).

D₂ retseptor nagu D₁ retseptorgi esineb ajus laialdaselt hüpotaalamuses ja hipokampuses ning amügdalas, kus seda ekspresseeritakse dopaminergiliste neuronite poolt (Bouthenet jt., 1991). D₂ retseptorite aktivatsioon põhjustab dopamiini vähenemist ja liigutuste aeglustumist, kusjuures postsünaptilistes neuronites suurendab see vähesel määral lokomotoorset aktiivsust (Jackson ja Danielsson 1994). D₂ retseptori aktivatsioon või blokeerimine antipsühhootiliste ravimitega on võimalik (Deutch jt., 1991).

Dopamiini D₃ retseptor kuulub D₂ tüüpi retseptorite perekonda. Selle retseptori geen paikneb 3-ndas kromosoomis q õlas. See retseptor on ekspresseeritud aju tsütogeneetilist vanemates regioonides ja arvatakse mängivat rolli kognitiivsetes ja emotsionaalsetes funktsioonides. Valdavalt inhibeerib ta AC ja seega vähendab cAMP akumulatsiooni (Missale jt., 1998). D₃ retseptoril on leitud 20 korda kõrgem afiinsus dopamiinile, kui D₂ retseptoril (Missale jt., 1998).

D₃ retseptor lokaliseerub aju limbilises alas, mis on seotud tunnetuslike, emotsionaalsete ja sisesekretsiooni funktsioonidega. See retseptor võib mõjutada ka antipsühhootiliste ravimite vahendamist ja Parkinsoni haiguse ravi, mida on varem tehtud ainult läbi D₂ retseptori (Sokoloff jt., 1990). Leitud on kaks lühikest polümorfset ala D₃ retseptor geenis (Giros jt., 1991).

Dopamiini D₄ retseptori geen paikneb 11 kromosoomis p õlas. See retseptor kuulub D₂ tüüpi retseptorite hulka ja inhibeerib AC ja cAMP moodustumist. Ta sarnaneb struktuuriselt ja farmakoloogiliselt dopamiini D₂ ja D₃ retseptoritega (Missale jt., 1998). Antipsühhootiliste ravimite puhul on D₄ retseptori afiinsus 10 korda kõrgem, kui D₂ ja D₃ retseptoritel. Seega D₄ mõjutamisel võib olla oluline roll antipsühhootiliste ravimite arengus (Seeman ja Van Tol 1994).

Retseptori geen sisaldab III eksonis 48 nukleotiidilist ala, mis võib esineda tandemkordusjärjestustena (VNTR-d) kahe (D4.2), nelja (D4.4) või seitsmekordselt (D4.7). Tegemist on küllaltki haruldase VNTR-ga kodeerivas alas, mis tähendab, et retseptori molekuli vastav ling on sõltuvalt genotüübist erineva pikkusega. Täiendavad DNA ekspressiooni uuringud farmakogeneetikas on näidanud, et kolmest kloneeritud retseptor variandist sisaldab pikka nukleotiidide kombinatsiooni D4.7 variant ja lühikest kombinatsiooni D4.2 ja D4.4 variant (Van Tol HH jt., 1992).

D₄ retseptorid on kõrgelt ekspresseerunud aju otsmikukoos, amügdalas, hippocampus, hüpotaalamuses ja keskajus, samuti silma võrkkestas. D₄ retseptoril on oluline osa kognitiivsel ja emotsionaalsel kontrollil, kuid palju selle retseptori füsioloogiast ja dopaminergilisest süsteemist on teadmata (Missale jt., 1998). Perifeersetest kudedest leidub seda retseptorit kõige enam südames ~ 20 korda enam kui ajus (Cooper jt., 1996).

1.3. DRD4 geen ja polümorfismid

Käesoleva töö osas vaatlen DRD4 geeni ja seal leiduvaid polümorfisme kahe klassi: lindude ja imetajate esindajatel. Lindudel vaatlen geeni struktuuri kahe seltsi esindajal ja imetajatel nelja sugukonna esindajal, kellel on läbi viidud DRD4 geeni uuringuid.

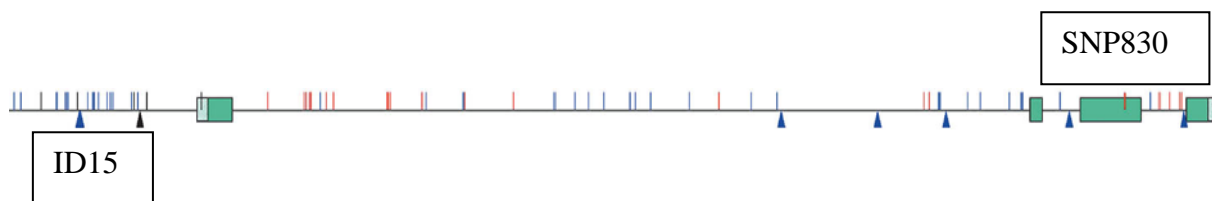
1.3.1. Klass: Linnud (*Aves*)

Lindude eellased eraldusid keskaegkonna esimesel poolel diapsiidide hulka kuulunud roomajatest. Linnud kuuluvad loomade riiki, keelikloomade hõimkonda, selgroogsete alamhõimkonda, kellele on iseloomulik võime aktiivselt lennata. Pikka aega valitsev seisukoht on olnud lindude pärinemine dromeasauridae hulka kuulunud dinosaurustest. Viimasel ajal on toetust kogunud ka alternatiivne hüpotees lindude ja dinosauruste pärinemisest ühtsest eellasest (varastest diapsiididest). Esimeseks selgelt kaasaegsete lindude tunnustega (ning ka paljude roomajaliike tunnustega, nagu hambad ja sõrmedega esijäsemed) fossiiliks on arheopterüks, kes ilmus enam kui 200 miljonit aastat tagasi. Lindude klassi DRD4 geeni vaatlen kahel seltsil: värvulised ja kanalised ning nendesse seltsidesse kuuluvatel liikidel.

1.3.1.1. Selts: Värvulised (*Passeriformes*)

Maailmas on teada ligikaudu 8600 kaasaegset linnuliiki, neist värvulised on kõige liigirikkam selts, siia kuulub üle 5000 liigi, seega enamik maailma linnuliikidest. Rasvatihane (*Parus Major*) on Eesti üks tavalisemaid ja tuntumaid linde ning üks põhjalikumalt uuritud linnuliike maailmas.

Rasvatihase (*Parus Major*) DRD4 geen on kõrgelt polümorfne (Cravchik ja Goldman 2000) (Joonis. 5.). Jooniselt võime näha, et lindude DRD4 geenist on leitud 4 eksonit ning kaks polümorfset regiooni, millest üks osaleb transkriptsiooni initsiatsiooni mõjutamisel ning teine assotsieerub uudistava käitumisega. Neist üks asub promootor regiooni lähedal, ta on 15 aluspaarine insertioon-deletsioon tüüpi polümorfism (Fiedler jt., 2007). Teine asub III eksoni regioonis, millest moodustub retseptori kolmas intra tsellulaarne ling. Seal asub SNP830 polümorfism. Analooorse regiooni polümorfismid assotsieeruvad erinevate temperamendi tüüpidega ka inimestel, ahvidel ja hobustel (Bailey jt., 2007; Momozawa jt., 2005; Ebstein jt., 2006). Fiedler kolleegidega on teinud uuringu, kus ta on eristanud värvulistel selle markeri erinevaid genotüüpe. C/C, T/T või C/T genotüübiga variandid olid seoses erinevate temperamendi tüüpidega. DRD4 geenis leiti 73 polümorfismi, millest 66 on SNPd ja 7 insertiooni-deletsiooni tüüpi polümorfismid. 66 SNP paiknesid kogu geeni ulatuses, samuti ka 7 in-del tüüpi polümorfismi. Erinevad polümorfismid on esitatud joonisel, kus on näidatud värvulise DRD4 geen skemaatilisel ning kokkuvõtvalt ja üldistavalt (Joonis.5.). Joonisel on erinevad SNP-d grupeeritud värviliste vertikaalsete joontena, kus punased jooned näitavad esimest rühma, sinised jooned teist ja mustad kolmandat rühma (Joonis. 5.). Esimese rühma polümorfismid on enam lokaliseerunud intronites ning nendel ei ole leitud funktsionaalset olulisust. Teise rühma polümorfismide hulgast on leitud ala, mis on funktsionaalselt oluline ning võib mõjutada transkriptsiooni initsiatsiooni aktiivsust. 15 aluspaarine in-del asub 1036 aluspaari oletatavast transkriptsiooni initsiatsiooni kohast ja arvatavasti mõjutab transkriptsiooni faktori seondumist (Fidler jt., 2007). Kuigi DRD4 geeni üksikud nukleotiidide polümorfismid ei mõjuta oluliselt fenotüüpe, mõjutavad nad retseptorite transkriptsiooni, splaissingut, mRNA stabiilsust ja translatsiooni. Nende funktsioonide kaudu mõjutavad polümorfismid retseptorite aktiivsust, mis omakorda mõjutab lindudel uudistavat käitumist (Duan jt., 2003).



Joonis 5. Rasvatihase *P. major* DRD4 geeni skemaatiline struktuur. Eksonid on näidatud rohelistes kastikes (tumedam roheline on kodeeriv osa ning heledam mitte transleeriv regioon). Kindlaks on tehtud 73 polümorfismi, millest 66 SNPd (vertikaalsete joontena) ning 7 (kolmnurkadena) ins.-del. tüüpi. Polümorfismid on rühmitatud vastavalt SNP variantide vähenemisele: 1 rühm-punane; 2 rühm-sinine; 3 rühm-must (Cravchik ja Goldman 2000; Fidler jt., 2007).

1.3.1.2. Selts: Kanalised (*Galliformes*)

Jaapani teadlane Sugijama kolleegidega on uurinud DRD4 geeni struktuuri mitmel erineval kanalise liigil ning leidnud, et erinevad genotüübid mõjutavad käitumist, sigimist ja reproduktsiooni. Ta on uurinud I eksoni kodeerivat regiooni DRD4 geenis erinevatel kanaliste liikidel. Selle regiooni erinevad mutatsioonid on seotud psühhiaatriliste häiretega inimesel ning assotsieeruvad käitumisega. Nimetatud uuringus vaadeldi järgmisi liike: Jaapani vutt (*Coturnix japonica*), kodukana (*Gallus gallus*), faasan (*Phasianus colchicus*) ja pärllkana (*Numida meleagris*). Lisaks oli uurimisel veel Jaapani kormoran (*Phalacrocorax capillatus*) ja Jaapani dzungli vares (*Corvus macrorhynchos*). Kõikidel neil liikidel leiti retseptorist proliini kordus variante, mis sarnaneb inimese nelja aminohappelisele kordusele retseptoris, mida kodeerib 12 aluspaariline polümorfne regioon I eksonis. 9 kordne proliini kordusvariant esines Jaapani vutil, faasanil ja Jaapani kormoranil, 12 kordusala pärllkanal, 3 kordne kordusala oli Jaapani dzunglivaresel. Erinevatel kanade tõugudel leiti 8 ja 9 kordsed kordus variandid (Sugijama jt., 2004). Leiti, et proliini rikkad regioonid mõjutavad retseptori dopamiini sidumist retseptorile (Chen ja Sudol 1995), signaali transduktsiooni (Lu jt., 1999), transkriptsionaalset regulatsiooni (Sudol jt., 2001) ja pre-mRNA splaissingut (Bedford jt., 1998). Inimese vastav regioon on küll polümorfne, kuid seal ei leidu nii pikki proliini kordus variante. Inimesel on leitud vastavast kohast 12 aluspaarine insertiooniline/deletsiooniline järjestus, mis baseerub insertioonil/deletsioonil 4 aminohappest (GASA ehk Gly-Ala-Ser-Ala). III eksonist kodulindudel polümorfisme ei leitud. Kui võrreldi retseptorite aminohappelist struktuuri omavahel, siis leiti, et kõige kõrgem homoloogia on D4

retseptoris (58,9%; 73 aminohapet) Jaapani vutil ja inimesel ning kõige madalam sarnasus on D1 retseptoris (52,1%; 48 aminohapet) (Sugijama jt., 2004).

1.3.2. Klass: Imetajad (*Mammalia*)

Esimesed imetajad arenesid välja roomajatest keskaegkonna juura ajastu algul umbes 200 miljonit aastat tagasi. Imetajad kuuluvad loomade riiki keelikloomade hõimkonda. Selle klassi ühed tähtsamad tunnused on närvisüsteemi kõrge arengutase, poegimine, millele kaasneb poegade imetamine, täiuslik termoregulatsioonisüsteem, mis säilitab kehatemperatuuri suhteliselt püsivana. DRD4 geeni polümorfisme imetajatel vaatlen hobuseliste sugukonda kuuluvatel hobuste liikidel ning sugukond mereimetajate hulka kuuluvatel sinivaallastel, koerlaste sugukonda kuuluvatel koerte liikidel, primaatidest inimesel.

1.3.2.1. Sgk. Hobuslased (*Equus*)

Hobune (*Equus*) kuulub kabjaliste seltsi, hobuslaste sugukonda. Hobuslaste tekkekolle ja esialgne kujunemine toimus Põhja-Ameerika ning ajalises skaalas arenesid nad uusaegkonna paleogeenis ehk 60-70 miljonit aastat tagasi.

On leitud, et DRD4 geeni põhilised polümorfismid sugukond hobuslastel paiknevad III eksonis, kus on peamiseks eristatavaks polümorfismiks 18 nukleotiidiline kordus variant. DRD4 geeni III eksoni kordusala sisaldab lisaks 18 nukleotiidsele alale ka 36 nukleotiidset regiooni veisel, kes kuulub sõraliste seltsi (Larsen jt., 2005) ja mõnedel hobuse sugukonna liikidel (Hasegawa jt., 2002). Põhjalikumalt on uuritud 18 nukleotiidset kordusala. Leitud on, et 18 nukleotiidilise ala kordused VNTR-dest jagunevad kolmest (*Equine asinus*) kuni üheksani erinevatel hobuselistel liikidel, nagu sebradel ja eeslitel (*Equine przewalskii*, *E. grevyi*, *E. zebra*). See 18 nukleotiidiline kordusala on esmaseks eristuseks paaris ja paaritu kabjaliste vahel (Graur ja Higgins 1994). Seda ala on võrreldud ka inimese 48 nukleotiidilise VNTR blokiga DRD4 geeni III eksonis.

Momozawa kolleegidega on viinud läbi uuringu puhtatõuliste kahe aastaste hobustega, et uurida VNTR polümorfisme ja erinevaid temperamendi tüüpe. Ta leidis küll hobustel 18 nukleotiidilise kordus bloki, kuid see polnud polümorfne, nagu sebradel ja eeslitel

(Hasegawa jt., 2002). Uuringus vaadeldud hobustel leiti üheksa kordsed 18 aluspaarised kordused. Neil leiti VNTR-i regioonis veel kaks üksikut SNP-d, millest üks on seotud individuaalsete erinevustega temperamendis (Hasegawa jt., 2002; Momozawa jt., 2005). Üks nendest SNP-dest (A-G asendus) põhjustab amino-happe muutuse. Leiti, et A-G asendus põhjustab valgu ahelas asparagiini muutumise asparagiinhappeks, mis mõjutab käitumist (Hasegawa jt., 2002). Uuringus kasutatud hobustel oli domineerivaks A nukleotiidiga genotüüp. Teiseks üksikuks nukleotiidseks polümorfismiks oli C-T asendus. See asendus ei muutnud valguahelas aminohapet ning ei mõjutanud ka käitumist (Momozawa jt., 2005).

1.3.2.2. Sgk. Mereimetajad Sinivaallased (*Balaenidae*)

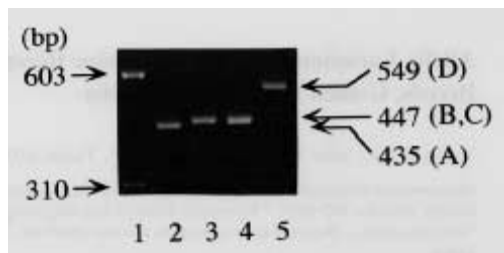
Vaalad on vaalaliste seltsi kuuluvad vee-elulised imetajad. Kõik vaalalised kaasa arvatud vaalad, delfiinid ja pringlid, põlvnevad maismaal elanud sõralistest. Näiteks on praeguses süstemaatikas kasutusel ülemselts, mis teiste seas hõlmab jõehobulasi ja vaalalisi, näitamaks nende fülogeneetilist suhtelist lähedust. Jõehobud on vaalade lähimad sugulased, ja nende eraldumine arvatakse olevat 54 miljonit aastat tagasi, vaalade vette jõudmist arvatakse aga olevat juhtunud umbes 50 miljonit aastat tagasi.

DRD4 geenis on neil samuti leitud ühiseid jooni. Mogensen kolleegidega on uurinud erinevaid vaalaliste liike ning leidnud, et kõigil liikidel esineb 18 aluspaarine kordus blokk. Vaalaliste erinevatel liikidel esineb erinev arv 18 aluspaarilistest blokkidest. Neil on olemas kahekordseid, kolmekordseid seitsmekordseid ning rohkem 18 aluspaarilistest kordus blokkidest. Erinevate kordustega 18 aluspaarilisi blokke on leitud valge-nokk delfiinil, pringlil ja kaselotil (Mogensen jt., 2006). Valgenokk delfiinil (*Lagenorhynchus albirostris*) ja pringlil (*Phocoena phocoena*) on leitud 11 ja 12 monomorfsed kordus blokid. Kaselotil (*Physeter macrocephalus*) on tandemite kordused polümorfsed, 3-5 blokki. Kääbusvaalal (*Balaenoptera acutorostrata*) on leitud 6-11 kordsed kordus blokid ja nende 18 nukleotiidilised tandemid on GC rikkad (Denoeud jt., 2003). Vaalaliste 18 nukleotiidiline kordusjärjestus erineb märgatavalt primaatide analoogist, kellel on leitud 48 nukleotiidiline korduv järjestus sarnases regioonis (Mogensen jt., 2006).

1.3.2.3. Sgk. Koerlased (*Canidae*)

Koer (*Canis familiaris*) on kiskjaliste seltsi koerlaste sugukonda kuuluv liik. Ta on üks kõige varem kodustatud liik (Clutton-Block 1995), kes kujunes 8000 (mõnedel andmetel 10 000) aastat eKr, tõenäoliselt halli hundi ja mõne teise koeraperekonna liigi kodustamise, ristamise, sihipärase valiku, suunava kasvatuse ja taltsutamise tulemusena. Geneetilised uuringud kinnitavad, et esimesed huntkoerad ilmusid Aasiasse 40 000-100 000 aastat tagasi. Koera kui liigi bioloogiline plastilisus on võimaldanud aegade jooksul aretada üle 500 kehaehituselt ja värvuselt erineva tõu. Enam kui 400 koera tõugu erinevad nii välimuselt, kui käitumis harjumustelt, mis viitab nende omaduste geneetilisele kontrollile (Bradshaw jt., 1996). DRD4 geen paikneb neil 18-ndas kromosoomis (Hejjas jt., 2007).

Niimi kolleegidega on uurinud lähemalt kahte erinevat koera tõugu, kuldne retriever ja shiba, kuna nende käitumise omadused on selgelt eristatavad. Nad leidsid selles uuringus, et mõlemal koera tõul võib DRD4 geenis eristada III eksonis 4 erinevat nukleotiidide kordus varianti. Esimene variant oli nimetatud A variandiks ning sisaldas 435 aluspaari. Teise B ja kolmanda C variandi pikkused olid ühesugused, kuid sisaldasid erinevaid SNP variante. Neljas D variant hõlmas 549 aluspaari ja siin oli tegemist VNTR tüüpi polümorfismidega (Joonis 6.) Kordus regioonid olid erineva pikkusega, sisaldades 39, 27 ja 12 aluspaarilisi blokke. Lühim A alleel koosnes viiest 39 aluspaarilisest ühikust, ühest 27 aluspaarilisest ühikust ja ühest 12 aluspaarilisest ühikust. Lisaks 12 aluspaariline kordus oli lisandunud B ja C alleeli, kuid paiknedes erinevates positsioonides. Pikim D alleel koosnes seitsmest 39 aluspaarilisest ühikust, ühest 27 aluspaarilisest ühikust ja neljast 12 aluspaarilisest ühikust. Kuldsel retrieveril leiti kaks alleeli A (78,9%) ja B ning shibal leiti B, C ja D alleelid, kus C moodustas 40% ja D oli ülekaalus 46,7%-ga (Niimi jt., 1999). Kordusjärjestuse regioon algab koeral 24 nukleotiidi üleval pool võrreldes inimesega ning sisaldab 39, 27 ja 12 VNTR kordus blokke (Niimi jt., 1999; Niimi jt., 2001).



Joonis 6. Koera DRD4 geeni III eksonis paiknevad erinevad variandid. Numbrid joonisel: 1. markeri suurus; 2. A variant; 3. B variant; 4. C variant ja 5. D variant, B ja C variandid on ühesuguse pikkusega (Niimi jt., 1999)

Kaks aastat hiljem on Niimi kolleegidega uurinud nelja koera tõugu (beagle, kuldne retriever, soti lambakoer ja shiba) ja leidnud, et DRD4 geeni VNTR erinevad variandid varieeruvad erinevate koerte tõugude vahel. Ta on leidnud, et lisaks nelja aluspaarilisele kordusvariandile DRD4 geeni III eksonis lisandub veel kolme aluspaarilist kordusvarianti, milles esinevad ka ühekordsed nukleotiidide asendused. Neid kordusvariante on võrreldud inimese 48 aluspaarise 7R kordse regiooniga (Niimi jt., 2001; Ito jt., 2004).

Ito kolleegidega on uurinud DRD4 geeni III eksoni ja I eksoni regiooni 23 erineval koeratõul. Nad leidsid, et ekson III oli polümorfne kõigil 23 koeratõul, mis sisaldas 2 kuni 8 kordus varianti, kusjuures ei olnud tõugu, millel oleks olnud kõik 8 nukleotiidilist kordust. Lisaks Niimi uuringule, kus leiti 435, 447a, 447b ja 549 nukleotiidi pikkusega ala, lisandusid veel 396, 486, 498 ja 576 nukleotiidi pikkusega ala. Koertel oli 498 aluspaariline blokk 63 aluspaari (21 aminohapet) ja 549 aluspaariline blokk 114 aluspaari (38 aminohapet) pikem, kui 435 aluspaagiga blokk. See võis mõjutada retseptori funktsiooni ja ligandi seondumise aktiivsust. Lisaks III eksonile uuriti ka I eksonit. Inimestel on leitud I eksonis polümorfne 12 nukleotiidiline regioon, mis kodeerib retseptoril struktuuri 4 aminohappet GASA. Koerlastel on leitud I eksonis polümorfism, mis baseerub 24 nukleotiidilisel insertioonil/deletsioonil (Ito jt., 2004). Ekson I regioon kodeerib ekstratsellulaarset ala retseptorist ning polümorfism selles ei mõjuta ligand-seoselisi omadusi.

1.3.2.4. Sgk. Inimlased (*Hominidae*)

Primaadid (*Primates*) ehk esikloomalised on imetajate klassi kuuluv selts, kelle hulka kuuluvad ka orangutangid, simpansid ja gorillad (Livak jt., 1995). Esimesed primaadid tekkisid umbes 40 miljonit aastat tagasi. *Hominoidea* (eesti keeles on kasutatud nimetusi „inimahvlased“, „inimahvid“, „inimlaadsed“, „hominoidid“, „inimahvilised“) on esikloomaliste ülemsugukond, millesse kuulub ka inimene. Inimahvid jagunevad kahte sugukonda:

Gibonlased (*Hylobatidae*) koosnevad 4-st perekonnast ja 13 giboni liigist. Need on tuntud, kui „väikesed inimahvid“.

Inimlased (*Hominidae*) on orangutangid, gorillad, simpansid ja inimesed, tuntud kui „suured inimahvid“.

Väikestel inimahvilistel (erinevad giboni liigid), kes kuuluvad gibonlaste (*Hylobatidae*) sugukonda on uuritud DRD4 geeni ning leitud, et selle geeni III eksoni VNTR tüüpi polümorfne regioon sisaldas 4, 5, 6, 7 ja 8R kordusjärjestusi 48 nukleotiidilisest blokist. On leitud, et erinevate kordustega isendid hõlmavad geograafiliselt erinevad maa alad. 4-5R kordustega subjektid paiknevad peamiselt lõuna poolsetel saartel, nagu Sumatra, Java ja Borneo, kuid mitte Aasia kontinendil. Geograafilist lahknemist võis mõjutada kliima ja mere taseme muutused (Murajama jt., 2000). Lühikesed kordused võisid kaduda, kui liik levis maismaale. Samas on aga gibonid elanud Hiinas (Shilai 1997) juba enne jääaega. Inimese 7R alleelikorduse üksikblokk sisaldas kahte identset kordus ala, sarnane identne kordus ala on leitud 7R ja 9R kordusest orav ahvidel ehk saimiiridel (Livak jt., 1995).

Primaatidel, (Livak jt., 1995; Matsumoto jt., 1995) leemurilistel ehk poolahvilistel ja inimesel (Inoue-Murayama jt., 1998) on leitud 48 nukleotiidse blokiga VNTR tüüpi kordusjärjestus DRD4 geeni III eksonis (Lichter jt., 1993; Van Tol jt., 1992). Primaatide esivanematel on täheldatud lihtsam kordusjärjestuse struktuur, mis on evolutsiooni käigus muutunud keerukamaks (Murajama jt., 2000). Pikkade korduste sagedus on primaatidel evolutsiooni käigus suurenenud (Murajama jt., 2000). Poolahvilistel ehk leemurilistel on üks või kaks 48 nukleotiidilist kordust (Inoue-Murayama jt., 1998).

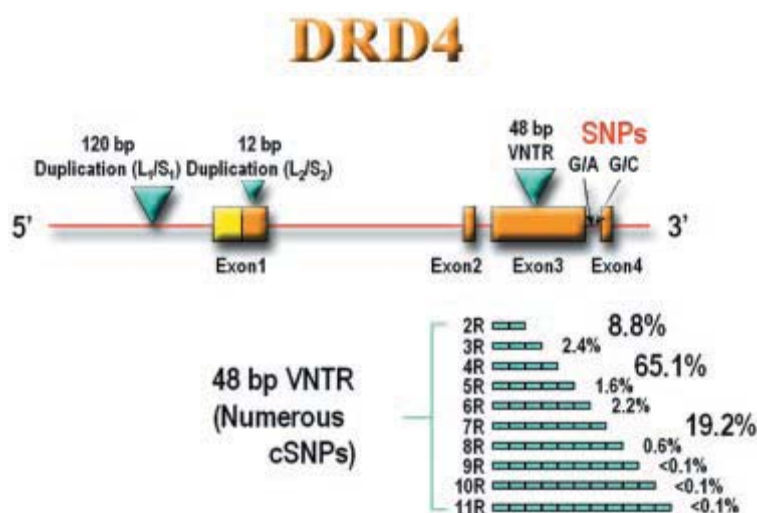
Seaman kolleegidega on uurinud DRD4 geeni esimese eksoni 12 aluspaarilist insertsiooni-deletsiooni 13 erineval primaadil. Kolme kordne 12 aluspaariline insertsiooni blokk leiti orangutangil, sarnase suurusega kordus on leitud ka inimesel. Gorillade see regioon sarnanes samuti inimese omale, simpansitel leiti seal vaid ühekordne blokk. Sarnaseid kordus blokke ei ole leitud ürgsematel primaatidel (Seaman jt., 2000).

Inimene, šimpans ja gorilla lahkesid evolutsiooniliselt 6-9 miljonit aastat tagasi (Koop jt., 1989; Ruvolo jt., 1991). Inimene, šimpans ja gorilla tulenevad kõik ühest fülogeneetilisest puust, kus DRD4 geen paikneb kõigil 11 kromosoomis. Gorillal ja šimpansil on aga leitud sarnaselt 12 nukleotiidiline deletsiooni ala DRD4 geeni kodeerivast regioonist, mis asub väljaspool VNTR ala. See näitab, et šimpansi DRD4 geen sarnaneb pigem gorilla omaga (Livak jt., 1995).

Lahknevus gorilla, šimpansi ja inimese DRD4 järjestuse vahel on toimunud suhteliselt lühikese aja jooksul. Šimpansi DRD4 geeni III eksoni VNTR-i ala esimese korduse regioon erineb inimese sarnasest regioonist 4 või 5 nukleotiidses muutuse poolest, gorilla sarnane regioon erineb aga 5 või 6 nukleotiidses muutuse poolest. Inimest ja paavianit võrreldes on erinevus 6 või 7 nukleotiidi. Inimese ja oravahvi (*Saimiri sciureus*) vahel on 6 või 8 nukleotiidiline erinevus, mis ei ole palju suurem, kui eelmised. Oravahvid lahkesid teistest liikidest aga enam kui 30 miljonit aastat tagasi (Fleagle 1988). Evolutsiooniline sugupuu näitab, et paavian ja inimene lahkesid 25 miljonit aastat tagasi (Fleagle 1988). Inimene ja šimpans või inimene ja gorilla lahkesid vähem, kui 10 miljonit aastat tagasi. Sellest järeldub, et aeg ja mutatsioonide fikseerimine pole otseselt korrelatsioonis. Kuna näiteks oravahvi vastav geenilõik, kes kujunes umbes 30 miljonit aastat tagasi erineb inimese vastavast kohast ainult 6 või 8 nukleotiidi poolest ning inimese ja inimahviliste lahknemine arvatakse olevat toimunud umbes 10 miljonit aastat tagasi ja geenis olevad mutatsioonid on muutunud 5 või 6 nukleotiidi, seega ainult paari nukleotiidi ulatuses, kuigi ajaliselt jääb vahele 20 miljonit aastat. Samas paavian ja inimene lahkesid arvatavasti 25 miljonit aastat tagasi ja oravahv 30 miljonit aastat tagasi, mille vahele jääb 5 miljonit aastat ning mutatsioonide fikseerimine on samuti paar nukleotiidi (inimene-paavian 6 või 7; inimene-oravahv 6 või 8), nagu 20 miljoni aasta möödudes.

1.3.2.5. Inimene (*Homo sapiens*)

Inimese dopamiini retseptor D4 geen asub 11 kromosoomis 15,5 p õlas telomeeri regioonis (Ding jt., 2002). See geen sisaldab 4 eksonit ja kolm intronit (Oak jt. 2000). Kõik neli eksonit, promootor piirkond ning splaissingu ühendus kohad on GC nukleotiidide rikkad. DRD4 geenis esineb mitut tüüpi polümorfisme (SNP-d, VNTR-d, deletsioonid, duplikatsioonid) (Ding jt., 2002) (Joonis 7.). Käesoleva töö osas vaatlen selles geenis paiknevaid põhilisi polümorfisme, mis asuvad **promootorregioonis, I eksoni-s ja III eksoni-s**. Põhjalikumalt on käsitletud III eksonis asuvat 48 aluspaarilist VNTR polümorfismi, mida on erinevatel liikidel ka kõige rohkem uuritud ja seostatud käitumisega.



Joonis 7. Inimese DRD4 geeni skemaatiline kujutis. Joonisel on kujutatud 4 eksonit, millest 3-ndas paikneb 48 nukleotiidiline VNTR ala. Lisaks on kujutatud mõned duplikatsiooni (L_1/S_1 , L_2/S_2 -pikad ja lühikesed kordusalad) ja SNP alad, joonise all on välja toodud VNTR alas olevate korduste (R2-R11) paiknemine protsentuaalselt ligikaudu elanikkonna hulgas kogu maailma rahvastikust (Ding jt., 2002).

DRD4 geeni promootorregioonist on leitud mitmeid polümorfisme. Promootorregiooni polümorfismide hulka kuuluvad **120** aluspaarine duplikatsioon, erinevad üksiku nukleotiidi polümorfismid (SNP), milleks on **-521 C/T**, **-616 G/C**, **-615 A/G** ja **-1217 G** insertiooni/deletsiooni blokk.

120 aluspaarine duplikatsioon asub 1,24-1,48 kb ülesvoolu initsiaator koodonist. Duplikatsiooni regioon sisaldab mitmeid transkriptsiooni faktoreid, mis võivad mõjutada erinevalt transkriptsionaalset aktiivsust. Leitud on, et simpansitel, gorilladel ja orangutangidel puudub niisugune duplitseerunud regioon (Seaman jt., 1999) ning D4 retseptorite ekspressioon on dramaatiliselt suurenenud skisofreenikute ajus, mille üheks teguriks võib olla 120 aluspaarine duplikatsioon initsiatsiooni regioonis (Seeman jt., 1993). Seega see duplikatsioon võib olla põhjuseks selle haiguse kujunemisel ning etendada olulisemat osa, kui struktuurilised muutused valkudes (Seaman jt., 1999).

-521 C/T SNP mõjutab nii uudistavat, kui ka seksuaalset käitumist. On leitud, et see polümorfism on funktsionaalselt oluline ning T variant C-521T polümorfismist vähendab transkriptsionaalset efektiivsust (Okuyama jt., 2000). Okuyama kolleegidega on leidnud, et T nukleotiidi esinemisel väheneb mRNA ekspressiooni tase 40% võrra, võrreldes C nukleotiidi esinemisega (Todd ja O'Malley 2001; Okuyama jt., 1999; Camara jt., 2009). Marco-Pallares kolleegidega on leidnud aga, et -521 C/T polümorfism ei mõjuta aju elektrilist aktiivsust ning ilmselt ka mRNA ekspressiooni taset (Marco-Pallares jt., 2009). Ullsperger kolleegidega on näidanud, et **-1217 G** indel polümorfism mõjutab aju tegevust ja käitumist. Nad on leidnud, et D4 retseptorid ekspresseeruvad enne kõike aju otsmiku koos (Oak jt., 2000). Erinevate käitumise ülesannete lahendamisel ja nendele reageerimisel on võimalik testida dopamiini taset ajukoos ning uurida aju tegevust (Ullsperger 2009). -1217 G insertsiooniga genotüübiga on seotud suurenenud tähelepanu ülesannete lahendamisel ja vähenenud konflikt situatsioonide hulk (Fan jt., 2003).

DRD4 geeni esimene ekson kodeerib rakuvälist aminohappelist ala ja kahte esimest transmembraanset domeeni (Seeman 1995). See rakuväline ala on funktsionaalselt oluline, kuna seal toimub seondumine dopamiiniga ja signaali vahendus (Schoots jt., 1996). DRD4 geeni esimesest eksonist on leitud polümorfism, mis baseerub 12 aluspaarisel insertsioonil deletsioonil ning seda on seostatud psühhootiliste häiretega (Catalano jt., 1993). 12 aluspaarine insertsiooni polümorfism võib sisaldada ühe, kahe või harvem kolme kordseid blokke. See regioon võib põhjustada nelja aminohappelist (GASA) duplikatsiooni paiknedes esimeses transmembraanses domeenis (Seeman jt., 1994). Lisaks sellele on esimeses eksonis leitud veel 13 aluspaarine deletsioon (Seaman jt., 1999) ning harva esinev 21 aluspaarine deletsioon (Chang ja Kidd 1997). Mõnedel andmetel on leitud, et 13 ja 21 aluspaariste deletsioonidega regioonid arvatavasti põhjustaksid mittefunktsionaalsete valkude produtseerimist (Nöthen jt., 1994).

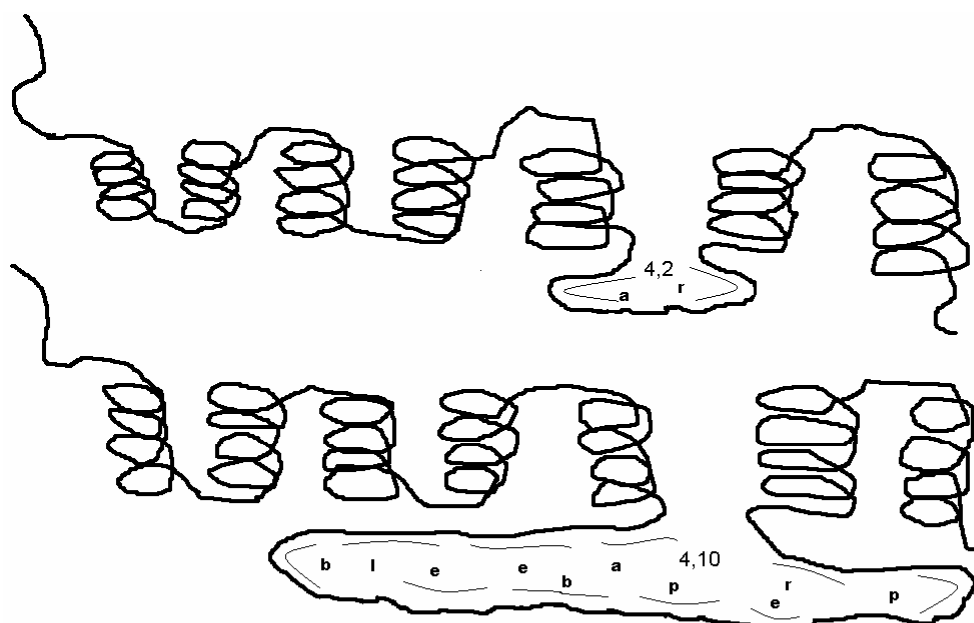
DRD4 geeni kolmandas eksonis asub 48 nukleotiidne VNTR ala, kus võib leida kahe (2R) kuni üheteistkümne (11R) kordseid kordusi (Ding jt., 2002). Uuringud on näidanud, et korduste arv võib muuta inimese DRD4 geeni ekspressiooni taset (Schoots ja Van Tol 2003). On leitud, et inimese DRD4 geeni polümorfismid võivad mõjutada dopamiini seestumist (Asghari jt., 1995). Neid polümorfisme, eriti pikkasid kordusvariante on seostatud erinevate impulsiivsete käitumise tüüpidega või isegi psühhiaatriliste haigustega (Holmes jt., 2002; Millet jt., 2003). Uuritud on *in vitro*, et 7R kordusel on ka kõrgem afiinsus antipsühhootilisele ravimile clozapinile, kui väiksemate korduste (4R) korral (Van Tol jt., 1991).

DRD4 geeni kolmanda eksoni 48 nukleotiidilisele VNTR regioonile vastab 16 aminohappeline lõik retseptoris (Joonis 8.). Joonise ülemises osas on kujutatud dopamiini neljanda retseptori VNTR-i erineva kordusega variandid. Tähestiku tähed tähistavad eri variante retseptori geenis ja neile vastavat aminohapete muutust transleeritavas valgus. Joonise keskmises osas on kujutatud kahe kordusega ja kümne kordusega polümorfne variant retseptori aminohappelisest järjestusest. Võime näha, kuidas erinevad polümorfismid mõjutavad retseptori 3 lingu aminohappelist järjestust, mis on G-valguga seondumise kohaks. Alumises osas on välja toodud dopamiini neljanda retseptori geenile vastavad aminohapped, kus punktid tähendavad nukleotiidide sarnasust esimesele reale (Oak jt., 2000).

Dopamiini retseptori DRD4 polümorfseid variandid

D4,2	D4,4	D4,5	D4,7	D4,8
ar	aekr	aebpr	aebpepr	aebmpmkr
	aejr	agekr	aebpekr	
D4,3	aehr		aekpepr	D4,9
aor	aeir	D4,6	aebnekr	aebmepepr
adr	atkr	aebper	aebpejr	
	adir	aekekr	aebpepr	D4,10
	ackr	aekper	aektepr	aelbebpepr
	afkr			
	adkr			

Alaniin	Ala	A
Arginiin	Arg	R
Asparagiin	Asn	N
Asparagiinhape	Asp	D
Glutamiin	Gln	Q
Glutamiinhape	Glu	E
Glütsiin	Gly	G
Histidiin	His	H
Isoleutsiin	Ile	I
Leutsiin	Leu	L
Lüsiin	Lys	K
Metioniin	Met	M
Fenüülalaniin	Phe	F
Proliin	Pro	P
Seriin	Ser	S
Treoniin	Thr	T
Trüptofaan	Trp	W
Tsüsteiin	Cys	C
Türosiin	Tyr	Y
Valiin	Val	V



a geen	CCC	GCG	CCC	CGC	CTC	CCC	CAG	GAC	CCC	TGC	GGC	CCC	GAC	TGT	GCG	CCA
valk	Pro	Ala	Pro	Arg	Leu	Pro	Glu	Asp	Pro	Cys	Gly	Pro	Asp	Cys	Ala	Pro
b	G.. Gly	..TG. Arg	.GT GlyC
c	G.. Ala	A.. SerTC
d	G.. GlyG. Pro	T.. Ser	A.. AsnT	..C
e	G.. GlyC
f	G.. Ala	G.. GlyC. ProC
g	G.. Gly	..TTC
h	T.. Cys	..TG. Arg	.GT GlyC
i	G Gly	..TG. Arg	.GT GlyTC
j	G Gly	..TGT GlyC
k	A.. SerTC
l	G.. Ala	G.. GlyTC
m	G.. Ala	G.. GlyC
n	G.. Ala	A.. SerC
o	G.. Ala	G.. Gly	..TG. Arg	..TC
p	G.. Gly
r	G.. GlyC. Pro	T.. Ser	A.. AsnC

Joonis. 8. DRD4 retseptori erinevad variandid. Ülemises osas joonisel on kujutatud dopamiini retseptori DRD4 polümorfseid variandid. Keskmises osas dopamiini retseptori D4 lühem ling ja üks pikimatest variantidest (D4,2 ja D4,10) Alumises osas on DRD4 geenile vastav transleeritav aminohape (Jovanovic jt., 1999; Ding jt., 2002; Oak jt., 2000).

1.4. DRD4 polümorfismid ja käitumine

DRD4 geeni polümorfismide mõju käitumisele on uuritud mitmetel looma liikidel ja inimesel. Erinevate kodustatud loomatõugudel (kanad (*Gallus gallus*) Sugiyama jt., 2004; koerad (*Canis familiaris*) Ito jt., 2004) on leitud hulgaliselt polümorfisme DRD4 geenis. Uuringud kodustatud hobustega (*Equus caballus*) ja kasvanduses peetavate ahvidega (*Cercopithecus aethiops*) on näidanud seoseid isiksuseomaduste, käitumise ja DRD4 polümorfismide vahel (Momozawa jt., 2005; Bailey jt., 2007). Mitmed uuringud on näidanud, et polümorfismid DRD4 geeni III eksonis, mis kodeerivad kolmandat rakusisest lingu on seotud isiksuse erinevate omadustega nii inimestel, ahvidel kui ka hobustel (Fidler jt., 2007). Järgnevalt toon ülevaate DRD4 geeni polümorfismide ja käitumise vahel eelnevalt käsitletud liikidel.

1.4.1. Klass: Linnud (*Aves*)

1.4.1.1. Selts: Värvulised (*Passeriformes*)

Inimese DRD4 geeni mõningad polümorfismid assotsieeruvad uudsus-janulise (novelty-seeking) käitumisega. Fiedler kolleegidega on uurinud vabalt elavaid rasvatihi (*Parus major*) ja leidnud seose DRD4 geeni mitmete polümorfsete variantide ja erinevate käitumise tüüpide vahel. Ta on leidnud rasvatihi DRD4 geenist kaks polümorfset regiooni, millest üks assotsieerub uudsus-janulise käitumisega. Algselt leidis ta, et esimene nendest asub DRD4 geeni promootori alas ning sisaldab 15 nukleotiidset insertsiooni-deletsiooni regiooni. Huvitav polümorfism on SNP830, mis kodeerib kolmandat rakusisest lingu retseptorist ning kaudselt sarnaneb inimese III eksonis asuva 48 nukleotiidse VNTR alaga, mis kodeerib sama ala retseptorist. Uuringus jagati linnud erinevate genotüüpide alusel: SNP830C/C, SNP830T/T ja SNP830C/T genotüübiks. Selles uuringus vaadeldi rasvatihi läbi nelja põlvkonna ning hinnati nende käitumist vastavalt erinevatele genotüüpidele (käitumise uuriva mudeli nimetus: EEB-, „early exploratory behaviour“- varajane avastav käitumine). Käitumise nivoo järgi jagunesid linnud aeglase ja kiire EEB skooriga gruppideks ja selekteerimata grupiks. Aeglase EEB skooriga grupil oli madalam SNP830T nukleotiidi esinemise sagedus võrreldes kiire grupiga. Selekteerimata grupis jagunesid DRD4 SNP830 muutused järgmiselt: EEB skoor SNP830C/C nukleotiidide variandiga lindudel oli oluliselt madalam kui SNP830C/T kombinatsioonil ja SNP830T/T kombinatsioonil. See vaatlus vihjab sellele, et

dominantne geeni variant värvulistel oli SNP830T, mis assotsieerus uudistava käitumisega (Fiedler jt., 2007). DRD4 geeni promootori alas esinev 15 nukleotiidiline insertsiooni-deletsiooni tüüpi polümorfism ei etendanud olulist osa käitumises (Fiedler jt., 2007).

1.4.1.2. Selts: Kanalised (*Galliformes*)

Sugijama kolleegidega viis läbi uuringu kodulindudega, erinevate kanade tõugudega, selgitamaks DRD4 polümorfisme, mis mõjutavad käitumist. Teada on, et DRD4 geeni I eksonis asuv 12 nukleotiidne polümorfism inimesel võib olla seotud ettekujutusliku ehk psühhootilise häirega ka kanadel (Catalano jt., 1993). Kuna aga polümorfne regioon on küllalt suure erinevusega linna ja inimese vahel, siis polümorfismi funktsioone ei saadud täpselt määrata (Sugijama jt., 2004).

Inimese DRD4 geeni üks üsna polümorfne regioon asub III eksonis ja hõlmab 48 nukleotiidset VNTR tüüpi korduste ala, mida on seostatud uudsus-janulise käitumisega (Benjamin jt., 1996; Ebstein jt., 1996). Kodulindudel on uuritud samuti DRD4 geeni III eksonit, kuid seda tüüpi polümorfisme sealt ei ole leitud (Sugijama jt., 2004).

1.4.2. Klass: Imetajad (*Mammalia*)

1.4.2.1. Sgk. Hobuslased (*Equus*)

Hobuseliste sugukonnas (sebra, eesel) on leitud 18 nukleotiidilise blokiga kordusala DRD4 geeni kolmandast eksonist, mis sarnaneb inimese sama geeni 48 nukleotiidilise blokiga. Polümorfismi kordused varieeruvad kolmest kuni üheksani erinevatel hobuse liikidel, nagu *E. przewalskii*, *E. grevyi*, *E. zebra*. VNTR polümorfismide ja temperamendi tüüpide vahel pole hobuselistel seoseid leitud. Momozawa on aga kolleegidega uurinud puhtatõulistel kahe aastastel hobustel VNTR-s asuvate SNP-de mõju käitumisele (Momozawa jt., 2005) ja on leidnud, et need SNPd võivad mõjutada temperamendi tüüpi. Kaks SNPd on leitud sellest piirkonnast, millest üks põhjustab aminohappe muutuse: (A-G asendus) asparagiin asparagiinhappeks (Hasegawa jt., 2002). Leiti, et polümorfismid, millega kaasneb aminohappe asendumine retseptoris, mõjutavad hobustel niisuguseid iseloomuomadusi nagu uudishimu ja valvsust. Hobused A-G asendusega olid temperamendilt uudishimulikud ja

äreavad. Hobused, kellel puudus selles SNP-s A nukleotiid ja oli G nukleotiid olid oluliselt kõrgema uudishimu skooriga ja madalama ärevuse skooriga. Momozawa kolleegidega leidis ka, et selles uuringus osutus A nukleotiidiga genotüüp hobuste hulgas valdavaks (Momozawa jt., 2005).

1.4.2.2. Sgk. Mereimetajad Sinivaallased (*Balaenidae*)

Mereimetajatel vaalalistel, eriti delfiinidel on kõrgelt arenenud kognitiivsed oskused, erinevad suhtlus vormid, abstraktne mõtlemine ja töömälu (Previc 1999). Vaalalistel on avastatud III eksonis 18 nukleotiidiline kordus regioon, mis on GC rikas ja, et see tandemite kordus ala assotsieerub delfiinidel kognitiivsete oskustega (Mogensen jt., 2006). Vaalaliste kordusala III eksonis erineb aga primaatide kordusalast, kellel on seal leitud 48 nukleotiidiline blokk (Lichter jt., 1993; Van Tol jt., 1992).

1.4.2.3. Sgk. Koerlased (*Canidae*)

Ito kolleegidega on uurinud DRD4 geeni ekson III polümorfismide ja käitumise vahelisi seoseid 23 koeratõul. Nad jagasid koerad kahte gruppi, kus ühel grupil olid lühemad VNTR tüüpi kordusjärjestused ja teisel grupil vastavalt pikemad. Lühemad VNTR-i regioonid asusid 435 ja 447 aluspaarilises fragmendis. Pikemad VNTR-i regioonid vastavalt 498 ja 549 aluspaarilises fragmendis. See koerte grupp, kellel olid pikemad VNTR blokid, leiti käitumiselt agressiivsed ja madalama reageerimisvõimega, kui sellel grupil, kellel olid lühemad VNTR blokid (Ito jt., 2004). Koertel on kindlaks tehtud DRD4 geeni polümorfne regioon lisaks III eksonile ka I eksonis. I eksonis asuv polümorfism baseerub 24 nukleotiidilisel insertiooni/deletsiooni tüüpi polümorfismil. See on seotud valgu ekstratsellulaarse regiooniga ja mõnedel andmetel arvatakse, et see ei põhjusta ligand-seoselist mõju retseptorile (Ito jt., 2004). Kuna inimesel on leitud seos ekson I polümorfismi ja antipsühhootiliste ravimite toime vahel (Zenner jt., 1998), kuid mitte dopamiini mõjule, siis võib siiski sellel polümorfismil olla mõningane funktsionaalne toime (Ito jt., 2004).

1.4.2.4. Sgk. Inimlased (*Hominidae*)

Primaatidel mõjutavad geenid vaimset aktiivsust ja käitumise tunnuseid. Teada on, et inimese dopamiini DRD4 retseptori III eksonis paiknev 7R kordus ala kujundab inimesel uudsusjanulist käitumist (Benjamin jt., 1996; Ebstein jt., 1996). See DRD4 geeni 48 nukleotiidne ala, mis on polümorfne ning GC rikas kodeerib kolmandat tsütoplasmaatilist lingu retseptorist, mis (Van Tol jt., 1992) on seotud käitumisega. Indiviidid, kellel on kuus või enam kordust DRD4 geenis on leitud kõrgemate skooridega uudsusjanulises käitumises, kui need kellel on lühikesed kordused (Ebstein jt., 1996; Benjamin jt., 1996). Ka ahvidel on leitud, et erinevad DRD4 polümorfismid on seoses vahelduvates uudistavates käitumisnivoodes (Bailey jt., 2007). Gibonitel on DRD4 geeni varieeruv 48 nukleotiidiline VNTR ala seotud populatsioonide geograafilise paiknemisega (Murajama jt., 2000).

1.4.2.5. Inimene (*Homo sapiens*)

DRD4 geen on üks inimese geenidest, mis on suhteliselt suure varieeruvusega. Selles geenis võime leida SNP, VNTR ja insertioon deletsioon tüüpi mutatsioone. Leitud on, et mitmed polümorfismid on seotud käitumisega, III eksonis asuv 48 nukleotiidiline VNTR polümorfne ala, I eksonis asuv 12 aluspaarine insertiooni, deletsiooni blokk ning promootorregioonis asuv -521 C/T polümorfism. III eksonis asub 48 nukleotiidse blokiga VNTR tüüpi polümorfism, mis sisaldab kahe (2R) kuni üheteistkümne (11R) kordseid kordusi, mis kodeerivad 32-176 aminohappelise varieeruva pikkusega lõigu valgu sünteesi (Ding jt., 2002). Tuleb toonitada, et on tegemist suhteliselt harva esineva VNTR-ga geeni kodeerivas osas.

Promootorregiooni -521 C/T polümorfismi on seostatud uudistava ja seksuaalse käitumisega. Selle polümorfismi puhul on leitud seoseid ka töömälu efektiivsusele. Wilkosz kolleegidega on vaadelnud -521 C/T polümorfismi mõju töömälule ning leidnud selles soolise erinevuse, kus T/T genotüübiga meessoost subjektidel olid halvemad ülesannete sooritused, kui C/C genotüübiga isikutel, kusjuures T/T genotüübiga naissoost subjektidel aga paremad, kui T/C genotüübiga isikutel (Wilkosz jt., 2010). Mõnedes uuringutes on leitud, et uudistava käitumisega assotsieerub pigem promootorregiooni -521 C/T polümorfism, kui III eksonis asuv 7R VNTR ala (Munafo jt., 2008).

III eksonis paikneb 48 nukleotiidiline VNTR ala, mis on seotud käitumisega. Ding kolleegidega on uurinud 4R, 7R ja 2R variantide geograafilist levikut. Ta leidis, et kõige rohkem on levinud 4R variant, mis esines uuringus osalejatel 65,1%, 7R moodustas 19,2% ja 2R 8,8%. (Ding jt., 2002). Chen kolleegidega on uurinud 39 erinevat populatsiooni ja võrrelnud oma andmeid 12 teise uuringuga. Ta leidis, et rändrahvastel on pika variandi (7R) sagedus kõrgem, võrreldes neid paiksete rahvastega. Selles uuringus on ta esitanud hüpoteesi seosest pika polümorfse variandi ning uudsusjanulise ja hüperaktiivse käitumisega, mis esineb samuti rohkem rändavatel rahvastel (Chen jt., 1999). Seitsme kordse bloki (7R) esinemissagedus on madal Aasia rahvaste hulgas ja kõrge Ameerikas. Ida-Aasia rahvaste hulgas on pika polümorfse variandi (7R DRD4) sagedus 1% või alla selle ning Lõuna-Ameerika indiaanlaste hulgas on see 78%. Aasias on pigem levinud 2R, kui teised kordused. (Chang jt., 1996).

Enam levinud 4R varianti on peetud 5-10 korda vanemaks, kui 7R varianti VNTR-st. Kui 7R varianti on peetud ligikaudu 30000-50000 aastat vanaks, siis 4R variandi vanuseks pakutakse peaaegu 300000 aastat (Ding jt., 2002). DRD4 geeni erinevad kombinatsioonid, eriti pikad polümorfsete variandid (7R) mõjutavad käitumuslikke fenotüüpe, mis on seotud mängurlusega ja seksuaalse iha erinevate tasemetega (Ebstein jt., 1996). On näidatud, et III eksonis asuvatel retseptori polümorfsetel variantidel on erinev afiinsus antidepressantidele, kus pikemaid variante on seostatud suurema afiinsusega depressiooni ravimitele (Hong jt., 1998; Van Tol jt., 1992).

III eksoni VNTR piirkonna erineva pikkusega variante on seostatud peavalu (Buskila jt., 2004) ja migreeni tekkega (Cevoli jt., 2006). Buskila on kolleegidega näidanud 7R kordusega naissoost patsientidel ühte peavalu põhjustava haiguse vähenemist, võrreldes kontrollgrupiga (Buskila jt., 2004). Kuigi selles uuringus ei olnud eesmärgiks valu mõõtmine, näitas see siiski selgelt, et valu on seotud dopamiini raja aktiivsusega (Buskila jt., 2004). Cevoli kolleegidega on leidnud, et 4R kordus on sagedam migreeniga patsientidel (Cevoli jt., 2006). Seega geneetiline variatsioon DRD4 geenis võib olla üheks eelduseks migreeni tekkel, samuti madal dopamiini aktiivsus assotsieerub kõrgele valu tundlikkusega (Treister jt., 2009).

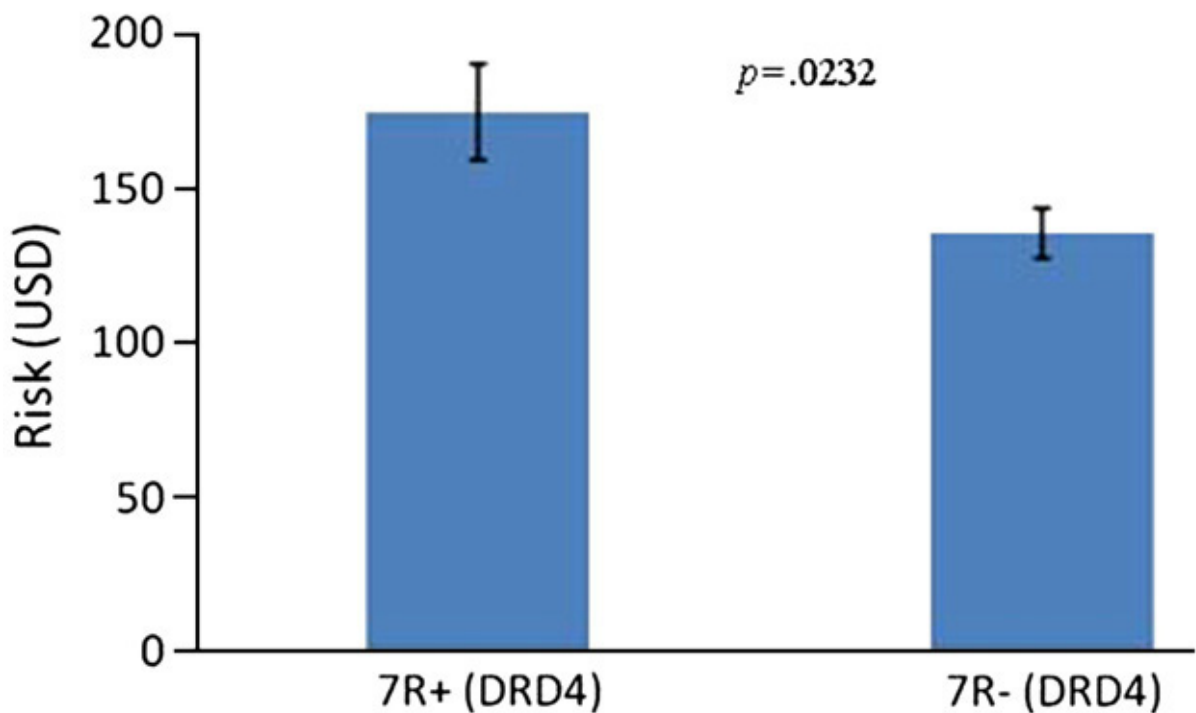
7R VNTR-s DRD4 geeni kolmandas eksonis seostub uudsus-janulise käitumisega (Ebstein jt., 1996; Benjamin jt., 1996). Uudsus-januline (novelty-seeking) käitumine on kõige enam seotud temperamendiga. Uudsus-janulise käitumisega suureneb uudistamise aktiivsus, impulsiivne otsuste tegemine, kiire tuju muutus ja monotoonuse vältimine (Cloninger 1987; Järvinen jt., 2003). Individuaalsed erinevused uudsus-janulises käitumises sõltuvad erinevatest dopamiini tasemetest (Cloninger jt., 1998; Cloninger jt., 1993). Soome

populatsioonis on näidatud, et lisaks 7R korduse assotsieerub uudsusjanulise käitumisega ka 2R ja 5R VNTR-s (Järvinen jt., 2003). Reist kolleegidega on uurinud 7R ja uudsus-janulise käitumise seost Aasia rahvastel. Oluline seos uudsus-janulise käitumise ja VNTR regiooni vahel avaldus siis, kui vaadeldi koos 7R ja 2R gruppi (Reist jt., 2007).

Palju on uuritud seoseid 7R-alleeli ja ADHD (attention-deficit/hyperactivity disorder- tähelepanu-defitsiit/hüperaktiivsuse häire) vahel. ADHD on kõige laialdasemalt levinud käitumishäire, mis mõjutab peaaegu 3 % algkooli õpilastest. ADHD sisaldab arengulisi häireid, mis, väljenduvad tähelepanematuses, impulsiiivsuses ja hüperaktiivsuses enne 7 eluaastat (American Psychiatric Association, 1994). ADHD ja geneetiliste komponentide seost on uuritud kaksikutel, adopteeritud lastel ja tava perekondades (Faranoe ja Biederman 1994; Thaper jt., 1999). Leiti ADHD assotsieerumine kõrgema 7R sagedusega DRD4 geenis (La Hoste jt., 1996).

Cheuk kolleegidega uuris Hiinas DRD4 geeni ja ADHD seost alla 18 aastastel lastel. Uuringus osales 64 last, 52 poissi (81,3%) ja 12 tüdrukut (18,7%), kellel oli diagnoositud ADHD. Diagnoos oli määratud vastavalt Diagnostilisele või Statistilisele Käelise või Vaimse Häirete IV kriteeriumile (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders –IV (DSM-IV) (American Psychiatric Association, 1994). Selles uuringus leiti oluline seos pika polümorfse variandi ja ADHD vahel poistel ($p=0,003$), aga mitte tüdrukutel ($p=0,12$) (Cheuk jt., 2006).

Riskeeriv käitumine on ajus mõjutatud dopaminergilise raja poolt (Kelley jt., 2005; Wise 2002). Individuaalsed erinevused isikute käitumises on seotud ka dopamiini tasemega. On selgitatud, et pikema alleeli (7R) DRD4 geeni variant võib omada seost kõrgema afiinsusega psühhoootilistele ravimitele (clozapine) võrreldes väikeste kordus variantidega (Rinetti jt., 2001; Van Tol jt., 1991). Dreber kolleegidega uuris 98 meest, vanuses 18-23 ja ta leidis, et meestel, kellel esineb 7R kordus VNTR-s on suuremad finantsrikside võtjad, kui need mehed, kellel seda polümorfismi ei esine (Joonis.9.) (Dreber jt., 2009).



Joonis. 9. DRD4 geeni VNTR piirkonna 7R korduse ja finantsriskide võtmise seos meestel. (Dreber jt., 2009). Esimeses tulbas 7R kordusega isikud, teises tulbas ilma 7R korduseta isikud.

Demiralp kolleegidega on uurinud ajus tekkivate gamma lainete ja DRD4 polümorfismide ning just 7R korduse vahelisi seoseid. Elektrofüsioloogilised märged erinevatel liikidel on näidanud ajus gamma lainete seoseid taju ja kognitiivsete protsessidega (Demiralp jt., 2007; Basar jt., 2001; Engel jt., 2001). Kognitiivsed ja tähelepanu nõudvad ülesanded ning töömälu on sõltuvuses dopamiini kogusest ajus (Müller jt., 1998). Olulised muutused gamma lainetes esinevad skisofreenia ja ADHD puhul, millega on kaasnenud tähelepanu moondumine ja töömälu vähenemine. ADHD diagnoosiga noortel on leitud kõrgemad skoorid gamma lainetes, võrreldes kontroll subjektidega (Yordanova jt., 2001). Skisofreeniaga patsientidel on aga märgatud korduvalt gamma lainete vähenemist (Spencer jt., 2003; Gallinat jt., 2004). Mõnes uuringus on näidatud, et negatiivsed sündmused vähendavad gamma laineid ja positiivsed suurendavad neid (Lee jt., 2003). DRD4 7R indiviididel on leitud oluliselt suurem gamma lainete skoor, kui ilma 7R indiviididel (Demiralp jt., 2007).

Tomitaka kolleegidega uuris noori jaapani naisi ja leidis, et kuigi 7R kordusvariant on jaapani elanikkonna hulgas harv on siiski oluline seos jaapani naistel uudsusjanulise käitumise ja pika kordusvariandi vahel olemas (Tomitaka jt., 1999).

4R kordus VNTR-s DRD4 geenis on inimestel kõige enam levinud, kuid suhteliselt harv mõningatel teistel primaatidel (Livak jt., 1995). See VNTR kordusvariant on siiski üldlevinud ja seda peetakse kõige vanemaks nn. eellasvariandiks (Wang jt., 2004).

Rinetti kolleegidega on uurinud 4R korduse ja esimese psühhootilise episoodi vahelisi seoseid. Psühhootilisi häireid seostatakse dopaminergilise süsteemi funktsioneerimisega (Seeman 1987). On leitud, et psühhootiliste häirete puhul on dopaminergiline süsteem üliaktiivne (Sanyal jt., 1997). Lisaks sellele on leitud, et antipsühhootikumid blokeerivad dopamiini retseptoreid (Sanyal jt., 1997). Antipsühhootikum clozapine on näidanud 10 kordset kõrgemat afiinsust neljandale retseptorile, võrreldes teise ja kolmanda retseptoriga (Sanyal jt., 1997). On leitud, et D4 retseptorite tihedus aju rakkudes on skisofreenilistel patsientidel kuus korda suurem, kui mitte psühhiaatrilistel kontrollidel (Seeman jt., 1993; Kaiser jt., 2000). Pikemate kordusvariantidega (7R) indiviididel on kõrgem afiinsus clozapinile, võrreldes lühema alleelikordusega (4R) (Van Tol jt., 1991). Psühhootiliste sümptomitega patsientidel etendavad olulist osa DRD4 funktsionaalsed polümorfismid vahendades antipsühhootikumi clozapini mõju (Hwu jt., 1998). Skisofreeniaga seostatakse 7R korduse esinemist (Weiss jt., 1996). 7R kordust on seostatud ka ettekujutuslike sümptomitega psühhootilistel patsientidel. 4R korduse puhul on aga märgatud ettekujutuslike sümptomite ja tuju häirete vähenemist (Seretti jt., 1998; Manki jt., 1996). Rinetti kolleegidega on uurinud esimese psühhootilise episoodiga patsiente ning võrrelnud neid kontrollgrupi subjektidega. Nad leidsid et, kontroll grupis oli kõrgem 4R sagedus (Tabel 1). Tabelist võime näha, et uuringus vaadeldi 37 esimese psühhootilise episoodiga patsienti ja 37 kontroll subjekti. Keskmises tulbas on 4R vm. kordusega indiviidid, kellest 54% patsiente 81% kontroll subjekte. Viimases tulbas, kus on ilma 4R korduseta indiviidid on 46% patsiente ja 19% kontroll subjekte. Seega eeldus haigestuda on suurem nendel inimestel, kellel puudub 4R kordus või esineb mingi teine kordus variant (Rinetti jt., 2001). Kaiser kolleegidega uuris DRD4 erinevate genotüüpide ja skisofreenia vahelisi seoseid, kuid ei leidnud olulisi erinevusi (Kaiser jt., 2000).

Tabel. 1. 4R ja mitte 4R esimese psühhootilise episoodiga patsientidel ja kontroll subjektidel

	n (subjektid)	4R vm.	Ilma 4R
EPE	37	20 (54%)	17 (46%)
K	37	30 (81%)	7 (19%)

Zion kolleegidega uuris DRD4 geeni III eksonis asuvate polümorfismide ja seksuaalkäitumise vahelisi seoseid. Nad leidsid, et inimestel, kellel on 7R VNTR regioonis võib esineda suurenenud iha (Zion jt., 2006). Ta on viinud läbi uuringu, et selgitada seksuaalkäitumise ja polümorfismide vahelisi seoseid. Mehed ja naised erinevad seksuaalkäitumise poolest. Üldiselt meestel on leitud kõrgem skoor seksuaal vajadustes, kui naistel. Leiti, et 4R kordus VNTR-st on negatiivselt seotud seksuaal vajadustega. Isikutel, kellel oli DRD4 geeni III eksonis 4R kordus olid madalamad seksuaalvajadused. Harvema, kui 4R kordusega, näiteks 2R kordusega isikutel on leitud samuti suurenenud seksuaal vajadused. Samas aga ka 7R kordusega isikutel on leitud suurenenud skoorid seksuaal vajadustes (Zion jt., 2006).

2R VNTR DRD4 geenist vähendab cAMP-i sünteesi funktsionaalset aktiivsust, olles oma toimelt 4R ja 7R vahepeal. cAMP tase rakus mõjutab selle elutähtsaid funktsioone, nagu metabolism ja jagunemine. Asghari kolleegidega on vihjanud, et 2R variant vähendab cAMP-i sünteesi aktiivsust 70% võrreldes 4R alleelivariandiga. Erinevat raku tüüpi dopamiini retseptorite ekspressiooni uuringud näitavad, et 7R alleel mõjutab dopamiini taset selliselt, et see inhibeerib cAMP-i kujunemist ning vähendab seda peaaegu kahekordselt võrreldes R4 või R2 alleeliga (Asghari jt., 1995; Kaiser jt., 2000). Pikad kordusvariandid on assotsieerunud uudsusjanulise käitumisega ka kahes Jaapani uuringus, aga mitte Hiinas (Ono jt., 1997; Tomitaka jt., 1999). Leung kolleegidega aga uuris hiinlasi ja leidis, et seal assotsieerub ADHD käitumisega hoopis 2R variant. 2R genotüübiga subjektidel esines ADHD 33% (Leung jt., 2005). Samuti on Reist kolleegidega leidnud, et Koreas assotsieerub uudsusjanulise käitumisega pigem 2R, kui 7R variant (Reist jt., 2007). Mõningates uuringutes ongi 2R polümorfismi peetud funktsionaalselt samaväärseks 7R variandiga (Ding jt., 2002; Wang jt., 2004). Tsuchimine kolleegidega on otsinud uudsusjanulise ja genotüüpide vahelisi seoseid jaapanlaste hulgas ja leidnud, et kõige enam seostub seal uudsusjanulise käitumisega hoopis 5/5 genotüüp (Tsuchimine jt., 2009). 2R kordus variant on kõige sagedasem Filipiinidel võrreldes Korea, Hiina ja Jaapani populatsioonidega (Reist jt., 2007).

Järvinen kolleegidega uuris 2003 aastal soome noori. Teatud juhtudel seostatakse 2R kordust sellise uudsusjanulise käitumisega, mis on negatiivse varjundiga ning assotsieerub koolist ära tulemisega, uimastite tarbimisega, joomis probleemidega ja sotsiaalse allakäiguga (Hesselbrock 1992; Wills jt., 2000; Zaninelli jt., 1992). Selles uuringus aga leidis Järvinen, et 2R või 5R alleelikordus noortel naistel oli neli korda kõrgem nende tütarlaste seas, kes taotleavad kõrgharidust (Järvinen jt., 2003).

I eksonit ja selle 12 nukleotiidilist ala DRD4 geenist on seostatud psühhootiliste, skisofreeniliste ja ettekujutuslike häiretega. See 12 nukleotiidiline kordus ala kodeerib nelja amino-hapet ekstratsellulaarses N-terminaalses osas retseptorist, mis asub transmembraanse domeeni piiril. 12 nukleotiidiline kordus ala esineb kahekordse kordusena enam levinud variandina (tähistus A1) ja ühe kordsena (tähistus A2) harvem (Catalano jt., 1993). Kui 48 nukleotiidiline VNTR kordusala III eksonis ning pikki kordusvariante DRD4 geenis on seostatud rohkem skisofreeniaga (Sommer jt., 1993; Daniels jt., 1994), siis 12 nukleotiidilist kordusala I eksonis on seotud psühhootiliste ja ettekujutuslike häiretega (Catalano jt., 1993). Tegelikult aga skisofreeniat võivad põhjustada multifaktoriaalsed või polügeensed kombinatsioonid ning seda häiret ei võiks pidada ühe üksiku lookuse haiguseks (Gottesman ja Shields, 1982).

Hong kolleegidega uuris Hiina perekondasid, kus oli skisofreenia diagnoosiga inimesi. Ta jaotas DRD4 geeni I eksonis asuva 12 nukleotiidilise regiooni A1 ja A2 alaks. Kus A1 alaga subjektidel oli kaks 12 nukleotiidilist kordust ja A2 skisofreenilistel patsientidel oli üks 12 nukleotiidiline ala kordus. Uuringus vaadeldi 42 kontroll subjekti, 50 patsienti, kellel oli kohatine ehk mitte perekondlik skisofreenia ja 30 perekondliku skisofreeniaga patsienti, kellel oli vähemalt üks skisofreenik esimese astme sugulaste hulgas. Selles uuringus leiti, et 43 (86%) sporaadilisel skisofreenikul ja 25 (83,3%) perekondlikul skisofreenikul oli A1 (kaks 12 nukleotiidilist kordust) variant geenis ning ühel (2,0%) sporaadilisel ja ühel perekondlikul skisofreenikul oli A2 (üks 12 nukleotiidiline kordus) variant geenis. Selles uuringus ei ilmnunud erinevusi päritava ja sporaadilise skisofreeniliste patsientide vahel, kuigi oleks ennatlik arvata, et pärilikkus ei mängi rolli selle haiguse kujunemisel (Hong jt., 1998).

Arutelu

Neurotransmitter dopamiin reguleerib organismis elutähtsaid ülesandeid, nagu liigutuste ja motoorikaga seotud funktsioonid. Samas mõjutab see aine ka emotsioonide kujunemist ning suunab käitumist. Dopamiini retseptorite alatüüpe eristab erinev afiinsus dopamiini suhtes ja spetsiifiline seondumine erinevate G-valkudega. D2 tüüpi retseptorid sealhulgas D4 seondudes G-valguga vähendavad AC aktiivsust ja cAMP tootlikust. D4 retseptori geeni polümorfismidest osa mõjutavad retseptorite avaldumise taset, millest sõltub dopamiini signaali mõju raku protsessidele. Kaudselt mõjutavad need protsessid organismi funktsioneerimist ja ka käitumist. Näiteks erinevate temperamendi tüüpide kujunemist ja käitumishäireid nagu, hüperaktiivsus (ADHD) ja depressiooni erinevad vormid.

Dopamiini üleküllust ajus seostatakse psühhooside tekke ja skisofreenia mõnede vormidega. Selliste seisundite puhul kasutatakse ravimeid, mis blokeerivad D2 tüüpi dopamiini retseptoreid. Teatud tüüpi depressioon võib olla omakorda seotud dopamiini vähesusega. Selle leevendamiseks kasutatakse antidepressante, mis kuuluvad dopamiini tagasihaarde inhibiitorite hulka (Missale jt., 1998).

Vaadeldes DRD4 geeni evolutsiooni, selgub, et see geen on erinevatel liikidel arenenud oma teed pidi, kuid samas võib märgata ka ühiseid jooni. Töös on vaadeldud kahe klassi: linnud ja imetajad ning nende esindajaid, kellede kohta on kirjanduses avaldatud selle geeni analüüsi uurimistulemusi. Mõlema klassi esindajad on välja kasvanud ligi 200 miljonit aastat tagasi ühisest eellasest, millest tuleneb DRD4 geeni sarnane struktuur. Kus enamasti asub geen 4 eksonit ning põhilised polümorfismid selles geenis paiknevad III eksonis. Lindude klass on evolutsioonilise arengu poolest siiski imetajatest pisut vanem ning seetõttu võib-olla avalduvad geenis olevad polümorfismid ka primitiivsemalt. Kus DRD4 geeni III eksonis asuv polümorfne regioon erineb märgatavalt imetajate klassi analoogsest alast. Töös on vaadeldud DRD4 geeni lindude klassis kahe seltsi esindajal: värvulistel ja kanalistel. Kus värvuliste seltsi esindajaks on tihaslaste sugukonda kuuluv rasvatihane.

Rasvatihastel asub DRD4 geeni III eksonis 830 positsioonis üksiku nukleotiidi polümorfism, kus aluspaaris vahetuvad kas C või T nukleotiid. Selles töös vaadeldud imetajatel aga paiknevad olulised polümorfismid küll samas III eksonis, kuid uurituim on kodeerivas osas. Hobuselistel on DRD4 geeni III eksonist leitud kolme kuni üheksa kordseid 18 nukleotiidilisi VNTR blokke. Mereimetajatel, kes arenesid maismaal elanud sõralistest umbes 50 miljonit aastat tagasi on leitud kas 3, 4, 5 kordseid 18 nukleotiidilisi VNTR blokke või 11, 12 kordseid 18 nukleotiidilisi blokke. Koerlaste sugukonnal, kes on aretatud inimese poolt umbes 0,5 miljonit aastat tagasi hallist hundist esines DRD4 geeni III eksonis kahe kuni kaheksa

kordseid 39, 27 ja 12 nukleotiidilisi VNTR blokke, mis on eelmistest märksa keerukama struktuuriga, kus esinesid vaid 18 nukleotiidsed blokid. Primaatide lahknemine toimus ligikaudu 40 miljonit aastat tagasi. Neil esineb sarnaselt inimesega DRD4 geeni III eksonis 48 nukleotiidilisi VNTR-i blokke. Kui leemurilistel on leitud ühe ja kahe kordseid 48 nukleotiidilisi VNTR blokke, siis suurtel inimahvilistel on leitud neli ja enam 48 nukleotiidilist polümorfset kordust. Väikestel inimahvilistel ehk giboni erinevatel liikidel on leitud just ainult suured (4, 5, 6, 7, 8R) 48 nukleotiidilised blokid. Inimesel esineb DRD4 geeni III eksonis kahe kuni üheteistkümne kordseid 48 nukleotiidsed blokke.

Enamusel vaadeldud liikidel asusid põhilised polümorfismid, mida seostatakse käitumisega DRD4 geeni III eksonis ja just see regioon kodeerib retseptorist ala, mis on G-valguga seondumise kohaks ning reguleerib raku elutähtsaid funktsioone ning võib mõjutada seeläbi käitumist. Kanaliste liikidel aga III eksonist polümorfisme pole leitud, neil paiknevad põhilised polümorfismid DRD4 geeni I eksonis. Inimesel on DRD4 geeni I eksonist leitud 12 nukleotiidine insertiooni või deletsiooni blokk, mis kodeerib retseptoril lõiku (Gly-Ala-Ser-Ala) ning seda polümorfismi on seostatud psühhootiliste häiretega. Erinevatel kanalistel on leitud sarnasest piirkonnast retseptoris proliini kordus variante, mille erinevad kordus blokid mõjutavad ilmselt dopamiini seostumist ning sealtkaudu käitumist.

Koerlastel on DRD4 geeni I eksonist leitud 24 nukleotiidine insertiooni/deletsiooni blokk, kuid käitumise tuvastatavaid muutusi sellega seoses leitud ei ole.

DRD4 geeni III eksoni polümorfismide ja käitumise vahelisi seoseid on selles töös vaadeldud rasvatihaudel, mõnedel hobuse liikidel, mereimetajatel, inimestel ja inimesel. Mõnedel liikidel mõjutavad käitumist DRD4 geenis paiknevad SNP-d, kuid teistel liikidel erinevad VNTR blokid kodeerivas osas, mistõttu retseptori ling on erineva pikkusega. Rasvatihaudel on DRD4 geeni uuringuid ja käitumise vahelisi seoseid vaadeldud läbi nelja põlvkonna, kus linnud jagunesid DRD4 geeni III eksonis olevate SNP-de alusel SNP830T/T, SNP830C/C või SNP830C/T genotüübiga lindudeks ning seda piirkonda seostati neil käitumisega. Uuringus kasutatud lindudel T nukleotiidi esinemine selles SNPs assotsieerus uudistava käitumisega.

Hobuselistel on samuti vaadeldud DRD4 geenis paiknevaid III eksoni polümorfisme. Puhtatõulistel hobustel mõjutab käitumist ühe SNP variandi esinemine 18 nukleotiidses blokis. Erinevused VNTR pikkuses neil käitumist ei mõjutanud.

Vaalalistel on avastatud DRD4 geeni III eksonist 18 nukleotiidine VNTR regioon, mis on G/C nukleotiidide rikas ja assotsieerub neil kognitiivsete oskustega.

Koerlaste sugukonna esindajatel on DRD4 geeni ja käitumise vahelisi uuringuid tehtud päris palju. Ka neil paiknevad polümorfismid, mis assotsieeruvad käitumisega samuti DRD4 geeni

III eksonis. On andmeid 23 koera tõu kohta. DRD4 geeni III eksoni pikemad VNTR kordus blokid assotsieeruvad neil agressiivse käitumisega.

Primaatidel assotsieerub uudistava käitumisega DRD4 geeni III eksonis asuvad VNTR blokid, nii nagu nende hulka kuuluval inimesel.

Inimese DRD4 geeni ja käitumise vahelisi seoseid on uuritud ilmselt kõige laialdasemalt. Polümorfismid mis seostuvad käitumisega paiknevad samuti DRD4 geeni III eksonis, nagu eelnevalt vaadeldud liikidel. Lisaks III eksonile on inimestel põhjalikult uuritud ka promootorpiirkonna ja I eksonis asuvaid polümorfisme. III eksonis DRD4 geenis asuvad 2-11 kordsed VNTR blokid ja neil on roll inimestel temperamendi käitumise kujunemisel.

7R VNTR 48 nukleotiidilise bloki esinemist genotüübis on seostatud hüperaktiivse (ADHD) käitumisega lastel ning uudistava käitumisega või isegi psühhiaatriliste kõrvalekalletega täiskasvanutel. Mõnede uuringute kohaselt assotsieerub uudistava käitumisega pigem promootorregiooni -521C/T polümorfism, kui III eksonis asuv 7R polümorfne variant (Mufano jt., 2008). Rohkem on uuringuid aga läbi viidud, uurimaks 7R polümorfismi ja käitumishäirete vahelisi seoseid. Kui D4 dopamiini retseptorid inhibeerivad ensüümi AC aktiivsust ja cAMP kujunemist, siis 7R polümorfne variant teeb seda eriti, võrreldes teiste variantidega. Selle tõttu on ka dopamiini signaal vähenenud, mis võib põhjustada raku elutähtsate funktsioonide häirumist ning haigestumist. Seda kordusvarianti seostatud veel seksuaalse ja impulsiivse käitumisega. Näiteks suuremad finantsriskide võtjad meeste hulgas on just mehed, kellel esineb genotüübis 7R polümorfismi variant DRD4 geenis.

DRD4 geeni I eksonis asuvat polümorfismi, mis baseerub 12 nukleotiidilisel insertsiooni-deletsiooni tüüpi polümorfismil on seostatud psühhootiliste häiretega. On leitud, et psühhootiliste häiretega assotsieerub kahe kordne 12 nukleotiidiline insertsiooni blokk I eksonis.

Neljanda dopamiini retseptori geeni erinevad kombinatsioonid osalevad nii loomadel, kui inimestel temperamendi tüüpide ja käitumise kujunemisel. Nii koertel, kui ka inimesel on seostatud pikemate VNTR variantide, mis kodeerivad tihedamat retseptorit ehk pikemat valku, seost agressiivse käitumisega või isegi skisofreeniaga inimestel.

Kuna vaadeldud geen on osaline nii mitmete tervisehäädade kujunemisel, siis oleks oluline jätkata uurimist kuidas DRD4 geeni erinevad polümorfseid variandid mõjutavad kas astmat, vähkkasvaja arengut või psühhiaatriliste haiguste ravimisel reageerivad erinevalt ravimitele.

Kokkuvõte

Neurotransmitter dopamiin mängib olulist rolli elusolendite kesknärvisüsteemis. Selle aine kaudu toimub erinevate elutähtsate funktsioonide reguleerimine organismis. See mõjutab liikumist, motoorikat, mälu, kõne sujuvust, meeleolu, emotsionaalseid tasandeid ja erinevate käitumissuundadega seotud protsesse. Selle aine erinevad kogused kesknärvisüsteemis mõjutavad erinevate temperamendi tüüpide kujunemist erinevatel elusorganismi liikidel ja mõnikord võivad dopamiini puudusel või üleküllusel tekkida inimesel vaimsed häired.

Uurides lähemalt erinevate retseptorite mõju organismile on võimalik välja selgitada kõige sobivamad retseptorid, mille mõjutamise kaudu võiks toimuda vaimsete haiguste ravi.

Töös on vaadeldud dopamiini retseptor D4 (DRD4) geeni polümorfisme erinevatel lindude ja imetajate liikidel.

Kõik vaadeldud liigid sarnanevad selle poolest, et DRD4 geen on kõrgelt polümorfne. Kõigil vaadeldud liikidel esines nimetatud geenis neli eksonit ja enamik polümorfisme paiknesid III eksonis. Jälgides aga geeni polümorfisme erinevatel liikidel täpsemalt, on homoloogia suhteliselt madal näiteks lindu ja inimest võrreldes, kuid ahvi ja inimese võrdluses on homoloogia kõrge. Erinevusi võime näha polümorfismide asukohtades ja aluspaaride või VNTR blokkide pikkuses, kus näiteks mereimetajatel ehk vaalalistel, hobuselistel ja paljudel karnivooridel asub nimetatud geenis VNTR 18bp pikkune blokk, mis assotsieerub osadel liikidel käitumisega. Koeral asub analoogne polümorfne regioon võrreldes inimesega 24bp ülevalpool ja assotsieerub agressiivse käitumisega. Inimesel on selles piirkonnas VNTR, mis sisaldab 48bp blokki ja võib omada 2R-11R polümorfseid kordus blokke, koeral hõlmab aga nimetatud ala 27bp, 39bp ja 12bp ala ja sisaldab 2R-8R blokke. Imetajatest sarnaneb kõige enam inimesele primaatide ja poolahviliste 48bp VNTR blokk DRD4 geeni III eksonis.

DRD4 geeni polümorfismide ja käitumise vaheliste seoste uurimisel võib leida sarnaseid jooni kõigi vaadeldud liikide vahel. Kodulindudel on leitud DRD4 geeni esimeses eksonis polümorfism mis on sarnane inimesel oleva polümorfismiga ning on leitud seos käitumishäirega. Kuna aga polümorfne regioon on küllalt suure erinevusega lindudel ja inimestel, siis polümorfismi funktsioone pole olnud võimalik täpselt määrata (Sugijama jt., 2004).

Pikk alleelikordus variant seostub temperamentse või vahel agressiivse käitumisega mitmel imetaja liigil ning inimestel seostub niisugune alleelivariant samuti kaudselt temperamentse ja impulsiivse käitumisega, mis mõnikord võib põhjustada käitumishäireid (ADHD-attention deficit hyperactivity disorder-tähelepanu puudujätk hüperaktiivsuse häire) või vaimseid haigusi.

Dopamine receptor gene DRD4 polymorphisms and behaviour

Merike Saupõld

Summary

Dopamine is one of the most important neurotransmitters for living being. It is necessary for moving, cognition, memory, different emotional levels, and behaviour. Different variants of this receptor can cause different levels of temperaments or sometimes behaviour disorders.

In this study different types of dopamine receptors are introduced and various molecular mechanisms behind different receptors are explained.

Investigated DRD4 (dopamine receptor D4) gene structure is different in distinct kinds of organisms. In this study DRD4 was studied in birds and various mammals. This DRD4 gene was found to be highly polymorphic among all of these. The gene structure homology is relatively low if bird and human are compared, but human and primates are quite similar. Gene structures show different types of variance – polymorphic sites have different localizations and there are differences in allele lengths. Exon III of the DRD4 gene harbors a tandem repeat in several mammalian species. The highly polymorphic VNTR bloc is 18bp long in cetaceans, among different members of the horse family, and carnivores. The composition of the tandem repeat in cetaceans differs markedly from that in primates, which is composed of 48-bp repeat basic units. The dog polymorphic region is also different from human, starting 24bp upstream compared to human similar region. While in human this region consists of 48bp, in dog it is 39bp and 12bp long. This tandem repeat is composed of 48-bp basic units in humans (Lichter et al. 1993; Van Tol et al. 1992), nonhuman primates (Livak et al. 1995; Matsumoto et al. 1995), and prosimians (Inoue-Murayama et al. 1998).

When we study DRD4 gene and behaviour association, we can detect similar kind of distinction between all of them. Birds, as well as humans have polymorphic region in first exon and it is in both cases associated to psychotic disorders. While polymorphic region is so different in bird and human, it is not possible to detect functions of polymorphism (Sugijama et.al., 2004). Long allele of DRD4 has an association with different kinds of temperaments in mammals and sometimes aggressive behaviour for example in dog and similar region in human (R7-repeat7) has been shown to be linked to behaviour disorders such as novelty-seeking or ADHD (attention deficit hyperactivity disorder) in children.

KASUTATUD KIRJANDUS

- American** Psychiatric Association. (1994). DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Am. Psychiatr. Assoc, Washington, DC), Ed 4.
- Ardlie** K, Liu-Cordero SN, Eberle MA, Daly M, Barrett J, Winchester E, Lander ES, Kruglyak L. (2001). Lower-than-expected linkage disequilibrium between tightly linked markers in humans suggests a role for gene conversion. *Am J Hum Genet* 69:582–589.
- Arinami** T, Gao M, Hamaguchi H, Toru M. (1997). *Hum Mol Genet* 6:577–582.
- Asghari** V, Sanyal S, Buchwaldt S, Paterson A, Jovanovic V, van Tol HH. (1995). Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants. *J Neurochem* 65:1157–1165.
- Asghari**, V, Schoots, O, Vankats, S, Ohara, K, Jovanovic, V, Guan, HC, Bunzow, JR, Petronis, A, Vantol, HHM. (1994). Dopamine D4 receptor repeat—Analysis of different native and mutant forms of the human and rat genes. *Molecular Pharmacology*. 46: 364–373.
- Bailey** JN, Breidenthal SE, Jorgensen MJ, McCracken JT, Fairbanks LA. (2007). The association of DRD4 and novelty seeking is found in a nonhuman primate model, *Psychiatr Genet.*, Feb; 17, 1: 23-7.
- Basar** E, Schürmann M, Basar-Eroglu C, Demiralp T. (2001). Selectively distributed gamma band system of the brain. *Int J Psychophysiol* 39:129-135.
- Bedford** MT, Reed R, Leder P. (1998). WW domain mediated interaction reveal a spliceosome-associated protein that binds a third class of proline-rich motif: the proline glycine and methionine-rich motif, *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 10602-10607.
- Benjamin** J, Li L, Patterson C, Greenberg BD, Murphy DL, Hamer DH. (1996). Population and familial association between the D4 dopamine receptor gene and measures of Novelty Seeking, *Nat Genet* 12: 81-84.
- Bergson** C, Levenson R, Goldman-Rakic PS, Lidow MS. (2003). Dopamine receptor interacting proteins: the Ca²⁺ connection in dopamine signalling. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24: 486-492.
- Bouthenet** ML, Souil E, Martres MP, Sokoloff P, Giros B, Schwartz JC. (1991). Localization of dopamine D3 receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2 receptor mRNA, *Nov 15;564*, 2: 203-19.
- Bradshaw** JW, Goodwin D, Lea AM, Whitehead SL. (1996). A survey of the behavioural characteristics of purebred dogs in the United Kingdom, *Vet, Rec*, 138: 465-468.

- Breese** GR, Duncan GE, Napier TC, Bondy SC, Iorio LC, Muller A. (1987). 6-Hydroxydopamine treatments enhance behavioral responses to intracerebral microinjection of D₁ and D₂ dopamine agonists into nucleus accumbens and striatum without changing dopamine antagonist binding, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 240: 167-176.
- Buskila** D, Cohen H, Neumann L, Ebstein RP. (2004). An association between fibromyalgia and the dopamine D4 receptor exon III repeat polymorphism and relationship to novelty seeking personality traits. *Mol Psychiatry*, 9: 730–1.
- Camara** E, Krämer UM, Cunillera T, Marco-Pallare J, Cucurell D, Nager W, Mestres-Misse A, Bauer P, Schüle R, Schöls L, Tempelmann C, Rodriguez-Fornells A, Münte TF. (2009). The Effects of COMT (Val108/158Met) and DRD4 (SNP-521) Dopamine Genotypes on Brain Activations Related to Valence and Magnitude of Rewards, *Cerebral Cortex Advance Access published December 27*: 2-12.
- Catalano** M, Nobile M, Novelli E, Nöthen MM, Smeraldi E. (1993). Distribution of a novel mutation in the first exon of the human dopamine D4 receptor gene in psychotic patients, *Biol Psychiatry*. Oct 1;34, 7: 459-64.
- Cevoli** S, Mochi M, Scapoli C, Marzocchi N, Pierangeli G, Pini LA, Cortelli P, Montagna P. (2006). A genetic association study of dopamine metabolism-related genes and chronic headache with drug abuse. *Eur J Neurol*, 13: 1009–13.
- Chang** FM, Kidd JR, Livak KJ, Pakstis AJ, Kidd KK. (1996). The world-wide distribution of allele frequencies at the human dopamine D4 receptor locus, *Hum Genet*, 98: 91-101.
- Chang** F-M, Kidd KK. (1997). Rapid molecular haplotyping of the first exon of the human dopamine D4 receptor gene by heteroduplex analysis. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 71:91–94.
- Chen** C, Burton M, Greenberger E, Dimitrieva J. (1999). Population Migration and the Variation of Dopamine D4 Receptor (DRD4) Allele Frequencies Around the Globe, *Evolution and Human Behavior* 20: 309-324.
- Chen** HI, Sudol M. (1995). The WW domain of Yes-associated protein binds a proline rich ligand that differs from the consensus established for Src homology 3-binding modules, *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 7819-7823.
- Cheuk** DKL, Yuk S, Li H, Wong V. (2006). Exon 3 Polymorphisms of Dopamine D4 Receptor (DRD4) Gene and Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Chinese Children, *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 141B:907–911.
- Cloninger** CR. (1987). A systematic method for clinical description and classification of personality variants: A proposal. *Archives of General Psychiatry*, 44: 573–588.

Cloninger CR, Bayon C, Svrakic DM. (1998). Measurement of temperament and character in mood disorders: A model of fundamental states as personality types. *Journal of Affective Disorders*, 51: 21–32.

Cloninger CR, Svrakic D, Prybeck T. (1993). A psychobiological model of temperament and character. *Archives of General Psychiatry*, 50: 975–990.

Clutton-Block J. (1995). The domestic dog: Its evolution, Behavior and Interactions with People (Serpell J. ed.), Cambridge University Press, Origins of the dog: domestication and early history pp: 7-20.

Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. (1996). *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, Oxford University Press, 7: 293-351.

Cravchik, A, Goldman, D. (2000). Neurochemical individuality: genetic diversity among human dopamine and serotonin receptors and transporters, *Arch. Gen. Psych.* 57: 1105–1114.

Dal Toso R, Sommer B, Ewert M, Herb A, Pritchett DB, Bach A, Shivers BD, Seeburg PH. (1989). The dopamine D2 receptor: two molecular forms generated by alternative splicing, *Dec 20;8, 13: 4025-34.*

Daniels J, Williams J, Mant R, Asherson P, McGuffin P, Owen MJ. (1994). Repeat length variation in the dopamine D4 receptor gene shows no evidence of association with schizophrenia, *Am J Med Genet*, 54: 256-258.

Denoeud F, Vergnaud G, and Benson G. (2003). Predicting human minisatellite polymorphism, *Genome Res* 13: 856–867.

Dearry A, Gingrich JA, Falardeau P, Freneau RT Jr, Bates MD, Caron MG. (1990). Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature.*, Sep 6;347, 6288: 72-6.

Demiralp T, Herrmann CS, Erdal ME, Ergenoglu T, Keskin YH, Ergen M, Beydagi HS. (2007). DRD4 and DAT1 Polymorphisms Modulate Human Gamma Band Responses, *Cerebral Cortex*, Advance Access publication, 17:1007-1019.

Deutch AY, Moghaddam B, Innis RB, Krystal JH, Aghajanian GK, Bunney BS, Charney DS. (1991). Mechanisms of action of atypical antipsychotic drugs. Implications for novel therapeutic strategies for schizophrenia, *Schizophr Res.*, Mar-Apr;4, 2: 121-56.

Ding YC, Chi HC, Grady DL, Morishima A, Kidd JR, Kidd KK, Flodman P, Spence MA, Schuck S, Swanson JM, Zhang YP, Moyzis RK. (2002). Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus, *PNAS*, January 8, vol. 99, no.1: 309–314.

- Dreber** A, Apicella CL, Eisenberg DTA, Garcia JR, Zamore RS, Lum JK, Campbell B. (2009). The 7R polymorphism in the dopamine receptor D4 gene (DRD4) is associated with financial risk taking in men, *Evolution and Human Behavior* 30: 85–92.
- Duan** J, Wainwright MS, Comeron JM, Saitou N, Sanders AR, Gelernter J, Gejman PV (2003). Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum. Mol. Genet.* 12: 205–216.
- Ebstein** RP, Novick O, Umansky R, Priel B, Osher Y, Blaine D, Bennett ER, Nemanov L, Katz M, Belmaker RH. (1996). Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking, *Nat Genet* 12: 78-80.
- Ebstein** RP, Benjamin J, Belmaker RH. (2000). Personality and polymorphisms of genes involved in aminergic neurotransmission, *European Journal of Pharmacology* 410: 205–214.
- Ebstein** RP. (2006). The molecular genetic architecture of human personality: beyond self-report questionnaires. *Mol. Psych.* 11: 427–445.
- Engel** AK, Fries P, Singer W. (2001). Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nat Rev Neurosci* 2:704-716.
- Fan** J, Fossella J, Sommer T, Wu Y, Posner MI. (2003). Mapping the genetic variation of executive attention onto brain activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100: 7406–7411.
- Faranoe** SV, Biederman J. (1994). *Child Adolesc. Psychiatr. Clin. North Am.*, 3: 285-291.
- Fidler** AE, Oers K, Dren PJ, Kuhn S, Muller JC. (2007). Kempnaers B, Drd4 gene polymorphisms are associated with personality variation in a passerine bird, *Proc. R. Soc. B*, 274: 1685–1691.
- Fishburn** CS, Carmon S, Fuchs S. (1995). Molecular cloning and characterisation of the gene encoding the murine D₄ dopamine receptor, *FEBS Lett* 361: 215–219.
- Fleagle** JG. (1988). *Primate Adaptation and Evolution* (Academic, San Diego).
- Fremeau** RJ, Duncan GE, Fornaretto MG, Derray A, Gingrich JA, Breese GR, Caron CM. (1991). Localization of D₁ dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 12564-12568.
- Gallinat** J, Winterer G, Herrmann CS, Senkowski D. (2004). Reduced oscillatory gamma-band responses in unmedicated schizophrenic patients indicate impaired frontal network processing. *Clin Neurophysiol* 115:1863-1874.
- Gerfen** CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Mosma FJ, Sibley D R. (1990). D₁ and D₂ dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons, *Science* 250: 1429-1432.

- Giros B**, Martres MP, Pilon C, Sokoloff P, Schwartz JC. (1991). Shorter variants of the D3 dopamine receptor produced through various patterns of alternative splicing. *Biochem Biophys Res Commun.*, May 15;176, 3: 1584-92.
- Giros B**, Sokoloff P, Martres MP, Riou JF, Emorine LJ, Schwartz JC. (1989). Alternative splicing directs the expression of two D₂ dopamine receptor isoforms. *Nature* 342: 923-926.
- Gloriam DEI**, Bjarnatottir TK, Schiöth HB, Fredriksson R. (2005). High Species Variation within the Repertoire of Trace Amine Receptors, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1040: 323–327.
- Gottesman II**, Shields J. (1982). *Schizophrenia, the Epigenetic Puzzle*, Cambridge, Cambridge University Press.
- Graur D** and Higgins DG. (1994). Molecular evidence for the inclusion of cetaceans within the order Artiodactyla, *Mol Biol Evol* 11: 357–364.
- Hasegawa T**, Sato F, Ishida N. (2002). Determination and variability of nucleotide sequences for D4 dopamine receptor genes (DRD4) in genus *Equus*, *J Equine Sci* 13: 57–62.
- Hejjas K**, Vas J, Kubinyi E, Sasvari-Szekely M, Miklosi A, Ronai Z. (2007). Novel repeat polymorphisms of the dopaminergic neurotransmitter genes among dogs and wolves, *Mamm Genome*, 18: 871–879.
- Hesselbrock, M. N.**, & Hesselbrock, V. M. (1992). Relationship of family history, antisocial personality disorder and personality traits in young men at risk for alcoholism. *Journal of Studies on Alcohol*, 53: 619–625.
- Holman AJ**, Myers RR. (2005). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pramipexole, a dopamine agonist, in patients with fibromyalgia receiving concomitant medications. *Arthritis Rheum*, 52: 2495–505.
- Holmes J**, Payton A, Barrett J, Harrington R, McGuffin P, Owen M, Ollier W, Worthington J, Gill M, Kirley A, Hawi Z, Fitzgerald M, Asherson P, Curran S, Mill J, Gould A, Taylor E, Kent L, Craddock N, and Thapar A. (2002). Association of DRD4 in children with ADHD and comorbid conduct problems. *Am J Med Genet* 114:150–153.
- Hong CJ**, Chiu HJ, Chang YS, Sim CB. (1998). Twelve-Nucleotide Repeat Polymorphism of D4 Dopamine Receptor Gene in Chinese Familial Schizophrenic Patients, *Biol Psychiatry*, 43: 432-435.
- Hwu HG**, Hong CJ, Lee YL, Lee PC, Lee SF. (1998). Dopamine D4 receptor gene polymorphisms and neuroleptic response in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 44:483.
- Ito H**, Nara H, Inoue-Murayama M, Shimada KM, Koshimura A, Ueda Y, Kitagawa H, Takeuchi Y, Mori Y, Murayama Y, Morita M, Iwasaki T, Ota K, Tanabe Y, Ito S. (2004) Allele Frequency Distribution of the Canine Dopamine Receptor D4 Gene Exon III and I in 23 breeds, *J. Vet. Med. Sci.* 66, 7: 815-820.

- Inoue-Murayama** M, Takenaka O, and Murayama Y. (1998). Origin and divergence of tandem repeats of primate D4 dopamine receptor genes. *Primates*, 39:217–224.
- Inoue-Murayama** M, Matsuura N, Murayama Y, Tsubota T, Iwasaki T, Kitagawa H, Ito S. (2002). Sequence comparison of the dopamine receptor D4 exon III repetitive region in several species of the order Carnivora, *J, Vet, Med, Sci*, 64: 747-749.
- Jackson** DM, Westlind-Danielsson A. (1994). Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects, *Pharmacol Ther.*, 64, 2: 291-370.
- Jackson** A. (2005). Opposing effects of phorbol -12-myristate-13-acetate, an activator of protein kinase C, on the signalling of structurally related human dopamine D1 and D5 receptors, *Journal of Neurochemistry*, 95: 1387-1400.
- Jin** XH. (1995). Comparison of the characteristics and density of dopamine 1 receptors in membranes from different arteries using (³H)SCH23390 binding, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 17: 455-461.
- Jovanovic** V, Guan, HC, Van Tol HH. (1999). Comparative pharmacological and functional analysis of the human dopamine D_{4.2} and D_{4.10} receptor variants, *Pharmacogenetics* 9: 561–568.
- Järvinen** LK, Elovainio M, Kivimäki M, Ekelund J. Peltonen L. (2003). Novelty seeking as a mediator in relationships between type 4 dopamine receptor gene polymorphism and predisposition to higher education, *Learning and Individual Differences* 14: 23–30.
- Kaiser** R, Könneker M, Henneken M, Dettling M, Müller-Oerlinghausen B , Roots I, Brockmüller J. (2000). Dopamine D4 receptor 48-bp repeat polymorphism: no association with response to antipsychotic treatment, but association with catatonic schizophrenia, *Molecular Psychiatry* 5: 418–424.
- Kamakura** S, Iwaki A, Matsumoto M, Fukumaki Y. (1997). *Biochem Biophys ResCommun* 235:321–326.
- Kelley** AE, Schiltz CA, Landry CF. (2005). Neural systems recruited by drug- and food-related cues: Studies of gene activation in corticolimbic regions. *Physiology & Behaviour*, 86: 11–14.
- Koop** BF, Tagle DA, Goodman M, Slightom JL. (1989). A molecular view of primate phylogeny and important systematic and evolutionary questions, *Mol. Biol. Evol.*, 6: 580-612.
- Kornfeld** R, Kornfeld S. (1985). Assembly of asparagine-linked oligosaccharides, *Annu Rev Biochem*, 54: 631-64.
- Kudlacek** O, Just H, Korkhov VM, Vartian M, Klinger M. Pankevych H, Yang Q, Nanoff C, Freissmuth M, Boehm S. (2003). The human D2 dopamine receptor to stimulate adenylyl cyclase in PC12 cells. *Neuropsychopharmacology*, 28: 1317-1327.

Kuhnen MC, Chiao JY. (2009). Genetic Determinants of Financial Risk Taking, *PLOS one*, 4, 2: e4362.

La Hoste GJ, Swanson JM, Wigal SB, Glabe C, Wigal T, King N, Kennedy JL. (1996). Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder, *Mol. Psychiatry* 1: 21-24.

Lallement JC, Galleyrand JC, Lima-Leite AC, Fulcrand P, Martinez J. (1994). Gastrin and the C-terminal octapeptide of cholecystokinin are differently coupled to G-proteins in guinea-pig brain membranes, *European Journal of Pharmacology. Molecular Pharmacology Section* 267: 297-305.

Larsen SA, Mogensen L, Dietz R, Baagøe HJ, Andersen M, Werge T, Rasmussen HB. (2005). Identification and characterization of tandem repeats in exon III of dopamine receptor D4 (DRD4) genes from different mammalian species, *DNA Cell Biol* 24: 795–804.

Lee KH, Williams LM, Haig A, Gordon E. (2003). Gamma (40 Hz) phase synchronicity and symptom dimension in schizophrenia. *Cogn Neuropsychiatry* 8:57-71.

Leung PW, Lee CC, Hung SF, Ho TP, Tang CP, Kwong SL, Leung SY, Yuen ST, Lieh-Mak F, Oosterlaan J, Grady D, Harxhi A, Ding YC, Chi HC, Flodman P, Schuck S, Spence MA, Moyzis R, Swanson J. (2005). Dopamine receptor D4 (DRD4) gene in Han Chinese children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Increased prevalence of the 2-repeat allele, *Am J Med Genet Part B* 133B: 54–56.

Levin ED, Rose JE. (1995). Acute and chronic nicotinic interaction with dopamine systems and working memory performance, *Ann. NY Acad. Sci.* 757: 245-252.

Levey AI, Hersch SM, Rye DB, Sunahara R K, Niznik HB, Kitt CA, Price DL, Maggio R, Brann MR, Ciliax BJ. (1993). Localization of D1 and D2 dopamine receptors in brain with subtype-specific antibodies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Neurobiology* Vol,90: 8861-8865.

Lichter JB, Barr CL, Kennedy JL, Van Tol HH, Kid KK, Livak KJ. (1993). A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Hum Mol Genet*, 2: 767–773.

Livak KJ, Rogers J, and Lichter JB. (1995). Variability of dopamine D4 receptor (DRD4) gene sequence within and among nonhuman primate species, *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 427–431.

Lu PJ, Zhou XZ, Shen M, Lu KP, (1999). Function of WW domains as phosphoserine- or phosphothreonine-binding modules, *Science* 283: 1325-1328.

Manki H, Kanba S, Muramatsu T, Higuchi S, Suzuki E, Matsushita S, Ono Y, Chiba H, Shintani F, Nakamura M, Yagi G, Asai M. (1996). Dopamine D2, D3 and D4 receptor and transporter gene polymorphisms and mood disorders. *J Affect Disord*, 40:7.

- Matsumoto M**, Hidaka K, Tada S, Tasaki Y.; Yamaguchi T. (1995). Polymorphic tandem repeats in dopamine D4 receptor are spread over primate species. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 207: 467-475.
- Marco-Pallarés J**, Cucurell D, Cunillera T, Krämer UM, Càmara E, Nager W, Bauer P, Schüle R, Schöls L, Münte TF, Rodriguez-Fornells A. (2009). Genetic Variability in the Dopamine System (DopamineReceptorD4,Catechol-OMethyltransferase) Modulates Neurophysiological Responses to Gains and Losses, *Biol Psychiatry*, 66:154–161.
- Meador-Woodruff JH**, Mansour A, Grandy DK, Damask SP, Civelli O, Watson SJ Jr. (1992). Distribution of D5 dopamine receptor mRNA in rat brain, *Neurosci Lett.*, Oct 12;145, 2: 209-12.
- Millet B**, Chabane N, Delorme R, Leboyer M, Leroy S, Poirier MF, Bourdel MC, Mouren-Simeoni MC, Rouillon F, Loo H, and Krebs MO. (2003). Association between the dopamine receptor D4 (DRD4) gene and obsessivecompulsive disorder. *Am J Med Genet* 116B:55–59.
- Minowa T**, Minowa MT, Mouradian MM. (1992). *Biochemistry* 31:8389–8396.
- Missale C**, Russel Nash S, Robinson SV, Jaber M, Caron MG. (1998). Dopamine Receptors: From Structure to Function, *Physiological Rewiews*, Vol. 78 No. 1 January,1: 189-225.
- Mogensen L**, Kinze CC, Werge T, Rasmussen HB. (2006). Identification and characterization of a tandem repeat in exon III of the dopamine receptor D4 (DRD4) gene in cetaceans, *J. Hered.* 97: 279–284.
- Momozawa Y**, Takeuchi Y, Kusunose R, Kikusui T, Mori Y. (2005). Association between equine temperament and polymorphisms in dopamine D4 receptor gene, *Mamm Genome.*, Jul;16, 7: 538-44.
- Monsma FJ Jr**, McVittie LD, Gerfen CR, Mahan LC, Sibley DR.(1989). Multiple D2 dopamine receptors produced by alternative RNA splicing, *Nature*,Dec21-28;342,6252:926-9.
- Munafò MR**, Yalcin B, Willis-Owen SA, Flint J. (2008). Association of the Dopamine D4 Receptor (*DRD4*) Gene and Approach-Related Personality Traits: Meta-Analysis and New Data, *BIOL PSYCHIATRY*, 63:197–206.
- Murayama MI**, Niimi Y, Takenaka O, Murayama Y. (2000). Allelic Variation of the Dopamine Receptor D4 Gene Polymorphic Region in Gibbons, *Primates*, 41, 4: 383-392.
- Müller U**, von Cramon DY, Pollmann S. (1998). D1- versus D2-receptor modulation of visuospatial working memory in humans. *J Neurosci* 18:2720-2728.
- Neve K**, Cox BA, Henningsen RA, Spanoyannis A, Neve RL. (1991). Pivotal role for aspartate-80 in the regulation of dopamine D2 receptor affinity for drugs and inhibition of adenylyl cyclase, *Mol. Pharmacol*, Volume 39, Issue 6: 733-739.

- Nickerson** DA, Taylor SL, Weiss KM, Clark AG, Hutchinson RG, Steingard J, Salomaa V, Vartiainen E, Boerwinkle E, Sing CF. (1998). DNA sequence diversity in a 9.7-kb region of the human lipoprotein lipase gene., *Nat Genet* 19:233–240.
- Niimi** Y, Inoue-Murayama M, Kato K, Matsuura N, Murayama Y, Ito S, Momoi Y, Konno K, Iwasaki T. (2001). Breed differences in allele frequency of the dopamine receptor D4 gene in dogs, *J Hered* 92: 433–436.
- Niimi** Y, Inoue-Murayama M, Murayama Y, Ito S, Iwasaki T. (1999). Allelic Variation of the D4 Dopamine Receptor Polymorphic Region in Two Dog Breeds, Golden Retriever and Shiba, *J. Vet. Med. Sci.* 61, 12: 1281–1286.
- Nöthen** MM, Cichon S, Hemmer S, Hebebrand J, Remschmidt H, Lehnkuhl G, Poustka F, Schmidt M, Catalano M, Fimmers R, Körner J, Rietschel M, Propping P. (1994). Human dopamine D4 receptor gene: frequent occurrence of a null allele and observation of homozygosity. *Hum Mol Genet* 3: 2207–2212.
- Oak** JN, Oldenhof J, Hubert HM, Van Tol. (2000). The dopamine D receptor: one decade of research, *European Journal of Pharmacology* 405: 303–327.
- Ohtani** N, Goto T, Waeber C, Bhide PG. (2003). Dopamine Modulates Cell Cycle in the Lateral Ganglionic Eminence *The Journal of Neuroscience*, April 1, 23, 7: 2840 –2850.
- Okuyama** Y, Ishiguro H, Nankai M, Shibuya H, Watanabe A, Arinami T. (2000). Identification of a polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with the human novelty seeking personality trait. *Mol. Psychiatry* 5: 64–69.
- Okuyama** Y. (1999). A genetic polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with expression and schizophrenia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258: 292–295.
- Ono** Y, Manki H, Yoshimura K, Muramatsu T, Mizushima H, Higuchi S, Yagi G, Kanba S, Asai M. (1997). Association between dopamine D4receptor (D4DR) exon III polymorphism and novelty seeking in Japanese subjects. *Am J Med Genet* 74:501–503.
- Packard** MG, White NM. (1991). Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by post-training intracerebral injection of dopamine agonists, *Behav. Neurosci.* 105: 295–306.
- Pinna** LA, Ruzzene M. (1996). How do protein kinases recognize their substrates?, *Biochim., Biophys., Acta.*, 1314: 191–225.
- Praks** L. (1990). Bronhiaalastma, Tartu Ülikool, Arstide, stomatoloogide ja farmatseutide täiendamise ning spetsialiseerumise teaduskond, 8–9.
- Previc** FH. (1999). Dopamine and the origins of human intelligence. *Brain Cogn*, 41: 299–350.

- Rao PA, Pickar D, Gejman PV, Ramn A, Gershon ES, Gelertner J.** (1994). Allelic variation in the D4 dopamine receptor (DRD4) gene does not predict response to clozapine. *Arch Gen Psychiatry*, 51: 912.
- Reader TA, Grondin L, Montreuil B, Dewar KM.** (1989). Dopamine D1 receptors labelled with [3H]SCH23390 in rabbit cerebral cortex and neostriatum. Equilibrium binding, kinetics and selectivity. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, Dec;340, 6: 617-25.
- Reist C, Ozdemir V, Wang E, Hashemzadeh M, Mee S, Moyzis R.** (2007). Novelty Seeking and the Dopamine D4 Receptor Gene (DRD4) Revisited in Asians: Haplotype Characterization and Relevance of the 2-Repeat Allele, *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 144B: 453–457.
- Rinetti G, Camarena B, Cruz C, Apiquian P, Fresan A, Paez F, Nicolini H.** (2001). Dopamine D4 Receptor (DRD4) Gene Polymorphism in the First Psychotic Episode, *Archives of Medical Research* 32: 35–38.
- Rolland AS, Tandé D, Herrero MT, Luquin MR, Vazquez-Claverie M, Karachi C, Hirsch EC, François C.** (2009). Evidence for a dopaminergic innervation of the pedunculopontine nucleus in monkeys, and its drastic reduction after MPTP intoxication, *J Neurochem*, Jun 12, 4: 1321-1329.
- Ruvolo M, Disotell TR, Allard MW, Brown WM, Honeycutt RL.** (1991). Resolution of the African hominoid trichotomy by use of a mitochondrial gene sequence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 4: 1570-1574.
- Sanyal S, Van Tol HH.** (1997). Review the role of dopamine D4 receptors in schizophrenia and antipsychotic action. *J Psychiatr Res*, 31:219.
- Schoots O, Sanyal S, Guan H-C, Jovanovic V, Van Tol HHM.** (1996). Cryptic initiation at the human D4 receptor reveals a functional role for the amino terminus. *Biochemistry* 35: 3614–3618.
- Schoots O and Van Tol HH.** (2003). The human dopamine D4 receptor repeat sequences modulate expression. *Pharmacogenomics*, J 3:343–348.
- Seaman MI, Fisher JB, Chang FM, Kidd KK.** (1999). Tandem Duplication Polymorphism Upstream of the Dopamine D4 Receptor Gene (*DRD4*), *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 88: 705–709.
- Seaman MI, Chang FM, Deinard AS, Quinones AT, Kidd KK.** (2000). Evolution of Exon 1 of the Dopamine D4 Receptor (DRD4) Gene in Primates, *Journal OMF .EI.X Speearmimneneta All Zoology (Mol Dev Evol)* 288: 32–38.
- Seeman P, Van Tol HH.** (1994). Dopamine receptor pharmacology, *Trends Pharmacol Sci.* Jul;15, 7: 264-70.

- Seeman P**, Ulpian C, Chouinard G, Van Tol HHM, Dwosh H, Lieberman JA, Siminovitch K, Liu ISC, Waye J, Voruganti P, Hudson C, Serjeant GR, Masibay AS, Seeman M. (1994). Dopamine D4 receptor variant, D4GLYCINE194, in Africans, but not in Caucasians: no association with schizophrenia. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 54: 384–390.
- Seeman P**, Van Tol HH. (1995). Dopamine D4-like receptor elevation in schizophrenia: Cloned D2 and D4 receptors cannot be discriminated by raclopride competition against (3H) nemonapride, *J Neurochem* 64: 1413-1415.
- Seeman P**. (1995). Dopamine receptors and psychosis. *Sci Am Sci Med* 2:28–37.
- Seeman P**, Guan HC, Van Tol HH. (1993). Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia, *Nature* 365: 441-445.
- Seeman P**. (1987). Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse*, 1:133.
- Serretti A**, Macciardi F, Di Bella D, Catalano M, Smeraldi E. (1998). Selfesteem in remitted patients with mood disorders is not associated with the dopamine receptor D4 and the serotonin transporter genes. *Psychiatr Res*, 80:137.
- Shilai MA**. (1997). Probe on the Chinese origin of gibbons (*Hylobates*). *Acta Theriologica Sinica*, 17: 13-23.
- Sidhu A**, Niznik HB. (2000). Coupling of dopamine receptor subtypes to multiple and diverse G proteins. *Int J Dev Neurosci.*, Nov;18, 7: 669-77.
- Snyder LA**, Roberts JL, Sealfon SC. (1991). Alternative transcripts of the rat and human dopamine D3 receptor, *Biochem Biophys Res Commun.*, Oct 31;18,2: 1031-5.
- Sokoloff P**, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML, Schwartz JC. (1990). Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics, *Nature.*, Sep 13;347, 6289: 146-51.
- Sommer SS**, Lind TJ, Heston LL, Sobell JL. (1993). Dopamine D4 receptor variants in unrelated schizophrenic cases and controls, *Am J Med Genet* 48: 90-93.
- Spencer KM**, Nestor PG, Niznikiewicz MA, Salisbury DF, Shenton ME, McCarley RW. (2003). Abnormal neural synchrony in schizophrenia. *J Neurosci* 23:7407-7411.
- Sugijama A**, Inoue-Murayama M, Miwa M, Ohashi R, Kayang BB, Mizutani M, Nirasawa K, Odai M, Minezawa M, Watanabe S, Ito S. (2004). Polymorphism of Dopamine Receptor D4 Exon I Corresponding Region in Chicken, *Zoological Science* 21: 941-946.
- Sudol M**, Sliwa K, Russo T. (2001). Functions of WW domains in the nucleus, *FEBS Lett* 490: 190-195.

- Swanson** J, Oosterlaan J, Murias, M, Schuck S, Flodman P, Spence MA, Wasdell M, Ding Y, Chi HC, Smith M, Mann M, Carlson C, Kennedy JL, Sergeant JA, Leung P, Zhang YP, Sadeh A, Chen C, Whalen CK, Babb KA, Moyzis R, Posner MI. (2000). Attention deficit/hyperactivity disorder children with a 7-repeat allele of the dopamine receptor D₄ gene have extreme behavior but normal performance on critical neuropsychological tests of attention. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 4754–4759.
- Zaninelli** RM, Porjesz B, Begleiter H. (1992). The tridimensional personality questionnaire in males at high and low risk for alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 16: 68–70.
- Zenner** MT, Nobile M, Henningsen R, Smeraldi E, Civelli O, Hartman DS, Catalano M. (1998). Expression and characterization of a dopamine D4R variant associated with delusional disorder, *FEBS Lett*, 422: 146-150.
- Zhang** Y, Bertolino A, Fazio L, Blasi G, Rampino A, Romano R, T. Lee ML, Xiao T, Papp A, Wang D, Sade W. (2007). Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory, *PNAS*, 104: 20552-20557.
- Zion** IB, Tessler R, Cohen L, Lerer E, Raz Y, Bachner-Melman R, Gritsenko I, Nemanov L, Zohar AH, Belmaker RH, Benjamin J, Ebstein RP. (2006). Polymorphisms in the dopamine D4 receptor gene (DRD4) contribute to individual differences in human sexual behavior: desire, arousal and sexual function, *Molecular Psychiatry* 11: 782–786.
- Thaper** A, Holmes J, Poulton K, Harrington R. (1999). Genetic basis of attention deficit and hyperactivity, *Br. J. Psychiatry* 174: 105-111.
- Todd** RD, O'Malley KL. (2001). The dopamine receptor DRD4 gene: are duplications Distracting, *TRENDS in Pharmacological Sciences* 22: 55-56.
- Tomitaka** M, Tomitaka S, Otuka Y, Kim K, Matuki H, Sakamoto K, Tanaka A. (1999). Association Between Novelty Seeking and Dopamine Receptor D4 (DRD4) Exon III Polymorphism in Japanese Subjects, *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 88: 469–471.
- Treister** R, Pud D, Ebstein RP, Laiba E, Gershon E, Haddad M, Eisenberg E. (2009). Associations between polymorphisms in dopamine neurotransmitter pathway genes and pain response in healthy humans, *International Association for the Study of Pain*. Published by Elsevier B.V, 1016: 2-7.
- Tsuchimine** S, Yasui-Furukori N, Kaneda A, Saito M, Sugawara N, Kaneko S. (2009). Minor genetic variants of the dopamine D4 receptor (DRD4) polymorphism are associated with

novelty seeking in healthy Japanese subjects, *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, S0278-5846, 09: 00220-6.

Ullsperger M. (2009). Genetic association studies of performance monitoring and learning from feedback: The role of dopamine and serotonin, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1192: 2-11.

Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, Civelli O. (1991) Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine, *Nature* ;350, 6319: 610-614.

Van Tol HH, Wu CM, Guan HC, Ohara K, Bunzow JR, Civelli O, Kennedy J, Seeman P, Niznik HB, and Jovanovic V. (1992). Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population, *Nature* 358: 149–152.

Wang E, Ding YC, Flodman P, Kidd JR, Kidd KK, Grady DL, Ryder OA, Spence MA, Swanson JM, Moyzis RK. (2004). The genetic architecture of selection at the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene locus, *Am J Hum Genet* 74: 931–944.

Weiss J, Magert HJ, Cieslak A, Forssmann WG. (1996). Association between different psychotic disorders and the DRD4 polymorphism, but no differences in the main ligand binding region of the DRD4 receptor protein compared to controls. *Eur J Med Res*, 1:439.

White NM, Packard MG, Seamans. (1993). Memory enhancement by post-training peripheral administration of low doses of dopamine agonists: possible autoreceptor effect, *Behav. Neural Biol.* 59: 230-241.

Wilkosc M, Hauser J, Tomaszewska M, Dmitrzak-Weglarz M, Skibinska M, Szczepankiewicz A, Borkowska A. (2010). Influence of dopaminergic and serotonergic genes on working memory in healthy subjects, *Acta Neurobiol Exp*, 70: 86–94.

Wills, T. A., Sandy, J. M., Yaeger, A. (2000). Temperament and adolescent substance use: An epigenetic approach to risk and protection. *Journal of Personality*, 68: 1127–1151.

Wise, R. (2002). Brain reward circuitry: Insights from uncensored incentives. *Neuron*, 36: 229–240.

Yordanova J, Banaschewski T, Kolev V, Woerner W, Rothenberger A. (2001). Abnormal early stages of task stimulus processing in children with attention-deficit hyperactivity disorder-evidence from eventrelated gamma oscillations. *Clin Neurophysiol* 112:1096-1108.

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

<http://cellbio.ebc.ee/rakubio/signal.html>

<http://parkinson.ee/arstile-2.htm>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Novelty-seeking>

http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1994/press.html

<http://en.wikipedia.org/wiki/G-protein>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Rasvatihane>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Linnud>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Inimlased>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Esikloomalised>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Imetajad>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Koer>

<http://et.wikipedia.org/wiki/Vaalad>

http://et.wikipedia.org/wiki/Inimese_evolutsioon#Homo_habilis

<http://et.wikipedia.org/wiki/Hominoidea>

www.ncbi.nlm.nih.gov

KASUTATUD RAAMATUD

Aben A, Allik H, Kahk J, Kaup E, Koop A, Kuusberg P, Kõörna A, Leito T, Liimets H, Lippmaa E, Lott J, Maamägi V, Masing V, Naan G, Parmasto E, Raudtits L, Raukas A, Rebane K, Rätsep H, Rätsep V, Rääts J, Rüütel A, Soidla A, Sõgel E, Tamm B, Tammistu K, Tõnspoe G, Utt O, Valt L, Vares J, Õiglane H, Öpik I. 1988. Hobune, p. 447., Inimlased, p. 637., III köide ENE Kirjastus „Valgus“ Tallinn.

Nienstedt W, Hänninen O, Arstila A, Björkqvist SE. 2001. p. 571. Inimese füsioloogia ja anatoomia, Kirjastus „Medicina“ Tallinn.

