

W poszukiwaniu genów schizofrenii

In search of schizophrenia genes

Joanna Hauser, Monika Dmitrzak-Węglarz

Zakład Genetyki w Psychiatrii, Katedra Psychiatrii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2009; 4, 1: 1-9

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Joanna Hauser
Zakład Genetyki w Psychiatrii
ul. Szpitalna 23/33, 60-572 Poznań
e-mail: jhauser@amp.edu.pl

Streszczenie

Patogeneza schizofrenii jest związana z interakcją wielu genów i czynników środowiskowych. Opublikowano ponad 1200 badań asocjacyjnych, jednak ich wyniki są niejednoznaczne. Wyniki badań asocjacyjnych całego genomu (*Genome Wide Association Study* – GWAS) wskazują na nowe, dotychczas nieznanne geny, wymagają jednak replikacji. W bazie danych, dostępnej w Internecie SzGene, można znaleźć aktualne prace dotyczące badań genetycznych w schizofrenii. W metaanalizie badań asocjacyjnych w schizofrenii potwierdzono znaczenie 16 genów (*APOE*, *COMT*, *DAO*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DTNBP1*, *GABRB2*, *GABRB2B*, *HP*, *IL1B*, *MTHFR*, *PLXNA2*, *SCLC6A4*, *TP53* i *TPH1*).

W psychiatrii zrozumienie związku genu z określonym fenotypem jest na wstępnym etapie. Wyniki dotychczasowych badań wskazują jednak, że w badaniach genetycznych należy uwzględniać nie tylko kategorię diagnostyczną, np. schizofrenii, celowe jest także uwzględnienie fenotypów pośrednich, które są bardziej związane z neurobiologią mózgu niż subiektywne objawy psychopatologiczne. Do endofenotypów w przypadku schizofrenii należą zaburzenia neuropsychologiczne, neurofizjologiczne, a także neuroanatomiczne.

Słowa kluczowe: schizofrenia, genetyka, badania asocjacyjne

Wstęp

Zaburzenia psychiczne należą do tzw. chorób złożonych. Obecnie przyjęty model wieloczynnikowy chorób psychicznych zakłada współdziałanie czynników genetycznych i środowiskowych. Prawdopodobne modele dziedziczenia wielogenowego mogą być dwojakiego rodzaju. Pierwszy zakłada udział kilku genów o umiarkowanym efekcie (model oligogeniczny), drugi natomiast sugeruje współdziałanie dużej liczby genów o małym efekcie działania (model poligeniczny). W dziedziczeniu wielo-

Abstract

The pathogenesis of schizophrenia involves the interaction of many genes and environmental factors. In an effort to find potential genetic risk factors for schizophrenia, research groups have published over 1200 genetic association studies with inconsistent results. Also GWAS have been published, and new genes have been identified, although replication studies are necessary. To facilitate the interpretation of these findings, the on-line "SzGene" database systematically updated all published genetic studies in schizophrenia. A meta-analysis of association studies showed significant effects in 16 genes (*APOE*, *COMT*, *DAO*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DTNBP1*, *GABRB2*, *GABRB2B*, *HP*, *IL1B*, *MTHFR*, *PLXNA2*, *SCLC6A4*, *TP53* and *TPH1*). The elucidation of the genotype-phenotype relationship is at an early stage, but current findings highlight the need to consider alternative approaches to classification for psychiatric genetic research. Our understanding of brain mechanisms that link specific gene actions and products to the subjective experience of psychopathological symptoms is likely to be bridged by employing intermediate phenotypes in domains such as cognition, neuropsychology and neuroanatomy.

Key words: schizophrenia, genetics, association studies

genowym pomiędzy genami dochodzi do interakcji lub sumowania ich działania, a każdy z genów z osobna prawdopodobnie tylko częściowo przyczynia się do powstania choroby. Dodatkowo czynniki środowiska mogą modyfikować ekspresję i wzajemne oddziaływanie pomiędzy genami. Dlatego też badania genetyczne chorób złożonych wiążą się z wieloma problemami metodologicznymi, ponieważ nie obserwuje się w tym przypadku prostej zależności pomiędzy fenotypem i genotypem (Lohmueller i wsp. 2003; Muesner i McGurk 2004).

Badania rodzin

W badaniach rodzin wykazano, że u krewnych probanda z diagnozą schizofrenii istnieje zwiększone ryzyko zachorowania zarówno na schizofrenię (SCH), jak i zaburzenia schizoafektywne (SA). U krewnych probanda z diagnozą zaburzeń afektywnych dwubiegunowych (CHAD) obserwowano zwiększone ryzyko zachorowania na CHAD, zaburzenia schizoafektywne i depresję (Gottesman 1991; Tsuang i Faraone 1990).

W większości badań nie potwierdzono rodzinnego współwystępowania schizofrenii i CHAD (Baron i wsp. 1982). Wyniki pojedynczych badań sugerują jednak, że istnieje prawdopodobieństwo wspólnego, genetycznego ryzyka zachorowania zarówno na chorobę afektywną dwubiegunową, jak i schizofrenię. W kilku rodzinach obserwowano przypadki zachorowania zarówno na SCH, jak i CHAD (Hauser, Leszczyńska, Skibińska 2005; Pope i Yurgelun-Todd 1990).

Genetyka molekularna

Badania z zakresu genetyki molekularnej dotyczyły najczęściej oddzielnych kategorii diagnostycznych – schizofrenii i zaburzeń afektywnych dwubiegunowych, jednak wyniki tych prac wskazują, że niektóre geny związane są z ryzykiem zachorowania zarówno na schizofrenię, jak i chorobę afektywną dwubiegunową.

Analiza asocjacji

Analiza asocjacji polega na porównaniu częstości alleli w tym samym *locus* u niespokrewnionych osób chorych i osób zdrowych populacji ogólnej. Za pomocą metod genetyki molekularnej badany jest polimorfizm wybranego genu, a następnie określany jego związek z chorobą. Istotnym problemem metodologicznym w badaniach asocjacyjnych jest właściwy dobór grupy kontrolnej. Właściwy oznacza w tym przypadku spełnienie szeregu wymogów, takich jak uwzględnienie rozkładu płci, wieku, pochodzenia etnicznego. Trudności metodologiczne związane z tą metodą często dotyczą pojęcia stratyfikacji populacji. Jest to zjawisko będące rezultatem obecności w badanej populacji podgrup o różnym pochodzeniu etnicznym, które istotnie różnią się częstością alleli. Może to doprowadzić do stwierdzenia fałszywie pozytywnego, jak i fałszywie negatywnego związku allelu z chorobą. Uniknięcie tego błędu jest niezwykle trudne ze względu na postępującą globalizację i migrację ludności.

Analiza genu kandydującego

Do zawężenia pola badawczego wykorzystuje się analizę *genu kandydującego*. Polega ona na wybraniu *a priori* genu, który może mieć teoretycznie związek z daną chorobą – są to najczęściej geny funkcjonalne. Funkcjonalne znaczenie genu kandydującego zwykle jest dobrze poznane, podobnie jak jego produkt białkowy, którego nieprawidłowe działanie można wiązać z etiopatogenezą choroby. Wybór genów kandydujących dla chorób psychicznych nawiązuje do patogenetycznych hipotez choroby, np. biochemicznych koncepcji schizofrenii. Ogranicza to w pewien sposób ich wybór, a ponadto stosując analizę tego typu, można pominąć geny niepodejrzewane o związek z chorobą, o nieznanym działaniu lub jeszcze nieopisane.

W klasycznej analizie asocjacji wytypowano liczne geny kandydujące w chorobach psychicznych. Badania asocjacyjne genów kandydujących związanych z dopaminergiczną, serotonergiczną i neurorozwojową koncepcją schizofrenii przeprowadzono w populacji polskiej (Dmitrzak i wsp. 2006; Kapelski i wsp. 2002; Kapelski i wsp. 2006; Kempisty i wsp. 2007; Skibińska i wsp. 2004). Niestety, w wielu przypadkach wyniki uzyskane przez autorów z różnych ośrodków są sprzeczne. Wyniki badań asocjacyjnych wskazują, że *najmocniejszymi* genami w schizofrenii są: *NRG1* (neuregulina), *DTNBP1* (dysbindyna), *DRD1-4* (receptory dopaminowe 1–4), *DISC1* (*disrupted in schizophrenia*), *COMT* (katechol-O-metyltransferaza). Jednak w wielu badaniach replikacyjnych nie potwierdzono asocjacji tych samych markerów wymienionych genów.

Podstawowym problemem badań asocjacyjnych jest moc analiz statystycznych, co jest związane ze stosunkowo nieliczną grupą badanych. Niedawno ukazała się praca, w której przeprowadzono badanie asocjacyjne genów kandydujących na znaczącej grupie chorych, analizowano też kilkanaście genów. Sanders i wsp. (2008) w badaniu obejmującym 1870 chorych na schizofrenię/zaburzenia schizoafektywne i 2002 osób z grupy kontrolnej przeprowadzili badanie asocjacyjne dotyczące 14 genów (789 SNP) kandydujących w schizofrenii. Do badań asocjacyjnych wybrano geny kandydujące: *RGS4*, *DISC1*, *DTNBP1*, *STX7*, *TAAR6*, *PPP3CC*, *NRG1*, *DRD2*, *HTR2A*, *DAOA*, *AKT1*, *CHRNA7*, *COMT*, *ARVCF*. Wyniki badań asocjacyjnych były negatywne. Autorzy wskazują, że prawdopodobnie moc analiz statystycznych była zbyt mała, aby po-

twierdzić asocjację. Sanders i wsp. (2008) uważają, że badania asocjacyjne powinny zatem obejmować kilkutyśięcną grupę chorych, konieczne jest też badanie rzadko występujących polimorfizmów, które mogą być związane z ryzykiem zachorowania na schizofrenię. Zdaniem Hamiltona (2008) geny analizowane w pracy zespołu Sandersa, mogą mieć istotne znacznie w określonych podtypach schizofrenii, natomiast tylko w niewielkim stopniu zwiększają ryzyko zachorowania na schizofrenię opisywaną jako kategorię diagnostyczną.

W badaniach asocjacyjnych coraz częściej bada się wpływ haplotypów ze względu na to, że ludzki genom może być postrzegany w postaci serii regionów o wysokiej nierównowadze sprzężeń zawierających ściśle określone kombinacje haplotypów. Dlatego ocena LD i struktury haplotypów wybranych genów (kandydujących) może odgrywać szczególną rolę w badaniach mających na celu wykrycie genetycznego podłoża chorób o złożonej etiologii. Haplotypy można oznaczać, przeprowadzając genotypowanie lub na podstawie rodzinnych badań genetycznych. Pickard i wsp. (2008) genotypowali 70 markerów typu SNP w genie *NPAS3* (*neuronal PAS domain 3*). Głównym wnioskiem z tej pracy jest opis czterech niezależnych regionów zawierających haplotypy protekcyjne i związane z ryzykiem zachorowania na schizofrenię oraz chorobę afektywną dwubiegunową, których efekty się kumulują (tab. 1.).

Metaanalizy badań asocjacyjnych

W bazie danych PubMed można znaleźć ponad 1200 prac asocjacyjnych dotyczących schizofrenii. Kompleksowa baza danych odnośnie do badań genetycznych w schizofrenii jest dostępna online na stronie internetowej *Schizophrenia Research Forum* <http://www.schizophreniaforum.org>. W bazie tej znajdują się zarówno wyniki badań asocjacyjnych dla pojedynczych polimorfizmów, badania typu metaanaliz, jak również wyniki badań prowadzonej wg nowej strategii *Genome Wide Association Study* (GWAS).

Metaanaliza jest metodą analizy statystycznej uwzględniającą wyniki wielu opublikowanych prac, obejmuje zatem kilkutyśięcne grupy badanych, co zwiększa moc analiz statystycznych. Okazała się przydatna w analizie wyników badań asocjacyjnych zaburzeń psychicznych (Levinson 2005; Munafò 2006; Munafò i Flint 2004).

Metaanaliza przeprowadzona na podstawie bazy danych SzGene obejmowała analizę 1179 opublikowanych prac dotyczących analizy asocjacji 3608 różnych wariantów 516 genów (Allen i wsp. 2008). W przeprowadzonym badaniu potwierdzono asocjację 24 wariantów w 16 genach: *APOE*, *COMT*, *DAO*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD4*, *DTNBP1*, *GABRB2*, *GRIN2B*, *HP*, *IL1B*, *MTHFR*, *PLXNA2*, *SLC6A4*, *TP53*, *TPH1*.

Wartości ilorazu szans (OR) w badaniu SzGene wahały się od 1,11 do 1,52 (średnia 1,23)

Tabela 1. Wyniki analizy haplotypów polimorfizmów SNP genu *NPAS3* w schizofrenii (SCH) i chorobie afektywnej dwubiegunowej (CHAD) (Pickard 2008, zmodyfikowano)

Region	Marker	rs	Allele	Haplotyp	Związek	p			
1	14	rs4143873	C/T	AT(15 i 16)	ryzyko CHAD	0,0016			
	15	rs729217	A/T	TT(14 i 15)	protekcja CHAD	0,0014			
	16	rs7141245	A/T						
2	25	rs1733883	C/G	GTA(25-27)	ryzyko CHAD	0,0027			
	26	rs243310	C/T	CCC(25-27)	protekcja CHAD + SCH	0,0071			
	27	rs1886782	A/C						
3	35	rs1315142	C/G	CAGC(35-38)	ryzyko CHAD + SCH	0,0097			
	36	rs1315151	A/G						
	37	rs1315158	C/G				CAC(35-37)	protekcja SCH	0,0187
	38	rs1440199	A/C						
4	54	rs944086	A/G	GCT(54-56)	ryzyko CHAD + SCH	0,00012			
	55	rs195859	C/T						
	56	rs956884	G/T				GCGC(54-57)	protekcja CHAD + SCH	0,0038
	57	rs1952161	C/G						

i były podobne do OR wskazywanych w metaanalizach badań asocjacyjnych w przypadku innych chorób złożonych (*Wellcome Trust Case Control Consortium* 2007).

Loci pięciu wskazanych genów znajduje się w regionie wskazanym w badaniu analizy sprzężeń: *DRD2* (11q23.1), *GABRB2* (5q34), *DTNBP1* (6p22.3), *IL1B* (2q13) oraz *COMT* (22q11.21) (Lewis 2003).

W opublikowanych metaanalizach, podobnie jak w przypadku metaanalizy SzGene, potwierdzono asocjację następujących genów: *APOA* (Xu i wsp. 2006), *DRD2* (Glatt i wsp. 2006), *DRD4* (Jönsson i wsp. 2003), *GRIN 2B* (Li i wsp. 2007), *IL1B* (Shirt i wsp. 2006), *MTHFR* (Gilbody i wsp. 2007), *DAOA* (Li i wsp. 2006, Shi i wsp. 2008), *SLC6A4* (Fan i wsp. 2005), *TPH1* (Li i wsp. 2006). Natomiast w badaniu SzGene nie potwierdzono asocjacji niektórych genów wskazanych w poprzednich metaanalizach: *BDNF* (Zintzaras i wsp. 2007), *DRD3* (Jönsson i wsp. 2003), *NRG1* (Li i wsp. 2006; Munafò i wsp. 2006).

Wskazane w metaanalizach geny są związane z dopaminergiczną, serotonergiczną i glutaminergiczną hipotezą patogenetyczną schizofrenii (Toda i Abi-Dargham 2007; Winterer 2006; Meltzer i wsp. 2003; Blum i Mann 2002; Coyle 2006). Wyniki metaanalizy wskazały też na kilka genów związanych z neurorozwojową koncepcją schizofrenii (Weinberger 1987). Shi i wsp. (2008) przeprowadzili kolejną metaanalizę wielu badań asocjacyjnych w schizofrenii. Badanie obejmowało 40 SNP (*single nucleotide polymorphism*) w 12 *najmocniejszych* genach wskazanych w badaniu Allen i wsp. (2008), analizowano klasyczne badania asocjacyjne oraz badania rodzin. Shi i wsp. (2008) analizowali wyniki badań dotyczących różnych grup etnicznych, tj. grupy kaukaskiej i azjatyckiej. W badaniu uwzględniono prace angielskojęzyczne, nie wzięto pod uwagę prac, w których obserwowano odstępstwo od prawa Hardy'ego-Weinberga (HWE). Wyniki metaanalizy obejmującej całą grupę osób chorych na schizofrenię wykazały asocjację polimorfizmów siedmiu genów: *DAOA*, *DRD4*, *IL1B*, *MTHFR*, *PPP3CC*, *SLC6A4* i *TP53*. Przy uwzględnieniu przynależności do grup etnicznych okazało się, że asocjacja kilku SNP genów (*DRD4*, *GABRB2*, *PPP3CC*, *TP35*) dotyczy tylko grupy azjatyckiej bądź tylko grupy kaukaskiej (*SLC6A4*).

Wyniki przeprowadzonej metaanalizy wskazują, że ryzyko związane z pojedynczym polimorfizmem genu jest niewielkie – OR:

1,084–1,39, dlatego moc analiz statystycznych jest w tym przypadku niewielka, nawet jeśli w badaniu analizowano ok. 20 000 osób. Należy też podkreślić, że po zastosowaniu korekty wielokrotnego testowania tylko jeden SNP genu *GABRB2* był nadal istotny statystycznie. Wskazuje się, że prawdopodobnie stosowanie korekty Bonferroni jest zbyt konserwatywne. Nadal nie ma jednak konsensusu, czy należy stosować korektę wielokrotnego testowania w przypadku analiz wielu polimorfizmów i wielu genów (Bertram i wsp. 2007; Huedo-Medina i wsp. 2006). Wątpliwości budzi też wyłączenie z metaanaliz badań, w których stwierdzono odstępstwo od prawa Hardy'ego-Weinberga (HWE). W badaniach asocjacyjnych odstępstwo od HWE może być związane z błędami w genotypowaniu i stratyfikacją populacji (Cardon i Palmer 2003; Freedman i wsp. 2004; Hosting i wsp. 2004). Ostatnio jednak sugeruje się, że w metaanalizach należy uwzględniać także te badania, w których występuje odstępstwo od HWE (Salanti i wsp. 2005; Minelli i wsp. 2008).

Badanie asocjacyjne całego genomu (GWAS)

Genome Wide Association Study (GWAS) to wieloetapowe badanie na skalę całego genomu, w którym wyzwaniem jest nie tylko genotypowanie ogromnej ilości polimorfizmów typu SNP przy wykorzystaniu najnowszych technik, ale również konceptualne i statystyczne podejście do tak rozbudowanej bazy danych. Badania GWAS przyczyniły się do zidentyfikowania genów związanych z patofizjologią chorób somatycznych, takich jak np. cukrzyca typu 1 i typu 2 (Saxena i wsp. 2007). Należy podkreślić, że wyniki badań GWAS w przypadku chorób somatycznych wskazują, że OR było stosunkowo niewielkie (1,18–5,49 dla heterozygot i 1,48–18,52 dla homozygot), co sugeruje, że badania GWAS powinny obejmować kilkutyśięczne grupy badanych (*Wellcome Trust Case Control Consortium* 2007).

W ostatnich 2 latach opublikowano kilka prac GWAS dotyczących schizofrenii. Wyniki tych badań są niejednoznaczne, nie potwierdziły asocjacji *najmocniejszych* genów wskazanych w dotychczasowych badaniach asocjacyjnych.

Shifman i wsp. (2008) przeprowadzili GWAS w populacji Żydów, wykazując asocjację rs734145 w 4. intronie genu kodującego relinę (*reelin*) tylko w grupie kobiet chorych na schizofrenię. Relina, produkt genu, ma znaczenie w rozwoju mózgu (Rice i Curran 2001). W ba-

daniach replikacyjnych w populacji europejskiej i chińskiej potwierdzono asocjację, relatywne ryzyko związane z tym genotypem w przypadku kobiet wynosiło 1,58.

Wyniki tego badania sugerują, że niektóre geny związane są z ryzykiem zachorowania na schizofrenię tylko przez kobiety (Shifman i wsp. 2008). Badania kliniczne dotyczące schizofrenii wskazują na różnice, np. w wieku początku choroby oraz przebiegu choroby zależne od płci (Leung i Chue 2000). Różnice w obrazie klinicznym choroby zależne od płci mogą być zatem związane z określoną patogenezą choroby, w badaniach genów kandydujących potwierdzono specyficzne dla płci asocjacje (Chen i wsp. 2007).

Kirov i wsp. (2008) w badaniu GWAS obejmującym 574 trio (trio – osoba chora na schizofrenię i jej rodzice) analizowali 550 000 SNP. Potwierdzono asocjację rs11064768 genu *CCDC60* (*coiled-domain gene*) i rs893703 genu *RBP1* (*retinol-binding protein*) (Kirov i wsp. 2008). Zespół O'Donovana i wsp. (2008) w badaniu GWAS wskazał na asocjację polimorfizmu genu *ZNF080A* w grupie chorych na SCH i CHAD.

W kolejnym badaniu GWAS obejmującym 738 chorych na schizofrenię (badanie CATIE) i 733 osoby z grupy kontrolnej analizowano 492 000 SNP (Affymetrix). Wskazano na kilka genów, które mogą mieć związek z ryzykiem zachorowania na schizofrenię (*COMT*, *DISC1*), jednak po zastosowaniu korekty wielokrotnego testowania zależności te nie były istotne statystycznie (Sullivan i wsp. 2008). Autorzy wskazują, że istotnym problemem w badaniach GWAS jest moc analiz statystycznych. W badanej grupie, obejmującej ponad 700 osób chorych i 700 osób z grupy kontrolnej, możliwe jest stwierdzenie asocjacji w przypadku polimorfizmu często występującego w populacji (10%).

Brak pozytywnych wyników może wiązać się również z tym, że zastosowane markery genetyczne (SNP) nie obejmowały dostatecznie *gesto* regionów genomu związanych z ryzykiem zachorowania na schizofrenię.

Istotnym problemem jest także heterogenność kliniczna i genetyczna kategorii diagnostycznej – schizofrenia. Model GWAS nie obejmuje interakcji genów i czynników środowiskowych, to może także tłumaczyć fakt, że istniejące asocjacje genetyczne nie zostały wykryte.

Analiza zmienności liczby kopii fragmentów DNA

W zrozumieniu genetycznego podłoża chorób złożonych oprócz zmienności typu SNP

istotne znaczenie przypisuje się również zmienności struktury genetycznej, za którą odpowiadają segmentalne duplikacje lub kopie sekwencji DNA o niskiej częstotliwości powtórzeń (*low-copy repeats* – LCRs). Dzięki temu niektóre regiony naszego genomu są szczególnie podatne na rearanżacje genomowe. Dzięki technice porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy wykazano, że genomy ludzi różnią się między sobą fragmentami DNA o wielkości nawet do 2 mln par zasad. Zjawisko to określono mianem zmienności liczby kopii fragmentów DNA (*copy-number variation* – CNV). Zidentyfikowane kopie CNV stanowią 12% naszego genomu. Średnia wielkość kopii CNV mieści się w przedziale 81–341 kbp. W 58% zidentyfikowanych kopii CNV stwierdzono obecność genów. Dlatego też rearanżacje DNA w większym stopniu niż zmiany pojedynczych nukleotydów mogą być odpowiedzialne za ewolucję gatunku człowieka, zmienność osobniczą, a może również za podatność i/lub powstawanie chorób. Większość kopii CNV jest prawdopodobnie tylko wariantami polimorficznymi i nie manifestuje się fenotypowo. Opublikowano ostatnio prace, w których potwierdzono asocjację CNV ze schizofrenią. Potwierdzono aberracje *loci* zawierającego cztery geny: *EFNA5*, *GLUR7*, *CACNG2* i *AKAP5* w populacji kanadyjskiej (Wilson i wsp. 2006). Produkty białkowe w przypadku genów *GLUR7*, *CACNG2* i *AKAP5* są związane z neurotransmisją glutaminergiczną. Z kolei Kirov i wsp. (2008) wskazali na delecję w pozycji 2p13.1 uszkadzającą gen *NRXN1* oraz duplikację powstałą *de novo* w pozycji 15q13.1 wydłużającą gen *APBA2*.

Fenotyp

Istotnym problemem w badaniach genetycznych zaburzeń psychicznych jest opis fenotypu. Diagnoza kliniczna schizofrenii nie jest bezpośrednio związana z biologicznym patomechanizmem choroby, dlatego w badaniach asocjacyjnych należy uwzględnić objawy psychopatologiczne choroby. Wykazano np., że geny (*CRH1*, *CRHBP*) związane z osią stresu (podwzgórze-przysadka-nadnercza) mogą mieć powiązanie z ryzykiem prób samobójczych chorych na schizofrenię (De Luca i wsp. 2008).

Badania asocjacyjne niektórych genów związanych z ryzykiem zachorowania na schizofrenię wykazały też związek z ryzykiem zachorowania na zaburzenia afektywne dwubiegunowe. Obserwowano asocjację polimorfizmu genu *NRG1* (neuregulina) oraz *DTNBP1* (dysbindy-

na) w podtypie CHAD z objawami psychotycznymi, niezgodnymi z nastrojem (Green i wsp. 2005, Raybould i wsp. 2005).

W badaniach asocjacyjnych genu *DAOA* wykazano związek wariantów tego genu z ryzykiem zachorowania na CHAD, opisano też asocjacje w przypadku podtypu schizofrenii z występującymi zaburzeniami depresyjnymi. Wyniki tych badań sugerują, że warianty genu *DAOA* mogą być związane z ryzykiem wystąpienia epizodów zaburzeń nastroju zarówno w przypadku CHAD, jak i SCH (Williams i wsp. 2006).

Podobne zależności genotypowo-fenotypowe opisano w medycynie ogólnej, np. choroby genetycznie złożone, takie jak nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, kardiomiopatia, choć stanowią niezależne kategorie diagnostyczne, to jednak związane są z niektórymi wspólnymi czynnikami ryzyka genetycznego (Kendler 2003).

Wyniki dotychczasowych badań nie wyjaśniają mechanizmów neurobiologicznych wiążących specyficzne geny z subiektywnymi doświadczeniami chorego, takimi jak np. urojenia czy halucynacje. Nie wiadomo zatem, jaki jest związek przyczynowy pomiędzy statystycznymi wynikami badań asocjacyjnych a przyczyną choroby, jej specyficznymi objawami (Owen i wsp. 2007). W tym kontekście Owen i wsp. (2007) uważają, że celowe jest badanie tzw. endofenotypów choroby (fenotypy pośrednie), do których w przypadku schizofrenii zalicza się zaburzenia neurofizjologiczne, neuropsychologiczne (Rybakowski i wsp. 2003; Rybakowski i wsp. 2006; Rybakowski i wsp. 2007). Fenotypy pośrednie są cechami ilościowymi bardziej *zakotwiczonymi* w biologii mózgu aniżeli objawy psychopatologiczne (Thaker 2008).

Ostatnio szczególnie interesujące wydają się badania neuroobrazowania mózgu, które pozwalają na ocenę zaburzeń morfologicznych i czynnościowych chorych na schizofrenię (Shenton i wsp. 2001). Badania rodzin wskazują, że zmiany morfologiczne mózgu u chorych na schizofrenię są związane m.in. z czynnikami genetycznymi (Barns i wsp. 2008).

W próbie zrozumienia przyczyn zaburzeń struktury i funkcji mózgu w pełni jest uzasadnione poszukiwanie genów, które mogą mieć w tym przypadku istotne znaczenie. Wykazano np. związek genu neureguliny (*NRG1*) z rozwojem istoty białej mózgu oraz polimorfizmu genu *BDNF* z objętością kory czołowej u chorych na schizofrenię, co – jak się postuluje – może mieć związek z ryzykiem zachorowania

na schizofrenię (Varnas i wsp. 2008; Mata i wsp. 2008).

Ostatnio opublikowano wyniki badań GWAS w schizofrenii z uwzględnieniem fenotypu fMRI. Badanie funkcjonalnego rezonansu magnetycznego mózgu przeprowadzono w czasie wykonywania testu neuropsychologicznego oceniającego funkcje poznawcze. W tej pracy opisano związek polimorfizmów wielu genów (*ROBO1-ROB2*, *TNFK*, *CTXN3-SLC12A*, *POU3F2*, *TRAF*, *GPC1*) z aktywacją kory przedczołowej u chorych na schizofrenię w czasie wykonywania testów neuropsychologicznych. Wskazane w GWAS geny są związane z rozwojem mózgu i odpowiedzią na stres (Potkin i wsp. 2009).

Interakcja czynników genetycznych i środowiskowych

Indywidualne różnice w zachowaniu człowieka związane są z czynnikami genetycznymi i środowiskowymi. Nie działają one niezależnie od siebie, środowiskowe mogą wpływać na ekspresję genów, jak również genotyp może wpływać na podatność jednostki na wpływy środowiskowe (Caspi i wsp. 2005; Hauser 2007).

Obecnie planowane badania mają na celu poznanie mechanizmów epigenetycznych w przypadku zaburzeń psychicznych. Epigenetyka to nauka zajmująca się zmianami ekspresji genów, które nie są związane ze zmianami w sekwencji DNA. Epigenetyczne modyfikacje regulują ekspresję genów, a ich wyrazem są indywidualne różnice międzypersoniczne dotyczące również par bliźniąt monozygotycznych (MZ). Pomimo że *wzór genetyczny* bliźniąt MZ jest niemal identyczny, mechanizmy epigenetyczne sprawiają, że ekspresja ich genów i poziomy produktów poszczególnych genów są różne. Zjawiska epigenetyczne wydają się mieć ogromne znaczenie w etiologii chorób psychicznych. W tym przypadku mamy do czynienia z interakcją czynników genetycznych i środowiskowych, a mechanizmy epigenetyczne uważa się za czynnik sprzęgający pomiędzy nimi. Metylacja DNA jest endogenną modyfikacją DNA, polegającą na dodaniu grupy metylowej do cytozyny w reakcji katalizowanej przez metylotransferazę DNA (DNMT). Konsekwencją jest obniżenie lub wyciszenie ekspresji genu na skutek zmiany stopnia kondensacji chromatyny, co znacznie zmniejsza dostępność DNA dla czynników transkrypcyjnych. W badaniach molekularnych wykazano, że hipermetylacja i hipometylacja w regionie promotorowym genów może mieć

znaczenie w przypadku genów związanych z predyspozycją do zachorowania na schizofrenię (Mill i wsp. 2008).

Podsumowanie

Etiologia zaburzeń psychicznych, takich jak np. schizofrenia, jest związana z interakcją wielu genów i czynników środowiskowych/kulturowych.

Zaburzenia psychiczne są heterogenne pod względem klinicznym i genetycznym. W badaniach genetycznych opis fenotypu powinien zatem uwzględniać zróżnicowanie obrazu klinicznego choroby oraz fenotypy pośrednie (np. zaburzenia funkcji poznawczych, zaburzenia neurofizjologiczne badania neuroobrazowania mózgu).

Postęp w zakresie genetyki molekularnej pozwala na prowadzenie badań w skali całego genomu (GWAS). Znane są także niektóre czynniki środowiskowe i kulturowe związane z ryzykiem zachorowania na schizofrenię (np. patologia ciąży, wiek ojca powyżej 50 lat, emigracja itp.).

Dotychczasowe prace dotyczyły najczęściej jednak tylko *jednej cegiełki układanki*, tj. bądź czynników genetycznych bądź środowiskowych. Obecnie zwraca się uwagę na konieczność zastosowania modelu badań uwzględniającego interakcję czynników genetycznych i środowiskowych/kulturowych. Efektem tych badań będzie poznanie patofizjologii zaburzeń psychicznych na poziomie molekularnym, co w konsekwencji stwarza możliwość opracowania nowych leków.

Piśmiennictwo

- Allen NC, Bagade S, McQueen MB, et al. Systematic meta-analysis and field synopsis of the genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet* 2008; 40: 827-834.
- Baron M, Gruen R, Asnis L, Kane J. Schizoaffective illness, schizophrenia and affective disorder: morbidity risk and genetic transmission. *Acta Psychiatr Scand* 1982; 65: 253-262.
- Bertram L, McQueen MB, Mullin K, et al. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet* 2007; 39: 17-23.
- Blum BP, Mann JJ. The GABAergic system in schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2002; 5: 159-179.
- Brans RG, van Haren NE, van Baal GC, et al. Heritability of changes in brain volume over time in twin pairs discordant for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2008; 11: 1259-1268.
- Breier A. Serotonin, schizophrenia and antipsychotic drug action. *Schizophr Res* 1995; 14: 187-202.
- Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003; 361: 598-604.
- Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 1117-1127.
- Chen X, Wang X, Hossain S, et al. Interleukin 3 and schizophrenia: the impact of sex and family history. *Mol Psychiatry* 2007; 12: 273-282.
- Coyle JT. Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Mol Neurobiol* 2006; 26: 365-384.
- de Luca V, Tharmalingam S, Zai C, et al. Association of HPA axis genes with suicidal behavior in schizophrenia. *J Psychopharmacol* 2008 [Epub ahead of print] (praca dostępna online).
- Dmitrzak-Węglarz M, Rybakowski JK, Slopian A, et al. Dopamine receptor D1 gene -48A/G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a Polish population. *Neuropsychobiology* 2006; 53: 46-50.
- Fan JB, Sklar P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene STin2 VNTR polymorphism and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 928-938.
- Freedman ML, Reich D, Penney KL, et al. Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. *Nat Genet* 2004; 36: 388-393.
- Gilbody S, Lewis S, Lightfoot T. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) genetic polymorphism and psychiatric disorders: a HuGen review. *Am J Epidemiol* 2007; 165: 1-13.
- Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT. Association between a functional catechol O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based study. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 469-476.
- Glatt SJ, Jönsson EG. The Cys allele of the DRD2 Ser311Cys polymorphism has a dominant effect on risk for schizophrenia: evidence from fixed- and random-effects meta-analyses. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2006; 141: 149-154.
- Gottesman II. Schizophrenia Genesis: The Origins of Madness. New York, NY, Freeman 1991.
- Green EK, Raybould R, Macgregor S, et al. Operation of the schizophrenia susceptibility gene, neuregulin 1, across traditional diagnostic boundaries to increase risk for bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 642-664.
- Hamilton S. Schizophrenia candidate genes: are we really coming up blank? *Am J Psychiatry* 2008; 4: 420-422.
- Hauser J. Interakcja czynników genetycznych i środowiskowych w schizofrenii. *Psychiatria* 2007; 4: 153-159.
- Hauser J, Leszczyńska-Rodziewicz A, Skibińska M. Wspólne podłoże genetyczne schizofrenii i choroby afektywnej dwubiegunowej. *Psychiatria* 2005; 3: 145-153.
- Hosking L, Lumsden S, Lewis K, et al. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. *Eur J Hum Genet* 2004; 12: 395-399.
- Huedo-Medina TB, Sánchez-Meca J, Marín-Martínez F, Botella J. Assessing heterogeneity in meta-analysis: Q statistic or I2 index? *Psychol Methods* 2006; 11: 193-206.
- Jönsson EG, Kaiser R, Brockmüller J, et al. Meta-analysis of the dopamine D3 receptor gene (DRD3) Ser9Gly variant and schizophrenia. *Psychiatr Genet* 2004; 14: 9-12.
- Jönsson EG, Sedvall GC, Nöthen MM, Cichon S. Dopamine D4 receptor gene (DRD4) variant and schizophrenia. *Schizophr Res* 2003; 1: 111-119.
- Kapelski P, Czerski P, Godlewski S, et al. Brak asocjacji pomiędzy polimorfizmem -141C Ins/Del w odcinku promotorowym genu DRD2 a schizofrenią. *Psychiatr Pol* 2002; 36: 413-419.

28. Kapelski P, Hauser J, Dmitrzak-Węglarz M, et al. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism in the serotonin transporter gene and schizophrenia. *Psychiat Pol* 2006; 40: 925-935.
29. Kempisty B, Bober A, Łuczak M, et al. Distribution of the 1298A>C polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Eur Psychiatry* 2007; 22: 39-43.
30. Kendler KS. Reflections on the relationship between psychiatric genetics and psychiatric diagnoses. *Am J Psychiatry* 2006; 163: 1138-1146.
31. Kirov G, Zaharieva I, Georgieva L, et al. A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol Psychiatry* 2008; 1: 1-8.
32. Kirov G, Gumus D, Chen W, et al. Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 458-465.
33. Leung A, Chue P. Sex differences in schizophrenia, a review of the literature. *Acta Psychiatrica Scand Suppl* 2000; 401: 3-38.
34. Levinson DF. Meta-analysis in psychiatric genetics. *Curr Psychiatry Rep* 2005; 7: 143-151.
35. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, et al. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 34-48.
36. Li D, He L. Association study between the NMDA receptor 2B subunit gene (GRIN2B) and schizophrenia: A HuGE review and meta-analysis. *Genet Med* 2007; 9: 4-8.
37. Li D, Collier DA, He L. Meta-analysis shows strong positive association of the neuregulin 1 (NRG1) gene with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 1995-2002.
38. Li D, He L. Meta-analysis shows associations between the tryptophan hydroxylase (TPH) gene and schizophrenia. *Hum Genet* 2006; 120: 22-30.
39. Li D, He L. G72/g30 genes and schizophrenia; a systematic meta-analysis of associations studies. *Genetics* 2007; 2: 917-922.
40. Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M, et al. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* 2003; 33: 177-182.
41. Mata I, Perez-Iglesias R, Roiz-Santiañez R, et al. A neuregulin 1 variant is associated with increased lateral ventricle volume in patients with first-episode schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2009; 65: 535-540.
42. Meltzer HY, Li Z, Kaneda Y, Ichikawa J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 1159-1172.
43. Mill J, Tang T, Kaminsky Z, et al. Epigenetic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 696-711.
44. Minelli C, Thompson JR, Abrams KR, et al. How should we use information about HWE in the meta-analyses of genetic association studies? *Int J Epidemiol* 2008; 37: 136-146.
45. Mueser KT, McGurk SR. Schizophrenia. *Lancet* 2004; 368: 2063-2072.
46. Munafò MR, Thiselton DL, Clark TG, Flint J. Association of the NRG 1 gene and schizophrenia; a meta-analysis. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 539-546.
47. Munafò MR. Candidate gene studies in the 21st century: meta-analysis, mediation, moderation. *Genes Brain Behav* 2006; 5 (Suppl. 1): 3-8.
48. Munafò MR, Flint J. Meta-analysis of genetic association studies. *Trends Genet* 2004; 20: 439-444.
49. O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, et al.; Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* 2008; 40: 1053-1055.
50. Owen M, Craddock N, Jablensky A. The genetic deconstruction of psychoses. *Schizophr Bull* 2007; 4: 905-911.
51. Pickard BS, Christoforou A, Thomson PA, et al. Interacting haplotypes at the NPAS3 locus alter risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2008 [Epub ahead of print].
52. Pope HG Jr, Yurgelun-Todd D. Schizophrenic individuals with bipolar first-degree relatives; analysis of two pedigrees. *J Clin Psychiatry* 1990; 51: 97-101.
53. Potkin SG, Turner JA, Guffanti G, et al.; FBIRN. A genome-wide association study of schizophrenia using brain activation as a quantitative phenotype. *Schizophr Bull* 2009; 35: 96-108.
54. Raybould R, Green EK, McGregor S, et al. Bipolar disorder and polymorphism in the dysbindin gene (DTNBP1). *Biol Psychiatry* 2005; 57: 696-701.
55. Rice DS, Curran T. Role of reelin signaling pathway in central nervous development. *Ann Rev Neurosci* 2001; 24: 1005-1039.
56. Rybakowski J, Borkowska A, Czerski PM, et al. Polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor and performance on cognitive prefrontal test in bipolar patients. *Bipolar Disorder* 2003; 5: 468-472.
57. Rybakowski JK, Borkowska A, Czerski PM, et al. Performance on the Wisconsin Card Sorting Test in schizophrenia and genes of dopaminergic inactivation (COMT, DAT, NET). *Psychiatry Res* 2006; 143: 13-19.
58. Rybakowski JK, Borkowska A, Skibinska M, et al. Polymorphism of the Fyn kinase gene and performance on the Wisconsin Card Sorting Test in schizophrenia. *Psychiatr Genet* 2007; 17: 201-204.
59. Salanti G, Sanderson S, Higgins JP. Obstacles and opportunities in meta-analysis of genetic association studies. *Genet Med* 2005; 7: 13-20.
60. Sanders AR, Duan J, Levinson DF, et al. No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *Am J Psychiatry* 2008; 165: 497-506.
61. Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard and MIT, Lund University, and Novartis Institutes of BioMedical Research, Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007; 316: 1341-1345.
62. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 2001; 49: 1-52.
63. Shi J, Gershon E, Liu C. Genetic associations with schizophrenia; Meta-analyses of 12 candidate genes. *Schizophrenia Res* 2008; 104: 96-107.
64. Shi J, Badner JA, Gershon ES, Li C. Allelic association of G72/G30 with schizophrenia and bipolar disorder: a comprehensive meta-analysis. *Schizophr Res* 2008; 98: 89-97.
65. Shifman S, Johannesson M, Bronstein M, et al. Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet* 2008; 4: 1-7.
66. Shirts BH, Wood J, Yolken RH, Nimgaonkar VL. Association study of IL10, IL1beta, and IL1RN and schizophrenia using tag SNPs from a comprehensive database: suggestive association with rs16944 at IL1beta. *Schizophr Res* 2006; 88: 235-244.

67. Skibińska M, Hauser J, Czerski PM, et al. Association analysis of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene Val66Met polymorphism in schizophrenia and bipolar affective disorder. *World J Biol Psychiatry* 2004; 4: 215-220.
68. Sullivan PF, Lin D, Tzeng JY, et al. Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol Psychiatry* 2008; 13: 570-584.
69. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678.
70. Thaker G. Psychosis endophenotypes in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Bull* 2008; 34: 720-721.
71. Toda M, Abi-Dargham A. Dopamine hypothesis of schizophrenia: making sense of it all. *Curr Psychiatry Rep* 2007; 9: 329-336.
72. Tsuang MT, Faraone SV. *The Genetics of Mood Disorders*. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, 1990.
73. Varnas K, Lawyer G, Jönsson EG, et al. Brain-derived neurotrophic factor polymorphisms and frontal cortex morphology in schizophrenia. *Psychiatr Genet* 2008; 4: 177-183.
74. Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1987; 44: 660-669.
75. Williams NM, Green EK, Macgregor S, et al. Variation at the DAOA/G30 locus influences susceptibility to major mood episodes but not psychosis in schizophrenia and bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2006; 63: 366-373.
76. Wilson GM, Flibotte S, Chopra V, et al. DNA copy-number analysis in bipolar disorder and schizophrenia reveals aberrations in genes involved in glutamate signaling. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 743-749.
77. Winterer G. Cortical microcircuits in schizophrenia – the dopamine hypothesis revisited. *Pharmacopsychiatry* 2006; (Suppl 1): 68-71.
78. Xu MQ, St Clair D, He L. Meta-analysis of association between ApoE epsilon4 allele and schizophrenia. *Schizophr Res* 2006; 84: 228-235.
79. Zintzaras E. Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism and schizophrenia; a meta-analysis. *Psychiatr Genet* 2007; 17: 69-75.