

Asocjacja między polimorfizmem genu hydroksylazy tyrozyny a występowaniem schizofrenii w populacji Polski centralnej*

Association of the tyrosine hydroxylase gene polymorphism with schizophrenia in the population of central Poland

Renata Jacewicz¹, Piotr Gałęcki², Antoni Florkowski², Jarosław Berent¹

¹ Pracownia Genetyki Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UM w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. J. Berent

² Klinika Psychiatrii Dorosłych UM w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. A. Florkowski

Summary

Aim. The aim of the study was a comparative analysis of the polymorphism in TH01 *locus* - tetranucleotide microsatellite region located in the first intron of the tyrosine hydroxylase gene (TH) between a group of Polish patients suffering for schizophrenia and their regionally matched healthy subjects.

Method. One hundred patients affected by paranoid schizophrenia and healthy individuals with negative family history of psychiatric disorders as control, were investigated. Genomic DNA was isolated from peripheral blood, amplification of TH01 locus was carried out using the following sequences of primers: 5'-GTG GGC TGAAAA GCT CCGAT TAT-3', 5'-ATT CAA AGG GTA TCT GGG CTC TGG-3', PCR products were detected on the ABI Prism 377 sequencer. Distributions of alleles, genotypes and homo-heterozygosity of the patients were compared with those of the matching controls using the RXC program created by G. Carmody. Relative Risk (RR) of the disease was calculated according to the formula given by Dyer & Werrens.

Results. The conducted analysis showed the existence of statistically significant differences in the distribution of alleles, as well as genotypes between the schizophrenics and the control population. We revealed that 7 allele is present statistically significantly more often in the group of patients and its presence increases the risk of schizophrenia almost twofold (RR=1.89). Whereas the presence of 9.3 allele reduces the risk of the disease (RR=0.72), in the homozygote form 9.3-9.3 even over three times (RR=0.32).

Conclusion. The revealed differences in the susceptibility to schizophrenia depending on polymorphic allele variants in repetitive TCAT sequence in TH01 *locus* may be associated

* Temat opracowany w ramach prac własnych uczelni nr 502-11-466.

with the function of a regulatory element in the process of TH gene transcription. Our findings need further investigation in a larger sample of patients.

Słowa kluczowe: TH01, schizofrenia, badania asocjacji, Polska centralna

Key words: TH01, schizophrenia, association studies, central Poland

Wstęp

Schizofrenia jest poważną chorobą psychiczną dotykającą blisko 1% populacji na całym świecie. Mimo pięciu dekad badań nad patofizjologią tej choroby, jej etiologia ciągle pozostaje nieznaną. Wprowadzenie w połowie lat 50. ubiegłego wieku klasycznych neuroleptyków dokonało przełomu w jej leczeniu, a pojawienie się w połowie lat 80. atypowych leków przeciwpsychotycznych istotnie poprawiło jakość życia i zmniejszyło liczbę objawów niepożądanych związanych z farmakoterapią [1]. Pomimo znaczących postępów w terapii, wciąż tylko co piąta osoba dotknięta tą chorobą powraca do poziomu funkcjonowania społecznego takiego jak przed zachorowaniem [2]. Dlatego też ciągle oczekuje się na zasadniczy przełom w diagnostyce schizofrenii. Wiele badań koncentruje się na nieprawidłowej neurotransmisji dopaminergicznej w powiązaniu z innymi układami neuroprzekaźników, takimi jak: serotonina, kwas gamma-aminomasłowy czy glutaminian [3]. Przyjęcie paradygmatu neurorozwojowego schizofrenii, zaproponowanego przez Weinbergera [4], skutecznie połączyło teorie neuroprzekaźnikowe z obserwowanymi w jej przebiegu drobnymi zmianami anatomicznymi w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Badania rodzin osób chorych na schizofrenię wskazują dodatkowo na silny czynnik genetyczny [5]. Do dziś nie znaleziono jednak markerów genetycznych o pewnej korelacji ze schizofrenią, choć zaproponowano wiele miejsc w DNA, które predysponują do rozwoju tej choroby. Z uwagi na to, że schizofrenia nie jest dziedziczona zgodnie z prawami Mendla, lecz poligenowo, a udział poszczególnych genów jest słaby lub umiarkowany, poszukuje się różnic osobniczych w strukturze elementów regulatorowych genów kandydujących [6, 7].

Obiecujące rezultaty związane są z *locus* TH01, polimorficznym regionem mikrosatelitarnym, zlokalizowanym w 1 intronie genu hydroksylazy tyrozyny (tyrosine hydroxylase – TH). Koduje on enzym ograniczający syntezę dopaminy [8]. Badania przeprowadzone przez Meloniego i wsp. [9] oraz Albanese i wsp. [10] ujawniają, że ten mikrosatelita wykazuje cechy elementu wzmacniającego bądź hamującego transkrypcję TH i tworzy kompleksy z białkami jądrowymi. Tetranukleotydomowa sekwencja TCAT, charakterystyczna dla TH01, to motyw wiążący czynnik transkrypcyjny – białko jądrowe ZNF191 zawierające tzw. palce cynkowe. Alleliczne odmiany ludzkiego TH01 korelują z ilościowymi i jakościowymi różnicami w wiązaniu ZNF 191. Większa liczba powtórzeń w *locus* w przypadku alleli 8, 9,3, 10 koreluje z silniejszym wiązaniem białka transkrypcyjnego na skutek interakcji nie z jedną, jak w przypadku niższej liczby powtórzeń, a jednocześnie z dwiema proteinami, co znacząco wpływa na ekspresję genu hydroksylazy tyrozyny [10].

W piśmiennictwie spotykamy doniesienia wskazujące na związek między polimorfizmem w *locus* TH01 w obrębie genu hydroksylazy tyrozyny a występowaniem schizofrenii [11, 12] oraz choroby afektywnej jedno- i dwubiegunowej [13, 14]. Ze względu na zbyt małą liczbę przebadanych przypadków, znaczne różnice metodologicz-

ne oraz wpływ efektu stratyfikacyjnego, doniesienia te nie rozstrzygają jednoznacznie omawianej kwestii. Dlatego też postanowiliśmy przeprowadzić własne badania oceniające rozkład alleli i genotypów w *locus* TH01 u osób chorych na schizofrenię oraz porównać je z rozkładem w populacji osób zdrowych.

Cel badań

W pracy podjęto próbę oceny polimorfizmu w pierwszym intronie genu hydroksylazy tyrozyny u osób chorych na schizofrenię w porównaniu z grupą kontrolną. Sformułowano następujące pytania badawcze:

Czy istnieje genetyczna korelacja pomiędzy polimorfizmem genu hydroksylazy tyrozyny a schizofrenią?

Czy polimorfizm w ludzkim genie hydroksylazy tyrozyny wpływa na ryzyko zachorowalności na schizofrenię?

Material i metody

W badaniu uczestniczyło 100 osób chorych na schizofrenię paranoidalną, leczonych w Klinice Psychiatrii Dorosłych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Rozpoznanie postawiono zgodnie z kryteriami zawartymi w „Klasyfikacji zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania ICD-10”, niezależnie przez 2 lekarzy psychiatrów [15, 16]. Oceny klinicznej pacjentów dokonywano, stosując skalę PANSS [17]. Charakterystykę kliniczną i socjodemograficzną badanych grup przedstawiono w tabeli 1. U osób zakwalifikowanych do badania wykluczono upośledzenie umysłowe, padaczkę, wywiad w kierunku uzależnienia od substancji psychoaktywnych oraz poważnych chorób somatycznych, takich jak cukrzyca, choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze. Grupę kontrolną stanowiła próba populacyjna 350 osób z tego samego regionu. Były to zdrowe osoby po 45 roku życia z negatywnym wywiadem rodzinnym w kierunku chorób psychicznych. Wszystkie osoby zdrowe i chore paliły papierosy. Nie znaleziono wystarczającej grupy chorych na schizofrenię nie palących tytoniu i spełniających kryteria włączenia, w związku z tym grupę porównawczą dobrano spośród osób

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i demograficzna pacjentów chorych na schizofrenię oraz grupy kontrolnej

Badana grupa	Pacjenci chorzy na schizofrenię N = 100	Grupa kontrolna N = 350
Płeć (K/M)	47/53	168/182
Wiek (lata)	48,7 ±11,2	39,2 ±14,6
Wynik skali PANSS: P/N/G	22,1 ±7, 1/19,3 ± 6, 1/35,7±15,5	X
Wywiad w kierunku chorób psychicznych w rodzinie (tak/nie)	32/68	0/350

zdrowych uzależnionych od nikotyny. Na badanie wyraziła zgodę Komisja Bioetyki UM w Łodzi, decyzją Nr RNN/03/03/KB i RNN/30/03/KE.

Genomowe DNA izolowano, stosując membrany jonowymiennie (A & A biotechnology). Amplifikację *locus* TH01-DNA przeprowadzano w termocyklerze UNO II z wykorzystaniem następujących starterów: 5'-GTGGGCTGAAAAGCTCCCGAT-TAT-3' oraz 5'-ATTCAA GGGTATCTGGGCTCTGG-3'. Detekcję produktów amplifikacji wykonano w sekwenatorze ABI Prism 377 w odniesieniu do standardu wielkości GeneScan-500, stosując oprogramowanie GeneScan 3.7 NT.

Do sprawdzenia, czy badane populacje odpowiadają stanowi równowagi prawa Hardy'ego i Weinberga użyto programu komputerowego GDA [18]. Ocenie statystycznej poddano rozkłady alleli, genotypów oraz homo- i heterozygotyczność w układzie TH01 w badanych grupach. Wykorzystano test χ^2 z zastosowaniem programu RXC autorstwa G. Carmody'ego (Ottawa, Kanada). Wartości błędu standardowego dla używanego prawdopodobieństwa (p) w teście exact wynikają z zastosowania określonej liczby symulacji, zgodnie z algorytmem Monte-Carlo [19]. Do oceny, czy liczebność badanych prób populacyjnych była wystarczająca, aby statystyczną znamienność wyników traktować jako prawdziwie dodatnią lub ujemną, wykorzystano obliczenia mocy statystycznej przeprowadzonych testów [20]. Względne ryzyko zachorowania (RR – relative risk) obliczano wg wzoru podanego przez Dyera i Warrensa [21]. Wartości $RR = 1,00$ świadczą o braku asocjacji między określonym allelem a genotypem, $RR > 1,00$ oznacza rosnące ryzyko zachorowania (pozytywna asocjacja), natomiast $RR < 1,00$ – malejące ryzyko choroby (negatywna asocjacja).

Wyniki

Rozkład alleli i genotypów, homo- i heterozygotyczność oraz współczynniki względnego ryzyka zachorowalności przedstawiono w tabeli 2.

Badane populacje pozostają w zgodzie ze stanem równowagi prawa Hardy'ego i Weinberga ($p = 0,068 \pm 0,060$).

Przeprowadzona analiza wykazała istnienie statystycznie znamiennych różnic w rozkładach alleli ($p = 0,020 \pm 0,004$) i genotypów ($p = 0,025 \pm 0,005$) między populacją chorych na schizofrenię a populacją kontrolną. Allel 7 występuje w grupie chorych statystycznie znamienne częściej, a jego obecność niemal dwukrotnie zwiększa ryzyko zachorowania na schizofrenię ($RR = 1,89$). Statystycznie znamienne częściej, poza allelem 7, występuje też w populacji chorych genotyp 7-6 ($RR = 2,67$). Natomiast istotnie statystycznie rzadziej w populacji chorych spotykamy genotyp 9.3-9.3. Występowanie allela 9.3 minimalizuje ryzyko zachorowania ($RR = 0,72$), a w postaci homozygotycznej nawet do ponad trzech razy ($RR = 0,32$). W grupie chorych nie obserwowano w ogóle allela 10, występującego z częstością 1,14% w populacji osób zdrowych.

Porównanie populacji chorych na schizofrenię z populacją kontrolną wykazało również istnienie różnic w rozkładzie homo- i heterozygotyczności manifestującego się statystycznie znamienną przewagą heterozygot w grupie chorych na schizofrenię ($p = 0,006 \pm 0,002$).

Tabela 2. Rozkład alleli, genotypów i heterozygotyczności w locus TH01 w grupie chorych na schizofrenię w zestawieniu z grupą kontrolną

Locus TH01	Schizofrenia N = 100 (%)	Grupa kontrolna N = 350 (%)	PR
Allele^a			
6	48 (24,00)	158 (22,57)	1,08
7*	41 (20,50)	84 (12,00)	1,89
8	21 (10,50)	80 (11,43)	0,91
9	40 (20,00)	148 (21,14)	0,93
9.3	50 (25,00)	222 (31,71)	0,72
10	0 (0,00)	8 (1,14)	0,00
Genotypy^b			
6-6	2 (2,00)	23 (6,57)	0,29
7-6**	10 (10,00)	14 (4,00)	2,67
7-7	2 (2,00)	7 (2,00)	1,00
8-6	3 (3,00)	21 (6,00)	0,48
8-7	5 (5,00)	13 (3,71)	1,36
8-8	2 (2,00)	3 (0,86)	2,36
9-6	15 (15,00)	32 (9,14)	1,75
9-7	8 (8,00)	14 (4,00)	2,09
9-8	5 (5,00)	18 (5,14)	0,97
9-9	2 (2,00)	16 (4,57)	0,43
9.3-6	16 (16,00)	43 (12,29)	1,36
9.3-7	14 (14,00)	28 (8,00)	1,87
9.3-8	4 (4,00)	22 (6,29)	0,62
9.3-9	8 (8,00)	48 (13,71)	0,55
9.3-9.3***	4 (4,00)	40 (11,43)	0,32
10-6	0 (0,00)	2 (0,57)	0,00
10-7	0 (0,00)	1 (0,29)	0,00
10-9	0 (0,00)	4 (1,14)	0,00
10-9.3	0 (0,00)	1 (0,29)	0,00
Homozygotyczność-heterozygotyczność^c			
homozygoty	12 (12,00)	89 (25,43)	
heterozygoty	88 (88,00)	261 (74,57)	

RR – względne ryzyko zachorowalności. Częstość alleli, genotypów oraz homo- i heterozygotyczności przedstawiono procentowo w nawiasach za odpowiadającą im liczebnością. Wyniki testu χ^2 i prawdopodobieństwa dla różnic statystycznie znamiennej odnotowano poniżej:

^a $\chi^2 = 13,054$; $p = 0,020 \pm 0,004$, ^b $\chi^2 = 30,351$; $p = 0,025 \pm 0,005$, ^c $\chi^2 = 8,057$; $p = 0,006 \pm 0,002$,

* $\chi^2 = 9,397$; $p = 0,002 \pm 0,001$, ** $\chi^2 = 5,546$; $p = 0,015 \pm 0,004$, *** $\chi^2 = 4,865$; $p = 0,033 \pm 0,006$

Moc przeprowadzonych testów zawiera się w przedziale 0,975–1,000, tak więc przekracza wartość graniczną 0,8 [20]. Świadczy to o tym, iż liczebność badanych grup była wystarczająca, aby statystyczną znamienność wyników traktować jako prawdziwie dodatnią lub ujemną.

Omówienie wyników

Katecholaminy to grupa neurotransmiterów odgrywająca kluczową rolę w ośrodkowym układzie nerwowym. Zaburzenia w szlaku katecholamin opisywano wielokrotnie w chorobach psychicznych i neurologicznych, m. in. w schizofrenii, chorobie afektywnej dwubiegunowej, chorobie Parkinsona [22, 23, 24]. Osoby cierpiące na zaburzenia o udowodnionej patologii w układzie katecholamin mają często pozytywny wywiad rodzinny w kierunku chorób psychicznych. Dlatego też istnieje prawdopodobieństwo, że geny kontrolujące szlak omawianych neurotransmiterów mogą być powiązane z wybranymi chorobami psychicznymi. Biosyntezę katecholamin kontroluje kilka enzymów. Są to TH (tyrosine hydroxylase), AADC (aromatic L-amino decarboxylase), DBH (dopamine β -hydroxylase) oraz PNMT (phenylethanolamine N-methyltransferase). Kluczową rolę, z uwagi na funkcję limitującą powstawanie szeregu neurotransmiterów, odgrywa hydroksylaza tyrozyny (TH). Ludzka hydroksylaza tyrozyny kodowana jest na krótkim ramieniu chromosomu 11 (11p15), w miejscu uznawanym za predysponujące do rozwoju schizofrenii [25]. Pierwszy intron genu dla hydroksylazy tyrozyny (TH) znajduje się w obrębie mikrosatelity TH01 i charakteryzuje się polimorfizmem powtarzających się tandemowo sekwencji czteronukleotyдовых (TCAT) [26]. Przez wiele lat z mikrosatelitami wiązała się tzw. „neutralna teoria” (neutral hypotesis), gdyż sądzono, że powtarzające się sekwencje nie odgrywają żadnej biologicznej roli. Kashi i wsp. [27] dowodzą jednak, że mikrosatelity uczestniczą w procesach rekombinacji i transkrypcji. Klesert i wsp. [28] oraz Richards i wsp. [29] udokumentowali, że ekspansja trójnukleotyдовых powtórzeń w niekodujących sekwencjach wpływa na transkrypcyjną aktywność genów i tym samym odpowiedzialna jest za wiele neurologicznych schorzeń, np. łamliwy chromosom X czy dystrofię miotoniczną. Detekcja rozprzestrzenienia trójnukleotyдовых powtórzeń o motywie CAG w całym genomie, bez znajomości ich lokalizacji, wykazała przewagę tych sekwencji również u osób chorych na schizofrenię czy chorobę afektywną dwubiegunową, w porównaniu z grupą kontrolną [30, 31].

Z powodu istotnej roli hydroksylazy tyrozyny w biosyntezie dopaminy, badaliśmy, czy polimorfizm czteronukleotyдовых powtórzeń (TCAT) w pierwszym intronie genu TH jest skorelowany ze schizofrenią. Wykazaliśmy istnienie statystycznie znamiennych różnic w strukturze rozkładów alleli i genotypów w *locus* TH01 w grupie 100 chorych na schizofrenię w zestawieniu z populacją kontrolną. Wcześniej związek polimorfizmu TH01 ze schizofrenią badano we Francji, Tunezji, Szwecji i Japonii [11, 12, 13, 32]. Nasze wyniki pozostają w sprzeczności z doniesieniami Meloniego i wsp. [11], nie wykazaliśmy bowiem korelacji rzadkiego allela, złożonego z 10 powtórzeń sekwencji TRAT, z ryzykiem zachorowania na schizofrenię. W populacji osób chorych na schizofrenię, z rejonu Polski centralnej, nie odnotowano w ogóle allela 10. Nasze obserwacje pozostają w zgodzie z wynikami Jönssona i wsp. [12], którzy oceniali polimorfizm

TH01 w populacji szwedzkiej. Wykazali oni tendencję do niższej częstości allele 10, a także statystycznie niższą częstość allele 9.3 wśród chorych na schizofrenię.

Sekwencja dziesięciokrotnego powtórzenia z delecją pojedynczego nukleotydu – (TCAT)₄ TCA (TCAT)₅ (imperfect repeat – 9.3) w polskiej populacji chorych na schizofrenię występuje znacznie rzadziej niż w grupie kontrolnej, natomiast w formie homozygotycznej jako genotyp 9.3-9.3 sporadycznie ($P = 0,033 \pm 0,006$). Ryzyko zachorowania na schizofrenię jest prawie dwukrotnie wyższe w przypadku ludzi mających allel 7 w locus TH01 w porównaniu z osobami pozbawionymi tego allele ($RR = 1,89$). Najwyższe ryzyko zachorowania występuje jednak dla genotypu 6-7 ($R = 2,67$). Otrzymane przez nas wyniki pozwalają wnioskować, że allele o większej liczbie powtórzeń, tzn. 9.3 oraz 10, mogą pełnić funkcję ochronną przed zachorowaniem na schizofrenię, gdyż występują znacznie częściej w grupie osób zdrowych.

Albanese i wsp. [10] wykazali, że siła wiązania z białkami jądrowymi uzależniona jest od liczby tandemowych powtórzeń. Dlatego różnice w liczbie sekwencji TCAT w ludzkim TH01, warunkujące siłę wiązania z czynnikami regulatorowymi, mogą mieć istotny wpływ na ekspresję hydroksylazy tyrozyny, a pośrednio na aktywność dopaminy w organizmie. Z tego powodu polimorfizm TH01 w obrębie genu TH może odgrywać rolę w powstawaniu i przebiegu schizofrenii.

Otrzymane wyniki, dotyczące 100-osobowej grupy chorych, nie rozstrzygają jednoznacznie podjętego w pracy tematu, jednak wskazują, że uważane niegdyś za pozbawione funkcji biologicznej tandemowo powtarzające się sekwencje DNA mogą modulować przebieg schorzeń neuropsychicznych. W przyszłości konieczne są dalsze badania sekwencji tandemowych, przeprowadzane w większej grupie chorych na schizofrenię, gdyż mogą okazać się one pomocne w poznaniu patofizjologii tej choroby i przyczynić się do wprowadzenia nowych form terapii.

Wnioski

1. W badanej grupie 100 osób chorych na schizofrenię z regionu Polski centralnej ujawniono istotną statystycznie korelację pomiędzy polimorfizmem genu hydroksylazy tyrozyny a schizofrenią.
2. Zaobserwowano blisko dwukrotnie wyższe ryzyko zachorowania na schizofrenię u osób mających allel 7 niż u osób pozbawionych tego allele ($RR = 1,89$).
3. Wykazano mniejsze ryzyko zachorowania na schizofrenię u osób mających allel 9.3 w formie homozygotycznej ($RR = 0,72$) i heterozygotycznej 9.3-9.3 ($RR = 0,32$).
4. Wśród badanych 100 osób chorych na schizofrenię nie ujawniono wariantu z maksymalną liczbą powtórzeń w locus – tj. 10, występującego w populacji kontrolnej z częstością 1,14%.

Ассоциация между полиморфизмом гена гидроксилазы тирозина и появлением шизофрении в популяции Центральной Польши

Содержание

Задание. Анализ полиморфизма в пункте TH01 – тетра nukлеидовом районе минисателита, помещенным в первом интроне гена гидроксилазы тирозина (TH), проведен в группе больных в Польше, болеющих шизофренией в сравнение с контрольной группой.

Метод. В исследованиях приняло участие 100 больных параноидной шизофренией и группа здоровых лиц с негативным анамнезом по отношению к психическим заболеваниям как контрольная. Геномовая ПНК выделена из периферической крови, амплификации пункта TH01 проведены с использованием стартеров: 5' – GTG GGC TGA AAA GCT CCC GAT TAT – 3', 5' – ATT CAAAGG CTA TCT GGG TGC – 3' детекции продуктов амплификации проведено в секвентаторе ABI Prism 377. Сравнение в радиусе размещения аллелей, генотипов и гомо и гетерозиготности в пункте TH01 в группе больных и контрольной проведено с использованием программы R XC G. Гармонди. Относительный риск заблевания подсчитан по таблице, приведенной Диером и Варренсом.

Результаты. Показаны статистически существенные различия в размещении частоты аллелей и генотипов в пункте TH01 между больными шизофренией и контрольной группой. Аллеля 7 обнаружена в группе больных статистически значимо чаще, а ее присутствие почти в два раза увеличивала риск заблевания шизофренией (RR = 1,89). Появление аллели 9,3 уменьшало риск заблевания шизофренией (RR ! 0,72), а в гомозиготной форме 9,3–9,4 даже почти в три раза (R = 0,32).

Выводы. Обнаружение различий в предрасположении к заблеванию шизофренией зависят от варианта репрегетивной секвенции TCAT в пункте TH01 и могут быть связаны с его регуляторной функцией в процессе транскрипции гена TH. Полученные результаты требуют подтверждения при исследовании большей группы больных шизофренией.

Assoziation zwischen dem Genpolymorphismus von Thyrosinhydroxylase und Schizophrenie in der Population des zentralen Polens

Zusammenfassung

Ziel. Das Ziel der Bearbeitung war die Analyse vom Polymorphismus im Locus TH01 - Tetranukleotid - Minisatelliten - Gebiet, lokalisiert im ersten Intron des Thyrosinhydroxylasegens (TH), die in der Gruppe der Schizophrenkranken aus Polen durchgeführt wurde im Vergleich mit der entsprechenden Kontrollgruppe.

Methode. An die Studie wurden 100 Kranke eingeschlossen, die an paranoide Schizophrenie krank waren und die Gruppe der gesunden Personen mit Familienanamnese in der Richtung der psychischen Krankheiten als Kontrollgruppe.

Das DNA- Genom wurde aus dem Periphärblut isoliert, die Amplifikation Locus TH01 wurde mit Hilfe von Startern durchgeführt: 5'-GTG GGC TGA AAA GCT CCC GAT TAT-3', 5'-ATT CAA AGG GTA TCT GGG CTC TGG-3', die Detektion der Amplifikationsprodukte wurde im Sequenzer ABI Prism 377 durchgeführt. Der Vergleich im Bereich des Zerfalls der Allelen, Genotype und Homozygotie oder Heterozygotie im TH01 - System wurde in der Gruppe der Kranken und Gesunden mit Hilfe des Programms RXC von G. Carmody durchgeführt. Das relative Risiko der Erkrankung (RR- relative risk) wurde nach dem Muster von Dyer und Warrens berechnet.

Ergebnisse. Es wurden statistisch signifikante Unterschiede in dem Zerfall der Häufigkeit von Allelen und Genotypen in Locus TH01 zwischen den Schizophrenkranken und der Kontrollgruppe gezeigt. Das Allel 7 erschien in der Gruppe der Kranken bedeutend häufiger, seine Anwesenheit erhöhte fast zweimal das Risiko der Erkrankung an Schizophrenie (RR=1,89). Das Auftreten von Allel 9.3 minimalisierte dagegen das Risiko der Erkrankung (RR=0,72), und in der homozygotischen Gestalt 9.3 -9.3 sogar über dreimal (RR=0,31).

Schlussfolgerungen. Die offenbarten Unterschiede in der Schizophrenie - Anfälligkeit können abhängig von der Variante der Repeat-Sequenz TCAT in Locus Th01 mit der Regulatorfunktion im Prozzs der Genenttranskription TH verbunden sein. Die erzielten Ergebnisse erfordern eine Bestätigung während der Studie an einer größeren Zahl der Kranken.

L'association du polymorphisme du gène de tyrosine hydroxylase et de la schizophrénie de la population de la région centrale de la Pologne

Résumé

Objectif. Ce travail vise à analyser le polymorphisme de locus TH01 – tétranucléotide région mini satellite localisée dans le premier intron du gène de tyrosine hydroxylase (TH) dans le groupe de schizophrènes de la région centrale de la Pologne et dans la groupe de contrôle.

Methodé. Le groupe examiné se compose de 100 schizophrènes paranoïaques et du groupe de contrôle composé des personnes saines sans les maladies mentales. L'ADN génomique est isolé du sang périphérique, l'amplification du locus TH01 est faite avec les séquences des amorces 5'-GTG TGA AAA GCT CCC GAT TAT-3', 5'-ATT CAA AGG GTA TCT GGG CTC TGG-3', la détection des produits PCR est faite dans le séquenceur ABI Prism 377. La comparaison des distributions des allèles, des génotypes et homo – et hétérozygoties des patients est exécutée avec le programme RXC de Carmody. Le risque relatif (RR – relative risk) de la maladie est calculé d'après la formule de Dyer et Warrens.

Résultats. On démontre l'existence des différences significantes des distributions des allèles et des génotypes de locus TH01 des schizophrènes et du groupe de contrôle. La présence de l'allèle 7 est plus fréquente dans la groupe des patients, elle augmente presque deux fois le risque de la schizophrénie (RR = 1,89). Au contraire, la présence de l'allèle 9.3 minimise le risque de cette maladie (RR = 0,72), sa forme homozygote 9.3-9.3 encore plus (RR = 0,32).

Conclusion. Ces différences de la susceptibilité à la schizophrénie, liées avec les variantes polymorphiques de la séquence TCAT de locus TH01 peuvent résulter de sa fonction régulatrice dans la transcription du gène TH. Ces résultats exigent encore d'autres recherches dans le groupe plus nombreux de patients.

Piśmiennictwo

1. Newcomer JW. *Second generation (atypical) antipsychotics and metabolic effects*. CNS Drugs 2005; 19: 1–93.
2. Hannerz H, Borga P, Borritz M. *Life expectancies for individuals with psychiatric diagnoses*. Public. Health 2001; 115: 328–337.
3. Wong AC, Van Tol H. *Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology*. Neurosc. Biochev. Rev. 2003; 27: 269–306.
4. Weinberger DR. *From neuropathology to neurodevelopment*. Lancet 1995; 346: 552–557.
5. O'Donovan MC, Owen J. *Candidate gene association studies of schizophrenia*. Am. J. Hum. Genet. 1999; 65: 587–592.
6. Rybakowski J, Czerski P, Borkowska A, Kapelski P, Hauser J. *Genetyka molekularna schizofrenii – wyniki badań własnych genów układu dopaminergicznego*. W: Rybakowski J, Hauser J, red. *Genetyka molekularna zaburzeń psychicznych*. Kraków: Komitet Redakcyjno-Wydawniczy PTP; 2002, s. 15–28.
7. Meloni R, Biguet NF, Mallet J. *Post-genomic era and gene discovery for psychiatric diseases: there is a new art of the trade? The example of the HUMTH01 microsatellite in the tyrosine hydroxylase gene*. Mol. Neurobiol. 2002; 26: 389–403.
8. Goodwill K, Sabatier C, Marks C, Fitzpatrick P, Raag R, Stevens RC. *Crystal structure of tyrosine hydroxylase at 2.3 Å resolution: implications for inherited neurological diseases*. Nat. Struct. Biol. 1997; 4: 578–585.
9. Meloni R, Albanese V, Ravassard P, Treilhou F, Mallet J. *A tetranucleotide polymorphic microsatellite, located in the first intron of the tyrosine hydroxylase gene, acts as a transcription regulatory element in vitro*. Hum. Mol. Genet. 1998; 7: 423–428.

10. Albanese V, Biguet NF, Kiefer H, Bayard E, Mallet J, Meloni R. *Quantitative effects on gene silencing by allelic variation at a tetranucleotide microsatellite*. Hum. Mol. Genet. 2001; 10: 1785–1792.
11. Meloni R, Laurent C, Campion D, Ben Hadjali B, Thibaut F, Dollfus S, Petit M, Samolyk D, Martinez M, Poirier MF, Mallet J. *A rare allele of a microsatellite located in the tyrosine hydroxylase gene can be found exclusively in schizophrenic patients in two different ethnic populations*. C. R. Acad. Sc. 1995; 318: 803–809.
12. Jönsson EG, Geijer T, Gyllander A, Terenius L, Sedvall GC. *Failure to replicate an association between a rare allele of a tyrosine hydroxylase gene microsatellite and schizophrenia*. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosc. 1998; 248: 61–63.
13. Souery D, Lipp O, Mahieu B, Mendelbaum K, De Bruyn A, De Maertelaer V, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J. *Excess tyrosine hydroxylase restriction fragment length polymorphism homozygosity in unipolar but not bipolar patients: a preliminary report*. Biol. Psychiatry 1996; 40: 305–308.
14. Serretti A, Macciardi F, Cusin C, Verga M, Pedrini S, Smeraldi E. *Tyrosine hydroxylase gene in linkage disequilibrium with mood disorders*. Mol. Psychiatry 1998; 3: 169–174.
15. *The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders. Diagnostic criteria for research*. World Health Organization; Geneva: 1993.
16. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed; DSM-IV*. Washington DC: American Psychiatric Association; 1994.
17. Kay SR, Opler LA. *Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS). Rating manual*. San Rafael CA: Social and Behavioral Sciences Documents; 1987.
18. Lewis PO, Zaykin D. *Genetic data analysis, version 1.1 2003*, available at: <http://lewis.eeb.unconn.edu/lewishome/sofftware.html>.
19. Guo SW, Thompson EA. *Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles*. Biometr. 1992; 48: 361–372.
20. Murphy K, Myars B. *Statistical power analysis*. Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey 2004, http://www.ncss.com/download_fretrial.html
21. Dyer P, Warrens A. *Design and interpretation of studies of the major histocompatibility complex in disease*. W: Lechler P, ed. *HLA & disease*. London, Boston, San Diego, New York, Sydney, Tokyo: Harcourt Brace & Company Publishers; 1994, s. 100–121.
22. Meloni R, Dumas S, Mallet J. *Catecholamine biosynthetic enzyme expression in neurological and psychiatric disorders*. Adv. Pharmacol. 1998; 42: 50–53.
23. Kunugi H, Kawada Y, Hattori M, Ueki A, Otsuka M, Nanko S. *Association study of structural mutations of the tyrosine hydroxylase gene with schizophrenia and Parkinson's disease*. Am. J. Med. Genet. 1998; 81: 131–133.
24. Wei J, Rachmand CN, Hemmings GP. *Possible association of catecholamine turnover with the polymorphic (TCAT)_N repeat in the first intron of the human tyrosine hydroxylase gene*. Life Sciences 1997; 61: 1341–1347.
25. Thibaut F, Ribeyre JM, Dourmap N, Meloni R, Laurent C, Campion D, Menard JF, Dollfus S, Mallet J, Petit M. *Association of DNA polymorphism in the first intron of the tyrosine hydroxylase gene with disturbances of the catecholaminergic system in schizophrenia*. Schizophr. Res. 1997; 23: 259–264.
26. Polymeropoulos MH, Xiao H, Rath DS, Merrill CR. *Tetranucleotide repeat polymorphism at the human tyrosine hydroxylase gene (TH)*. Nucl. Acids Res. 1991; 19: 37–53.
27. Kashi Y, King D, Soller M. *Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation*. Trends Genet. 1997; 13: 74–78.
28. Klesert TR, Otten AD, Bird TD, Trapscott SJ. *Trinucleotide repeat expansion at the myotonic dystrophy locus reduces expression of DMAPH*. Nat. Genet. 1997; 16: 402–406.

29. Richards RI, Holman K, Yu S, Sutherland GR. *Fragile X syndrome unstable element, p(CCG)_n, and other simple tandem repeat sequences are binding sites for specific nuclear proteins.* Hum. Mol. Genet. 1993; 2: 1429–1435.
30. Mendlewicz J, Lindbald K, Souery D, Mahieu B, Nylander PO, De Bruyn A, Zander C, Engstrom C, Adolfsson R, van Broeckhoven C, Schalling M, Lipp O. *Expanded trinucleotide CAG repeats in families with bipolar affective disorder.* Biol. Psychiatry 1997; 42: 1115–1122.
31. Lowrimore P, Mulvihill D, Epstein A, McCormack M, Wang YH. *CAG nucleotide repeat profiles in persons with schizophrenia or schizoaffective disorders with and without tardive dyskinesia: Pilot study.* Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2004; 128: 15–18.
32. Kurumaji A, Kuroda T, Hamada K, Yoshikawa T, Toru M. *An association of the polymorphic repeat of tetranucleotide (TCAT) in the first intron of the human tyrosine hydroxylase gene with schizophrenia in a Japanese sample.* J. Neural Transm. 2001; 108: 489–495.

Adres: Renata Jacewicz
Pracownia Genetyki Sądowej
Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej
Uniwersytetu Medycznego
91-304 Łódź, ul. Sędziowska 18 A

Otrzymano: 2.07.2007
Zrecenzowano: 5.09.2007
Przyjęto do druku: 10.04.2008

ARCHIVES OF PSYCHIATRY AND PSYCHOTHERAPY

Volume 10 Issue 3 September 2008

Part of Content

Lifetime anxiety and substance use disorder comorbidity in bipolar disorder and its relationship to selected variables. Gender and bipolar subtype differences in comorbidity.

Bartosz Grabski et al.

Olfactory obsessions – individual cases or one of the symptoms of obsessive-compulsive disorder. An analysis of 2 clinical cases

Maciej Żerdziński

Cognitive dysfunctions in patients with alcohol dependence

Katarzyna Nowakowska et al.

PAX-6 gene promoter polymorphism and other factors involved in brain atrophy in alcohol dependent patients

Jerzy Samochowiec et al.

Why does psychotherapy need postmodernism?

Bogdan de Barbaro

The motivational factors of activity versus helplessness and the psychotherapeutic change

Witold Simon, Maria Siwiak-Kobayashi

Ethical dilemmas of family therapy in the adolescent psychiatric ward

Irena Namysłowska, Anna Siewierska

Symbolic function of medication – a case report

Sławomir Murawiec

The ramp: psychopathology of decision

Antoni Kępiński