



## Badanie asocjacyjne polimorfizmu 3'UTR VNTR genu transportera dopaminy (DAT) u pacjentów o wczesnym i późnym wieku zachorowania na schizofrenię\*

*Association study of the 3'UTR VNTR dopamine transporter (DAT) gene polymorphism  
in patients with early and late onset of schizophrenia*

PIOTR M. CZERSKI<sup>3</sup>, JOANNA HAUSER<sup>1,3</sup>, PAWEŁ KAPELSKI<sup>1</sup>,  
AGNIESZKA SŁOPIEŃ<sup>2</sup>, MONIKA DMITRZAK-WĘGLARZ<sup>3</sup>, MARIA SKIBIŃSKA<sup>3</sup>,  
MACIEJ WILCZYŃSKI<sup>1</sup>, ANNA MARZEC<sup>1</sup>, JANUSZ K. RYBAKOWSKI<sup>1</sup>

- Z: 1. Kliniki Psychiatrii Dorosłych Akademii Medycznej w Poznaniu  
2. Kliniki Psychiatrii Dzieci i Młodzieży Akademii Medycznej w Poznaniu  
3. Pracowni Genetycznej Katedry Psychiatrii Akademii Medycznej w Poznaniu

**STRESZCZENIE.** *Cel.* Porównanie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu 3'UTR VNTR genu DAT u pacjentów ze schizofrenią oraz w grupie kontrolnej. Analizowano podgrupy wyodrębnione na podstawie płci oraz wieku zachorowania. *Metoda.* W badaniu wzięło udział 362 niespokrewnionych pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii (205 mężczyzn i 157 kobiet) oraz 376 osób z grupy kontrolnej (150 mężczyzn i 226 kobiet). U 69 pacjentów początek choroby miał miejsce w 18 roku życia lub wcześniej. Osoby biorące udział w badaniu pochodziły z populacji polskiej, w większości z terenu Wielkopolski. Stan psychiczny chorych oceniany był przez 2 lekarzy psychiatrów w oparciu o ustrukturalizowany wywiad – SCID. Polimorfizm 3'UTR VNTR genu DAT analizowano metodą PCR-VNTR. Analizę statystyczną częstości genotypów i alleli przeprowadzono z wykorzystaniem testu  $\chi^2$  Pearsona i testu dokładnego prawdopodobieństwa Fishera. Wykonano analizę mocy badania asocjacyjnego i sprawdzono zgodność rozkładu genotypów z prawem Hardy'ego-Weinberga. *Wyniki.* Stwierdzono istotnie częstsze występowanie wśród mężczyzn ze schizofrenią niż w grupie kontrolnej genotypów A9/A9 i A9/A10 ( $p=0,004$ ) oraz allelu A9 ( $p=0,001$ ). Porównując pacjentów o początku choroby do 18 r.ż. z osobami zdrowymi zaobserwowano istotnie częstsze występowanie u pacjentów genotypów A9/A9 i A9/A10 ( $p=0,002$ ) i allelu A9 ( $p=0,003$ ). Wykazano także różnice w częstości genotypów DAT pomiędzy pacjentami o wcześniejszym (do 18 r.ż.) i późniejszym (po 18 r.ż.) wieku zachorowania ( $p=0,004$ ). *Wnioski.* Przedstawione w niniejszej pracy wyniki wskazują na możliwy związek allelu A9 i genotypów zawierających ten allel (A9/A9 i A9/A10) z podatnością na zachorowanie na schizofrenię u mężczyzn, a także na możliwy związek tego allelu i genotypów z wczesnym początkiem choroby.

**SUMMARY.** *Aim.* The aim of this study was to specify the genotype and allele frequency of the 3'UTR VNTR DAT polymorphism in patients with schizophrenia and healthy controls. Both patients and healthy controls were divided into smaller subgroups based on the gender differences and the age of onset. *Method.* The studied group comprised 362 unrelated patients with schizophrenia (205 males and 157 females) and 376 controls (150 males and 226 females). 69 patients developed schizophrenic symptoms at the age of 18 or earlier. All individuals participating in this study were Polish, mostly from the Wielkopolska region. For each patient, a consensus diagnosis was made by two psychiatrists using the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID). Genotyping of the 3'UTR VNTR DAT polymorphism was performed using

\* Praca zrealizowana w ramach projektu badawczego KBN 4P05B 09316. Piotr Czerski jest stypendystą Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (stypendium krajowe dla młodych naukowców w 2004 r.).

the PCR-VNTR method. Statistical analysis of genotype and allele frequencies was performed with the Pearson's  $\chi^2$  and Fisher's exact tests, respectively. Additionally, an analysis of the power estimation as well as the concordance between the genotype distribution and the Hardy-Weinberg equilibrium was performed. **Results.** The association between male schizophrenics and A9/A9 and A9/A10 genotypes ( $p=0,004$ ) and A9 allele ( $p=0,001$ ) was observed. Comparing patients with early onset of schizophrenia with controls, the association was also detected for genotypes A9/A9 and A9/A10 ( $p=0,002$ ) and for A9 allele ( $p=0,003$ ). Additionally, there was a statistically significant difference in the genotype frequency between patients with early and late onset of schizophrenia ( $p=0,004$ ). **Conclusions.** The present results show a possible association between an increased susceptibility to early onset of schizophrenia in males and the A9 allele and genotypes containing this allele (A9/A9 and A9/A10).

---

**Słowa kluczowe:** schizofrenia / genetyka / dopamina / transporter dopaminy  
**Key words:** schizophrenia / genetics / dopamine / dopamine transporter

---

Schizofrenia jest przewlekłą chorobą psychiczną o zróżnicowanych symptomach i przebiegu klinicznym. Badania rodzin, bliźniąt i adopcyjne dostarczają dowodów na istotną rolę czynników genetycznych w etiologii schizofrenii [1]. Można sądzić, że dziedziczona jest genetyczna predyspozycja do schizofrenii, która daje efekt w postaci choroby dopiero w połączeniu ze środowiskowymi czynnikami ryzyka [2, 3, 4]. Szybki spadek ryzyka zachorowania dla krewnych w stosunku do ilości genów dzielonych wspólnie z chorym wyklucza model jednogenowy schizofrenii [5]. Podobnie jak w przypadku innych chorób złożonych sugerowany jest udział wielu genów, o relatywnie małym wpływie, których efekt kumuluje się [6]. Niemniej liczba genów związanych z ryzykiem zachorowania i ich wzajemne interakcje pozostają w sferze domniemań. Jest prawdopodobne, że różne geny (i różne ich allele) mogą być związane ze schizofrenią nie tylko w różnych populacjach, ale nawet w różnych rodzinach, co dodatkowo utrudnia badanie podłoża genetycznego [6]. W takiej sytuacji kluczowe jest właściwe zdefiniowanie fenotypu do badań genetycznych.

Przy poszukiwaniach genów związanych z predyspozycją do zachorowania stosowana jest metoda genów kandydujących (badania asocjacyjne). Ocenia się w niej częstość występowania określonych alleli lub genotypów genu, który hipotetycznie mógłby mieć związek z daną chorobą. To, czy dany allel, albo

genotyp jest związany z chorobą stwierdza się poprzez wykazanie, że występuje on znacznie częściej u osób chorych niż w grupie kontrolnej. Zmiany w genie powinny mieć ścisły związek z fenotypem choroby – dotyczyć zmian w jego ekspresji bądź w strukturze białka. W przypadku schizofrenii bada się geny kodujące receptory neuroprzekazników, enzymy uczestniczące w ich syntezie i inaktywacji, ich transportery, geny związane z rozwojem ośrodkowego układu nerwowego i inne. Stosując analizę tego typu można przeoczyć geny nie podejrzewane o związek z chorobą, o nieznannej funkcji lub jeszcze nieopisane. Analiza asocjacji jest jednak skuteczna w przypadku genów o małym wpływie na badany fenotyp i przez to stosowana do badań chorób wielogenowych. Możliwe jest występowanie utrudnień związanych z tzw. stratyfikacją populacji. Jest to zjawisko będące rezultatem obecności w badanej populacji podgrup, które istotnie różnią się częstością alleli. Może to doprowadzić do stwierdzenia fałszywie pozytywnego związku allelu z chorobą, jak i do pominięcia go, podczas gdy faktycznie on istnieje. Głównym powodem stratyfikacji jest zwykle niejednorodność etniczna populacji – częstości wariantów różnych genów w odrębnych populacjach wykazują duże wahania [7].

Do analizy warto wyodrębnić jednorodną grupę pacjentów na podstawie szeregu czynników klinicznych, takich jak np.: wiek zachorowania, obciążenie rodzinne, odpowiedź na

leczenie, dominujące objawy. Możliwe jest również wykorzystanie izolowanych genetycznie populacji o dużym stopniu homogenności, obciążonych ryzykiem zachorowania większym niż w populacji ogólnej. Innym, obiecującym podejściem jest analiza endofenotypu, będącego markerem biologicznym, który współdziałałby się z chorobą.

Często wyodrębnia się podgrupę pacjentów charakteryzującą się wczesnym wiekiem zachorowania. Taka strategia przyniosła efekty m.in. w przypadku choroby Alzheimera, gdzie stwierdzono, że typowa – późna postać choroby oraz wczesna rodzinna różnią się zasadniczo pod względem udziału i rodzaju czynników genetycznych [8, 9].

Ma to również swoje uzasadnienie w różnicach dotyczących obrazu klinicznego schizofrenii u mężczyzn i kobiet. Cechą różnicującą jest m.in. średni wiek początku choroby, który w większości badań jest o kilka lat niższy u mężczyzn niż u kobiet. Szczyt zachorowań przypada wcześniej u mężczyzn (w wieku 15–25 lat) niż u kobiet (25–35 lat) [10]. Obserwacje różnych grup badawczych wskazują, iż wpływ płci na wiek zachorowania jest istotny w przypadku sporadycznych form schizofrenii (bez rodzinnego obciążenia schizofrenią). Natomiast chore kobiety z rodzinną historią choroby mają wcześniejszy wiek zachorowania w porównaniu z pozostałymi pacjentkami [11, 12], a tym samym bardzo zbliżony do wieku zachorowania u mężczyzn.

Jako schizofrenię o bardzo wczesnym (dziecięcym) początku (*childhood-onset*) przyjmuje się zasadniczo zachorowania przed 13 rokiem życia [13, 14]. Więcej kontrowersji występuje przy określaniu „wczesnej” schizofrenii (*early-onset schizophrenia*). W piśmiennictwie, w różnych badaniach podawany jest wiek z przedziału od 13 do 22 lat, najczęściej między 15 a 18 rokiem życia [15].

Liczne dane świadczą o wpływie komplikacji okołoporodowych na zwiększone ryzyko schizofrenii [16, 17, 18]. Dyskusyjnym jest natomiast czy mają one także istotny wpływ na wczesne wystąpienie schizofrenii [13, 19, 20]. Autorzy piszący o schizofrenii dziecię-

cej podkreślają jej kliniczną i biologiczną ciągłość ze schizofrenią o początku po 18 roku życia [21], sugerując istotny wpływ obciążenia genetycznego na wczesny początek choroby u tych pacjentów [13]. Badanie fińskie obejmujące ok. 15 tysięcy chorych na schizofrenię i ich krewnych pierwszego stopnia wskazało na związek wczesnego wieku zachorowania z obciążeniem rodzinnym schizofrenią [22]. Na podstawie ograniczonego piśmiennictwa wydaje się, że przynajmniej u niektórych pacjentów za dziecięcy początek schizofrenii i w ogóle za wystąpienie schizofrenii odpowiedzialne są aberracje chromosomowe, najczęściej związane z zespołem diGeorge'a, określanego w języku angielskim jako *velo-cardio-facial syndrome* (VCFS) [23]. W populacji ogólnej VCFS pojawia się raz na 4000 żywych urodzeń, a u ok. 85% chorych stwierdza się delecję ok. miliona par zasad w regionie q11 chromosomu 22 [24]. Jedną z charakterystycznych cech złożonego fenotypu chorobowego VCFS jest znacznie zwiększone ryzyko schizofrenii i innych zaburzeń psychicznych (zaburzeń schizotypowych, zaburzeń afektywnych dwubiegunowych i in.). W największym dotychczas badaniu tego typu u 50 chorych na VCFS schizofrenię stwierdzono u 12 (24%) osób [25]. Jednocześnie wśród chorych na schizofrenię szacuje się częstość występowania delecji w chromosomie 22q11 na ok. 2%. W wieloletnim badaniu amerykańskim 47 pacjentów z dziecięcym początkiem schizofrenii, u 10% chorych stwierdzono aberracje chromosomowe – najczęściej był to właśnie VCFS (u 6%) [26]. Nicolson i wsp. wskazali na związek VCFS z wczesnym początkiem choroby, ale również na znaczenie interakcji różnego rodzaju czynników ryzyka schizofrenii w zwiększeniu podatności na zachorowanie [27].

Dotychczas przeprowadzone badania asocjacyjne genów kandydujących związanych z układem dopaminergicznym u pacjentów o wczesnym początku schizofrenii są nieliczne i przeprowadzone na zbyt małych grupach (najczęściej obejmujących 30–50 pacjentów),

by można na ich podstawie wyciągnąć wiążące wnioski [28, 29].

W przypadku niektórych genów kandydujących postuluje się związek zachorowania z wiekiem. U pacjentów z populacji szkockiej opisano związek polimorfizmu genu dekarboksylazy DOPA z wiekiem zachorowania na schizofrenię u mężczyzn [30]. W badaniu polimorfizmu T102C genu 5HTR2A u chorych na schizofrenię z populacji rosyjskiej wykazano częstsze występowanie genotypu C/C u pacjentów o wczesnym początku schizofrenii [31]. W populacji japońskiej opisano związek polimorfizmu genu YWHAH ze schizofrenią, w szczególności u pacjentów o początku choroby przed 22 rokiem życia [32].

### **Hipoteza dopaminowa schizofrenii i geny kandydujące związane z układem dopaminergicznym**

Jedną z hipotez biochemicznych schizofrenii jest koncepcja dopaminowa. Podstawą do jej sformułowania były obserwacje z lat sześćdziesiątych, dotyczące sposobu działania klasycznych leków przeciwpsychotycznych, będących antagonistami receptorów dopaminowych [33]. Substancje psychomimetyczne (np. amfetamina), zwiększające aktywność układu dopaminergicznego, prowadzą do wystąpienia u osób zdrowych psychoz o charakterze zbliżonym do obserwowanych u pacjentów ze schizofrenią, natomiast u pacjentów prowadzą do zaostrzenia psychozy [34, 35]. Teoria dopaminowa została znacznie wzbogacona i zaktualizowana w latach osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych XX wieku, m.in. w związku z wyodrębnieniem objawów pozytywnych (wytwórczych) i negatywnych (ubytkowych) schizofrenii [36, 37] oraz w związku z poznaniem całej rodziny receptorów dopaminowych (D1-D5). Badania neuroobrazowe pozwoliły na ugruntowanie koncepcji zaburzeń układu dopaminergicznego w schizofrenii. Obecnie występowanie objawów pozytywnych łączy się z nadczynnością (hiperfunkcją) układu mezolimbicznego [38, 39], a objawów negatywnych z osłabieniem aktywności dopaminergicznej kory przedczołowej

[40, 41]. Dodatkowe informacje pochodzą z badań modeli zwierzęcych schizofrenii. Szczury, u których w okresie pourodzeniowym uszkodzono hipokamp wykazywały w okresie dojrzałości upośledzone funkcje kory przedczołowej [42].

### **Transporter dopaminy (DAT)**

Transporter dopaminy (DAT) należy do neuronalnych, błonowych transporterów  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$  zależnych, zawiera 620 aminokwasów [43], ma 50% homologię aminokwasową z transporterem serotoniny [44]. Zbudowany jest z 12 domen transbłonowych, N- i C-końców zlokalizowanych wewnątrzkomórkowo i długiej zewnątrzkomórkowej pętli z miejscami glikozylacji [43]. DAT występuje w neuronach dopaminergicznych i odpowiada za wychwyt zwrotny dopaminy z przestrzeni synaptycznej, stanowiąc kluczowy element odpowiadający za homeostazę dopaminy w centralnym układzie nerwowym [45, 46], z wyjątkiem kory przedczołowej i ciała migdałowatego [47].

Gen kodujący DAT znajduje się w chromosomie 5p15.3 [43, 48], obejmuje ok. 60 tysięcy par zasad i zbudowany jest z 15 eksonów [49, 50]. Najczęściej badany polimorfizm charakteryzuje się zmienną liczbą powtórzeń tandemowych (VNTR) w 3' – nieulegającym translacji regionie (3'UTR) genu DAT [48, 51]. Pojedynczy motyw o długości 40 par zasad wykazuje liczbę powtórzeń pomiędzy 3 a 13, przy czym w dotychczasowych badaniach wykazano, że najczęściej występują allele zawierające 9 (A9) lub 10 (A10) powtórzeń [7]. Polimorfizm VNTR ma najprawdopodobniej wpływ na ekspresję genu – Michelhaugh i wsp. wykazali w układzie modelowym, że sekwencja VNTR w DAT wykazuje aktywność wzmacniającą transkrypcję genu, jednak nie analizowali pod tym kątem poszczególnych alleli [52]. W badaniu metodą SPECT (tomografia komputerowa emisji pojedynczych fotonów) Heinz i wsp. przebadali grupę 25 osób i stwierdzili wyższy poziom DAT u osób z genotypem A10/A10 w porównaniu z osobami o genotypie A9/A10

[53]. Jednak w dwóch innych badaniach nie potwierdzono takiego związku [54, 55]. W eksperymentach „in vitro” z użyciem genu reporterowego lucyferazy Fuke i wsp. wykazali większą ekspresję allelu A10 [56], podczas gdy Miller i Madras donieśli o większej ekspresji allelu A9 i wskazali dodatkowo na niezależny wpływ na ekspresję DAT polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w rejonie 3'UTR (rozpoznawanego przy wykorzystaniu enzymu restrykcyjnego DraI) [57]. Autorzy ci postulują, że dokładne poznanie struktury genu i związku pomiędzy polimorfizmami w jego obrębie pomoże zweryfikować, które warianty są faktycznie odpowiedzialne za obserwowane zmiany w ekspresji. Te sugestie potwierdza przeprowadzona w ostatnim czasie analiza nierównowagi sprzężeń (LD) pomiędzy różnymi wariantami genu DAT [58]. W pracy mierzącej bezpośredni poziom mRNA DAT w mózgu (badanie „post mortem”) i w limfocytach autorzy brytyjscy stwierdzili wyższą ekspresję tego genu u osób z genotypem A10/A10 w porównaniu z osobami o genotypie A9/A10 i A9/A9 [59]. Autorzy ci potwierdzili jednocześnie inne, wcześniejsze doniesienie o ekspresji DAT w limfocytach krwi obwodowej (na poziomie ok. 1000-krotnie niższym niż w mózgu). Zbliżony wzór ekspresji DAT w mózgu i w limfocytach, wskazuje na możliwość wykorzystywania limfocytów w charakterze przybliżonego modelu. Dodatkową komplikacją w badaniach ekspresji DAT jest jej zależność od czynnika transkrypcyjnego *nurr1* [60], którego ekspresja zależy także od czynników dodatkowych (np. jest obniżona u osób uzależnionych od kokainy) [61]. Wskazuje to, że można przeoczyć obecność dodatkowego, nierozpoznanego czynnika o potencjalnym wpływie na ekspresję DAT lub rolę innych nieuwzględnionych wariantów genu.

## CEL

Porównanie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu 3'UTR VNTR genu DAT u pacjentów ze schizofrenią oraz

w grupie kontrolnej. Analizie poddano także podgrupy wyodrębnione na podstawie płci oraz wieku zachorowania – wychodząc z założenia, że związek analizowanego polimorfizmu ze schizofrenią może dotyczyć jedynie niektórych pacjentów.

## OSOBY BADANE

Osoby biorące udział w badaniu pochodziły z populacji polskiej, w większości z terenu Wielkopolski. Pacjenci oraz osoby z grupy kontrolnej udzielili pisemnej zgody na udział w badaniu genetycznym. Projekt uzyskał akceptację terenowej komisji etycznej w Poznaniu. Niniejsze badanie stanowi poszerzenie naszego poprzedniego, dwukrotnie mniej licznego badania, które nie uwzględniało podziału pacjentów na podstawie wieku zachorowania [62].

W badaniu wzięło udział 362 niespokrewnionych pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii (205 mężczyzn i 157 kobiet), średnia wieku – 32 lata (SD=12), spełniających kryteria diagnostyczne DSM-IV [63] i ICD-10 [64]. Średni wiek początku choroby wynosił 23 lata (SD=6). U 69 pacjentów początek choroby miał miejsce w 18 roku życia lub wcześniej. Dla 5 pacjentów nie udało się ustalić wieku zachorowania. Pacjenci pochodzili z Kliniki Psychiatrii Dorosłych AM w Poznaniu. Stan psychiczny chorych oceniany był przez 2 lekarzy psychiatrów w oparciu o ustrukturalizowany wywiad – SCID [65] – dotyczący zaburzeń I osi DSM-IV oraz na podstawie dokumentacji medycznej.

Grupa kontrolna liczyła 376 zdrowych osób (150 mężczyzn i 226 kobiet), średnia wieku wynosiła 41 lat (SD=11). W jej skład weszli studenci medycyny, personel szpitalny oraz dawcy krwi. Osoby z grupy kontrolnej nie były spokrewnione z pacjentami, nie były też badane psychiatrycznie.

## METODY

Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego SPSS 10.

Analizę częstości genotypów przeprowadzono z wykorzystaniem testu  $\chi^2$  Pearsona, a analizę częstości alleli z wykorzystaniem testu dokładnego prawdopodobieństwa Fishera. Dla analiz statystycznych przyjęto jako znaczący poziom istotności ( $p$ ) mniejszy od 0,05.

Analiza mocy badań asocjacyjnych została wykonana z wykorzystaniem serwisu internetowego Katedry Statystyki Uniwersytetu Kalifornijskiego w Los Angeles, dostępnego w internecie pod adresem: <http://calculators.stat.ucla.edu/powercalc/>.

Zgodność rozkładu genotypów z prawem Hardy'ego-Weinberga analizowano przy użyciu programu *Utility Programs For Analysis of Genetic Linkage*.

Badany polimorfizm 3'UTR VNTR genu DAT analizowano metodą PCR-VNTR [62].

## WYNIKI

Analizowano częstości genotypów i alleli DAT w grupach pacjentów i osób zdrowych oraz z uwzględnieniem ich podziału według płci. Drugim kryterium podziału pacjentów był wiek zachorowania. Na jego podstawie wyodrębniono osoby o wczesnym (do 18 roku życia) i późniejszym wieku zachorowania (po 18 roku życia). U 4 pacjentów i 4 osób z grupy kontrolnej (1,1% grupy badanej) stwierdzono rzadkie genotypy zawierające allele: A6, A7, A8 i A11. Ze względu na skrajnie małą liczebność, a przez to brak możliwości realistycznego odniesienia ich do pozostałych trzech najczęściej występujących genotypów (A9/A9, A9/A10 i A10/A10) zdecydowaliśmy pominąć te osoby w dalszych analizach. Szczegółowe liczebności tych genotypów w grupie pacjentów wyniosły: A7/A9 – 1, A6/A10 – 1, A10/A11 – 2. W grupie kontrolnej stwierdzono 1 osobę o genotypie A8/A9 i 3 osoby o genotypie A10/A11.

### Analiza mocy

Do analizy mocy wybrano trzy wartości ryzyka względnego (1,5%; 1,75%; 2%). Dla modelu wielogenowego schizofrenii, w którym zakłada się interakcję czynników gene-

tycznych i pozagenetycznych zakłada się ostrożny szacunek ryzyka zachorowania związanego z pojedynczym wariantem badanego genu na poziomie 1,5–4%. Analiza mocy pozwala ocenić, czy użyta w konkretnym badaniu grupa jest wystarczająco duża, by z jej pomocą wychwycić właśnie efekt genu o stosunkowo małym wpływie na zachorowanie. Uzyskane wartości mocy (w procentach) przytoczono w tabl. 2. Mieści się ona w szerokim zakresie pomiędzy 32% a 99%. Analiza licznějších grup jest obciążona mniejszym ryzykiem błędu i pozwala na wyciągnięcie bardziej zdecydowanych wniosków.

### Zgodność z prawem Hardy'ego-Weinberga

Prawo Hardy'ego-Weinberga (HWE) opisuje zależność pomiędzy częstością alleli i genotypów danego genu. W ostatniej kolumnie tablicy 1 przedstawiono wyniki analizy częstości genotypów w badanych grupach pod kątem ich zgodności z HWE. W przedstawionym badaniu stwierdzono odstępstwo od prawa Hardy'ego-Weinberga u kobiet z grupy kontrolnej ( $p=0,012$ ), co przekłada się zarazem na niezgodność z HWE w całej grupie kontrolnej ( $p=0,040$ ), przy zgodności z HWE w grupie kontrolnej mężczyzn. U pacjentów ze schizofrenią nie stwierdzono niezgodności z HWE, z wyjątkiem podgrupy chorych o wczesnym początku choroby ( $p=0,011$ ). Łączne wyniki badania asocjacyjnego dotyczące całej grupy pacjentów i kontrolnej nie mogą być uznane za wiążące ze względu na opisaną niezgodność z HWE w grupie zdrowych kobiet.

Postanowiono uznać za wiążące wyniki badań asocjacyjnych w grupie mężczyzn, a także analizę dokonaną w odniesieniu do podgrupy o wczesnym początku choroby, gdyż u pacjentów takie odchylenie może być obserwowane np. wskutek związku badanego polimorfizmu z chorobą.

### Wyniki badania asocjacyjnego

Przy analizie bez uwzględnienia podziału ze względu na płeć częstość genotypów i alleli DAT różni się istotnie statystycznie

Tablica 1. Częstości genotypów i alleli polimorfizmu 3'UTR VNTR genu DAT w grupie chorych na schizofrenię, w grupie kontrolnej, w podgrupach wyodrębnionych na podstawie płci i wieku zachorowania (w nawiasie w procentach)

Badane grupy	n	Genotypy			p	Allele		p	HWE (p)
		A9/A9	A9/A10	A10/A10		A9	A10		
Obie płcie razem									
Pacjenci	358	22 (6,1%)	147 (41,1%)	189 (52,8%)	0,021	191 (26,7%)	525 (73,3%)	0,014	0,348
Kontrola	372	10 (2,7%)	137 (36,8%)	225 (60,5%)		157 (21,1%)	587 (78,9%)		<u>0,040<sup>c</sup></u>
Płeć – mężczyźni									
Mężczyźni – pacjenci	203	14 (6,9%)	90 (44,3%)	99 (48,8%)	0,004	118 (29,1%)	288 (70,9%)	0,001	0,283
Mężczyźni – kontrola	148	5 (3,4%)	45 (30,4%)	98 (66,2%)		55 (18,6%)	241 (81,4%)		0,952
Płeć – kobiety									
Kobiety – pacjentki	155	8 (5,2%)	57 (36,8%)	90 (58,1%)	0,253	73 (23,5%)	237 (76,5%)	0,792	0,790
Kobiety – kontrola	224	5 (2,2%)	92 (41,1%)	127 (56,7%)		102 (24,7%)	311 (75,3%)		<u>0,012<sup>c</sup></u>
Wiek zachorowania <sup>a</sup>									
Schizofrenia do 18 r.ż.	69	3 (4,3%)	40 (58,0%)	26 (37,7%)	0,002 <sup>b</sup>	46 (33,3%)	92 (66,7%)	0,003 <sup>b</sup>	<u>0,011<sup>c</sup></u>
Schizofrenia po 18 r.ż.	284	19 (6,7%)	103 (36,3%)	162 (57,0%)	0,004 <sup>b</sup>	141 (24,8%)	427 (75,2%)	0,052 <sup>b</sup>	0,633

<sup>a</sup> Nie ustalono wieku zachorowania u 5 pacjentów

<sup>b</sup> Schizofrenia do 18 r.ż. VS kontrola oraz schizofrenia do 18 r.ż. VS schizofrenia po 18 r.ż.

<sup>c</sup> Istotne odchylenie od prawa Hardy'ego-Weinberga

Tablica 2. Szacowana w procentach moc badania asocjacyjnego dla zakładanego teoretycznie wpływu badanych alleli na ryzyko schizofrenii

Zakładane relatywne ryzyko (%)	Analizowane grupy			
	obie płcie razem	tylko mężczyźni	tylko kobiety	schizofrenia do 18 r.ż. VS kontrola
1,5	71%	42%	41%	32%
1,75	94%	69%	68%	55%
2	99%	87%	86%	74%

w grupie pacjentów w porównaniu z grupą kontrolną. U chorych częściej występują genotypy A9/A9 i A9/A10 ( $p=0,021$ ) i allel A9 ( $p=0,014$ ) (tablica 1). Porównując podgrupy pacjentów i osób zdrowych wyodrębnione na podstawie płci stwierdzono istotnie częstsze występowanie wśród mężczyzn ze schizofrenią genotypów A9/A9 i A9/A10 ( $p=0,004$ ) oraz allelu A9 ( $p=0,001$ ) (tabl. 1).

Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w liczebności genotypów ( $p=0,253$ ) i alleli ( $p=0,792$ ) porównując kobiety ze schizofrenią z kobietami z grupy kontrolnej (tabl. 1). Jedynie w tej podgrupie allel A10 jest częstszy u pacjentek niż w grupie kontrolnej.

Porównując ze sobą pacjentów o wcześniejszym (do 18 roku życia) i późniejszym (po 18 roku życia) wieku zachorowania stwierdzono istotnie częstsze występowanie genotypu A9/A10 ( $p=0,004$ ) i tendencję dla częstszego występowania allelu A9 ( $p=0,052$ ) u pacjentów ze schizofrenią o wczesnym początku choroby w porównaniu z pozostałymi pacjentami (tabl. 1).

Porównując pacjentów o początku choroby do 18 roku życia z osobami zdrowymi zaobserwowano istotnie częstsze występowanie u pacjentów genotypów A9/A9 i A9/A10 ( $p=0,002$ ) i allelu A9 ( $p=0,003$ ) (tabl. 1).

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

W nawiązaniu do koncepcji dopaminowej zbadano polimorfizm 3'UTR VNTR genu DAT u pacjentów ze schizofrenią i w grupie kontrolnej. W analizie ujęto także podgrupy

wyodrębnione na podstawie płci i wieku zachorowania. W prezentowanej pracy wyodrębniono podgrupę pacjentów o początku schizofrenii do 18 roku życia ( $n=69$ ) – przyjmując arbitralnie ten wiek, aby wielkość podgrupy umożliwiła wykonanie analizy statystycznej zapewniającej przynajmniej minimalną wiarygodność.

W niniejszej pracy stwierdzono asocjację genotypów i alleli badanego polimorfizmu genu DAT ze schizofrenią, gdy analizowano wszystkich pacjentów razem. Jednak, jak wspomniano już wcześniej, obserwowana asocjacja może być spowodowana jedynie niezgodnością z HWE w grupie kontrolnej. Wobec powstałych wątpliwości kwestia pozostaje otwarta. Natomiast w niektórych wyszczególnionych podgrupach pacjentów ze schizofrenią zaobserwowano asocjację z badanym polimorfizmem VNTR genu DAT, która wydaje się spełniać wymagane kryteria.

U mężczyzn ze schizofrenią allel A9 występował istotnie częściej niż u mężczyzn z grupy kontrolnej, zaobserwowano także asocjację genotypów A9/A9 i A9/A10 ze schizofrenią u mężczyzn. W grupie pacjentów z wczesnym początkiem schizofrenii do 18 roku życia w porównaniu z grupą pacjentów o początku schizofrenii po 18 roku życia, stwierdzono istotnie częstsze występowanie genotypów A9/A9 i A9/A10 i tendencję dotyczącą allelu A9. Także w grupie pacjentów z wczesnym wiekiem zachorowania na schizofrenię w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono częstsze występowanie genotypów A9/A9 i A9/A10 i allelu A9. Nie za-



obserwowano różnic istotnych statystycznie porównując samą tylko grupę pacjentów z późniejszym wiekiem zachorowania na schizofrenię z grupą kontrolną.

Wynik naszego obecnego badania jest dopiero drugim pozytywnym doniesieniem dotyczącym związku polimorfizmu 3'UTR VNTR genu DAT ze schizofrenią. W jedynym pozytywnym do tej pory badaniu wykazano asocjację między homozygotycznymi genotypami (A9/A9, A10/A10) a schizofrenią – istotną statystycznie jedynie w grupie mężczyzn [66]. W ostatnim czasie pojawiło się też doniesienie o związku innego polimorfizmu DAT (-67 C/T w promotorze) ze schizofrenią u mężczyzn z populacji irańskiej [67]. Znacząca większość badań dotyczących polimorfizmu 3'UTR VNTR genu DAT w schizofrenii to doniesienia o braku asocjacji [68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76]. Także w naszym wcześniejszym badaniu, pomimo niewielkich różnic w częstości genotypów i alleli DAT nie stwierdziliśmy związku tego genu ze schizofrenią [62]. Również wykorzystanie badań asocjacyjnych typu rodzinnego (TDT lub HRR) nie potwierdziło związku alleli VNTR genu DAT ze schizofrenią [70, 74, 75]. Nie wykazano również związku pomiędzy polimorfizmem VNTR genu DAT a zaburzeniami urojeniowymi [77].

Dotychczas jedynie w pracy dotyczącej japońskiej populacji analizowane były podgrupy pacjentów utworzone na podstawie m.in. wieku zachorowania, obciążenia rodzinnego, a także występowania określonych objawów psychopatologicznych (urojeń, halucynacji, dezorganizacji, dziwacznych zachowań i objawów negatywnych schizofrenii) [71]. Autorzy nie wykazali jednak związku polimorfizmu VNTR genu DAT z żadną z podgrup pacjentów. Słabą stroną przytoczonej pracy jest jednak mała liczebność podgrup, która nie pozwala na wyciągnięcie wiążących wniosków. Persico i Macciardi dokonali podziału pacjentów ze względu na podtyp schizofrenii (paranoidalny, zdeorganizowany, niezróżnicowany), jednak w tym przypadku nie zaobserwowali istotnych sta-

tystycznie różnic w częstości alleli i genotypów DAT [66].

Trudno jest przełożyć bezpośrednio wyniki badania asocjacyjnego przedstawione w niniejszej pracy na możliwy mechanizm, który mógłby być związany z etiopatogenezą schizofrenii. Dotychczasowe prace dotyczące znaczenia polimorfizmu VNTR w 3'UTR dla ekspresji DAT są krańcowo rozbieżne [53, 54, 56, 57, 59]. Brak aktualnie danych, które wskazywałyby na istotne znaczenie DAT w schizofrenii, kwestia ta pozostaje nadal otwarta i jest przedmiotem badań.

Pozytywne wyniki niniejszych badań, wskazujące na asocjację, należy zatem traktować ostrożnie, dopóki nie zostaną powtórzone w większej grupie osób. Do powściągliwej oceny skłania też znacząca przewaga doniesień negatywnych w piśmiennictwie. Także znaczenie funkcjonalne polimorfizmu VNTR genu DAT nie jest ugruntowane. Za obserwowaną asocjację odpowiedzialny może być inny, sprzężony z polimorfizmem 3'UTR VNTR wariant DAT, co wskazuje na zasadność przeprowadzenia dalszych badań tego genu.

## WNIOSKI

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki wskazują na możliwy związek allelu A9 i genotypów zawierających ten allel (A9/A9 i A9/A10) z podatnością na zachorowanie na schizofrenię u mężczyzn, a także na możliwy związek tego allelu i genotypów z wczesnym początkiem choroby.

## PIŚMIENNICTWO

1. Gottesman II. Schizophrenia genesis: the origins of madness. New York: WH Freeman and Co; 1991.
2. Bayer TA, Falkai P, Maier W. Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the „two hit hypothesis”. J Psychiatr Res 1999; 33 (6): 543–8.
3. Tsuang M. Schizophrenia: genes and environment. Biol Psychiatry 2000; 47 (3): 210–20.

4. Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV. Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry* 2001; 40 (supl): S18–S24.
5. Risch N. Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models. *Am J Hum Genet* 1990; 46 (2): 222–8.
6. Owen MJ, O'Donovan MC, Gottesman II. Schizophrenia. W: McGuffin P, Owen MJ, Gottesman II, red. *Psychiatric Genetics and Genomics*. Oxford University Press; 2002: 247–66.
7. Kang AM, Palmatier MA, Kidd KK. Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (SLC6A3). *Biol Psychiatry* 1999; 46 (2): 151–60.
8. Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martin C, Charbonnier F, Raux G, Camuzat A, Penet C, Mesnage V, Martinez M, Clerget-Darpoux F, Brice A, Frebourg T. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet* 1999; 65 (3): 664–70.
9. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 1999; 278 (16): 1349–56.
10. Hafner H, an der Heiden W, Behrens S, Gattaz WF, Hambrecht M, Loffler W, Maurer K, Munk-Jorgensen P, Nowotny B, Riecher-Rossler A, Stein A. Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia. *Schizophr Bull* 1998; 24 (1): 99–113.
11. Albus M, Maier W. Lack of gender differences in age at onset in familial schizophrenia. *Schizophr Res* 1995; 18 (1): 51–7.
12. Konnecke R, Hafner H, Maurer K, Loffler W, an der Heiden. Main risk factors for schizophrenia: increased familial loading and pre- and peri-natal complications antagonize the protective effect of oestrogen in women. *Schizophr Res* 2000; 44 (1): 81–93.
13. Nicolson R, Lenane M, Hamburger SD, Fernandez T, Bedwell J, Rapoport JL. Lessons from childhood-onset schizophrenia. *Brain Res* 2000; 31 (2–3): 147–56.
14. Rabe-Jabłońska J. Schizofrenia u dzieci i młodzieży. W: Bilikiewicz A, Pużyński S, Rybakowski J, Wciórka J, red. *Psychiatria*. Tom II. Wrocław: Wyd Med Urban & Partner; 2002: 318–24.
15. Thapar A, Scourfield J. Childhood disorders. W: McGuffin P, Owen MJ, Gottesman II, red. *Psychiatric Genetics and Genomics*. Oxford University Press; 2002: 147–82.
16. Geddes JR, Verdoux H, Takei N, Lawrie SM, Bovet P, Eagles JM, Heun R, McCreadie RG, McNeil TF, O'Callaghan E, Stober G, Willinger U, Murray RM. Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis. *Schizophr Bull* 1999; 25 (3): 413–23.
17. Hultman CM, Sparen P, Takei N, Murray RM, Cnattingius S. Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia, affective psychosis, and reactive psychosis of early onset: case-control study. *BMJ* 1999; 318 (7181): 421–6.
18. Jones PB, Rantakallio P, Hartikainen AL, Isohanni M, Sipila P. Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 north Finland general population birth cohort. *Am J Psychiatry* 1998; 155 (3): 355–64.
19. Nicolson R, Malaspina D, Giedd JN, Hamburger S, Lenane M, Bedwell J, Fernandez T, Berman A, Susser E, Rapoport JL. Obstetrical complications and childhood-onset schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999; 156 (10): 1650–2.
20. Verdoux H, Geddes JR, Takei N, Lawrie SM, Bovet P, Eagles JM, Heun R, McCreadie RG, McNeil TF, O'Callaghan E, Stober G, Willinger MU, Wright P, Murray RM. Obstetric complications and age at onset in schizophrenia: an international collaborative meta-analysis of individual patient data. *Am J Psychiatry* 1997; 154 (9): 1220–7.
21. Jacobsen LK, Rapoport JL. Research update: childhood-onset schizophrenia: implications of clinical and neurobiological research. *J Child Psychol Psychiatry* 1998; 39 (1): 101–13.
22. Suvisaari JM, Haukka J, Tanskanen A, Lonnqvist JK. Age at onset and outcome in schizophrenia are related to the degree of familial loading. *Br J Psychiatry* 1998; 173: 494–500.
23. Murphy KC. Schizophrenia and velo-cardio-facial syndrome. *Lancet* 2002; 359 (9304): 426–30.

24. Driscoll DA, Spinner NB, Budarf ML, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Goldberg RB, Shprintzen RJ, Saal HM, Zonana J, Jones MC, i wsp. Deletions and microdeletions of 22q11.2 in velo-cardio-facial syndrome. *Am J Med Genet* 1992; 44 (2): 261–8.
25. Murphy KC, Jones LA, Owen MJ. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56 (10): 940–5.
26. Nicolson R, Rapoport JL. Childhood-onset schizophrenia: rare but worth studying. *Biol Psychiatry* 1999; 46 (10): 1418–28.
27. Nicolson R, Giedd JN, Lenane M, Hamburger S, Singaracharlu S, Bedwell J, Fernandez T, Thaker GK, Malaspina D, Rapoport JL. Clinical and neurobiological correlates of cytogenetic abnormalities in childhood-onset schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999; 156 (10): 1575–9.
28. Iwata Y, Matsumoto H, Minabe Y, Osada N, Nakamura K, Sekizawa T, Suzuki K, Sekine Y, Takei N, Mori N. Early-onset schizophrenia and dopamine-related gene polymorphism. *Am J Med Genet* 2003; 116B (1): 23–6.
29. Maziade M, Martinez M, Rodrigue C, Gauthier B, Tremblay G, Fournier C, Bissonnette L, Simard C, Roy MA, Rouillard E, Merette C. Childhood/early adolescence-onset and adult-onset schizophrenia. Heterogeneity at the dopamine D3 receptor gene. *Br J Psychiatry* 1997; 170: 27–30.
30. Borglum AD, Hampson M, Kjeldsen TE, Muir W, Murray V, Ewald H, Mors O, Blackwood D, Kruse TA. Dopa decarboxylase genotypes may influence age at onset of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2001; 6 (6): 712–7.
31. Golimbet VE, Mitiushina NG, Shcherbatykh TV, Aksenova MG, Abramova LI, Kaleda VG, Nosikov VV, Iurov IUB, Rogaev EI. Molecular genetic polymorphism of the genes of neurotransmitter systems in schizophrenics with early manifestation of the disease (art. w jęz. rosyjskim). *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2001; 101 (4): 48–50.
32. Toyooka K, Muratake T, Tanaka T, Igarashi S, Watanabe H, Takeuchi H, Hayashi S, Maeda M, Takahashi M, Tsuji S, Kumanishi T, Takahashi Y. 14-3-3 protein eta chain gene (YWHAH) polymorphism and its genetic association with schizophrenia. *Am J Med Genet* 1999; 88 (2): 164–7.
33. Carlsson A, Lindquist M. Effect of chlorpromazine and haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and norepinephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1963; 20: 140.
34. Bell D. Comparison of amphetamine psychosis and schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1965; 111: 701–7.
35. Breier A, Su TP, Saunders R, Carson RE, Kolachana BS, de Bartolomeis A, Weinberger DR, Weisenfeld N, Malhotra AK, Eckelman WC, Pickar D. Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94 (6): 2569–74.
36. Andreasen NC, Olsen S. Negative versus positive schizophrenia: Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry* 1982; 39: 789.
37. Crow TJ. Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. *Br J Psychiatry* 1980; 137: 383.
38. Abi-Dargham A, Rodenhiser J, Printz D, Zea-Ponce Y, Gil R, Kegeles LS, Weiss R, Cooper TB, Mann JJ, Van Heertum RL, Gorman JM, Laruelle M. From the cover: increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97 (14): 8104–9.
39. Hietala J, Syvalahti E, Vuorio K, Rakkolainen V, Bergman J, Haaparanta M, Solin O, Kuoppamaki M, Kirvela O, Ruotsalainen U, i wsp. Presynaptic dopamine function in striatum of neuroleptic-naive schizophrenic patients. *Lancet* 1995; 346 (8983): 1130–1.
40. Callicott JH, Bertolino A, Mattay VS, Langheim FJ, Duan J, Coppola R, Goldberg TE, Weinberger DR. Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex* 2000; 10 (11): 1078–92.
41. Goff DC, Evins AE. Negative symptoms in schizophrenia: neurobiological models and treatment response. *Harv Rev Psychiatry* 1998; 6 (2): 59–77.
42. Lipska BK, Aultman JM, Verma A, Weinberger DR, Moghaddam B. Neonatal damage of the ventral hippocampus impairs working memory in the rat. *Neuropsychopharmacology* 2002; 27 (1): 47–54.
43. Giros B, el Mestikawy S, Godinot N, Zheng K, Han H, Yang-Feng T, Caron MG. Cloning, pharmacological characterization, and chromosome

- assignment of the human dopamine transporter. *Mol Pharmacol* 1992; 42 (3): 383–90.
44. Chen N, Reith ME. Structure and function of the dopamine transporter. *Eur J Pharmacol* 2000; 405 (1–3): 329–39.
  45. Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 1996; 379 (6566): 606–12.
  46. Jones SR, Gainetdinov RR, Jaber M, Giros B, Wightman RM, Caron MG. Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95 (7): 4029–34.
  47. Garris PA, Wightman RM. Different kinetics govern dopaminergic transmission in the amygdala, prefrontal cortex, and striatum: An in vivo voltammetric study. *J Neurosci* 1994; 14: 442–50.
  48. Vandenberg DJ, Persico AM, Hawkins AL, Griffin CA, Li X, Jabs EW, Uhl GR. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 1992; 14 (4): 1104–6.
  49. Kawarai T, Kawakami H, Yamamura Y, Nakamura S. Structure and organization of the gene encoding human dopamine transporter. *Gene* 1997; 195 (1): 11–8.
  50. Vandenberg DJ, Thompson MD, Cook EH, Bendahhou E, Nguyen T, Krasowski MD, Zarrabian D, Comings D, Sellers EM, Tyndale RF, George SR, O'Dowd, Uhl GR. Human dopamine transporter gene: coding region conservation among normal, Tourette's disorder, alcohol dependence and attention-deficit hyperactivity disorder populations. *Mol Psychiatry* 2000; 5: 283–92.
  51. Sano A, Kondoh K, Kakimoto Y, Kondo I. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* 1993; 91 (4): 405–6.
  52. Michelhaugh SK, Fiskerstrand C, Lovejoy E, Bannon MJ, Quinn JP. The dopamine transporter gene (SLC6A3) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons. *J Neurochem* 2001; 79 (5): 1033–8.
  53. Heinz A, Goldman D, Jones DW, Palmour R, Hommer D, Gorey JG, Lee KS, Linnoila M, Weinberger DR. Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22 (2): 133–9.
  54. Jacobsen LK, Staley JK, Zoghbi SS, Seibyl JP, Kosten TR, Innis RB, Gelernter J. Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *Am J Psychiatry* 2000; 157 (10): 1700–3.
  55. Martinez D, Gelernter J, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Kegeles L, Innis RB, Laruelle M. The variable number of tandem repeats polymorphism of the dopamine transporter gene is not associated with significant change in dopamine transporter phenotype in humans. *Neuropsychopharmacology* 2001; 24 (5): 553–60.
  56. Fuke S, Suo S, Takahashi N, Koike H, Sasagawa N, Ishiura S. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J* 2001; 1 (2): 152–6.
  57. Miller GM, Madras BK. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry* 2002; 7 (1): 44–55.
  58. Greenwood TA, Alexander M, Keck PE, McElroy S, Sadovnick AD, Remick RA, Shaw SH, Kelsoe JR. Segmental linkage disequilibrium within the dopamine transporter gene. *Mol Psychiatry* 2002; 7 (2): 165–73.
  59. Mill J, Asherson P, Browes C, D'Souza U, Craig I. Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3'UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *Am J Med Genet* 2002; 114 (8): 975–9.
  60. Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ. Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 2001; 76 (5): 1565–72.
  61. Bannon MJ, Pruetz B, Manning-Bog AB, Whitty CJ, Michelhaugh SK, Sacchetti P, Granneman JG, Mash DC, Schmidt CJ. Decreased expression of the transcription factor NURR1 in dopamine neurons of cocaine abusers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 (9): 6382–5.
  62. Hauser J, Kapelski P, Czerski PM, Godlewski S, Dmizak-Węglarz M, Twardowska K, Rybakowski JK. Brak asocjacji pomiędzy polimorfizmem VNTR genu DAT a schizofrenią. *Psychiatr Pol* 2002; 36 (3): 403–12.
  63. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders,

- Fourth Edition. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
64. World Health Organization International Classification of Diseases – Tenth Revision (ICD-10). The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines. Geneva: WHO; 1992.
  65. First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams J. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV). Washington, DC: American Psychiatric Press Inc; 1996.
  66. Persico AM, Macciardi F. Genotypic association between dopamine transporter gene polymorphisms and schizophrenia. *Am J Med Genet* 1997; 74: 53–7.
  67. Khodayari N, Garshasbi M, Fadaei F, Rahimi A, Hafizi L, Ebrahimi A, Najmabadi H, Ohadi M. Association of the dopamine transporter gene (DAT1) core promoter polymorphism-67T variant with schizophrenia. *Am J Med Genet* 2004; 129B (1): 10–2.
  68. Bodeau-Pean S, Laurent C, Campion D, Jay M, Thibaut F, Dollfus S, Petit M, Samolyk D, d'Amato T, Martinez M, i wsp. No evidence for linkage or association between the dopamine transporter gene and schizophrenia in a French population. *Psychiatry Res* 1995; 59 (1–2): 1–6.
  69. Daniels J, Williams J, Asherson P, McGuffin P, Owen M. No association between schizophrenia and polymorphisms within the genes for debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6) and the dopamine transporter (DAT). *Am J Med Genet* 1995; 60 (1): 85–7.
  70. Georgieva L, Dimitrova A, Nikolov I, Koleva S, Tsvetkova R, Owen MJ, Toncheva D, Kirov G. Dopamine transporter gene (DAT1) VNTR polymorphism in major psychiatric disorders: family-based association study in the Bulgarian population. *Acta Psychiatr Scand* 2002; 105 (5): 396–9.
  71. Inada T, Sugita T, Dobashi I, Inagaki A, Kitao Y, Matsuda G, Kato S, Takano T, Yagi G, Asai M. Dopamine transporter gene polymorphism and psychiatric symptoms seen in schizophrenic patients at their first episode. *Am J Med Genet* 1996; 67 (4): 406–8.
  72. Joobor R, Toulouse A, Benkelfat C, Lal S, Bloom D, Labelle A, Lalonde P, Turecki G, Rouleau GA. DRD3 and DAT1 genes in schizophrenia: an association study. *J Psychiatr Res* 2000; 34 (4–5): 285–91.
  73. Li T, Yang L, Wiese C, Xu CT, Zeng Z, Giros B, Caron MG, Moises HW, Liu X. No association between alleles or genotypes at the dopamine transporter gene and schizophrenia. *Psychiatry Res* 1994; 52 (1): 17–23.
  74. Maier W, Mingos J, Eckstein N, Brodski C, Albus M, Lerer B, Hallmayer J, Fimmers R, Ackenheil M, Ebstein RE, Borrmann M, Lichtermann D, Wildenauer DB. Genetic relationship between dopamine transporter gene and schizophrenia: linkage and association. *Schizophr Res* 1996; 20 (1–2): 175–80.
  75. Semwal P, Prasad S, Bhatia T, Deshpande SN, Wood J, Nimgaonkar VL, Thelma BK. Family-based association studies of monoaminergic gene polymorphisms among North Indians with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2001; 6 (2): 220–4.
  76. Jeong SH, Joo EJ, Ahn YM, Kim YS. Association study of dopamine transporter gene and schizophrenia in Korean population using multiple single nucleotide polymorphism markers. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28 (6): 975–83.
  77. Persico AM, Catalano M. Lack of association between dopamine transporter gene polymorphisms and delusional disorder. *Am J Med Genet* 1998; 81 (2): 163–5.

*Adres: Dr Piotr Czernski, Pracownia Genetyczna Katedry Psychiatrii Akademii Medycznej,  
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań, tel. (61) 8491311, fax: (61) 8480392,  
e-mail: pczerski@amp.edu.pl*