



Poszukiwanie zależności pomiędzy polimorfizmem genu dla katechol-O-metylotransferazy a występowaniem schizofrenii paranoidalnej oraz wpływ tego polimorfizmu na skuteczność leczenia przeciwpsychotycznego

The search for the relationship between the paranoid schizophrenia occurrence and the COMT gene polymorphism and its influence on antipsychotic treatment efficacy

PIOTR TYBURA, ANNA GRZYWACZ, GENOWEFA STEPIEŃ,
MICHAŁ PARUS, JERZY SAMOCHOWIEC

Z Katedry i Kliniki Psychiatrii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

STRESZCZENIE. *Cel.* Badania rodzin, bliźniąt jedno- i dwujajowych, badania adopcyjne, potwierdziły tło genetyczne występowania schizofrenii. Nie udało się odnaleźć pojedynczego genu odpowiedzialnego za wystąpienie choroby. Wiadomo, że za podatność na zachorowanie odpowiada wspólne działanie wielu genów. Biorąc pod uwagę teoretyczne koncepcje schizofrenii wyznaczono tzw. grupę genów kandydujących, mogących mieć związek z wystąpieniem choroby. Opierając się na dopaminergicznej koncepcji Carlssona, badaniach sprzężeń, do genów kandydujących zaliczono gen dla katechol-O-metylotransferazy, jednego z głównych enzymów inaktywujących aminy biogenne. *Metoda.* W przedstawianym badaniu porównano częstość występowania genotypów i alleli wśród chorych na schizofrenię ($n=41$) w porównaniu z populacją zdrową ($n=187$). *Wyniki.* Nie wykazano związku pomiędzy schizofrenią a występowaniem określonego genotypu polimorfizmu val-158-met genu COMT. Zauważono istotne statystycznie różnice w występowaniu poszczególnych alleli, u osób chorujących na schizofrenię paranoidalną stwierdzono częstsze występowanie alleli metioninowych, niż w grupie kontrolnej. Pacjenci będący homozygotami met/met, czyli wykazujący niższą aktywność katechol-O-metylotransferazy wykazywali większą redukcję ogólnych objawów psychopatologicznych w skali PANSS, w przedziałach czasowych 0–14 dzień i 0–84 dzień terapii, niż pacjenci z wyższą aktywnością COMT. *Wnioski.* Ze względu na małą liczebność grupy badanej wyniki należy traktować jako wstępne.

SUMMARY. *Aim.* A number of family, adoption, monozygotic and dizygotic twins studies revealed the genetic background of schizophrenia. The estimated genetic risk of schizophrenia is about 40–50%. Based on the Carlsson's dopaminergic theory, linkage analysis and association studies, COMT gene was chosen as a candidate gene for schizophrenia. *Method.* In our study alleles and genotypes frequency was evaluated in patients with schizophrenia ($n=41$) and in the healthy population ($n=187$). *Results.* No association was found between schizophrenia and any genotype of the COMT gene polymorphism. In contrast, we found statistically significant differences in allele distribution: metionin alleles were more frequent in the schizophrenia group. Compared with the higher COMT activity patients, the homozygotic met/met patients with less active COMT, revealed significantly greater reduction in general psychopathological symptoms measured by the PANSS scale during the course of two and twelve week therapy. *Conclusions.* Due to the small number of patients in this study, the obtained results should be treated as the preliminary ones.

Słowa kluczowe: schizofrenia / genetyka / COMT

Key words: schizophrenia / genetics / COMT

Badania mające na celu wyjaśnienie etiologii schizofrenii trwają od wielu lat. Powstało wiele teorii biorących pod uwagę czynniki środowiskowe, dziedziczne, neurorozwojowe, biochemiczne, immunologiczne czy infekcyjne. Żadna z tych teorii nie uzyskała jednak pełnej akceptacji i wyjaśnienie przyczyn tej choroby pozostaje nadal przed badaczami. Ryzyko zachorowania w populacji ogólnej wynosi ok. 1%. Zauważono jednak, że są rodziny, w których schizofrenia występuje zdecydowanie częściej (u krewnych pierwszego stopnia ok. 10%), natomiast współzachorowalność bliźniąt jednojajowych sięga 40–50% [1]. Obserwacje te pozwoliły zakładać bardzo dużą rolę czynników genetycznych w zachorowalności na schizofrenię. Jednakże nie tylko czynniki genetyczne odpowiadają za zapadalność, ponieważ zgodność zachorowań bliźniąt jednojajowych nigdy nie osiąga 100% [2]. Badania bliźniąt, a także badania adopcyjne wykluczyły prosty, mendelowski sposób dziedziczenia [3, 4, 5]. Uważa się że podatność na schizofrenię przekazywana jest w bardziej skomplikowany sposób, że jest efektem epistatycznego działania przynajmniej kilkunastu genów [6]. Rozwój nowoczesnych technik genetyki molekularnej zrodził nadzieję na uzyskanie bardziej jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o podłoże dziedziczne schizofrenii. Obecnie stosuje się najczęściej w genetyce psychiatrycznej dwie strategie działania: badania sprzężeń genetycznych i badania asocjacyjne. Badania sprzężeń polegają na przeszukiwaniu miejsc genomu mogących odpowiadać za podatność na zachorowanie. Jak dotąd badania te nie pozwoliły ustalić cech genomu, które jednoznacznie wiązałyby się z zachorowalnością na schizofrenię. Kilka prac dało jednak podstawy sądzić, że kierunek badań jest właściwy. Zauważono, że u 2% pacjentów delecja regionu 22q11 wiąże się z powstaniem zespołu podniebienno-twarzowosercowego (*velo-cardio-facial syndrome*, VCFS) [2] i wzrostem ryzyka schizofrenii do 25–30%. W regionie podlegającym delecji występuje również gen dla katechol-O-mety-

lotransferazy [7]. Dopaminowa koncepcja schizofrenii Arvida Carlssona mówiąca o dysregulacji przekazywania dopaminowego i rola, jaką katechol-O-metylotransferaza odgrywa w metabolizmie amin biogennych, pozwoliły uznać gen dla tego enzymu za tzw. gen kandydujący [8], co umożliwiło przeprowadzenie badań asocjacyjnych [9].

Enzym COMT jest proteiną występującą u ludzi w formie rozpuszczalnej S-COMT (*soluble*) i formie związanej z błoną komórkową MB-COMT (*membrane-bound*). Enzym jest kodowany przez pojedynczy gen mieszczący się na chromosomie 22q11.1-q11.2 [7, 10, 11]. COMT jest enzymem metabolizującym dopaminę, epinefrynę, norepinefrynę w szczelinie synaptycznej. Metylacja jest jedną z głównych dróg degradacji tych neurotransmiterów [12]. Badania wykazały różnice w aktywności COMT wynikające z polimorfizmu genu kodującego ten enzym. Polega on na tranzycji G→A w egzonie 4 genu COMT, co skutkuje spadkiem aktywności enzymu COMT 3–4 razy [13, 14]. Najwyższą aktywność enzymu wykazują osoby posiadające dwa allele walinowe, najniższą homozygoty metioninowe.

CEL

Celem niniejszej pracy jest próba znalezienia odpowiedzi na pytania:

1. czy polimorfizm val-158-met genu COMT ma wpływ na częstość występowania schizofrenii paranoidalnej?
2. czy wyżej wymieniony polimorfizm może mieć wpływ na skuteczność leczenia przeciwpsychotycznego?

OSOBY BADANE I METODY

Grupa badana i kontrolna

W badaniu wzięło udział 41 pacjentów, polskiego pochodzenia, rasy kaukaskiej, 19 mężczyzn i 22 kobiety, nie spokrewnionych ze sobą, z rozpoznaniem schizofrenii paranoidalnej. Średnia wieku pacjentów wy-

nosiła 30,6 lat (SD=9,0). Do diagnozy spełniającej kryteria ICD-10 [15] została użyta polska wersja CIDI, Ustrukturyzowanego Międzynarodowego Wywiadu Diagnostycznego [16]. Oceny stanu psychicznego dokonywał psychiatra lub lekarz specjalizujący się w tej dziedzinie. Oprócz tego wykonano ogólne badanie lekarskie. Kryteria wykluczające z udziału w badaniu obejmowały poważne schorzenia neurologiczne, ciężkie choroby somatyczne, rozpoznane upośledzenie umysłowe. Grupę kontrolną stanowiło 187 zdrowych osób, pochodzenia polskiego, rasy kaukaskiej, niespokrewnionych ze sobą i osobami z grupy badanej, z wykluczoną chorobą lub zaburzeniem psychicznym według osi pierwszej ICD-10. W grupie było 69 mężczyzn i 118 kobiet, średnia wieku wynosiła 34,7 lat (SD=14,4). Wszyscy zostali poinformowani o celach pracy, przebiegu badania, gwarantowanej poufności. Badane osoby wyraziły pisemną zgodę na przeprowadzenie badania, w tym na pobranie krwi w celu przeprowadzenia badań genetycznych. Pacjenci byli oceniani za pomocą testów psychometrycznych w trzymiesięcznej obserwacji pod kątem skuteczności leczenia i objawów ubocznych terapii. Testy wykonano przed włączeniem terapii, a następnie w 14, 42 i 84 dniu leczenia. Nasilenie objawów psychopatologicznych badano skalą PANSS [17], będącą narzędziem operacyjnym pozwalającym ocenić objawy pozytywne, negatywne i ogólnopsychopatologiczne występujące w schizofrenii. W terapii używany był neuroleptyk klasyczny – perazylna i/lub neuroleptyk atypowy – olanzapina.

Badanie zostało dopuszczone przez Komisję Etyczną przy Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.

Badania genetyczne

Genomowy DNA uzyskano z leukocytów z krwi żyłnej metodą wysalania [18]. Polimorfizm val-158-met genu COMT badano przy użyciu techniki PCR-RFLP.

Analiza statystyczna

Analizy statystycznej dokonano używając programu SPSS wykorzystując test χ^2 Pearsona. Postępy leczenia w zależności od genotypu oceniano przy użyciu analizy wariancji (ANOVA) [19].

WYNIKI

W badaniu analizowano częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu val-158-met genu COMT u pacjentów ze schizofrenią, a także u osób zdrowych z grupy kontrolnej (tabl. 1). Oszacowano również częstość występowania alleli metioninowych i walinowych w badanych zbiorach (tabl. 2). W grupie pacjentów i w grupie kontrolnej zachowane było prawo Hardy'ego-Weinberga.

W zakresie rozkładu genotypowego nie wykazano istotnych statystycznie różnic w występowaniu określonego genotypu pomiędzy grupą badaną i kontrolną ($p=0,086$). Analiza rozkładu alleli polimorfizmu val-158-met genu COMT wykazała częstsze występowanie allelu metioninowego wśród cho-

Tablica 1. Rozkład genotypów polimorfizmu val-158-met genu COMT

Grupa	N	Rozkład genotypów			Test χ^2 (df=2)	
		met/met	met/val	val/val	χ^2	p
Pacjenci	41	11	26	4	4,899	0,086
		0,268	0,634	0,098		
Grupa kontrolna	187	53	89	45		
		0,283	0,476	0,241		

Tablica 2. Rozkład alleli polimorfizmu val-158-met genu COMT

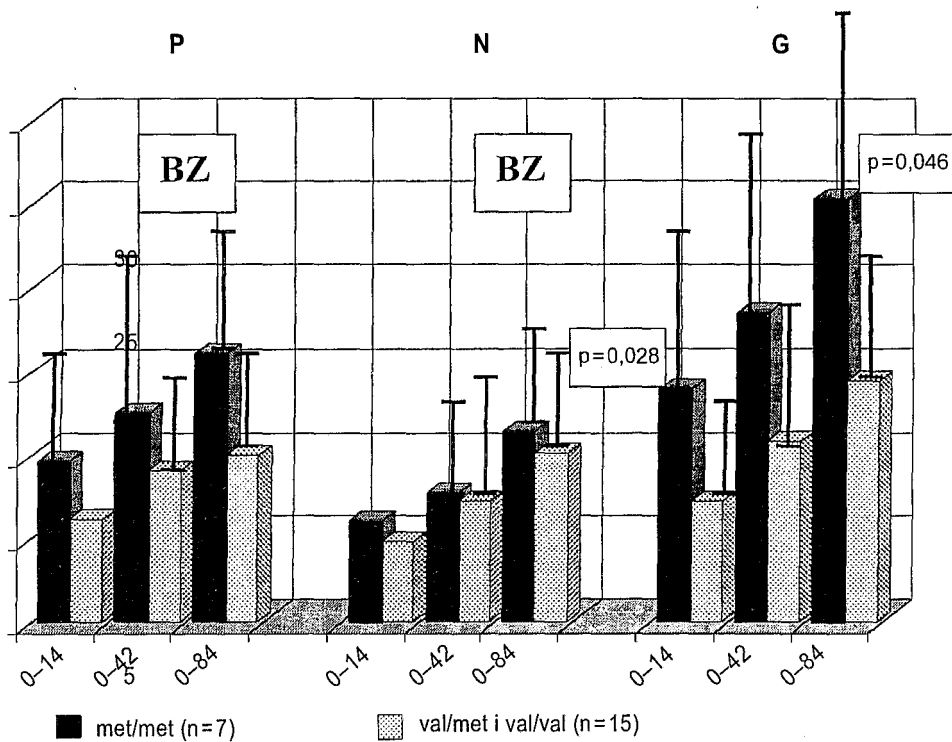
Grupa	N	Rozkład alleli		Test χ^2 (df=2)	
		met	val	χ^2	p
Pacjenci	41	48	34	4,080	0,043
		0,585	0,415		
Grupa kontrolna	187	195	179		
		0,521	0,479		

rych na schizofrenię w porównaniu ze zdrową populacją ($p=0,043$; val/met: pacjenci vs kontrola = 0,415/0,585 vs 0,479/0,521).

Następnie przy pomocy skali PANSS oszacowano skuteczność leczenia przeciwpsychotycznego biorąc pod uwagę funkcjonalny aspekt badanego polimorfizmu. Porównano szybkość redukcji objawów u pacjentów z naj-

niższą aktywnością COMT (homozygoty metioninowe), w stosunku do pacjentów z pośrednią i wysoką aktywnością enzymu (rys. 1).

Wykazano większą redukcję ogólnych objawów psychopatologicznych w skali PANSS u pacjentów homozygotycznych met/met w przedziałach czasowych 0–14 ($p=0,028$) i 0–84 dni terapii ($p=0,046$). W zakresie



Rysunek 1. Redukcja objawów psychopatologicznych w skali PANSS u badanych pacjentów BZ – bez znamienności, P – nasilenie objawów pozytywnych, N – nasilenie objawów negatywnych G – nasilenie objawów ogólnopsychopatologicznych

objawów pozytywnych i negatywnych nie wykazano zależności pomiędzy polimorfizmem genu COMT i aktywnością enzymu, a poprawą stanu klinicznego pacjentów, w żadnym z przedziałów czasowych. Z powodu małej liczebności grupy badanej w obliczeniach nie brano pod uwagę rodzaju stosowanego neuroleptyku.

OMÓWIENIE

Związek polimorfizmu val-158-met genu COMT ze schizofrenią badany jest od lat dziewięćdziesiątych XX wieku. Dotychczasowe badania genetyczne, jak również wcześniejsze badania biochemiczne poziomu aktywności COMT w erytrocytach nie dały jednoznacznych wyników. Rozbieżności mogą wynikać z odmiennej metodyki, ze stosowania innych kryteriów rozpoznania choroby, ale również z różnic w rozpoznaniu badanych alleli w zdrowych populacjach [20]. Część badaczy nie wykazała związku polimorfizmu genu COMT ze schizofrenią [21, 22]. Autorzy podkreślali jednak, że brak asocjacji może wynikać z małej liczebności badanych grup, lub że wpływ polimorfizmu genu na wystąpienie schizofrenii istnieje, aczkolwiek jest on niewielki, co byłoby zgodne z wielogenowym modelem dziedziczenia podatności na zachorowanie. Kilku badaczy wykazało jednak, że *locus* dla COMT może być powiązany ze schizofrenią [23, 24, 25]. Nie zaobserwowano, żeby którykolwiek z 3 genotypów istotnie częściej występował wśród pacjentów ze schizofrenią, w porównaniu ze zdrową populacją. Rozkład alleliczny nie był już tak jednoznaczny i wykazywał powiązania z chorobą. Li i wsp. [1996] oraz Kunugi i wsp. [1997] w badaniach rodzinnych zauważyli nierównowagę transmisji allelu walinowego od rodziców do chorego potomstwa. Był on przekazywany istotnie częściej, niż allel metioninowy. Zjawiska tego nie potwierdził jednak Wei i wsp. [1999] w podobnym badaniu [26]. Ohmori i wsp. [1998],

podobnie jak autorzy niniejszego badania, zauważyli istotnie częstsze występowanie allelu metioninowego wśród pacjentów ze schizofrenią. Należy również zaznaczyć, że w zdrowej populacji japońskiej, którą badał Ohmori allel metioninowy występuje rzadziej, niż u rasy kaukaskiej [25].

Klasyczna teoria hiperdopaminergiczna wydaje się znajdować potwierdzenie w nowych badaniach genetycznych, gdzie autorzy podkreślają niską aktywność COMT wynikającą z niższej ekspresji mRNA odpowiedzialnego za powstawanie tego enzymu [27]. Herken i wsp. [2001] badali zależność pomiędzy polimorfizmem genu COMT a ciężkością objawów schizofrenii [28]. Zaobserwowali, że osoby homozygotyczne met/met wykazują wyższą punktację w skali BPRS oraz, że jest większa częstotliwość hospitalizacji w tej grupie pacjentów. Kirchheiner i wsp. [2004] stwierdzają, że pacjenci z niższą aktywnością enzymu COMT gorzej odpowiadają na leczenie [29]. Jeżeli dodatkowo posiadają niską aktywność enzymu monoaminooksydazy, to ryzyko niepowodzenia terapii wzrasta sześciokrotnie. Widać więc wyraźny związek pomiędzy synergistycznym działaniem genów a skutecznością terapii. W naszym badaniu tylko w zakresie ogólnych objawów psychopatologicznych większą redukcję objawów wykazują pacjenci met/met. Nasze wyniki, ze względu na małą liczebność grupy badanej należy traktować jako wstępne.

PIŚMIENNICTWO

1. Frazer A, Winokur A, red. Biologiczne podstawy zaburzeń psychicznych. Warszawa: PZWL; 1982.
2. Thompson PM, Rapoport JL, Cannon TD, Toga AW. Obrazowanie mózgu w różnych fazach schizofrenii: dynamiczne i genetyczne mapy mózgu. *Psychiatria po Dyplomie* 2004; 1 (3).
3. Coon H, Jensen S, Holik J, Hoff M, Myles-Worsley M, Reimherr F, Wender P, Waldo M, Freedman R, Leppert M, Byerley W. Genomic scan for genes predisposing to schizophrenia. *Am J Med Genet* 1994; 54: 59–71.

4. Williams NM, Rees MI, Holmans P, Norton N, Cardno AG, Jones LA, Murphy KC, Sanders RD, McCarty G, Gray MY, Fenton I, McGuffin P, Owen MJ. A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum Mol Genet* 1999; 8 (9): 1729–39.
5. Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC. The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 14–27.
6. McGuffin P, Owen MJ, Farmer AE. Genetic basis of schizophrenia. *Lancet* 1995; 346: 678–82.
7. Grossman MH, Emanuel BS, Budarf ML. Chromosomal mapping of human catecholamine-O-methyltransferase gene to 22q11.1-q11.2. *Genomics* 1992; 12: 822–5.
8. Dunham I, Collins J, Wade R, Scambler P. Possible role for COMT in psychosis associated with velo-cardio-facial syndrome. *Lancet* 1992; 340: 1361–2.
9. Hauser J, Kapelski P, Czernski P, Godlewski S, Dmitrzak-Węglarz M, Twardowska K, Rybakowski J. Brak asocjacji pomiędzy polimorfizmem VNTR genu DAT a schizofrenią. *Psychiatr Pol* 2002; 36 (3): 413–9.
10. Bertocci B, Miggiano V, Da Prada M, Dembic Z, Lahm HW, Malherbe P. Human catechol-O-methyltransferase: Cloning and expression of membrane-associated form. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1416–20.
11. Lundstrom K, Tenhunen J, Tilgmann C, Karhunen T, Panula P, Ulanen I. Cloning, expression and structure of catechol-O-methyltransferase. *Biochem Biophys Acta* 1995; 1251: 1–10.
12. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. 7th ed. New York: Oxford University Press; 1966.
13. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Umanen I, Melen K, Julkunen I. Kinetics of human soluble and membrane bound catechol-O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 1995; 34: 4202–10.
14. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum R. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 243–50.
15. World Health Organisation: *International Statistical Classification of Diseases and Health Related Problems – Tenth Revision*. WHO Collaborating Centre for Research and Training in Mental Health; 1993.
16. Robins LE, Wing J, Wittchen HU, Helzer JE, Babor TF, Burke J, Farmer A, Jablenski A, Pickens R, Riegler DA. The Composite International Diagnostic Interview: an epidemiologic instrument suitable for use in conjunction with different diagnostic systems and in different cultures. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45: 1069–77.
17. Kay SR, Fiszbein, A, Opler LA. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987; 13 (2): 261–76.
18. Miller SA, Dykes D, Plesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res* 1988; 16: 1215.
19. Statistical package for social sciences. Version 4.01, SSPS-Inc. München; 1991.
20. Palmatier MA, Kang AM, Kid KK. Different catechol-O-methyltransferase alleles. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 557–67.
21. Daniels JK, Williams NM, Williams J, Jones LA, Cardno AG, Murphy KC, Spurlock G, Riley B, Scambler P, Asherson P, McGuffin P, Owen MJ. No evidence for allelic association between schizophrenia and a polymorphism determining high or low catechol-O-methyltransferase activity. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 2.
22. Karayiorgou M, Gogos JA, Galke BL, Wolyniec PS, Nestad G, Antonarakis SE, Kazazian HH, Housman DE, Pulver AE. Identification of sequence variant and analysis of the role of the catechol-O-methyltransferase gene in schizophrenia susceptibility. *Biol Psychiatry* 1998; 43: 425–31.
23. Li T, Sham PC, Vallada H, Xie T, Tang X, Murray RM, Liu X, Collier DA. Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia. 1996; 6: 131–3.
24. Kunugi H, Vallada HP, Sham PC, Hoda F, Arranz MJ, Li T, Nanko S, Murray RM, McGuffin P, Owen M, Gill M, Collier DA. Catechol-O-methyltransferase polymorphism and schizophrenia: transmission disequilibrium study in multiply affected families. *Psychiatr Genet* 1997; 7: 97–101.

25. Ohmori O, Shinkai T, Kojima H, Terao T, Suzuki T, Mita T, Abe K. Association study of functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in Japanese schizophrenics. *Neurosci Lett* 1998; 243: 109–12.
26. Wei J, Hemmings GP. Lack of evidence for association between the COMT locus and schizophrenia. *Psychiatr Genet* 1999; 9: 183–6.
27. Bray NJ, Buckland PR, Williams NM, Williams HJ, Norton N, Owen MJ. A haplotype implicated in schizophrenia human brain. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 152–61.
28. Herken H, Erdal ME. Catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in symptomatology and prognosis. *Psychiatr Genet* 2001; 11: 105–9.
29. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong M-L, Licinio J, Roots I, Brockmoller J. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 442–73.

*Adres: Dr Piotr Tybura, Katedra i Klinika Psychiatrii Pomorskiej Akademii Medycznej,
ul. Broniewskiego 26, 71-460 Szczecin*