



Wyniki badań genów kandydujących w układzie dopaminergicznym jadłowstrętu psychicznego

Candidate genes of the dopaminergic system in anorexia nervosa

MONIKA DMITRZAK-WĘGLARZ^{1,3}, FILIP RYBAKOWSKI¹, AGNIESZKA SŁOPIEŃ¹,
PIOTR CZERSKI^{2,3}, ANDRZEJ RAJEWSKI¹, JOANNA HAUSER^{2,3}

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

STRESZCZENIE. *Cel.* Etiopatogeneza jadłowstrętu psychicznego jest procesem złożonym. Do wystąpienia tej choroby przyczyniają się zarówno czynniki środowiskowe jak i genetyczne. Udział podłoża genetycznego potwierdzają wyniki badań populacyjnych, w tym rodzin i bliźniąt. Badania dotyczące działania amfetaminy potwierdzają udział układu dopaminergicznego w kontroli przyjmowania pokarmu ze wskazaniem na konkretne receptory tegoż układu. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań asocjacyjnych przeprowadzonych metodą genów kandydujących w układzie dopaminergicznym w jadłowstręcie psychicznym. W niniejszej pracy podjęto badanie asocjacyjne alleli genów kodujących: receptor dopaminy DRD 2 (polimorfizm-141C Ins/Del), DRD 4 (polimorfizm-521 C/T), transporter dopaminy DAT (polimorfizm VNTR w 3'UTR), enzym catechol-O-metylotransferazę COMT (polimorfizm Val158Met) w celu zbadania ich związku z jadłowstrętem psychicznym. *Metoda.* Badana grupę stanowiło 86–91 niespokrewnionych pacjentek spełniających kryteria obu typów (bulimicznego i restrykcyjnego) jadłowstrętu psychicznego wg DSM-IV i ICD-10 oraz 77–135 kobiet stanowiących grupę kontrolną. Osoby biorące udział w badaniu pochodziły z populacji polskiej, w większości z terenu Wielkopolski. Polimorfizmy genów DRD2, DRD4 i COMT genotypowano za pomocą metody PCR-RFLP, a genu DAT – metodą PCR-VNTR. Analizę statystyczną częstości genotypów i alleli przeprowadzono z wykorzystaniem testu χ^2 Pearsona i testu dokładnego prawdopodobieństwa Fishera. Wykonano analizę mocy badania asocjacyjnego i sprawdzono zgodność rozkładu genotypów z prawem Hardy'ego-Weinberga. *Wyniki.* Żaden z analizowanych polimorfizmów nie wykazał asocjacji z wystąpieniem jadłowstrętu, zarówno w jego postaci bulimicznej jak i restryktywnej. *Wnioski.* Opisane wyniki nie wskazują na prawdopodobny udział genów układu dopaminergicznego w predyspozycji zachorowania na jadłowstręt psychiczny.

SUMMARY. *Aims.* Anorexia nervosa (AN) is a disorder of complex etiopathogenesis. Both genetic and environmental factors are of great value. A significant genetic contribution to this disorder is marked by family and twin studies. Many clinical studies have shown that amphetamine, an indirect agonist of the dopaminergic system, is an anorectic agent, which means that it suppresses appetite and food intake. Thus, we studied candidate genes of the dopaminergic system (theoretically associated with the etiology of given disorder) with reference to anorexia nervosa. The aim of the present study was to assess the influence of genes polymorphisms coding dopamine receptors DRD 2 (polymorphisms-141C Ins/Del), DRD 4 (polymorphisms-521 C/T), dopamine transporter DAT (polymorphisms VNTR w 3'UTR) and catechol-O-methyltransferase COMT (polymorphisms Val158Met) on the risk of anorexia nervosa (both restricted and bulimic type) and 77–135 controls. All individuals participating in this study were Polish, mostly from the Wielkopolska region. Genotyping of the DRD2, DRD4 and COMT polymorphisms was performed using the PCR-RFLP and of the DAT using the PCR-VNTR method. Statistical analysis of genotype and allele frequencies was performed with the Pearson's χ^2 and Fisher's exact tests, respectively. An analysis of the power estimation as well as the concordance between the genotype distribution and the Hardy-Weinberg

equilibrium was performed. Review. No significant associations between the polymorphisms under study and anorexia nervosa of both type were proved. Conclusions. Reported findings do not indicate a possible role of the dopaminergic system genes in predispositions to anorexia nervosa.

Słowa kluczowe: jadłowstręt psychiczny / układ dopaminergiczny / geny kandydujące / badania asocjacyjne
Key words: anorexia nervosa / dopaminergic system / candidate genes / association studies

Zaburzenia odżywiania, do których zaliczamy jadłowstręt psychiczny i bulimie, należą do chorób o złożonej etiologii i rozpoczynają się zwykle w okresie adolescencji przed 14 rokiem życia. Jadłowstręt psychiczny dotyka około 3% populacji kobiet. Widoczny jest także dymorfizm płciowy tej choroby, bowiem zaburzenia jedzenia występują u mężczyzn 10 razy rzadziej. Obecnie przyjmuje się model wieloczynnikowy choroby, tzn. udział zarówno czynników genetycznych jak i środowiskowych. Zarówno badania rodzin, jak i bliźniąt wskazują, że czynniki genetyczne odpowiadają w 68–88% podatności na jadłowstręt psychiczny [1]. Ponadto, współzachorowalność bliźniąt monozygotycznych sięga 44% pacjentek, podczas gdy u bliźniąt dizygotycznych współwystępowanie choroby dotyczy tylko 12% pacjentek. Taka dysproporcja współwystępowania choroby u mono- i dizygotycznych bliźniąt świadczy o znacznym udziale czynników genetycznych – im więcej wspólnych genów tym większe ryzyko wystąpienia choroby. Wyniki badań potwierdzają celowość poszukiwania genów mogących odpowiadać za zwiększoną predyspozycję do zachorowania na jadłowstręt psychiczny metodami genetyki molekularnej. Jedną z najczęściej wykorzystywanych metod badań genetycznych w chorobach wieloczynnikowych jest analiza asocjacji. Pozwala ona na badanie genów o relatywnie małym wpływie na badany fenotyp, których efekt działania kumuluje się. Jest to metoda polegająca na porównaniu częstości występowania określonych alleli danego genu w grupie osób chorych i grupie osób zdrowych. Wskazuje się na związek określonego allelu z chorobą, jeśli występuje on znacznie częściej u osób chorych. W przed-

stawionych badaniach posłużono się analizą genu kandydującego. Jest to metoda, w której poddaje się analizie geny mogące mieć teoretycznie związek z chorobą na podstawie biochemicznych hipotez choroby. Dotychczas najwięcej badań asocjacyjnych w jadłowstręcie psychicznym przeprowadzono w nawiązaniu do hipotezy serotoninerdycznej, w której zakłada się, że zaburzenia w przekaznictwie serotoninerdycznym mają wpływ na powstanie obrazu klinicznego choroby. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań własnych dotyczących genów układu dopaminergicznego (DRD1 (polimorfizm 48 A/G), DRD2 (polimorfizm-141C ins/del), DRD 4 (polimorfizm-521 C/T), DAT (polimorfizm VNTR w 3'-UTR), COMT (polimorfizm Val108(158)Met)).

Dopaminowa teoria jadłowstrętu psychicznego

W badaniach genów kandydujących wskazówką do ich poszukiwania jest skuteczne leczenie farmakologiczne. Mechanizm działania leków na określone struktury, konkretne receptory czy też blokowanie lub pobudzanie neuroprzekazników pozwala na zawężenie pola badawczego dotyczącego konkretnych genów. Pojawiające się nowe generacje leków stwarzają nadzieję na możliwość wykorzystania farmakoterapii w leczeniu zaburzeń jedzenia. Jak dotąd, nie ma skutecznego leczenia farmakologicznego i jego stosowanie w leczeniu zaburzeń jedzenia uważa się za dyskusyjne. W związku z powyższym trudno na podstawie dziś istniejącego leczenia farmakologicznego potwierdzić hipotezy, co do patogenezy zaburzeń jedzenia. Na działanie monoamin w kontroli apetytu i regulacji wagi wskazywał już

Gorwood i wsp. w 1998 r. [2]. Zaburzenia układu dopaminergicznego w etiologii jadłowstrętu psychicznego potwierdza działanie amfetaminy [3, 4, 5].

Amfetamina nasila transmisję dopaminergiczną w bocznej części podwzgórza i pobudza ośrodek sytości powodując wzmożony metabolizm przy zmniejszonym łaknieniu prowadząc do wyniszczenia organizmu u osób uzależnionych. Pochodne amfetaminy stosowane są w terapii otyłości, w związku z czym amfetaminę określono mianem „czynnika anorektycznego”. Mechanizm działania amfetaminy jest związany z uwalnianiem katecholamin, blokowaniem ich wychwytu zwrotnego oraz hamowaniem ich metabolizmu przez blokowanie monoaminooksydazy typu A (MAO-A) [6]. Badania farmakologiczne lat siedemdziesiątych potwierdziły działanie amfetaminy na układ dopaminergiczny. Prace badaczy z lat siedemdziesiątych [7, 8] wskazały, że amfetamina uczestniczy w kompetytywnej blokadzie wychwytu zwrotnego dopaminy. Amfetamina wiąże się z transporterem dopaminy, dzięki któremu przenoszona jest do wnętrza zakończenia nerwowego. Po przedostaniu się do wnętrza neuronu powoduje silne uwalnianie endogennej dopaminy.

Poza tym wykazano, że amfetamina nasila syntezę dopaminy w prążkowiu [9], a osłabia w istocie czarnej [10]. W układzie nigrostrialnym amfetamina bezpośrednio stymuluje hamujące autoreceptory D2 [11].

Z kolei w badaniach Ladurelle i wsp. [12] stwierdzono, że działanie SCH23390 (antagonisty receptora D1) zmniejsza przyjmowanie pokarmu. Natomiast działanie sulpirydu (antagonisty receptora D2) przyczynia się do wzrostu łaknienia. Zwrócono również uwagę na fakt, że podwyższona ekspresja genu receptora D2 w podwzgórzu jest związana z częstszym występowaniem jadłowstrętu. Interesujące wydaje się też działanie klozapiny na receptor DRD4 – powodujące wzrost łaknienia i przyrost masy ciała, co wiąże się ze wzrostem sekrecji leptyny [13, 14]. Jeszcze silniejszy związek układu dopaminergicznego z regulacją przyjmowania pokarmu i moż-

liwym rozwojem AN przedstawia Meguid i wsp. [15]. Postuluje on działanie dopaminy zarówno na neuropeptydowe stymulatory przyjmowania pokarmu, takie jak: NPY, oreksyna, Agap oraz na inhibitory, do których zaliczamy α -MSH czy CART.

OSOBY BADANE

Grupę badaną stanowiło 91 pacjentek z rozpoznaniem jadłowstrętu psychicznego, spełniających kryteria diagnostyczne DSM-IV oraz ICD-10. Grupa kontrolna składała się początkowo z 80 kobiet, w tym studentki medycyny, personel szpitalny oraz dawcy krwi. Liczebność grupy kontrolnej w przedstawionych badaniach różni się dla poszczególnych genów ze względu na prowadzoną rekrutację i powiększanie się grupy w toku badań. Pacjentki i osoby z grupy kontrolnej reprezentują populację polską, w większości z terenu Wielkopolski, rekrutowaną w Katedrze Psychiatrii AM w Poznaniu. Stan osób z grupy badanej był oceniany przez dwu niezależnych lekarzy psychiatrów. Zarówno pacjenci, jak i osoby z grupy kontrolnej nie byli ze sobą spokrewnieni. Średnia wieku dla grupy badanej wynosiła – 18,22 (SD=3,13), a średnia wieku dla grupy kontrolnej – 27,49 (SD = 5,52). Pacjenci, jak i osoby z grupy kontrolnej udzielili pisemnej zgody na udział w badaniu genetycznym. Terenowa Komisja Etyczna w Poznaniu wyraziła akceptację na przeprowadzenie badań.

METODA

Analiza DNA

Genomowy DNA został wyizolowany z leukocytów krwi obwodowej metodą wysalania [16]. Do analizy polimorfizmów genów DRD2, DRD4, COMT, zastosowano technikę PCR-RFLP, natomiast dla polimorfizmu genu DAT – technikę PCR-VNTR. Amplifikacji poszczególnych fragmentów genów dokonano przy pomocy starterów opisanych w tabl. 1.

Tablica 1. Sekwencje starterów wykorzystanych w badaniach asocjacyjnych

Gen	Sekwencje oligonukleotydów	Źródło
DRD1 5q35.1	D1_F: 5' - ACT GAC CCC TAT TCC CTG CT - 3' D1_R: 5' - AGC ACA GAC CAG CGT GTT C - 3'	Cichon i wsp. 1994
DRD2 11q22-23	D2_F: 5' - ACT GGC GAG CAG ACG GTG AGG ACC C - 3' D2_R: 5' - TGC GCG CGT GAG GCT GCC GGT TCG G - 3'	Arinami i wsp. 1997
DRD4 11q15.5	D4_F: 5' - ATG AGC TAG GCG TCG GCG G - 3' D4_R: 5' - GCA TCG ACG CCA GCG CCA TCC TAC C - 3'	Jönssen i wsp. 2001
DAT 5p15.3	DAT_F: 5' - TGT GGT GTA GGG AAC GGC CTG AG - 3' DAT_R: 5' - CTT CCT GGA GGT CAC GGC TCA AGG - 3'	Vandenbergh i wsp. 1992
COMT 22q11.1-q11.2	Comt1_F: 5' CTCATCACCATGGAGATCAA 3' Comt2_R: 5' CCAGGTCTGACAACGGGTCA 3'	Li i wsp. 1996

Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego SPSS 10. Analizę częstości genotypów przeprowadzono z wykorzystaniem testu χ^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 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* (Copyright © 1988 J. Ott).

WYNIKI BADAŃ

Gen receptora dopaminy DRD1

Gen receptora dopaminy został zmapowany na chromosomie 5q35.1 [17]. W obrębie tego genu zlokalizowano kilka polimorfizmów, m.in. EcoRI i TaqI RFLP badanych w związku ze schizofrenią [17, 18]. Wielu badaczy udowodniło udział receptora DRD1 w powstaniu anoreksji indukowanej przyjmowaniem amfetaminy [12, 19, 20]. W związku z tym gen receptora DRD1 wydaje się interesującym genem kandydującym w zaburzeniach jedzenia. W 1994 r. Cichon i wsp. [21] opisali polimorfizm znajdujący się w rejonie 5'UTR egzonu 2 w pozycji 48, polegający na substytucji adeniny guaniną A/G. Polimorfizm ten analizowano przy pomocy metody PCR-RFLP przy użyciu enzymu restrykcyj-

Tablica 2. Wyniki – DRD1 (polimorfizm 48A/G)

Grupa	n	Allel		p	Genotyp			p
		A	G		A/A	A/G	G/G	
Kontrola	93	76 (40,9%)	110 (59,1%)	0,117	12 (12,9%)	52 (55,9%)	29 (31,2%)	0,373
Pacjenci	89	61 (34,3%)	117 (65,7%)		8 (9,0%)	45 (50,6%)	36 (40,4%)	
Typ restrykcyjny	63	39 (32,0%)	83 (68,0%)	0,072	4 (6,6%)	31 (50,8%)	26 (42,6%)	0,228
Typ bulimiczny	28	22 (39,3%)	34 (60,7%)	0,480	4 (14,3%)	14 (50,0%)	10 (35,7%)	0,858

Allele typ R vs B; p=215

Genotypy typ R vs B; p=0,471

Tablica 3. Wyniki – DRD2 (-141C ins/del)

Grupa	n	Allel		p	Genotyp		p
		ins	del		ins/ins	ins/del	
Kontrola	78	136 (87,2%)	20 (12,8%)	0,260	60 (76,9%)	18 (23,1%)	0,307
Pacjenci	91	162 (90,0%)	18 (10,0%)		72 (80,0%)	18 (20,0%)	
Typ restrykcyjny	63	115 (91,3%)	11 (8,7%)	0,184	52 (82,5%)	11 (17,5%)	0,382
Typ bulimiczny	27	47 (87,0%)	7 (13,0%)	0,572	20 (74,1%)	7 (25,9%)	0,612

Allele typ R vs B; $p=0,270$ Genotypy typ R vs B; $p=0,259$

(nie stwierdzono obecności genotypu del/del)

nego DdeI. Przeprowadzone badania asocjacyjne polimorfizmu A48G w jądłowstręciu psychicznym dały wynik negatywny zarówno w całej grupie badanej jak i w grupie wydzielonej ze względu na typ jądłowstrętu. Brak różnic istotnych statystycznie w rozkładzie alleli zarówno w całej grupie badanej jak i wydzielonych podgrupach (tabl. 2).

Gen receptora DRD2

Gen DRD2 jest położony w regionie q22-23 chromosomu 11 i ma nieciągłą strukturę. Składa się on z 8 egzonów i 7 intronów [22]. Receptor D_2 występuje w dwu formach: długiej D2L (443 aminokwasy) oraz krótkiej D2S (414 aminokwasów). Stosunek ilościowy obu form wykazuje dużą różnorodność tkankową, niemniej formą dominującą jest D2L [23]. Obie formy kodowane są przez ten sam gen i powstają w wyniku alternatywnego splicingu [24]. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że zmiana ta nie wpływa na właściwości farmakologiczne izoform receptora D_2 , ale może mieć wpływ na interakcje aktywnego receptora z białkami G. Możliwe znaczenie receptora DRD2 w jądłowstręciu psychicznym wiąże się z udowodnioną rolą zmniejszonej ekspresji genu DRD2 w depresji, która często współtowarzyszy zaburzeniom jedzenia [25]. Ponadto wspólnie z receptorem DRD1 i NPY bierze udział w procesie anoreksji indukowanej działaniem amfetaminy [19].

Badany w naszym ośrodku polimorfizm został opisany przez Arinami i wsp. [26].

Polimorfizm ten znajduje się w rejonie promotora genu DRD2 i polega na jednonukleotydowej insercji/delecji cytozyny w pozycji -141. Polimorfizm ten jest identyfikowany przy pomocy enzymu restrykcyjnego BstN1 metodą PCR-RFLP. W przeprowadzonych badaniach nie potwierdziliśmy udziału polimorfizmu genu DRD2 w predyspozycji zachorowania na jądłowstręt psychiczny (tabl. 2). W obliczeniach nie uwzględniono genotypu del/del, ponieważ w badanej grupie nie stwierdzono jego obecności, co wiąże się z naturalnie rzadkim występowaniem tego genotypu.

Gen receptora DRD4

Gen kodujący receptor D_4 znajduje się w chromosomie 11p15.5 [27]. W genie stwierdzono występowanie wielu polimorfizmów, w tym polimorfizmu typu VNTR w egzonie 3, o powtarzalnym motywie długości 48 pz (zaobserwowano allele o 2–10 powtórzeniach tego motywu) w rejonie kodującym trzecią pętlę cytoplazmatyczną tego receptora. Pętla ta wpływa na wiązanie takich neuroleptyków jak kłozapina [13] i może być przyczyną wzrostu wagi na skutek oddziaływania na sekrecję leptyny [14]. Levitan i wsp. [28] wykazali związek allelu z siedmioma powtórzeniami z otyłością w przypadku kobiet cierpiących na sezonowe zaburzenia depresyjne. Uzyskany wynik wydaje się kontrowersyjny, bowiem niewiele wiadomo na temat psychologicznej roli receptora DRD4 w ludzkim mózgu, a otyłość może być wyjaśniona

Tablica 4. Wyniki – DRD4 (polimorfizm-521 C/T)

Grupa	n	Allel		p	Genotyp			p
		C	T		C/C	C/T	T/T	
Kontrola	77	74 (48,1%)	80 (51,9%)	0,485	19 (24,7%)	36 (46,8%)	22 (28,6%)	0,557
Pacjenci	91	86 (47,3%)	96 (52,7%)		18 (19,8%)	50 (54,9%)	23 (25,3%)	
Typ restrykcyjny	63	59 (46,8%)	67 (53,2%)	0,467	12 (19,0%)	35 (55,6%)	16 (25,4%)	0,562
Typ bulimiczny	28	27 (48,2%)	29 (51,8%)	0,553	6 (21,4%)	15 (53,6%)	7 (25,0%)	0,826

Allele typ R vs B; p=495

Genotypy typ R vs B; p=0,965

obniżeniem aktywności fizycznej przy zachowanej podaży kalorii. Badany przez nas polimorfizm genu DRD4 został opisany jako C/T SNP (*single nucleotide polymorphism*) w odcinku promotorowym w pozycji –521 [29]. Ten polimorfizm może mieć znaczenie funkcjonalne w etiologii choroby, bowiem występuje w rejonie regulującym aktywność transkrypcyjną. Okuyama i wsp. [30] wykazali, że allel –521C odpowiada za 40% mniejszą aktywność transkrypcyjną. W naszych badaniach nie stwierdziliśmy związku pomiędzy tym polimorfizmem a jądłowstrętem psychicznym (tabl. 4).

Gen transportera dopaminy DAT

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 [31, 32]. Gen kodujący DAT znajduje się na chromosomie 5p15.3 [33, 34].

Tablica 5. Wyniki – DAT (VNTR)

Grupa	n	Allel		p	Genotyp			p
		A9	A10		A9/A9	A9/A10	A10/A10	
Kontrola	80	35 (21,9%)	125 (78,1%)	0,469	1 (1,3%)	33 (41,3%)	46 (57,5%)	0,268
Pacjenci	86	36 (20,9%)	136 (79,1%)		4 (4,7%)	28 (32,6%)	54 (62,8%)	
Typ restrykcyjny	58	27 (23,3%)	89 (76,7%)	0,447	3 (5,2%)	21 (36,2%)	34 (58,6%)	0,366
Typ bulimiczny	28	9 (16,1%)	47 (83,9%)	0,234	1 (3,6%)	7 (25,0%)	20 (71,4%)	0,254

Allele typ R vs B; p=188

Genotypy typ R vs B; p=0,515

Najczęściej badany polimorfizm charakteryzuje się zmienną liczbą powtórzeń tandemowych (VNTR) w 3'– nie ulegającym translacji regionie (3'-UTR) genu DAT [34, 35]. 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 [36]. Polimorfizm VNTR ma prawdopodobnie wpływ na ekspresję genu, lecz wyniki dotychczasowych badań nie są jednoznaczne [37, 38]. Wyniki przedstawione w tabl. 5 nie potwierdzają udziału genu DAT w jądłowstręcie psychicznym w populacji polskiej.

Gen katechol-O-metylotransferaza (COMT)

Katechol-O-metylotransferaza jest głównym enzymem inaktywującym neuroprzekazniki katecholaminowe, w tym i dopaminę [39]. Gen COMT znajduje się w rejonie q11.1-q11.2 chromosomu 22 i koduje zarówno formę zwią-

Tablica 6. Wyniki – COMT (Val108(158)Met)

Grupa	n	Allel		p	Genotyp			p
		Met	Val		Met/Val	Val/Met	Val/Val	
Kontrola	135	111 (50,2%)	110 (49,8%)	0,368	25 (18,5%)	86 (63,7%)	24 (17,8%)	0,078
Pacjenci	91	65 (47,8%)	71 (52,2%)		20 (22,0%)	45 (49,5%)	26 (28,6%)	
Typ restrykcyjny	57	37 (44,0%)	47 (56,0%)	0,257	10 (17,5%)	27 (47,4%)	20 (35,1%)	0,029
Typ bulimiczny	28	24 (57,1%)	18 (42,9%)	0,202	10 (35,7%)	14 (50,0%)	4 (14,3%)	0,131

Allele typ R vs B; $p=116$ Genotypy typ R vs B; $p=0,063$

zaną z błoną (MB-COMT) i formę rozpuszczalną (S-COMT) enzymu [40]. Różnią się one fragmentem o wielkości 50 aminokwasów w rejonie N-końca białka, który obecny jest w formie MB-COMT [41]. Występowanie dwóch wariantów białka (o wielkości 271 lub 221 aminokwasów) jest efektem występowania dwóch alternatywnych promotorów w genie COMT [42]. Tranzycja G/A w kodonie 108 (158) S-COMT (MB-COMT) w eksonie 4 genu prowadzi w białku do substytucji waliny metioniną [43]. Ten polimorfizm jest związany z aktywnością enzymatyczną COMT. Wariant białka zawierający metioninę jest 3–4 razy mniej aktywny od wariantu z waliną [43, 44]. Pierwsze pozytywne doniesienie związku genu COMT i jądlowstrętu psychicznego przedstawił Frisch i wsp. w 2001 r. [45]. Wykorzystując metodę TDT wykazał, że allel Val158, odpowiadający za większą aktywność enzymu, jest przekazywany preferencyjnie przez rodziców chorym dzieciom. W badaniach par rodzeństwa (sióstr), w których tylko jedna chorowała na jądlowstręt psychiczny, nie wykazano różnic w częstości występowania genotypów i alleli pomiędzy siostrami chorymi i zdrowymi [46]. W ostatnio opublikowanym badaniu typu metaanaliza z sześciu europejskich ośrodków, badacze nie potwierdzili znaczenia polimorfizmu Val158Met jako czynnika ryzyka zachorowania na jądlowstręt psychiczny [47]. W naszych badaniach uzyskaliśmy asocjację pomiędzy genotypami Val/Val and Val/Met a restrykcyjnym typem jądlowstrętu psychicz-

nego ($p=0,029$), niemniej nie obserwowaliśmy asocjacji allelicznej ($p=0,257$) pomiędzy pacjentami o typie restrykcyjnym a grupą kontrolną. Zarówno w całej grupie badanej, jak i w grupie pacjentów o typie bulimicznym w porównaniu z grupą kontrolną nie obserwowaliśmy różnic istotnych statystycznie w częstości występowania zarówno genotypów, jak i alleli (tabl. 6).

WNIOSKI

W przypadku polimorfizmów genów układu dopaminergicznego: DRD1, DRD2, DRD4, DAT, COMT nie stwierdziliśmy związku pomiędzy badanymi polimorfizmami a jądlowstrętem psychicznym. Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, że uzyskane wyniki mają charakter doniesienia wstępnego ze względu na zbyt małą liczebność grupy badanej. Istotny jest także brak możliwości ujednoczenia fenotypu dla pacjentek z jądlowstrętem psychicznym, które w przebiegu swojej choroby zmieniają obraz kliniczny, np. z bulimii na jądlowstręt typu bulimicznego lub odwrotnie. Na podstawie innych badań, a także modelu wielogenowego choroby można wnioskować, że liczne polimorfizmy w obrębie badanych genów mogą tworzyć haplotypy, które w różnych kombinacjach allelicznych mogą w różnym stopniu zwiększać ryzyko zachorowania na jądlowstręt psychiczny. Ponadto, możemy się spodziewać interakcji pomiędzy badanymi genami i ich polimorfizmami. Dlatego brak

asocjacji badanych polimorfizmów z jadłowstrętem psychicznym nie wyklucza istnienia takiego związku w przypadku innych polimorfizmów w obrębie badanych genów lub w przypadku analizy interakcji pomiędzy nimi.

PIŚMIENICTWO

- Bulik CM, Sullivan PF, Wade TD, Kendler KS. Twin studies of eating disorders: a review. *Int J Eat Disord* 2000; 27 (1): 1–20.
- Gorwood P, Bouvard M, Mouren-Simeoni MC, Kipman A, Ades J. Genetics and anorexia nervosa: a review of candidate genes. *Psychiatr Genet* 1998; 8 (1): 1–12.
- Sato T, Meguid MM, Fetissov SO, Chen C, Zhang L. Hypothalamic dopaminergic receptor expressions in anorexia of tumor-bearing rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281 (6): R1907–16.
- Naruse T, Amano H, Koizumi Y. Possible involvement of dopamine D-1 and D-2 receptors in diazepam-induced hyperphagia in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 1991; 5 (8): 677–93.
- Gilbert DB, Cooper SJ. Analysis of dopamine D1 and D2 receptor involvement in d- and l-amphetamine-induced anorexia in rats. *Brain Res Bull* 1985; 15 (4): 385–9.
- Miller HH, Shore PA, Clarke DE. In vivo monoamine oxidase inhibition by d-amphetamine. *Biochem Pharmacol* 1980; 9: 1347–54.
- Azzaro AJ, Ziance RJ, Rutledge CO. The importance of neuronal uptake of amines for amphetamine-induced release of 3H-norepinephrine from isolated brain tissue. *J Pharmacol Exp Ther* 1974; 89: 110–8.
- Harris JE, Baldessarini RJ. Uptake of [H]-catecholamines by homogenates of rat corpus striatum and cerebral cortex: Effects of amphetamine analogues. *Neuropharmacology* 1973; 2: 669–79.
- Uretsky NJ, Kamal L, Snodgrass SR. Effect of divalent cations on the amphetamine-induced stimulation of [3H]catechol synthesis in the striatum. *J Neurochem* 1979; 2: 951–60.
- Elverfors A, Nissbrandt H. Effects of d-amphetamine on dopaminergic neurotransmission: a comparison between the substantia nigra and the striatum. *Neuropharmacology* 1992; 1: 661–70.
- Groves PM, Ryan LJ, Diana M, Young SJ, Fisher LJ. Neuronal actions of amphetamine in the rat brain. *NIDA Res Monogr* 1989; 4: 127–45.
- Ladurelle N, Duterte-Boucher D, Costentin J. Stimulation of D1 and D2 dopamine receptors produces additive anorectic effects. *Fundam Clin Pharmacol* 1991; 5 (6): 481–90.
- Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, Civelli O. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991; 350 (6319): 610–4.
- Bromel T, Blum WF, Ziegler A, Schulz E, Bender M, Fleischhaker C, Remschmidt H, Krieg JC, Hebebrand J. Serum leptin levels increase rapidly after initiation of clozapine therapy. *Mol Psychiatry* 1998; 3 (1): 76–80.
- Meguid MM, Fetissov SO, Varma M, Sato T, Zhang L, Laviano A, Rossi-Fanelli F. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition* 2000; 16 (10): 843–57.
- Miller SA, Dykes D, Plesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res* 1988; 16: 1215.
- Grandy DK, Zhou QY, Allen L, Litt R, Magenis RE, Civelli O, Litt M. A human D1 dopamine receptor gene is located on chromosome 5 at q35.1 and identifies an EcoRI RFLP. *Am J Hum Genet* 1990; 47 (5): 828–34.
- Litt M, al-Dhalimy M, Zhou Q, Grandy D, Civelli O. A TaqI RFLP at the DRD1 locus. *Nucl Acids Res* 1991; 19 (11): 3161.
- Kuo DY. Further evidence for the mediation of both subtypes of dopamine D1/D2 receptors and cerebral neuropeptide Y (NPY) in amphetamine-induced appetite suppression. *Behav Brain Res* 2003; 147 (1–2): 149–55.
- Rusk IN, Cooper SJ. Microstructural analysis of the anorectic effect of N-0437, a highly selective dopamine D2 agonist. *Brain Res* 1989; 494 (2): 350–8.
- Cichon S, Nothen MM, Erdmann J, Propping P. Detection of four polymorphic sites in the human dopamine D1 receptor gene (DRD1). *Hum Mol Genet* 1994; 3 (1): 209.
- Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, Reed L, Magenis RE, Civelli O. The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22–q23

- and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet* 1989; 45 (5): 778–85.
23. Zawilska J. Rozdz. 4. W: Nowak J, Zawilska J, red. *Receptory. Struktura, charakterystyka, funkcje*. Wydawnictwo PWN; 1997.
 24. Sibley DR, Monsma FJ Jr, Shen Y. Molecular neurobiology of dopaminergic receptors. *Int Rev Neurobiol* 1993; 5: 391–415.
 25. Andrew M, McGuffin P, Katz R. Genetic and non-genetic subtypes of major depressive disorder. *Br J Psychiatry* 1998; 173: 523–6.
 26. Arinami T, Gao M, Hamaguchi H, Toru M. A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 1997; 6 (4): 577–82.
 27. Gelernter J, Kennedy JL, Van Tol HHM, Civelli O, Kidd KK. The D4 dopamine receptor maps to distal 11p close to HRAS. *Genomics* 1992; 13: 208–10.
 28. Levitan RD, Masellis M, Lam RW, Muglia P, Basile VS, Jain U, Kaplan AS, Tharmalingam S, Kennedy SH, Kennedy JL. Childhood Inattention and dysphoria and adult obesity associated with the dopamine D4 receptor gene in overeating women with seasonal affective disorder. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 179–86.
 29. Ronai Z, Barta C, Guttman A, Lakatos K, Gervai J, Staub M, Sasvari-Szekely M. Genotyping the –521 C/T functional polymorphism in the promoter region of dopamine D4 receptor (DRD4) gene. *Electrophoresis* 2001; 22 (6): 1102–5.
 30. Okuyama Y, Ishiguro H, Toru M, Arinami T. A genetic polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with expression and schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258 (2): 292–5.
 31. 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.
 32. 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; 5 (7): 4029–34.
 33. Giros B, Mestikawy S, Godinot N, Zheng K, Han H, Yang-Feng T, Caron MG. Cloning, pharmacological characterization, and chromosomal assignment of the human dopamine transporter. *Mol Pharmacol* 1992; 42 (3): 383–90.
 34. 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.
 35. 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.
 36. 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.
 37. 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.
 38. 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.
 39. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*. 77th ed. New York: Oxford University Press; 1996.
 40. Lundstrom K, Tenhunen J, Tilgmann C, Karhunen T, Panula P, Ulmanen I. Cloning, expression and structure of catechol-O-methyltransferase. *Biochem Biophys Acta* 1995; 1251: 1–10.
 41. Lundstrom K, Salminen M, Jalanko A, Savolainen R, Ulmanen I. Cloning and characterization of human placental catechol-O-methyltransferase cDNA. *DNA Cell Biol* 1991; 10: 181–9.
 42. Tenhunen J, Salminen M, Lundstrom K, Kivi-luoto T, Savolainen R, Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol-O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem* 1994; 223: 1049–59.
 43. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: Description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 243–50.

44. Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melen K, Julkunen I, i wsp. Kinetics of human soluble and membranebound catechol-O-methyltransferase: A revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochem* 1995; 34: 4202–10.
45. Frisch A, Laufer N, Danziger Y, Michaelovsky E, Leor S, Carel C, Stein D, Fenig S, Mimouni M, Apter A, Weizman A. Association of anorexia nervosa with the high activity allele of the COMT gene: a family-based study in Israeli patients. *Mol Psychiatry* 2001; 6 (2): 243–5.
46. Karwautz A, Rabe-Hesketh S, Hu X, Zhao J, Sham P, Collier DA, Treasure JL. Individual-specific risk factors for anorexia nervosa: a pilot study using a discordant sister-pair design. *Psychol Med* 2001; 31 (2): 317–29.
47. Gabrovsek M, Breclj-Anderluh M, Bellodi L, Cellini E, Di Bella D, Estivill X, Fernandez-Aranda F, Freeman B, Geller F, Gratacos M, Haigh R, Hebebrand J, Hinney A, Holliday J, Hu X, Karwautz A, Nacmias B, Ribases M, Remschmidt H, Komel R, Sorbi S, Tomori M, Treasure J, Wagner G, Zhao J, Collier DA. Combined family trio and case-control analysis of the COMT Val158Met polymorphism in European patients with anorexia nervosa. *Am J Med Genet* 2004; 124B (1): 68–72.

*Adres: Mgr Monika Dmitrzak-Węglarz, Laboratorium Analizy Medycznej i Genetycznej
Katedry Psychiatrii Akademii Medycznej,
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań, tel.: (61) 8491311, e-mail: mweglarz2003@yahoo.com*