



Polimorfizm promotora genu receptora serotoniny 5-HT_{2A} (-1438 G/A) w grupie osób z chorobą afektywną sezonową, chorobą afektywną bez cech sezonowości oraz w grupie kontrolnej osób zdrowych (doniesienie wstępne)

Polymorphism of the 5-HT_{2A} serotonin receptor gene promoter (-1438 G/A) in patients with seasonal affective disorder, non-seasonal affective disorder, and healthy controls (a preliminary communication)

ŁUKASZ ŚWIĘCICKI¹, MAŁGORZATA BEDNARSKA-MAKARUK²

Z: 1. II Kliniki Psychiatrycznej Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie
2. Zakładu Genetyki Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

STRESZCZENIE

Cel. Ocena polimorfizmu promotora genu receptora serotoniny 5-HT_{2A} (-1438 G/A) u osób z depresją zimową.

Metoda. Ocenę polimorfizmu przeprowadzono w grupie 29 pacjentów z chorobą afektywną sezonową (depresją zimową), 32 pacjentów z depresją w przebiegu choroby afektywnej bez cech sezonowości i 198 osób bez zaburzeń psychicznych (z hipercholesterolemią).

Wyniki. Występowanie genotypu A/G i allele A było częstsze w grupie osób z depresją zimową, niż w dwóch pozostałych grupach, jednak różnica ta nie była znamienna statystycznie (test χ^2 ; odpowiednie wartości p : 0,174 i 0,503). Planowane są dalsze badania w tym zakresie.

Wnioski. Uzyskane wyniki nie pozwalają na wyciągnięcia ostatecznych wniosków, zachęcają jednak do prowadzenia dalszych badań w tym kierunku.

SUMMARY

Objective. To assess polymorphism of the 5-HT_{2A} serotonin receptor gene promoter (-1438 G/A) in patients with seasonal affective disorder (winter depression).

Method. The rates of the 5-HT_{2A} promoter (-1438 G/A) polymorphism in a group of 29 patients with seasonal affective disorder (SAD), 32 depressive inpatients with non-seasonal affective disorder, and 198 controls with hypercholesterolemia and no mental disorders were estimated.

Results. The A/G genotype and A allele were more frequently present in the group of SAD patients as compared to non-SAD depressive inpatients and the controls, but the differences were not significant (χ^2 test; $p = 0.174$ and 0.503 , respectively). Further investigations are planned.

Conclusions. The findings are not conclusive, but promising, so continuation of research in this direction seems justified.

Słowa kluczowe: choroba afektywna sezonowa / choroba afektywna bez cech sezonowości / polimorfizm genetyczny / receptor serotoninowy
Key words: seasonal affective disorder / non-seasonal affective disorder / genetic polymorphism / serotonin receptor

W ostatnich latach prowadzone są liczne badania oceniające rolę serotoniny (5-hydroksytryptaminy; 3-(2-aminoetylo)-5-hydroksyindolu; 5-HT) w patogenezie praktycznie wszystkich zaburzeń nastroju. Jednak to właśnie choroba afektywna sezonowa (ChAS; depresja zimowa) jest zaburzeniem, w którym przyjęcie hipotezy o zaburzeniach neuroprzekąźnictwa serotonergicznego ma szczególne uzasadnienie naukowe. Poziom serotoniny oraz jej prekursora, tryptofanu, zarówno u zwierząt, jak i u zdrowych ludzi waha się istotnie w zależności od pory roku [1, 2]. Istotne sezonowe wahania poziomu serotoniny w podwzgórzach ludzi stwierdzono także w badaniach *post-mortem*, przy czym najniższy poziom 5-HT obserwowano w grudniu i styczniu [3].

Biorąc pod uwagę znaczenie podwzgórzowego poziomu serotoniny dla regulacji poziomu sytości, obserwacja ta mogłaby tłumaczyć tak charakterystyczne dla depresji zimowej objawy, jak objadanie się węglowodanami i przyrost masy ciała, występujące w okresie zimowym. Także stwierdzone wyraźne obniżenie poziomu kwasu 5-hydroksy-

indoloctowego (5-HIAA) w płynie mózgowo-rdzeniowym, występujące wiosną, może stanowić następstwo obniżonej aktywności serotonergicznego mózgu, występującej w okresie zimowym [4]. Opisano także sezonowe wahania innych metabolitów monoamin w płynie mózgowo-rdzeniowym [4], ale ich nasilenie jest znacznie mniejsze niż w przypadku 5-HIAA.

Zainteresowanie rolą przekąźnictwa serotonergicznego w patogenezie depresji zimowej objęło także badanie genów kodujących różne elementy układu serotoninowego, takich jak: promotor genu transportera serotoniny (5-HTTLPR), gen receptora 5-HT_{2A} oraz receptora 5-HT_{2C} [5]. Wyniki tych badań nie są jednak jednoznaczne. Rosenthal i wsp. [6] zbadali 97 osób z ChAS i 71 osób zdrowych, zakwalifikowanych do grupy kontrolnej, i stwierdzili, że występowanie krótkiego allele 5-HTTLPR stanowi czynnik ryzyka występowania ChAS i koreluje z nasileniem sezonowych objawów zaburzeń. Enoch i wsp. [7] badali polimorfizm -1438 G/A promotora genu 5-HT_{2A} w grupie 67 pacjentów

z ChAS i 69 zdrowych ochotników. Autorzy nie stwierdzili związku między polimorfizmem -1438 G/A a nasileniem sezonowości. Stwierdzili natomiast istotnie częstsze występowanie wariantu -1438 A w grupie osób z ChAS w porównaniu z grupą osób zdrowych ($p < 0,01$). Zdaniem autorów uzyskany przez nich wynik oznacza, że występowanie wariantu promotora genu 5-HT2A wiąże się co prawda z występowaniem ChAS, choć nie z występowaniem nasilenia sezonowych zaburzeń nastroju. Polimorfizm -1438 G/A zlokalizowany jest w promotorze genu receptora 5-HT2A, badania Spurlock i wsp. [8] nie wykazały jednak wpływu tego polimorfizmu na poziom transkrypcji tego genu. Arias i wsp. [9] badali polimorfizm 102-T/C genu receptora 5-HT2A i stwierdzili, że częstość występowania allele 102-C u osób z ChAS jest istotnie częstsza niż w grupie nChAS ($p = 0,004$). Wyników tych nie potwierdziły jednak inne prace. Johansson i wsp. [10] porównywali polimorfizm promotora genu transportera serotoniny 5-HTTLPR w grupie 82 pacjentów z ChAS i 82 osób zdrowych i nie stwierdzili związku między polimorfizmem tego genu a częstością występowania ChAS lub nasileniem sezonowych zmian nastroju. Wyniki innego badania przeprowadzonego przez Johanssona i wsp. [11], z udziałem 316 pacjentów z ChAS i 298 osób zdrowych, nie potwierdziły także związku między polimorfizmem genu 5-HTTLPR a występowaniem ChAS, choć tym razem autorzy stwierdzili umiarkowanie silny związek między występowaniem krótkiego wariantu 5-HTTLPR a nasileniem sezonowych zaburzeń nastroju. Polimorfizm 5-HTTLPR zlokalizowany jest w promotorze genu transportera serotoniny (5-HTT). Badania Lesch i wsp. [12] wykazały wpływ tego polimorfizmu na funkcję genu – stwierdzono, że krótszy allel (allel s) obniża ekspresję genu 5-HTT i zmniejsza wychwyt serotoniny przez limfoblasty.

Zdaniem Shera [13] uzyskane dotychczas wyniki wskazują, że podatność na występowanie ChAS może być związana z wieloma genami, prawdopodobnie zlokalizowanymi w kilku różnych chromosomach.

CEL BADANIA

Celem badania było porównanie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu -1438 G/A promotora genu receptora 5-HT2A w grupie osób z chorobą afektywną sezonową (przebieg z depresją zimową; choroba jedno- lub dwubiegunowa), grupie osób z chorobą afektywną niesezonową (jedno- lub dwubiegunową) i grupie kontrolnej osób zdrowych psychicznie.

MATERIAŁ I METODA

Krew na badanie DNA pobierano od 1.01.2004 r. do 30.03.2006 r. Do badania kwalifikowano wszystkich kolejnych pacjentów z chorobą afektywną sezonową o typie depresji zimowej, zarówno o przebiegu jedno- jak i dwubiegunowym. W tych samych okresach pobierano krew od pacjentów z chorobą afektywną bez cech sezonowości, leczonych w warunkach szpitalnych w Oddziale Chorób Afektywnych lub Oddziale Psychogeriatrycznym Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie. U wszystkich pacjen-

tów przeprowadzono przesiewowe badanie sezonowości zmian nastroju przy użyciu *Seasonal Health Questionnaire* [14] (w adaptacji jednego z autorów – Ł.Ś.), a następnie, niezależnie od wyniku, pełne badanie stanu psychicznego. Na tej podstawie ustalano rozpoznanie i kwalifikowano pacjentów do odpowiednich grup. Wszyscy badani wyrazili pisemną zgodę na pobranie krwi i badanie DNA, a także na przechowywanie materiału genetycznego (przy zachowaniu pełnej anonimowości) w celu ewentualnego późniejszego wykorzystania. Zgodę na wykonanie badania wyraziła Komisja Bioetyczna Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie.

DNA osób grupy kontrolnej znajdujące się w banku DNA w Zakładzie Genetyki Instytutu Psychiatrii i Neurologii pochodziło od 198 niespokrewnionych osób z hipercholesterolemią, bez objawów depresji (103 kobiety i 95 mężczyzn, średni wiek $62,6 \pm 6,7$ lat).

Genomowe DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej za pomocą ekstrakcji fenolowej. Polimorfizm -1438 G/A promotora genu receptora serotoniny 5-HT2A identyfikowano metodą PCR-RFLP wg Enoch i wsp. [7]. Metoda polega na amplifikacji odcinka genu 5-HT2A obejmującego miejsce polimorficzne przy zastosowaniu dwu starterów techniką PCR, trawieniu otrzymanego produktu enzymem restrykcyjnym MspI, elektroforezie powstałych fragmentów w 3% żelu agarozowym, a następnie ich identyfikacji w świetle UV po wybarwieniu bromkiem etydyny.

Do analizy statystycznej wykorzystano program STATISTICA 6. Różnice w częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli pomiędzy grupami badano testem χ^2 . Wartość $p < 0,05$ przyjmowano za kryterium statystycznej istotności różnic.

WYNIKI

W badaniu wzięło udział 29 pacjentów z ChAS i 32 z nChAS. Dane dotyczące płci i biegunowości choroby podano w tabl. 1.

Tablica 1. Dane demograficzne i biegunowość zaburzeń u pacjentów z ChAS i nChAS

Zmienna	ChAS (n=29)	nChAS (n=32)
Choroba afektywna dwubiegunowa	22	18
Choroba afektywna jednobiegunowa	7	14
Kobiety	24	20
Mężczyźni	5	12

ChAS choroba afektywna sezonowa;
nChAS choroba afektywna niesezonowa

W obu badanych grupach pacjentów wyraźną przewagę miały kobiety (w grupie ChAS przewaga kobiet jest jeszcze większa niż w nChAS), co odzwierciedla najczęściej opisywaną częstość występowania zaburzeń afektywnych w zależności od płci.

Porównano częstość występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu -1438 G/A genu receptora serotoniny 5-HT2A u pacjentów z ChAS, nChAS oraz w grupie kontrolnej (tabl. 2). Zaobserwowano tendencję do częst-

Tablica 2. Częstość genotypów i alleli polimorfizmu -1438 G/A genu receptora serotoniny 5-HT2A u pacjentów z ChAS, nChAS oraz w grupie kontrolnej

-1438 G/A 5-HT2A	ChAS		nChAS		Grupa kontrolna		p#
	n	%	n	%	n	%	
Genotyp (n=29)			(n=32)		(n=198)		
A/A	5	17,24	4	12,50	36	18,18	0,733
A/G	17	58,62	16	50,00	82	41,41	0,174 ^a
G/G	7	24,14	12	37,50	80	40,40	0,241 ^b
Allel (n=58)			(n=64)		(n=396)		
A	27	46,55	24	37,50	154	38,89	0,503
G	31	53,45	40	62,50	242	61,11	0,503

ChAS choroba afektywna sezonowa;

nChAS choroba afektywna niesezonowa

– test χ^2 ; a – p = 0,08 ChAS vs kontrola; b – p = 0,09 ChAS vs kontrola

szego występowania genotypu A/G (p=0,08) i rzadszego występowania genotypu G/G (p=0,09) w grupie osób z ChAS w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono nieco mniejszą częstość występowania allelu G w grupie pacjentów z ChAS w porównaniu z nChAS i grupą kontrolną, jednak różnice między grupami nie były istotne statystycznie.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu -1438 G/A genu receptora serotoniny 5-HT2A u kobiet i mężczyzn w grupie kontrolnej (tabl. 3). Zaobserwowano jedynie nieco częstsze występowanie genotypu GG i allelu G u mężczyzn niż u kobiet.

Tablica 3. Częstość genotypów i alleli polimorfizmu -1438 G/A genu receptora serotoniny 5-HT2A u kobiet i mężczyzn w grupie kontrolnej

-1438 G/A 5-HT2A	Grupa kontrolna				p#
	kobiety		mężczyźni		
	n	%	n	%	
Genotyp (n=103)			(n=95)		
A/A	19	18,45	17	17,89	0,920
A/G	48	46,60	34	35,79	0,122
G/G	36	34,95	44	46,32	0,104
Allel (n=206)			(n=190)		
A	86	41,75	68	35,79	0,224
G	120	58,25	122	64,21	0,224

– test χ^2

Zaobserwowane rozkłady genotypów w badanych grupach nie odbiegały w istotny sposób od rozkładów wyliczonych wg równania Hardy'ego-Weinberga (ChAS: $\chi^2 = 0,9193$, df = 2, p < 0,6315; nChAS: $\chi^2 = 0,1422$, df = 2, p < 0,9314; grupa kontrolna: $\chi^2 = 3,2771$, df = 2, p < 0,1943; kobiety: $\chi^2 = 0,1810$, df = 2, p < 0,9135; mężczyźni: $\chi^2 = 4,6498$, df = 2, p < 0,0978).

OMÓWIENIE

Różnice częstości występowania genotypu A/G i G/G w badanych grupach wskazują na częstsze występowanie A/G i rzadsze występowanie G/G w grupie osób z ChAS

w porównaniu zarówno z grupą nChAS, jak i grupą kontrolną. Podobne różnice dotyczą także częstości występowania odpowiednich alleli G i A. Różnice te nie są istotne statystycznie, choć w przypadku genotypu A/G wartość p wynosi 0,17.

Niniejsza praca jest, zgodnie z danymi posiadanymi przez autorów, pierwszą, w której porównywano równocześnie trzy grupy badanych – to znaczy, że osoby z chorobą afektywną sezonową porównywano nie tylko z osobami zdrowymi, ale także z osobami z chorobą afektywną niesezonową. Wydaje się, że uzyskane wyniki potwierdzają słuszność takiego podejścia w przypadku genu receptora 5-HT2A, ponieważ wyniki w grupie osób z nChAS są wyraźnie zbliżone do wyników uzyskanych w grupie kontrolnej, różne natomiast (choć nie na poziomie istotności statystycznej) od wyników uzyskanych w grupie ChAS. Być może odpowiedź na pytanie o genetyczną odrębność ChAS mogłyby przynieść dalsze badania z udziałem liczniejszej grupy pacjentów.

Obliczona moc testu χ^2 stosowanego do porównania częstości występowania alleli A i G między badanymi grupami wynosi ok. 20%. Zakładając, że moc testu powinna wynosić 80%, to liczebność powinna przekraczać 300 osób w każdej grupie.

WNIOSKI

1. Występowanie genotypu A/G i allela A jest częstsze w grupie osób z depresją zimową, niż w grupie osób zdrowych i grupie osób z niesezonowymi zaburzeniami afektywnymi, jednak stwierdzona różnica nie jest istotna statystycznie.
2. Ze względu na małą moc statystyczną badanej grupy wskazane jest kontynuowanie badań częstości występowania polimorfizmu.

PIŚMIENNICTWO

1. Maes M, Scharpe S, Verkerk R, D'Hondt P, Peeters D, Cosyns P, Thompson P, De Meyer F, Wauters A, Neels H. Seasonal variation in plasma L-tryptophan availability in healthy volunteers. Relationships to violent suicide occurrence. Arch Gen Psychiatry 1995; 52: 937–46.
2. Neumeister A, Konstantinidis A, Praschak-Rieder N, Willeit M, Hilger E, Stastny J, Kasper S. Monoamines. W: Partonen T, Magnusson A, red. Seasonal affective disorder, practice and research. Oxford: Oxford University Press; 2001: 201–17.
3. Carlsson A, Svennerhom L, Winblad B. Seasonal and circadian variations in human brain examined post mortem. Acta Psychiatr Scand 1980; 280 (supl): 75–83.
4. Brewerton TD, Berrettini WH, Nurnberger JL, Linnoila M. Analysis of seasonal fluctuations of CSF monoamine metabolites and neuropeptides in normal controls: findings with 5-HIAA and HVA. Psychiatry Res 1988; 23: 257–65.
5. Praschak-Rieder N, Willeit M, Zill P, Winkler D, Thierry N, Konstantinidis A, Masellis M, Basile VS, Bondy B, Ackenheil M, Neumeister A, Kaplan AS, Kennedy JL, Kasper S, Levitan R. A Cys 23-Ser 23 substitution in the 5-HT(2C) receptor gene influences body weight regulation in females with seasonal affective disorder: an Austrian-Canadian collaborative study. J Psychiatr Res 2005; 39: 561–7.

6. Rosenthal NE, Mazzanti CM, Barnett RL, Hardin TA, Turner EH, Lam GK, Ozaki N, Goldman D. Role of serotonin transporter promoter repeat length polymorphism (5-HTTLPR) in seasonality and seasonal affective disorder. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 175–7.
7. Enoch MA, Goldman D, Barnett R, Sher L, Mazzanti CM, Rosenthal NE. Association between seasonal affective disorder and the 5-HT2A promoter polymorphism -1438 G/A. *Mol Psychiatry* 1999; 4: 89–92.
8. Spurlock G, Helis A, Holmans P, Williams J, D'Souza UM, Cardno A, Murphy KC, Jones L, Buckland PR, McGuffin P, Lesch KP, Owen MJ. A family based association study of T102C polymorphism in 5-HT2A and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 42–9.
9. Arias B, Gutierrez B, Pintor L, Gasto C, Fananas L. Variability in the 5-HT(2A) receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. *Mol Psychiatry* 2001; 6: 239–42.
10. Johansson C, Smedh C, Partonen T, Pekkarinen T, Paunio T, Ekholm J, Peltonen L, Lichtermann D, Palmgren J, Adolfsson R, Schalling M. Seasonal affective disorder and serotonin related polymorphisms. *Neurobiol Dis* 2001; 8: 351–7.
11. Johansson C, Willeit M, Levitan R, Partonen T, Smedh C, Del Favero J, Bel Kacem S, Praschak-Rieder N, Neumaister A, Masellis M, Basile V, Zill P, Bondy B, Paunio T, Kasper S, Van Broeckhoven C, Nilsson LG, Lam R, Schalling M, Adolfsson R. The serotonin transporter promoter length polymorphism, seasonal affective disorder and seasonality. *Psychol Med* 2003; 35: 785–92.
12. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996; 274: 1527–31.
13. Sher L. Genetic studies of seasonal affective disorder and seasonality. *Compr Psychiatry* 2001; 42: 105–10.
14. Thompson C, Cowan A. The Seasonal Health Questionnaire: a preliminary validation of a new instrument to screen for seasonal affective disorder. *J Affect Disord* 2001; 64: 89–98.

Adres: Dr Łukasz Świącicki, II Klinika Psychiatryczna Instytutu Psychiatrii i Neurologii, ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa, tel. (22) 4582571, e-mail: swiecick@ipin.edu.pl