

Polimorfizm genu manganowej dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD) u pacjentów z centralnej Polski z objawami późnych dyskinez w przebiegu schizofrenii*

Manganese superoxide dismutase gene (MnSOD) polymorphism in schizophrenics with tardive dyskinesia from Central Poland

Piotr Gałęcki¹, Tadeusz Pietras², Janusz Szmraj³

¹Klinika Psychiatrii Dorosłych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. A. Florkowski

²Klinika Pneumonologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. P. Górski

³Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. J. Bartkowiak

Summary

Tardive dyskinesias (TD) are serious side effect symptoms appearing in the course of many years' neuroleptic treatment. On average, TD appear in 20% patients who take neuroleptics chronically. The free radical hypothesis of tardive dyskinesias assumes that they come into existence due to cholinergic neuron damage in the extra-pyramidal system by reactive oxygen species (ROS). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) plays a key role in protection against ROS.

Aim. The aim of this study was to evaluate functional gene polymorphism for MnSOD in schizophrenic patients with tardive dyskinesias presence.

Method. 122 paranoid schizophrenia patients were invited to participate in the study. TD symptoms were observed in 57 people. The evaluation was performed by applying the PANSS scale, while TD increase was evaluated with the AIMS scale.

Result. Statistical association in allele incidence frequency ($p < 0.001$) and in a genotype layout was observed between the control group and the schizophrenic group ($p < 0.001$), and also in a genotype layout between the TD group and the control group ($p < 0.001$). Allele layout also differentiated the control group and the TD symptoms group ($p < 0.05$). Relative risk for developing schizophrenia and TD development depends on the genotype in the gene for MnSOD.

Conclusion. In the Polish population there is a statistically substantial association between schizophrenia incidence and the Val-9Val genotype in a gene for MnSOD. Schizophrenic patients having a Val-9Val genotype in the gene for MnSOD have nearly a ten times higher risk for developing TD than schizophrenics not having this genotype. Risk for developing

* Badanie finansowane ze środków przeznaczonych na prace własne UM w Łodzi, nr 502-15-387

schizophrenia for people having the Val-9Val genotype in the gene for MnSOD is over three times higher than for people lacking this genotype.

Słowa klucze: późne dyskinezy, schizofrenia, manganowa dysmutaza ponadtlenkowa

Key words: tardive dyskinesia, schizophrenia, manganese superoxide dismutase

Wstęp

Późne dyskinezy (TD – tardive dyskinesia) są poważnymi objawami ubocznymi pojawiającymi się w przebiegu wieloletniego leczenia neuroleptykami. TD występują średnio u 20% osób, które przewlekłe przyjmują neuroleptyki, choć istnieje duża, od 2% do 50%, różnica w zapadalności na nie, zależna od grupy etnicznej [1, 2]. Istnieje kilka hipotez wyjaśniających patogenezę TD. Wiele z nich koncentruje się na roli układów neuroprzekąźnikowych i funkcji stresu oksydacyjnego w powstawaniu objawów pozapiramidowych [3, 4]. Hipoteza „wolnorodnikowa” późnych dyskinez została sformułowana na podstawie obserwacji spontanicznych dyskinez (SD – spontaneus dyskinesia) u osób starszych nieleczonych neuroleptykami i niechorujących na schizofrenię [5]. Zakłada ona, że TD powstają w wyniku uszkodzenia neuronów cholinergicznym w układzie pozapiramidowym przez reaktywne formy tlenu (ROS – reactive oxygen species) [6]. Powstają one w następstwie nasilenia się procesu autooksydacji katecholamin wskutek blokady receptorów dopaminergicznym przez neuroleptyki [7]. ROS, jako mediatory uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN), odgrywają istotną rolę również w patogenezie schizofrenii. Wielokrotnie wykazano, że stężenie produktów oksydacyjnego uszkodzenia tkanek wyższe jest u chorych na schizofrenię niż u ludzi zdrowych [8, 9, 10]. Również aktywność enzymów antyoksydacyjnych u osób chorych na schizofrenię jest mniejsza niż u zdrowych [11, 12]. Uszkodzenia wolnorodnikowe mózgowia odpowiadają neurorozwojowemu paradygmatowi pochodzenia psychoz schizofrenicznych sformułowanemu przez Weinbergera [13].

Wśród enzymów antyoksydacyjnych chroniących mózgowie przed ROS kluczowe znaczenie ma dysmutaza ponadtlenkowa (SOD – superoxide dismutase). U człowieka występują trzy izoenzymy SOD: cytosolowa, zawierająca miedź i cynk, w centrum aktywnym (CuZnSOD), mitochondrialna z manganem w centrum cząsteczki enzymu (MnSOD) oraz pozakomórkowa SOD (EC-SOD), również zawierająca miedź i cynk [14, 15]. SOD jest enzymem katalizującym dysmutację anionorodnika ponadtlenkowego (O_2^-) do nadtlenu wodoru (H_2O_2). Źródłami ROS w warunkach fizjologicznych są procesy oddechowe przebiegające w mitochondriach. Nawet w sprawnych czynnościowo mitochondriach od 2% do 5% tlenu ulega redukcji niekompletnej z wytworzeniem wolnych rodników jako produktów końcowych. Występująca w macierzy mitochondrialnej dysmutaza manganowa odpowiada za ochronę komórki przed tak powstałymi ROS [14]. Ludzka manganowa dysmutaza ponadtlenkowa nie jest kodowana przez mitochondrialne DNA. Gen dla MnSOD zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 6 (6q25) [16] w miejscu, który Modlin i Gottesman [17] przedstawili jako region kandydujący dla rozwoju schizofrenii.

Do dziś znane są jedynie 4 funkcjonalne miejsca polimorfizmu dla MnSOD. Są to Ala-9Val (GCT/GTT) w eksonie 2 dla MTS (mitochondrial targeting sequence)

– odpowiadające za strukturę białka prekursorowego, Ile-58Thr w eksonie 3 – odpowiadające za stabilność białka, oraz Ile-58Thr (GGA/GGG) w eksonie 5 i Ser-3Arg (AGC/AGA) w eksonie 2. Funkcjonalna rola dwóch ostatnich polimorfizmów nie jest znana [18, 19, 20].

MnSOD, tak jak w przypadku większości białek mitochondrialnych, jest przemieszczana do mitochondrium po translacji, jako proteina zawierająca N-końcową sekwencję sygnałową o długości 24 aminokwasów „zawieszoną” w cytozolu, a usuwaną podczas transportu molekuly do mitochondrium. Shimoda-Matsubayashi i wsp. [18] odkryli mutację (substytucja T na C) w sekwencji sygnałowej zmieniającą aminokwas w kodonie dziewiątym tej sekwencji z waliny (GTT) na alaninę (GCT). Substytucja ta indukuje konformacyjną zmianę w MTS ze struktury β -pofałdowanej kartki (β -sheet) na α -helisę (α -helix). Ponieważ struktura α -helisy jest wymagana dla skutecznego transportu mitochondrialnego, białko prekursorowe z -9Ala typem sygnału białkowego może być łatwiej transportowane do mitochondrium niż prekursor z -9Val typem sygnału [21]. Z tego właśnie powodu różnica w sygnale sekwencji białkowej może przybrać postać ilościowej ekspresji MnSOD w mitochondriach [22].

Niektóre prace wykazują związek – niektóre negują go – pomiędzy polimorfizmem Ala-9Val w sekwencji sygnałowej genu MnSOD a schizofrenią. Powstaje zatem pytanie, czy w populacji polskiej istnieje taka asocjacja.

W kontekście przedstawionych faktów i niewątpliwego efektu stratyfikacyjnego w badaniach asocjacyjnych interesujące wydaje się pytanie, czy polimorfizm Ala-9Val w genie dla MnSOD u osób w polskiej populacji jest związany z występowaniem schizofrenii oraz późnych dyskinez.

Cel pracy

W pracy podjęto próbę oceny funkcjonalnego polimorfizmu Ala-9Val w MTS genu dla manganowej dysmutazy ponadtlenkowej u osób chorych na schizofrenię z obecnością późnych dyskinez i u chorych bez towarzyszących objawów pozapiramidowych. Sformułowano następujące pytania badawcze:

– Czy istnieje genetyczna asocjacja pomiędzy polimorfizmem (Ala-9Val) w ludzkim genie MnSOD a schizofrenią?

– Czy występuje istotna statystycznie różnica w rozkładzie alleli (Ala-9Val) w ludzkim genie MnSOD między osobami chorymi z dyskinezami a osobami bez dyskinez?

– Czy polimorfizm (Ala-9Val) w ludzkim genie MnSOD wpływa na ryzyko zachorowalności na schizofrenię i na powstawanie późnych dyskinez?

Materiał i metody

Do badania zaproszono 122 osoby chore na schizofrenię paranoidalną leczone w Klinice Psychiatrii i Zaburzeń Nerwicowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (n = 80) oraz przebywające w Domu Pomocy Społecznej w Dąbrowie (n = 44). Rozpoznanie postawiono zgodnie z kryteriami zawartymi w *Klasyfikacji zaburzeń psy-*

chicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10, niezależnie przez 2 lekarzy psychiatrów [23]. Objawy późnych dyskinez występowały u 57 osób. Oceny klinicznej pacjentów dokonywano, stosując skalę PANSS, natomiast nasilenie TD oceniano, używając skali AIMS [24, 25]. Z uwagi na znaczne fluktuacje w nasileniu późnych dyskinez oceny objawów pozapiramidowych dokonano trzykrotnie, w odstępach tygodniowych. Końcową ocenę stanowiła średnia arytmetyczna z przeprowadzonych badań. Charakterystykę kliniczną i socjodemograficzną badanych grup przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Charakterystyka kliniczna i demograficzna pacjentów chorych na schizofrenię z późnymi dyskinezami lub bez nich oraz grupy kontrolnej

Badana grupa	Pacjenci z objawami późnych dyskinez n = 57	Pacjenci bez objawów późnych dyskinez n = 65	Grupa kontrolna n = 74
Płeć (K/M)	21/36	26/39	34/40
Wiek (lata)	56,2±10,2	54,7±9,4	49,8±6,1
Wiek zachorowania (lata)	22,8±5,3	23,9±6,7	X
Długość trwania choroby (lata)	29,7±12,4	30,4±10,5	X
Wiek pierwszej dawki neuroleptyku (lata)	23,7±5,4	24,0±5,2	X
Obecna dawka neuroleptyku (ekwiwalent chlorpromazyny)	318,3±171,1	328,5±150,2	X
Wywiad w kierunku chorób psychicznych w rodzinie (tak/nie)	21/36	21/44	0/74
Wynik skali AIMS	5,8±3,2	X	X
Wynik skali PANSS: P/N/G	24,4±4,8/22,5±4,8/41,2±11,8	25,1±7,7/18,9±6,1/42,5±13,3	X

Kwalifikując badanych do grupy z objawami późnych dyskinez wykluczono pacjentów z manieryzmami ruchowymi związanymi ze schizofrenią, osoby po udarze mózgu lub urazie głowy z utratą przytomności, nadczynnością tarczycy, niedoczynnością przytarczyc, ruchami płaśawicznymi wynikającymi z ubytków w uzębieniu. Żadna z badanych osób nie była upośledzona umysłowo, nie miała padaczki, wywiadu w kierunku uzależnienia od substancji psychoaktywnych oraz poważnych chorób somatycznych, takich jak cukrzyca, choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze. Grupę kontrolną stanowiły zdrowe osoby po 45 roku życia z negatywnym wywiadem rodzinnym w kierunku chorób psychicznych. Wszystkie osoby, zdrowe i chore, paliły papierosy. Nie znaleziono wystarczającej grupy chorych z objawami późnych dyskinez niepalących tytoniu i spełniających kryteria włączenia. W związku z tym grupę porównawczą dobrano spośród osób zdrowych uzależnionych od nikotyny. Możliwość zachorowania osób mających jeden z ocenianych genotypów, w porównaniu z osobami pozbawionymi tego genotypu, obliczono na podstawie względnego ryzyka zachorowania (RR – relative risk) według Svejgaarda i wsp. [26].

DNA izolowano z krwi pełnej metodą fenolową [27]. Wyizolowane DNA wykorzystywano do amplifikacji sekwencji MTS ludzkiego genu MnSOD stosując startery: 5'CAGCAGATCGGCGGCATCAG3' oraz 5'CATCATCTGCGCCTTGATGT3'.

Produkt amplifikacji o długości 172 pz trawiono enzymem restrykcyjnym BsaWI i rozdzielono na 6% żelu poliakryloamidowym. Jeżeli w próbce występował genotyp Val-9Val, otrzymywano wynik w postaci 87 pz oraz 85 pz. Jeśli była ona heterozygotą – otrzymywano 172 pz, 87 pz i 85 pz, a przy homozygocie Ala-9Ala – obraz 172 pz.

Obliczenia statystyczne wykonano na komputerze typu IBM PC, wykorzystując pakiet zautomatyzowanej analizy statystycznej Statistica 5,1 PL (SN:SP8018052912G5). Istotność statystyczną oznaczono dla $p < 0,05$.

Oceniona na podstawie prawa Hardy'ego–Weinberga moc statystyczna dla grupy kontrolnej wyniosła: $\chi^2 = 6,77$, $df = 2$, $p = 0,034$, natomiast dla grupy badanej z objawami późnych dyskinez: $\chi^2 = 65,16$, $df = 2$, $p < 0,001$, a dla grupy chorych bez objawów późnych dyskinez: $\chi^2 = 4,35$, $df = 2$, $p = 0,11$.

Na badanie wyraziła zgodę Komisja Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (decyzja nr RNN/17/04/KB).

Wyniki

Częstość alleli i rozkład genotypów w badanym (Ala-9Val) polimorfizmie genu dla MnSOD u pacjentów ze schizofrenią i w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli 2. Różnica częstości występowania alleli osiągała poziom istotności – wyniosła: $\chi^2 = 15,3$, $df = 1$, $p < 0,001$, a w rozkładzie genotypów między badanymi grupami: $\chi^2 = 24,12$, $df = 2$, $p < 0,001$.

Tabela 2

Rozkład genotypów i częstość alleli polimorfizmu Ala-9Val w grupie chorych na schizofrenię i grupie kontrolnej

	Częstość alleli ^A		Podział genotypów ^B		
	-9Val	-9Ala	Ala/Alan (%)	Ala/Valn (%)	Val/Valn (%)
Grupa kontrolna (n = 74)	45,95%	54,05%	28 (37,84%)	24 (32,43%)	22 (29,73%)
Chorzy na schizofrenię (n = 122)	73,77%	26,23%	13 (10,65%)	38 (31,15%)	71 (58,20%)

A – $\chi^2 = 15,3$; $df = 1$; $p < 0,001$

B – $\chi^2 = 24,12$; $df = 2$; $p < 0,001$

W tabeli 3 przedstawiono rozkład genotypów i częstość alleli w grupie kontrolnej oraz u pacjentów z objawami i bez objawów późnych dyskinez. Różnica w rozkładzie genotypów między grupą osób z TD a grupą kontrolną osiągnęła istotność statystyczną ($\chi^2 = 37,80$; $df = 2$; $p < 0,001$). Stwierdzono także istotną statystycznie różnicę między chorymi na schizofrenię z TD a chorymi bez TD ($\chi^2 = 23,62$; $df = 2$; $p < 0,001$). Rozkład alleli także różnicował grupę kontrolną z osobami z objawami późnych dyskinez ($\chi^2 = 5,74$; $df = 1$; $p < 0,05$).

Względne ryzyko zachorowania (RR) na schizofrenię u osób mających w badanym polimorfizmie dla MnSOD genotyp Val-9Val jest ponad trzykrotnie (RR = 3,29) wyższe niż u osób niemających tego genotypu. W grupie osób chorych na schizofrenię posia-

danie genotypu Val-9Val w miejscu funkcjonalnego polimorfizmu dla genu dysmutazy manganowej zwiększa ryzyko wystąpienia późnych dyskinez blisko dziesięciokrotnie (RR = 9,8).

Oceniając korelację pomiędzy genotypem, częstością alleli (Ala-9Val) polimorfizmu a danymi socjodemograficznymi i klinicznymi chorych na schizofrenię, nie zaobserwowano żadnych istotnych statystycznie współzależności, choć wystąpiła bliska istotności korelacja między genotypem Val-9Val a objawami negatywnymi choroby ($p = 0,075$) (tab. 4). Oceniano dane demograficzne przedstawione w tabeli 1.

Tabela 3

Rozkład genotypów i częstość alleli polimorfizmu Ala-9Val w grupach chorych z objawami i bez objawów późnych dyskinez oraz w grupie kontrolnej

	Częstość alleli ^C		Podział genotypów ^{A, B}		
	-9Val	-9Ala	Ala/Ala n (%)	Ala/Val n (%)	Val/Val n (%)
Grupa kontrolna (n = 74)	45,95%	54,05%	28 (37,84%)	24 (32,43%)	22 (29,73%)
Chorzy z objawami TD (n = 57)	89,47%	10,53%	1 (1,76%)	10 (17,54%)	46 (80,70%)
Chorzy bez objawów TD (n = 65)	60%	40%	12 (18,46%)	28 (43,08%)	25 (38,46%)

A – grupa kontrolna versus chorzy z objawami TD: $\chi^2 = 37,80$; $df = 2$; $p < 0,001$

B – chorzy z objawami TD versus chorzy bez objawów TD: $\chi^2 = 23,62$; $df = 2$; $p < 0,001$

C – grupa kontrolna versus chorzy z objawami TD: $\chi^2 = 5,74$; $df = 1$; $p < 0,05$

Tabela 4

Korelacje pomiędzy genotypem, częstością alleli (Ala-9Val) polimorfizmu a danymi socjodemograficznymi i klinicznymi chorych na schizofrenię

Chorzy na schizofrenię (n = 122)		Rozkład genotypów		
		Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val
Wiek		0,06	0,01	-0,15
Wiek zachorowania		0,09	0,02	-0,06
Długość trwania choroby		0,02	-0,08	-0,11
Wiek pierwszej dawki neuroleptyku		0,05	0,04	-0,05
Aktualna dawka neuroleptyku		-0,02	-0,06	0,17
AIMS # (n=57)		-0,05	0,09	0,22
PANSS	P	0,04	0,02	0,08
	N	-0,09	0,09	0,28*
	G	0,09	-0,02	0,09

* $p = 0,075$; # – dotyczy pacjentów z objawami późnych dyskinez

Omówienie wyników

W latach osiemdziesiątych zwrócono uwagę, że wielu chorobom psychicznym towarzyszą dyskretne zmiany anatomiczne struktury mózgowia, które są związane z zaburzonym rozwojem ośrodkowego układu nerwowego (hipoteza neurorozwojowa

schizofrenii) [13]. Przyjęcie perspektywy badawczej paradygmatu neurorozwojowego schizofrenii zwróciło uwagę na udział apoptozy w patogenezie schizofrenii i na rolę stresu oksydacyjnego jako potencjalnego źródła uszkodzenia mózgowia [28, 29]. Celem naszej pracy było zbadanie asocjacji genetycznego polimorfizmu enzymu antyoksydacyjnego ze schizofrenią, gdyż kilkakrotnie wykazywano obniżenie się enzymatycznej aktywności antyoksydacyjnej u chorych na schizofrenię [11, 30, 31, 32].

Wyniki naszych badań wykazały istotną asocjację między polimorfizmem genu dla MnSOD a schizofrenią. Genotyp Ala-9Ala występuje znacznie częściej u osób zdrowych niż chorych na schizofrenię, co może sugerować jego ochronną funkcję. Wykazaliśmy także, że genotyp Val-9Val jest czynnikiem ryzyka dla schizofrenii. Posiadanie tego genotypu zwiększa ryzyko zachorowania ponad trzykrotnie. Wcześniejsze badania przeprowadzone wśród ludności azjatyckiej nie wykazały żadnej asocjacji pomiędzy polimorfizmem (Ala-9Val) w MTS genu dla MnSOD a schizofrenią [33, 34]. Akyol i wsp. [35], badając polimorfizm genu dla MnSOD w populacji tureckiej, wykazali natomiast pozytywną korelację między genotypem Ala-9Val a schizofrenią. Sugerują także, podobnie jak my, że genotyp Ala-9Ala może chronić przed wystąpieniem schizofrenii. Wydaje się, że przytoczone badanie populacji tureckiej ma pewne ograniczenia, grupę kontrolną dobrano bowiem spośród osób w wieku między 17 a 73 rokiem życia, nie stosując pozytywnego wywiadu rodzinnego jako czynnika wyłączenia. Trudno zatem wykluczyć późniejsze zachorowania w tej grupie, gdyż dopiero po 45 roku życia wyraźnie zmniejsza się ryzyko zachorowania na schizofrenię.

Jądra podstawy są w szczególności narażone na oksydacyjne uszkodzenie ze względu na intensywny metabolizm tlenowy, wysokie stężenie dopaminy i dużą zawartość żelaza, oraz niską aktywność enzymów antyoksydacyjnych [4]. Stosowanie neuroleptyków zwiększa stężenie dopaminy w prążkowie i pośrednio nasila stres oksydacyjny [36]. Wykazano również, że neuroleptyki hamują aktywność kompleksu I łańcucha oddechowego (dehydrogenazy NADH: ubichinon), zwiększając wytwarzanie ROS przez mitochondria. Hamowanie kompleksu I naraża OUN na przewlekły stres oksydacyjny [37]. Powszechnie znana toksyna wywołująca objawy pozapiramidowe 1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyna (MPTP) jest właśnie inhibitorem mitochondrialnego kompleksu I [38]. Niektórzy uważają, że to hamowanie kompleksu I, a nie blokada receptorów dopaminowych, jest przyczyną polekowych objawów pozapiramidowych [39]. Dodatkowo, dwuwartościowe żelazo, wchodząc w reakcję z ROS (reakcja Fentona), katalizuje powstawanie szczególnie toksycznego rodnika hydroksylowego inicjującego proces peroksydacji lipidów [40]. Zrozumiały wydaje się zatem fakt, że MnSOD, enzym ochraniający mitochondria przed ROS i zmiatający O_2^- , wzbudza zasadne zainteresowanie badaczy zajmujących się objawami pozapiramidowymi w schizofrenii.

Hori i wsp. [33] wykazali pozytywną asocjację allelu -9Val z wystąpieniem późnych dyskinez u pacjentów ze schizofrenią, przeciwnie Zhang i wsp. [34] – nie zaobserwowali istotnych różnic w polimorfizmie Ala-9Val w populacji chińskiej u osób z objawami późnych dyskinez. Ostatnie badanie wydaje się jednak trudne do interpretacji, gdyż dotyczyło jedynie mężczyzn, a jak wykazało kilka badań – płeć żeńska może być czynnikiem ryzyka dla TD [41, 42]. Akyol i wsp. [35] dostrzegli istotną statystycznie

asocjację między genotypem Ala/Val a osobami chorymi na schizofrenię oraz między wspomnianym genotypem a obecnością dyskinez w populacji tureckiej [35].

Nasze wyniki wskazują na silną asocjację między funkcjonalnym polimorfizmem zarówno w rozkładzie alleli, jak i genotypów ocenianego genu MnSOD. Akyol i wsp. uważają, że allel -9Val może być zarówno czynnikiem ryzyka schizofrenii, jak i wystąpienia późnych dyskinez. Obserwacje te zgodne są z naszymi wynikami. W populacji tureckiej genotyp Ala-9Val został skorelowany z objawami TD, natomiast nie została wykazana istotność tej korelacji między osobami z objawami i bez objawów pozapiramidowych. Nasze badania wykazały istotną statystycznie różnicę między osobami z objawami i bez objawów TD w przebiegu schizofrenii.

Funkcjonalny polimorfizm Ala-9Val w genie dla MnSOD jest odpowiedzialny za skuteczny transport białka enzymatycznego do mitochondrium, gdzie spełnia ono swą fizjologiczną rolę. Mn-SOD dysmutuje anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-) powstały wskutek „przebiegu” łańcucha oddechowego w mitochondrium. Dlatego też osoby z genotypem Val-9Val w MTS dla genu MnSOD mogą odznaczać się mniejszą ekspresją dysmutazy manganowej w mitochondrium. Skutkuje to nasilonym wytwarzaniem ROS przez mitochondria. Uszkodzone oksydacyjnie mitochondria poprzez uwolnienie cytochromu C i innych czynników białkowych indukują apoptozę w OUN i powodują uszkodzenia neuronów ruchowych [43, 44].

Apoptoza indukowana przez nadmiar O_2^- w mitochondriach doprowadza w okresie rozwoju mózgu do dyskretnych zmian anatomicznych. Te, w trakcie dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego, modulują zmiany neurorozwojowe. Te same procesy w okresie starzenia się organizmu doprowadzają do deficytów funkcji poznawczych, powstania objawów pozapiramidowych i w sumie – do postępu choroby. Paradoksalnie, neuroleptyki pierwszej generacji, hamując kompleks I mitochondriów i nasilając oksydacyjny metabolizm amin katecholowych, przyspieszają te zmiany. Fakt wywoływania późnych dyskinez oraz nasilenia deficytów funkcji poznawczych przez neuroleptyki pierwszej generacji jest powszechnie znany klinicytom.

Kończąc dyskusję, należy podkreślić ograniczenia w interpretacji wyników przedstawionej pracy. Zarówno liczba osób grupy kontrolnej, jak i badanej, oraz niska moc statystyczna wynikająca z prawa Hardy'ego–Weinberga ma istotne znaczenie w interpretacji wyników. Dlatego też niezbędne są dalsze badania (wieloośrodkowe) w większej grupie pacjentów, by ostatecznie rozstrzygnąć podjęty problem badawczy.

Wnioski

1. W polskiej populacji istnieje istotna statystycznie asocjacja między predyspozycją do zachorowania na schizofrenię a genotypem Val-9Val w genie dla ponadtlenkowej dysmutazy manganowej.
2. U osób chorych na schizofrenię mających genotyp Val-9Val w genie dla MnSOD istnieje blisko dziesięciokrotnie wyższe ryzyko wystąpienia późnych dyskinez niż u osób niemających tego genotypu.

3. Ryzyko zachorowania na schizofrenię u osób posiadających genotyp Val-9Val w genie dla MnSOD jest ponad trzykrotnie wyższe niż u osób niemających tego genotypu.

Полиморфизм гена марганцевой окиси (Mn SOD) у больных с симптомами поздних дискинезов при шизофрении, проживающих в центральной Польше

Содержание

Вступление. Поздние дискинезы (ПД) являются серьезными побочными симптомами, появляющимися во время многолетнего лечения нейролептиками. ПД, в среднем, появляются у 20% больных с постоянным приемом этих препаратов. Гипотеза „свободных радикалов” поздних дискинезов указывает на возможность появления этих осложнений в результате повреждения холинэргических нейронов в экстрапирамидной системе реактивными формами кислорода (РСК). Основной ролью в защите перед РСК играет марганцевая окись (Mn SOD).

Задание. Целью настоящей работы была оценка функционального полиморфизма гена марганцевой окиси для Mn SOD у больных шизофренией с наличием поздних дискинезов.

Метод. Для исследования выделена группа 122 больных параноидной шизофренией. Симптомы ПД присутствовали у 57 человек. Оценка состояния больных проведена по шкале ПАНСС, тогда как утяжеление этих симптомов при помощи шкалы АИМС. Отмечена статистически достоверная черта в частоте появления аллели ($p < 0,001$) и в разложении генотипов между группой больных с ПД и контрольной ($p < 0,001$). Разложение аллелей также различало контрольную группу от больных с симптомами ПД ($p < 0,05$). Возможный риск заболевания шизофренией и появление ПД зависит от генотипа в гене Val 9 Val.

Выводы. 1. В польской популяции существует статистически существенная ассоциация между заболеваемостью шизофренией и генотипом Val 9 Val в гене для марганцевой окиси дисмутазы. 2. Больные шизофренией с генотипом Val 9 Val в гене для Mn SOD содержат почти десятикратный риск появления поздних дискинезов, нежели лица, не обладающие этим генотипом. 3. Риск заболевания шизофренией у лиц с генотипом Val 9 Val в гене для Mn SOD более чем в три раза выше, чем у лиц не содержащих этого генотипа.

Polymorphismus des Gens der Mangan Superoxiden Dismutase (MnSOD) bei Personen mit Symptomen von späten Dyskinesen in der Schizophrenie bei Patienten vom zentralen Polen

Zusammenfassung

Einleitung. Späte Dyskinesen (TD) sind ernste Nebenwirkungen, die nach mehreren Jahren Behandlung mit Neuroleptika auftreten. Sie treten im Durchschnitt bei 20% Personen auf, die chronisch Neuroleptika einnehmen. Die „freies Radikal“- Hypothese der späten Diskinesen nimmt an, dass sie infolge einer Verletzung von cholinergischen Neuronen im außerpyramidalen System durch die reaktive Oxygenformen (ROS) entstehen. Eine Schlüsselrolle beim Schutz von ROS spielt die Mangan Superoxide Dismutase (MnSOD).

Ziel. Das Ziel der Arbeit war die Beurteilung vom funktionellen Polymorphismus des Gens für MnSOD bei den an Schizophrenie kranken Personen mit späten Dyskinesen.

Methode. Zur Studie wurden 122 Personen eingeladen, die an paranoide Schizophrenie krank waren. Die TD - Symptome traten bei 57 Personen auf. Die Beurteilung wurde mit der PANSS - Skala durchgeführt, und die TD - Intensität mit der AIMS - Skala.

Ergebnisse. Man merkte eine statistische Bedeutung bei der Häufigkeit der Allelen ($p < 0,001$) und in der Verteilung von Genotypen zwischen der Kontrollgruppe und den Schizophrenkranken ($p < 0,001$) und in der Verteilung von Genotypen zwischen der Gruppe der Personen mit TD und der Kontrollgruppe. Die Verteilung der Allelen unterschied auch die Kontrollgruppe von den Personen mit

Symptomen von späten Dyskinesen ($p < 0,05$). Ein relatives Risiko der Erkrankung an Schizophrenie und Entstehung von TD hängt vom Genotyp im Gen für MnSOD ab.

Schlussfolgerungen. 1. In der polnischen Population existiert eine statistisch signifikante Assoziation zwischen der Erkrankung an Schizophrenie und dem Genotyp Val-9Val im Gen für die Mangan Superoxide Dismutase. 2. Die an Schizophrenie kranken Personen, die den Genotyp Val-9Val im Gen für MnSOD besitzen, haben fast zehnmal höheres Risiko des Auftretens von späten Dyskinesen als die Personen, die diesen Genotyp nicht besitzen. 3. Das Risiko für die Erkrankung an Schizophrenie bei den Personen, die den Genotyp Val-9Val im Gen für MnSOD haben, ist fast dreimal höher als bei den Personen, die diesen Genotyp nicht haben.

Le polymorphisme du gène pour la dismutase manganique superoxyde (MnSOD) chez les patients de la région de la Pologne centrale, souffrant des dyskinésies tardives au cours de la schizophrénie

Résumé

Introduction. Les dyskinésies tardives (TD) sont les symptômes secondaires graves résultant de la thérapie de longue durée des neuroleptiques. On les note moyennement chez 20% de patients suivant la thérapie des neuroleptiques. L'hypothèse « des radicaux libres » trouve que TD résultent de l'endommagement des neurones cholinergiques du système extra-pyramide par les formes réactives de l'oxygène (ROS – reactive oxygen species). La dismutase manganique superoxyde (MnSOD) joue le rôle central dans la protection contre ROS.

Objectif. Analyser le rôle du polymorphisme fonctionnel du gène pour MnSOD chez les schizophrènes souffrant aussi des TD (dyskinésies tardives).

Méthode. On examine 122 patients souffrant de la schizophrénie paranoïde dont 57 souffrent aussi de TD. On use l'échelle PANSS, pour mesurer l'intensité de TD on use l'échelle AIMS.

Résultats. On note les relations statistiques valables de la fréquence des allèles ($p < 0,001$) et de la disposition des génotypes dans le groupe du contrôle et les patients ($p < 0,001$) et de la disposition des génotypes des patients avec TD et le groupe de contrôle ($p < 0,001$). La disposition des allèles aussi différencie le groupe de contrôle et les patients avec TD ($p < 0,05$). Le risque relatif de la schizophrénie accompagnée de TD dépend du génotype du gène pour MnSOD.

Conclusions. 1. Dans la population polonaise on note les relations statistiques valables du risque de la schizophrénie et le génotype Val-9Val du gène pour MnSOD. 2. Les schizophrènes avec le génotype Val-9Val du gène pour MnSOD ont le risque dix fois plus grand des TD que les personnes sans ce génotype. 3. Le risque de la schizophrénie des personnes avec le génotype Val-9Val du gène pour MnSOD est trois fois plus grand que des personnes sans ce génotype.

Piśmiennictwo

1. Glazer WM. *Rewiev of incidence studies of tardive dyskinesia associated with typical antipsychotics.* J. Clin. Psychiatry 2000; 61: 15–20.
2. Swartz JR, Burgoyne K, Smith M, Gadasally R, Ananth J, Ananth K. *Tardive dyskinesia and ethnicity: review of the literature.* Ann. Clin. Psychiatry 1997; 9: 53–59.
3. Casey DE. *Tardive dyskinesia: pathophysiology and animal models.* J. Clin. Psychiatry 2000; 61: 5–9.
4. Tsai G, Goff DC, Chang RW, Flood J, Baer L, Coyle JT. *Markers of glutamatergic neurotransmission and oxidative stress associated with tardive dyskinesia.* Am. J. Psychiatry 1998; 155: 1207–1213.
5. Saltz BL, Woerner MG, Kane JM, Lieberman JA, Alvir JM. *Prospective study of tardive dyskinesia incidence in the elderly.* JAMA 1991; 266: 2402–2406.
6. Miller R, Chouinard G. *Loss of striatal cholinergic neurons as a basis for tardive and L-Dopa-induced dyskinesias, neuroleptic-induced sensitivity psychosis and refractory schizophrenia.* Biol. Psychiatry 1993; 34: 713–738.

7. Schadev PS. *The current status of tardive dyskinesia*. Aust. N. Z. J. Psychiatry 2000; 34: 355–369.
8. Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M. *Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder*. Cell. Biochem. Funct. 2002; 20: 171–175.
9. Petronijevic ND, Micic DV, Duricic B. *Substrate kinetics of erythrocyte membrane Na,K-ATPase and lipid peroxides in schizophrenia*. Progr. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 2003; 27: 431–440.
10. Srivastava N, Barthwal MK, Dalal PK. *Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients*. Psychopharmacol. 2001; 158: 140–145.
11. Akyol O, Herken H, Uz E. *The indices of endogenous oxidative and antioxidative processes in plasma from schizophrenic patients. The possible role of oxidant/antioxidant imbalance*. Progr. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry 2002; 26: 995–1005.
12. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG. *Effects of haloperidol on antioxidant defense system enzymes in schizophrenia*. J. Psychiatr. Res. 1998; 32: 385–391.
13. Weinberger DR. *From neuropathology to neurodevelopment*. Lancet 1995; 346: 552–557.
14. Halliwell B. *Reactive oxygen species and the central nervous system*. J. Neurochem. 1992; 59: 1609–1623.
15. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. *Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the Cu,ZnSOD (sod1), MnSOD (sod2), and EC-SOD (sod3) gene structures, evolution, and expression*. Free Radic. Biol. Med. 2002; 33: 337–349.
16. Church SL, Grant JW, Meese EU, Trent JM. *Sublocalization of the gene encoding manganese superoxide dismutase (MnSOD/SOD2) to 6q25 by fluorescence in situ hybridization and somatic cell hybrid mapping*. 1992; 14: 823–825.
17. Modlin SO, Gottesman II. *At issue: genes, experience, and chance in schizophrenia-positioning for the 21st century*. Schizophr. Bull. 1997; 23: 547–561.
18. Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, Nakagawa-Hattori Y, Shimizu Y, Mizuno Y. *Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996; 226: 561–565.
19. Borgstahl GEO, Parge HE, Hickey MJ, Johnson MJ, Boissinot M, Hallewell RA. *Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface*. Biochemistry 1996; 43: 863–867.
20. Matsumine H, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, Tanaka H, Ishikawa A. *Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile parkinsonism to chromosome 6q25.2-27*. Am. J. Hum. Genet. 1997; 60: 588–596.
21. Lemire BD, Fankhauser C, Baker A, Schatz G. *The mitochondrial targeting function of randomly generated peptide sequences correlates with predicted helical amphiphilicity*. J. Biol. Chem. 1989; 264: 20206–20215.
22. Shimoda-Matsubayashi S, Hattori T, Matsumine H, Shinohara A, Yorikata A, Mori H, Kondo T. *MnSOD activity and protein in a patient with chromosome 6-linked autosomal recessive parkinsonism in comparison with Parkinson's disease and control*. Neurol. 1997; 49: 1257–1261.
23. *Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10. Opisy kliniczne i wskazówki diagnostyczne*. Kraków: Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius”; 1997.
24. Kay SR, Opler LA. *Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) rating manual*. San Rafael CA: Social and Behavioral Sciences Documents; 1987.
25. Simpson GH, Angus JW. *A rating scale for extrapyramidal side effect*. Acta Psychiatr. Scand. 1970; 212: 11–19.
26. Svejgaard I. *HLA and disease, 1982 – a survey*. Immunol. Rev. 1983; 70: 193.
27. Sambrook J, Russell DW. *Molecular cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

28. Durany N, Thome J. *Neurotrophic factors and the pathophysiology of schizophrenic psychoses*. Eur. Psychiatry 2004; 19: 326–337.
29. Valencia A, Moran J. *Reactive oxygen species induce different cell death mechanism in cultured neurons*. Free Rad Biol Med. 2004; 36: 1112–1125.
30. Kahl R, Kampkotter A, Watjen W, Chovolou Y. *Antioxidant enzymes and apoptosis*. Drug Metabol. Rev. 2004; 36: 747–762.
31. Michell TM, Thome J, Martin D, Nara K, Zwerina S, Koutsilieri E. *Cu, Zn- and Mn-superoxide dismutase levels in brains of patients with schizophrenic psychosis*. J. Neural. Transm. 2004; 111: 1191–201.
32. Gałecki P, Nowakowski T. *Trace elements (copper, zinc) content and superoxide dismutase activity in erythrocytes from schizophrenic patients*. Acta Psychiatr. Scand. 2004 (supl.); 421: 14.
33. Hori H, Ohmori O, Shinakai T, Kojima H, Okano C, Suzuki T, Nakamura J. *Manganese superoxide dismutase gene polymorphism and schizophrenia: relation to tardive dyskinesia*. Neuro-psychopharmacol. 2000; 23: 170–176.
34. Zhang ZJ, Zhang XB, Hou G, Sha WW, Reynolds GP. *The increased activity of plasma manganese superoxide dismutase in tardive dyskinesia is unrelated to the Ala-9Val polymorphism*. J. Psychiatr. Res. 2002; 26: 317–324.
35. Akyol O, Yanik M, Elyas H, Namli M, Cnatan H, Zoroglu SS. *Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia*. Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry 2005; 29: 123–131.
36. Jeste DV, Lohr JB, Manley M. *Study of neuropathologic changes in the striatum following 4, 8 and 12 months of treatment with fluphenazine in rats*. Psychopharmacol. 1992; 106: 154–160.
37. Karry R, Klein E, Ben Shachar D. *Mitochondrial complex I subunits expression is altered in schizophrenia: a postmortem study*. Biol. Psychiatry 2004; 55: 676–684.
38. Prince JA, Yassin MS, Orelund L. *Neuroleptic-induced mitochondrial enzyme alterations in the rat brain*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1997; 280: 261–267.
39. Di Monte DA, McCormack A, Petzinger G, Janson AM, Langston WJ. *Relationship among nigrostriatal denervation, parkinsonism, and dyskinesias in the MPTP primate model*. Mov. Disord. 2000; 15: 459–466.
40. Ossowska K. *Neuronal basis of neuroleptic-induced extrapyramidal side effects*. Pol. J. Pharmacol. 2002; 54: 299–312.
41. Kane JM, Smith JM. *Tardive dyskinesia: prevalence and risk factors, 1959 to 1979*. Arch. Gen. Psychiatry 1982; 37: 473–481.
42. Yassa R, Jeste DV. *Gender differences in tardive dyskinesia: a critical review of the literature*. Schizophr. Bull. 1992; 18: 701–715.
43. Pietras T. *Udział nieprawidłowej czynności łańcucha oddechowego mitochondriów w patogenezie schizofrenii*. Post. Psychiatr. Neurol. 2004; 13: 135–144.
44. Joseph J, Denisova N, Strain J. *Oxidative stress and age related neuronal deficits*. Mol. Chem. Neuropath. 1996; 28: 35–40.

Adres: Piotr Gałecki
Klinika Psychiatrii Dorosłych
Uniwersytetu Medycznego
ul. Aleksandrowska 159
91-229 Łódź

Otrzymano: 22.08.2005
Zrecenzowano: 2.11.2005
Przyjęto do druku: 12.05.2006