Psychiatr. Pol. 2022; 56(5): 1003–1016
PL ISSN 0033-2674 (PRINT), ISSN 2391-5854 (ONLINE)
www.psychiatriapolska.pl
DOI: https://doi.org/10.12740/PP/140889

Badania genów kandydujących profilaktycznej skuteczności litu przeprowadzone na Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Studies on candidate genes for lithium prophylactic efficacy performed at the Poznan University of Medical Sciences

Ewa Ferensztajn-Rochowiak[1], Monika Dmitrzak-Weglarz[2], Aleksandra Szczepankiewicz[3], Maria Skibińska[2], Sebastian Kliwicki[1], Agnieszka Permoda-Pachuta[1], Aleksandra Suwalska[1], Piotr Czerski[2], Joanna Pawlak[2], Joanna Twarowska-Hauser[2], Janusz K. Rybakowski[1]

[1] Klinika Psychiatrii Dorosłych, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

[2] Zakład Genetyki w Psychiatrii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

[3] Pracownia Badań Komórkowych i Molekularnych Kliniki Pneumologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Summary

Lithium is a drug of choice as a mood-stabilizer for the maintenance treatment of bipolar disorder (BD). The prophylactic efficacy of lithium can be determined by genetic factors, partially related to a predisposition to bipolar disorder. In the field of psychiatric genetics, the first decade of the 21st century was dominated by the "candidate gene" research. In this paper, the studies on candidate genes associated with lithium prophylaxis performed at the Poznan University of Medical Sciences in 2005–2018 are presented. During this time, the polymorphisms of multiple genes have been investigated, many of which are also associated with a predisposition to bipolar disorder. The associations with lithium prophylactic efficacy were found for the polymorphisms in *5HTT*, *ACP1*, *ARNTL*, *BDNF*, *COMT*, *DRD1*, *FKBP5*, *FYN*, *GLCC*, *NR3C1*, and *TIM* genes, but not those in *5HT2A*, *5HT2C*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*, *GRIN2B*, *GSK-3β*, *MMP-9*, and *NTRK2* genes. The polymorphism of the *GSK-3β* gene was found to be associated with the kidney side-effects occurring during lithium therapy. Possible roles for these genes in both the mechanism of lithium prophylactic efficacy and pathogenesis of bipolar disorder were discussed.

Słowa klucze: choroba afektywna dwubiegunowa, profilaktyka litem, geny kandydujące

Key words: bipolar disorder, lithium prophylaxis, candidate genes

Wstęp

Lit jest środkiem normotymicznym, stosowanym jako lek z wyboru w leczeniu profilaktycznym choroby afektywnej dwubiegunowej (ChAD). Lit jest skuteczny terapeutycznie w epizodach manii i depresji oraz wykorzystywany jest w celach potencjalizacji leczenia przeciwdepresyjnego w depresji lekoopornej. Oprócz właściwości przeciwmaniakalnych, przeciwdepresyjnych i normotymicznych lit wywiera działanie przeciwsamobójcze, immunomodulujące i neuroprotekcyjne. Lek może mieć działanie chroniące przed otępieniem, zaobserwowano także pewne korzystne jego efekty w chorobach neurodegeneracyjnych [1].

Termin *excellent lithium responders* (ELR) został wprowadzony przez kanadyjskiego psychiatrę Paula Grofa w odniesieniu do pacjentów, u których długotrwała monoterapia litem przyniosła radykalną zmianę w ich życiu, spowodowaną całkowitą remisją choroby [2]. Przez 10 lat obserwowaliśmy 60 pacjentów, którzy rozpoczęli profilaktykę litem w latach 70. XX wieku i 49 pacjentów rozpoczynających leczenie w latach 80. XX wieku. W tym okresie osoby bez epizodów choroby stanowiły 35% badanych z pierwszej grupy i 27% badanych z drugiej grupy, czyli mniej więcej jedną trzecią pacjentów z ChAD leczonych długoterminowo litem [3]. Według Grofa [4] u chorych z dobrą skutecznością litu epizody choroby oddzielone są eutymicznymi okresami remisji, nie występuje u nich współchorobowość dotycząca zaburzeń psychiatrycznych, a zaburzenia nastroju często występują rodzinnie. Taki obraz kliniczny może odpowiadać stanowi *manisch-depressives Irresein* opisanemu przez Emila Kraepelina [5]. W ostatnich dwóch dekadach zidentyfikowano wiele innych czynników klinicznych i biomarkerów związanych ze skutecznością profilaktyczną litu [6].

Zagadnienie czynników profilaktycznej skuteczności litu otworzyło obszar do badań genetyki molekularnej. W badaniach tych do drugiej dekady XXI wieku dominowała strategia „genu kandydującego". W takim podejściu konkretny gen na podstawie swojej funkcji testowany jest pod kątem możliwego udziału w patogenezie choroby lub mechanizmie leczenia farmakologicznego. Markery genetyczne o znanej funkcji lub zlokalizowane w potencjalnie ważnych regionach genomu są analizowane w badaniach typu *case-control* w celu określenia, czy dany wariant genu jest zaangażowany w patogenezę choroby lub farmakologiczny mechanizm jej leczenia. Taka strategia pozwala na identyfikację genów istotnych dla patogenezy i leczenia danego zaburzenia. Natomiast procedura ta jest ograniczona do wybranej liczby wskazanych genów i nie daje możliwości znalezienia nowych. Dotychczas przeprowadzono wiele badań profilaktycznej skuteczności litu w ChAD z wykorzystaniem metody genu kandydującego.

W 2013 roku przedstawiono aktualną wiedzę na temat genów kandydujących profilaktycznej skuteczności litu [7]. Geny te dotyczyły głównie przekaźnictwa serotoninowego, dopaminowego i glutaminowego, sygnalizacji wewnątrzkomórkowej fosfatydyloinozytolu (PI), cyklicznego monofosforanu adenozyny (cAMP) i kinazy białkowej C (PKC), enzymu kinazy syntazy glikogenu 3-β (GSK-3β), czynników neuroprotekcyjnych (np. czynnika neurotrofowego pochodzenia mózgowego – BDNF), genów rytmów biologicznych i kilku innych różnych genów (np. genów chromosomu 22q11-13).

Na Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2005–2018 przeprowadzono wiele badań nad genami kandydującymi profilaktycznej skuteczności litu, które zostaną przedstawione i omówione w artykule.

Wyniki badań ośrodka poznańskiego

Metodologia

Profilaktyczną skuteczność litu definiuje się jako ustąpienie lub zmniejszenie liczby epizodów maniakalnych i depresyjnych w trakcie długotrwałego podawania leku. U pacjentów leczonych litem w Klinice Psychiatrii Dorosłych UM w Poznaniu, objętych badaniami molekularno-genetycznymi profilaktyki litem, podawanie leku trwało co najmniej 5 lat, co pozwoliło na dokładną ocenę skuteczności leku. W większości badań pacjentów z bardzo dobrą skutecznością litu (bez nawrotów choroby) porównywano z osobami ze skutecznością częściową, tj. z redukcją nawrotów o połowę lub więcej w ciągu roku, w porównaniu z przebiegiem choroby przed zastosowaniem litu oraz z osobami z brakiem skuteczności litu, tj. redukcją mniej niż o połowę liczby epizodów rocznie, bez poprawy lub z pogorszeniem.

Kanadyjscy naukowcy wprowadzili w 2002 roku skalę umożliwiającą ilościową retrospektywną ocenę jakości profilaktycznej skuteczności litu. Martin Alda odegrał kluczową rolę w jej tworzeniu, stąd narzędzie często nazywane jest „skalą Aldy". W tym narzędziu badawczym nasilenie skuteczności leczenia litem, tj. ocena aktywności choroby, gdy pacjent otrzymuje odpowiednie leczenie, wyrażone jest w kryterium A w 10-stopniowej skali. Zgodnie z kryteriami B1–B5 należy ocenić związek między poprawą a leczeniem. Kryterium B1 ocenia liczbę epizodów, a B2 – częstość epizodów, gdy nie są leczone. B3 szacuje czas trwania leczenia, B4 – przestrzeganie zaleceń podczas eutymii, a B5 – stosowanie innych leków w okresach wyrównanego nastroju. Odjęcie wartości B od A daje całkowity wynik w przedziale od 0 do 10. Skala Aldy umożliwia ocenę jakościową (po określeniu punktu odcięcia poprawy) lub wymiarowe określenie skuteczności profilaktycznej litu [8]. Skala została zastosowana w projekcie Consortium of Lithium Genetics (ConLiGen) przeprowadzającym badanie asocjacyjne całego genomu (GWAS – *Genome-wide Association Study*) u dużej liczby pacjentów otrzymujących profilaktycznie lit, a także w naszych ostatnich badaniach genów kandydujących. W wieloośrodkowym badaniu wykorzystującym tę skalę zidentyfikowano dwie definicje skuteczności litu – jedną dychotomiczną, a drugą ciągłą. Wykazano również dobrą zgodność i rzetelność skali Aldy [9].

Czynnik neurotrofowy pochodzenia mózgowego (BDNF)

Neurotrofowy czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF – *Brain-derived Neurotrophic Factor*) jest niezbędny do funkcjonowania i przeżycia neuronów oraz moduluje aktywność takich neuroprzekaźników, jak glutaminian, kwas gamma-aminomasłowy, dopamina i serotonina. Polimorfizm Val66Met genu *BDNF* (rs6265) jest związany z predyspozycją do ChAD w populacji europejskiej [10]. Badania przeprowadzone

w Poznaniu wykazały, że allel Val polimorfizmu Val66Met u pacjentów z chorobą afektywną dwubiegunową warunkuje lepsze funkcje poznawcze związane z aktywnością kory przedczołowej. Zależność ta jest specyficzna dla ChAD i nie występuje u chorych na schizofrenię ani u osób zdrowych [11].

Badania eksperymentalne na zwierzętach wykazały, że lit zwiększa ekspresję BDNF w mózgu. Jednym z mechanizmów jest aktywacja przez lit białka wiążącego element odpowiedzi cAMP (CREB – *cAMP Response Element-binding Protein*), które stymuluje transkrypcję genu BDNF [12]. W badaniach klinicznych stężenie BDNF w surowicy zmniejszało się podczas epizodów zarówno manii, jak i depresji, a zwiększało się po skutecznym leczeniu farmakologicznym, w tym po zastosowaniu litu. Niskie stężenie BDNF uważa się za marker późnego stadium ChAD [13]. Wykazaliśmy jednak, że osoby z bardzo dobrą skutecznością litu nawet przy bardzo długim czasie trwania choroby miały prawidłowe stężenia BDNF w surowicy [14].

Nasz zespół jako pierwszy wykazał, że profilaktyczne działanie litu jest związane z polimorfizmem Val66Met genu *BDNF*. W badaniu 88 pacjentów z ChAD otrzymujących lit przez 5–27 lat (średnio 16 lat) stwierdziliśmy, że genotyp Val/Met i allel Met występowały częściej u osób z dobrą skutecznością litu ($n = 27$) niż u osób z brakiem skuteczności litu ($n = 16$) [15].

BDNF działa poprzez kinazę receptora tyrozynowego B (Trk), tworząc szlak transdukcji sygnału BDNF/TrkB, który może być zaangażowany w patogenezę ChAD [16]. Głównym genem związanym z Trk jest gen receptora kinazy tyrozynowej typu 2 (*NTRK2*), zlokalizowany w obszarze 9q22.1. Nasze kolejne badanie obejmowało 108 pacjentów z ChAD otrzymujących lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat), przy czym 23% z nich zostało sklasyfikowanych jako osoby z bardzo dobrą skutecznością litu, 51% jako osoby z częściową skutecznością litu, a 26% jako osoby z brakiem skuteczności litu. Przeanalizowaliśmy cztery polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP – *Single Nucleotide Polymorphisms*) genu *BDNF* i trzy SNP z genu *NTRK2*. Potwierdziliśmy powiązanie polimorfizmu Val/Met genu *BDNF*, a także polimorfizmu C/G (rs988748) tego genu z profilaktycznym efektem litu. Nie zaobserwowano jednak związku między skutecznością profilaktyczną litu a polimorfizmami genu *NTRK2* ani z interakcją genów *BDNF* i *NTRK2* [17].

Układ serotoninergiczny

Głównym elementem układu serotoninergicznego ocenianym w badaniach genetyki molekularnej w psychiatrii jest, znajdujący się w regionie regulacyjnym, polimorfizm promotora genu transportera serotoniny (*5-HTT*). Polimorfizm ten (5-HTTLPR – *Serotonin-transporter-linked Polymorphic Region*) ma dwa warianty alleliczne: wariant długi (l) i wariant krótki (s), funkcjonalnie związane z wydajnością transkrypcyjną i ekspresją białka 5-HTT. Allel s działa w sposób prawie dominujący, dlatego osoby z genotypem s/s i s/l można sklasyfikować jako osobniki S, a osoby z genotypem l/l jako osoby L. W badaniu poznańskim potwierdziliśmy wcześniejsze doniesienia wskazujące, że występowanie allelu s 5-HTTLPR może zwiększać ryzyko zarówno dwubiegunowych, jak i jednobiegunowych zaburzeń nastroju [18]. W innych

badaniach allel s wiązał się również z większym wpływem wydarzeń stresowych na wystąpienie depresji [19], a także gorszą odpowiedzią terapeutyczną na selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) w depresji [20].

Przebadano 67 pacjentów otrzymujących profilaktykę litową przez minimum 5 lat (średnio 15 lat), w tym 18 osób z bardzo dobrą odpowiedzią na leczenie, 35 osób z odpowiedzią częściową oraz 14 osób z brakiem skuteczności leczenia. Osoby ze słabym efektem profilaktyki litem miały istotnie częściej genotyp s/s oraz allel s niż osoby z bardzo dobrą i częściową skutecznością litu [21]. W tym względzie potwierdzono wcześniejsze ustalenia uzyskane przez badaczy włoskich [22].

W kolejnych badaniach oceniono interakcję między polimorfizmem Val/Met genu *BDNF* a polimorfizmem 5HTTLPR genu *5-HTT* w zakresie profilaktycznego działania litu. Badanie obejmowało 111 pacjentów z ChAD otrzymujących lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat). Trzydziestu jeden pacjentów charakteryzowało się bardzo dobrą skutecznością, 54 pacjentów częściową skutecznością, a 26 osób brakiem skuteczności profilaktycznej litu. Wykazano istotną interakcję między polimorfizmem Val/Met genu *BDNF* a polimorfizmem 5HTTLPR i efektem litu. Pacjenci z genotypem s/s lub s/l (osoby S) wraz z genotypem Val/Val byli nadreprezentowani w grupie pacjentów z brakiem skuteczności litu. Osoby te wykazywały duże różnice w zakresie profilaktycznego działania litu, w zależności od genotypu Val/Val lub allelu Met polimorfizmu genu *BDNF*. Osoby z genotypem Val/Val stanowiły 19% osób z dobrą skutecznością litu i 37% osób z brakiem skuteczności litu, podczas gdy osoby z allelem Met stanowiły 40% osób z dobrą skutecznością litu i tylko 3% osób z brakiem skuteczności litu. Wyniki te mogą wskazywać na istotną epistatyczną interakcję między polimorfizmem genu *5-HTTLPR* i *BDNF* a efektem leczenia profilaktycznego litem [23].

W oddzielnym badaniu oceniono możliwy związek profilaktycznego działania litu z polimorfizmami genów receptorów serotoninergicznych *5-HT2A* i *5-HT2C*. Nie wykazano żadnej asocjacji w tym zakresie [24].

Układ dopaminergiczny

Najistotniejsze badanie układu dopaminergicznego dotyczące profilaktyki litem przeprowadzone w Poznaniu dotyczyło genu receptora dopaminowego D1 (*DRD1*). DRD1 odgrywa ważną rolę w aktywności kory przedczołowej i związanej z nią optymalnej sprawności poznawczej [25]. Temat ten został zainicjowany przez nasze poprzednie badanie typu *case-control*, w którym wykazaliśmy związek między polimorfizmem – 48A/G (rs4532) tego genu a ChAD [26]. Podobny wynik uzyskali wcześniej włoscy badacze badający pacjentów na Sardynii [27]. Do badania litowego włączyliśmy 92 pacjentów (39 mężczyzn, 53 kobiety) otrzymujących lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat), w tym 24 pacjentów z bardzo dobrą odpowiedzią na leczenie, 48 pacjentów z odpowiedzią częściową i 20 pacjentów z brakiem skuteczności profilaktycznej litu. Okazało się, że częstość genotypu G/G polimorfizmu – 48A/G genu *DRD1*, związanego z predyspozycją do ChAD, była istotnie większa u osób z brakiem skuteczności profilaktycznej litu, w porównaniu z osobami z bardzo dobrą skutecznością (60% vs. 21%) [28].

Niedawno irańscy badacze w poszukiwaniu genów związanych ze skutecznością litu przeprowadzili analizę typu GSEA (*Gene Set Enrichment Analysis*). Wykazali między innymi, że region chromosomalny 5q34, w którym znajduje się gen *DRD1*, jest silnie powiązany ze skutecznością litu [29].

Zbadaliśmy także możliwe powiązania profilaktycznego działania litu i polimorfizmów genów receptorów dopaminergicznych *DRD2*, *DRD3* i *DRD4*. Nie uzyskaliśmy jednak żadnego związku między polimorfizmami tych genów a skutecznością litu [24].

Kolejnym badanym przez nas genem związanym z układem dopaminergicznym był gen katecholo-O-metylotransferazy (*COMT*). COMT bierze udział w enzymatycznej inaktywacji dopaminy. Gen *COMT* posiada funkcjonalny polimorfizm Val158Met (rs4680), który związany jest z predyspozycją do ChAD, a podatność na chorobę dotyczy głównie obecności allelu Met [30]. W naszym badaniu 101 pacjentów otrzymujących lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat), wśród których były 24 osoby z bardzo dobrą skutecznością, 51 osób ze skutecznością częściową i 26 osób z brakiem skuteczności litu, stwierdziliśmy, że osoby z bardzo dobrą skutecznością miały znacznie mniejsze prawdopodobieństwo posiadania genotypu Met/Met i allelu Met tego polimorfizmu. Podobnie jak w wypadku genów *BDNF*, *5-HTT* i *DRD1* funkcjonalny genotyp genu *COMT* predysponujący do ChAD wiązał się z gorszą skutecznością profilaktyczną litu [24].

Układ glutaminergiczny

FYN jest kinazą białkową funkcjonalnie związaną z receptorami glutaminergicznymi NMDA, która fosforyluje preferencyjnie podjednostkę GRIN2B receptora NMDA. FYN odgrywa również rolę w przewodzeniu sygnału w szlaku BDNF/TrkB. Badanie polimorfizmów genu *FYN* w odniesieniu do efektu profilaktycznego litu nastąpiło po naszych badaniach typu *case-control*, w których wykazaliśmy związek między niektórymi polimorfizmami tego genu a ChAD [31]. Grupa badana składała się ze 100 pacjentów z ChAD, którzy otrzymywali lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat). Wśród nich 24 pacjentów charakteryzowało się bardzo dobrą skutecznością litu, 51 pacjentów – częściową, a 26 pacjentów jej brakiem. Nie stwierdziliśmy żadnych istotnych różnic w dystrybucji genotypów oraz częstości alleli między polimorfizmami T/G i A/G genu *FYN* a skutecznością profilaktyki litem. Zaobserwowaliśmy natomiast trend w kierunku asocjacji genotypu TT i allelu T polimorfizmu T/C (rs3730353) z gorszą skutecznością litu [32]. Co ciekawe, w naszym poprzednim badaniu stwierdziliśmy taki związek z predyspozycją do ChAD [31].

Zbadaliśmy również możliwy związek profilaktycznego działania litu z dwoma polimorfizmami (rs73013328 i rs890) genu receptora glutaminergicznego *GRIN2B*. Nie znaleźliśmy jednak żadnego związku ze skutecznością litu [24].

Kinaza syntazy glikogenu-3 beta (GSK-3β)

GSK-3β jest kinazą serynowo/treoninową, która reguluje transkrypcję genów, wpływa na plastyczność synaptyczną, apoptozę, strukturę komórki, odporność na

stres i rytmy biologiczne. Hamowanie przez lit GSK-3β może mieć znaczenie dla efektu terapeutycznego w zaburzeniach nastroju [33]. Ponieważ GSK-3β jest również głównym enzymem metabolizmu białka prekursorowego amyloidu i fosforylacji białka *tau*, które odgrywają główną rolę patogenetyczną w chorobie Alzheimera, hamujący wpływ litu na ten enzym może determinować potencjalne działanie terapeutyczne litu w chorobach neurodegeneracyjnych [34]. Wpływ litu na GSK-3β może być również istotny przy wywoływaniu działań niepożądanych indukowanych litem, w tym w nerkach i tarczycy, jak również może być związany z przeciwsamobójczymi właściwościami tego jonu [35].

W 2005 roku włoscy naukowcy wykazali, że na skuteczność długoterminowej profilaktyki litem wpływa polimorfizm – 50C/T genu *GSK-3β* (rs334558). W ich grupie badanej lepszą skuteczność litu zaobserwowano u nosicieli zmutowanego allelu C tego polimorfizmu [36]. W naszym badaniu związek między skutecznością profilaktyki litem a polimorfizmem – 50C/T genu *GSK-3β* oceniono u 89 pacjentów z ChAD, którzy przyjmowali lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat), w tym u 23 pacjentów z bardzo dobrą odpowiedzią na leczenie, 47 pacjentów z odpowiedzią częściową i 19 pacjentów z brakiem skuteczności litu [37]. Nasze wyniki nie potwierdziły rezultatów zespołu Benedettiego [36].

W 2013 roku badaliśmy funkcjonalny polimorfizm – 50C/T genu *GSK-3β* w grupie osób długotrwale leczonych litem i ocenialiśmy jego związek z różnymi parametrami czynności nerek. Grupa badana składała się z 78 pacjentów z ChAD leczonych litem przez 5–38 lat (średnio 16 lat). Trzydziestu czterech pacjentów miało genotyp T/T, 37 pacjentów miało genotyp T/C, a 7 pacjentów miało genotyp C/C. Pacjenci homozygotyczni pod względem allelu C mieli istotnie wyższy ciężar właściwy moczu w porównaniu z pozostałymi genotypami [38]. Można zaznaczyć, że we włoskich badaniach allel C był związany z lepszą skutecznością profilaktyczną litu [36]. Wyniki naszego badania wskazują, że genotyp GSK-3β może być związany z zaburzeniem zdolności nerek do zagęszczania moczu u pacjentów z ChAD długotrwale leczonych litem.

Rytmy biologiczne

W regulacji rytmów biologicznych bierze udział kilka genów, zwanych genami „zegarowymi". Na poziomie genetyki molekularnej badania genów kandydujących wykazały, że niektóre geny zegarowe, takie jak *ARNTL*, *CLOCK*, *PER3*, *TIM*, są związane z predyspozycją do ChAD [39, 40]. Nasze badanie powyższych genów przeprowadziliśmy na 115 pacjentach z ChAD otrzymujących profilaktycznie lit przez 6–39 lat (średnio 22 lata). W badaniu wykorzystaliśmy skalę Aldy do retrospektywnej oceny skuteczności litu. Badano dziewięć polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) genu *CLOCK*, 18 SNP genu *ARNTL*, sześć SNP genu *TIM* i dziewięć SNP genu *PER3*. Związek ze skutecznością profilaktyki litem wykazano dla sześciu SNP i trzech bloków haplotypów genu *ARNTL* oraz dwóch SNP i jednego bloku haplotypów genu *TIM*. Nie stwierdzono związku z SNP ani haplotypami genów *CLOCK* i *PER3* [41].

Oś podwzgórze–przysadka–nadnercza (PPN)

Oś PPN zawiaduje głównym mechanizmem regulacji hormonalnej odpowiedzi na stres u ludzi. Różnice genetyczne dotyczące genów zaangażowanych w funkcję osi PPN mogą determinować różnice międzyosobnicze w odpowiedzi osi PPN na stres. Geny te obejmują: (1) gen kortykoliberyny (*CRH*); (2) gen białka wiążącego kortykoliberynę (*CRHBP*), (3) geny receptora 1 i 2 kortykoliberyny (*CRHR1* i *CRHR2*), (4) gen receptora glukokortykoidowego (*NR3C1*); (5) gen receptora mineralokortykoidowego (*NR3C2*) i (6) gen białka wiążącego FK506 (*FKBP5*). Przeprowadzono kilka badań, w tym w ośrodku poznańskim, w których wykazano związek między tymi genami a ChAD i niektórymi jej cechami [42–44].

W Poznaniu starano się ocenić związek polimorfizmów tych genów z działaniem profilaktycznym litu. W pierwszym badaniu wzięło udział 115 pacjentów z ChAD otrzymujących lit przez 5–27 lat (średnio 15 lat). Kryteria bardzo dobrej skuteczności litu spełniło 30 pacjentów, skuteczności częściowej – 58 pacjentów, a braku skuteczności 27 pacjentów. Przeprowadzono genotypowanie ośmiu polimorfizmów genu receptora glukokortykoidowego (*NR3C1*) (rs10052957, rs6196, rs6198, rs6191, rs258813, rs33388, rs6195, rs41423247) za pomocą testów Taq-Man SNP Genotyping Assays. Analiza nierównowagi sprzężeń została przeprowadzona za pomocą Haploview wersja 4.1. Wykazano istotne różnice w częstości występowania alleli dla polimorfizmu rs41423247 między pacjentami z różną skutecznością litu, a allel C wiązał się z bardzo dobrą skutecznością litu. W wypadku pozostałych badanych polimorfizmów genu *NR3C1* nie zaobserwowano związku z profilaktycznym działaniem litu. Stwierdziliśmy silną nierównowagę sprzężeń pięciu polimorfizmów genu *NR3C1* (rs6198, rs6191, rs6196, rs258813, rs33388). Haplotyp TAAGA był mniej rozpowszechniony u osób z bardzo dobrą skutecznością litu [45].

Drugie badanie obejmowało 93 pacjentów z ChAD otrzymujących węglan litu przez 5–27 lat (średnio 16 lat). Stopień profilaktycznej skuteczności litu oszacowaliśmy za pomocą skali Aldy. Wykonaliśmy genotypowanie 28 polimorfizmów w genach kodujących następujące białka zaangażowane w regulację osi PPN: CRHR1, AVPR1b, FKBP 5, FKBP4, BAG1, STIP1, GLCC1, DUSP, SRSF 3, SRSF9, SRSF5 i ACP1. Zaobserwowaliśmy korelację między stresującymi wydarzeniami życiowymi w pierwszym epizodzie choroby a gorszą skutecznością litu. Wykazaliśmy również istotny związek między trzema polimorfizmami genu *FKBP5* (rs1360780, rs7748266 i rs9296158), jednym wariantem *ACP1* (rs300774) i jednym wariantem *GLCC1* (rs37972) a stopniem skuteczności litu. Pięć z siedmiu polimorfizmów genu *FKBP5* wykazywało powiązanie z haplotypem związanym ze skutecznością litu. W wypadku pozostałych analizowanych SNP nie stwierdziliśmy związku ze skutecznością profilaktyczną litu [46].

Metaloproteinaza 9 (MMP-9 – Matrix Metalloproteinase-9)

Metaloproteinazy macierzy są endopeptydazami zewnątrzkomórkowymi działającymi na białka macierzy zewnątrzkomórkowej i białka adhezyjne. Metaloproteinaza 9

(MMP-9) odgrywa rolę w wielu stanach patologicznych, w tym nowotworach i chorobach serca, a także w różnych aspektach funkcji mózgu (np. neuroplastyczności). Grupa poznańska jako pierwsza wykazała możliwą rolę genu *MMP-9* w patogenezie ChAD. U 416 pacjentów z ChAD i 558 osób zdrowych z grupy kontrolnej wykonaliśmy genotypowanie funkcjonalnego polimorfizmu – 1562C/T genu *MMP-9* (rs3918242). Pacjenci z ChAD mieli znaczną przewagę allelu T w porównaniu z allelem C polimorfizmu 1562C/T genu *MMP-9* w zestawieniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej. Nasze wyniki uzyskane dla tego polimorfizmu w schizofrenii wykazały z kolei przewagę allelu C. Z tego powodu postawiliśmy hipotezę, że gen *MMP-9* może być genem podatności zarówno na ChAD, jak i schizofrenię, jednak z różnymi wariantami allelicznymi występującymi w tych dwóch chorobach [47].

Wyniki uzyskane u pacjentów z ChAD skłoniły nas do oceny możliwego związku polimorfizmu – 1562C/T genu MMP-9 (rs3918242) z profilaktycznym działaniem litu. Przebadano 109 pacjentów z ChAD leczonych litem przez 5–27 lat (średnio 15 lat), w tym 23 pacjentów z bardzo dobrą odpowiedzią na leczenie, 47 pacjentów z odpowiedzią częściową i 19 pacjentów z brakiem skuteczności litu. Nie stwierdziliśmy jednak związku między badanym polimorfizmem a skutecznością profilaktyczną litu [48].

Omówienie

Badania wykorzystujące podejście „genu kandydującego" mają szereg ograniczeń, o których była mowa wcześniej. Biorąc jednak pod uwagę wszelkie zastrzeżenia metodologiczne, można stwierdzić, że badania genów kandydujących profilaktycznej skuteczności litu przeprowadzone na Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2005–2018 potwierdziły rolę wielu układów biologicznych w tym zakresie, a także związek między mechanizmami działania litu a patogenezą ChAD. Systemy te obejmują BDNF, neuroprzekaźnictwo serotoninergiczne, dopaminergiczne i glutaminergiczne, GSK-3β, rytmy biologiczne i oś PPN.

Ciekawy obraz wyłania się, gdy funkcjonalny polimorfizm danego genu związany z lepszą skutecznością litu rozważa się w kontekście predyspozycji do ChAD. W większości naszych badań polimorfizm związany z predyspozycją do ChAD determinował gorszą profilaktyczną skuteczność litu. Tak było w wypadku polimorfizmu genów Val/Met *BDNF*, l/s *5-HTTLPR*, – 48A/G *DRD1*, Val/Met *COMT* i T/C *FYN*. Związek allelu s polimorfizmu genu *5-HTT* z gorszą profilaktyczną skutecznością litu jest podobny do związku z gorszym przeciwdepresyjnym działaniem leków z grupy SSRI [20]. Wygląda na to, że lepsze działanie litu w tych przypadkach może być związane z kompensacyjnym działaniem tego jonu na związany z genami deficyt w ChAD. Z drugiej strony, w naszym badaniu oceniającym związek między wpływem litu na nerki a polimorfizmem – 50C/T genu *GSK-3β* allel C tego polimorfizmu, wskazującym na predyspozycję do ChAD, związany był z odpornością na indukowane litem zmniejszenie zdolności nerek do zagęszczania moczu [38].

W drugiej dekadzie XXI wieku najważniejsze molekularne badania genetyczne przeprowadzano, stosując metodę asocjacji całego genomu (GWAS). W 2009 roku z inicjatywy Międzynarodowej Grupy do Badań nad Litem (IGSLI – International

Group for The Study of Lithium Treated Patients) i Amerykańskiego Narodowego Instytutu Zdrowia Psychicznego (NIMH – American National Institute of Mental Health) podczas spotkania w Bethesda powstało Międzynarodowe Konsorcjum ds. Genetyki Litu (ConLiGen). Jego celem było zrekrutowanie dużej liczby pacjentów z ChAD otrzymujących profilaktycznie lit do analizy asocjacji w skali całego genomu (GWAS) związanych ze skutecznością profilaktyki litem. Głównym inicjatorem tego przedsięwzięcia był Thomas Schulze, niemiecki psychiatra, wówczas stypendysta NIMH, obecnie pracujący na Uniwersytecie w Monachium. Oprócz Schulzego w skład grupy założycielskiej weszli tacy badacze litu jak Martin Alda (Kanada), Michael Bauer (Niemcy), Maria Del Zompo (Włochy), Gonzalo Laje (USA), Francis McMahon (USA), Mirko Manchia (Włochy), Roy Perlis (USA), Johannes Schumacher (USA) oraz Janusz Rybakowski (Polska). Opis inicjatywy ConLiGen został zamieszczony w specjalnym wydaniu czasopisma „Neuropsychobiology" z okazji 60. rocznicy wprowadzenia litu do współczesnego leczenia psychiatrycznego [49], natomiast praca na temat metod oceny klinicznej zastosowanych w badaniu ConLiGen została już wcześniej wspomniana [9].

Grupa poznańska miała swój wkład w pierwsze badanie GWAS dotyczące profilaktycznego działania litu przeprowadzone w ramach projektu ConLiGen, które wykazało istotny związek skuteczności litu z *locus* na chromosomie 21. Miejsce to zawiera dwa geny długiego niekodującego RNA (lncRNA), będącego ważnym regulatorem ekspresji genów w ośrodkowym układzie nerwowym [50]. Ośrodek poznański uczestniczył w opracowaniu kolejnych publikacji grupy ConLiGen. W jednej z nich stwierdzono, że u pacjentów z ChAD poligeniczny wskaźnik ryzyka dla schizofrenii wiązał się z gorszą profilaktyczną skutecznością litu [51]. W innym artykule badawczym wykazano związek 15 mikroRNA zarówno z fenotypem dychotomicznym, jak i ciągłym, dotyczącym skuteczności leczenia litem według skali Aldy [52]. Obecnie przygotowywanych jest wiele nowych opracowań.

Podsumowując, badania genów kandydujących, w tym te prowadzone w Poznaniu, dostarczyły istotnego wkładu w dziedzinie farmakogenomiki profilaktyki litem, przygotowując podstawę pod kolejną generację badań genetyki molekularnej tego zagadnienia.

Udział autorów w powstanie pracy: Koncepcja i projekt badań: JKR, EF-R, MD-W, AS i JT-H; zbieranie danych: MS, SK, EF-R, AP-P, AS, PC, JP; analiza i interpretacja danych: JKR, MD-W, AS, JP, szkic pracy: JKR, EF-R. Wszyscy autorzy przeczytali i zaakceptowali końcową wersję pracy.

Źródła finansowania: Badania zostały wsparte grantami o numerach 2P05B 01226 i 2P05B 04430 Komitet Badań Naukowych; N402 086 31/2644 i N402.024.3845 Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego; NN-402-4671-40 i 2016/21/B/NZ5/00148 Narodowe Centrum Nauki.

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo

1. Rybakowski JK. *Lithium – past, present, future*. Int. J. Psychiatry Clin. Pract. 2020; 24(4): 330–340. doi.org/10.1080/13651.501.2020.1775855
2. Grof P. *Excellent lithium responders: People whose lives have been changed by lithium prophylaxis*. W: Birch NJ, Gallicchio VS, Becker RW red. *Lithium: 50 years of psychopharmacology, new perspectives in biomedical and clinical research*. Cheshire, Connecticut: Weidner Publishing Group; 1999. S. 36–51.
3. Rybakowski JK, Chłopocka-Woźniak M, Suwalska A. *The prophylactic effect of long-term lithium administration in bipolar patients entering lithium treatment in the 1970s and 1980s*. Bipolar Disord. 2001; 3(1): 63–67.
4. Grof P. *Sixty years of lithium responders*. Neuropsychobiology 2010; 62(1): 27–35.
5. Kraepelin E. *Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. 6 Auflage*. Leipzig: Barth; 1899.
6. Rybakowski JK. *Lithium treatment in the era of personalized medicine*. Drug Dev. Res. 2021; 82(5): 621–627. Published online Mar 24.
7. Rybakowski JK. *Genetic influences on response to mood stabilizers in bipolar disorder: Current status of knowledge*. CNS Drugs 2013; 27(3): 165–173.
8. Grof P, Duffy A, Cavazzoni P, Grof E, Garnham J, MacDougall M i wsp. *Is response to prophylactic lithium a familial trait?* J. Clin. Psychiatry 2002; 63(10): 942–947.
9. Manchia M, Adli M, Akula N, Ardau R, Aubry JM, Backlund L i wsp. *Assessment of response to lithium maintenance treatment in bipolar disorder: A Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen) report*. PLoS One 2013; 8(6): e65636.
10. Li M, Chang H, Xiao X. *BDNF Val66Met polymorphism and bipolar disorder in European populations: A risk association in case-control, family-based and GWAS studies*. Neurosci. Biobehav. Rev. 2016; 68: 218–223.
11. Rybakowski JK, Borkowska A, Skibinska M, Hauser J. *Illness-specific association of Val66met BDNF polymorphism with performance on Wisconsin Card Sorting Test in bipolar mood disorder*. Mol. Psychiatry 2006; 11(2): 122–124.
12. Fukumoto T, Morinobu S, Okamoto Y, Kagaya A, Yamawaki S. *Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain*. Psychopharmacology 2001; 158(1): 100–106.
13. Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT i wsp. *Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early – vs. late-stage bipolar disorder*. Int. J. Neuropsychopharmacol. 2009; 12(4): 447–458.
14. Rybakowski JK, Suwalska A. *Excellent lithium responders have normal cognitive functions and plasma BDNF levels*. Int. J. Neuropsychopharmacol. 2010; 13(5): 617–622.
15. Rybakowski JK, Suwalska A, Skibińska M, Szczepankiewicz A, Leszczyńska-Rodziewicz A, Permoda A i wsp. *Prophylactic lithium response and polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene*. Pharmacopsychiatry 2005; 38(4): 166–170.
16. Shaltiel G, Chen G, Manji HK. *Neurotrophic signaling cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder*. Curr. Opin. Pharmacol. 2007; 7(1): 22–26.
17. Dmitrzak-Weglarz M, Rybakowski JK, Suwalska A, Skibinska M, Leszczynska-Rodziewicz A, Szczepankiewicz A i wsp. *Association studies of the BDNF and the NTRK2 gene polymorphisms with prophylactic lithium response in bipolar patients*. Pharmacogenomics 2008; 9(11): 1595–1603.

18. Hauser J, Leszczyńska A, Samochowiec J, Czerski PM, Ostapowicz A, Chłopocka M i wsp. *Association analysis of the insertion/deletion polymorphism in serotonin transporter gene in patients with affective disorder*. Eur. Psychiatry 2003; 18(3): 129–132.
19. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H i wsp. *Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene*. Science 2003; 301(5631): 86–89.
20. Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M. *Polymorphism within the serotonin transporter and antidepressant efficacy of fluvoxamine*. Mol. Psychiatry 1998; 3(6): 508–511.
21. Rybakowski JK, Suwalska A, Czerski PM, Dmitrzak-Weglarz M, Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser A. *Prophylactic effect of lithium in bipolar affective illness may be related to serotonin transporter genotype*. Pharmacol. Rep. 2005; 57(1): 124–127.
22. Serretti A, Lilli R, Mandelli L, Lorenzi C, Smeraldi E. *Serotonin transporter gene associated with lithium prophylaxis in mood disorders*. Pharmacogenomics J. 2001; 1(1): 71–77.
23. Rybakowski JK, Suwalska A, Skibinska M, Dmitrzak-Weglarz M, Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser J. *Response to lithium prophylaxis: Interaction between serotonin transporter and BDNF genes*. Am. J. Med. Genet. 2007; 144B(6): 820–823.
24. Rybakowski JK, Czerski P, Dmitrzak-Weglarz M, Kliwicki S, Leszczynska-Rodziewicz A, Permoda-Osip A i wsp. *Clinical and pathogenic aspects of candidate genes for lithium prophylactic efficacy*. J. Psychopharmacol. 2012; 26(3): 368–373.
25. Goldman-Rakic PS, Muly EC, Williams GV. *D1 receptors in prefrontal cells and circuits*. Brain Res. Rev. 2000; 31(2–3): 295–301.
26. Dmitrzak-Weglarz M, Rybakowski JK, Slopien A, Czerski PM, Leszczynska-Rodziewicz A, Kapelski P i wsp. *Dopamine receptor D1 gene – 48A/G polymorphism is associated with bipolar illness but not with schizophrenia in a Polish population*. Neuropsychobiology 2006; 53(1): 46–50.
27. Severino G, Congiu D, Serreli C, De Lisa R, Chillotti C, Del Zompo M i wsp. *A48G polymorphism in the D1 receptor genes associated with bipolar I disorder*. Am. J. Med. Genet. 2005; 134B(1): 37–38.
28. Rybakowski JK, Dmitrzak-Weglarz M, Suwalska A, Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser J. *Dopamine D1 receptor gene polymorphism is associated with prophylactic lithium response in bipolar disorder*. Pharmacopsychiatry 2009; 42(1): 20–22.
29. Najafi H, Totonchi M, Sadeghizadeh M. *Predicted cellular and molecular actions of lithium in the treatment of bipolar disorder: An in silico study*. CNS Drugs 2020; 34(5): 521–533.
30. Zhang Z, Lindpaintner K, Che R, He Z, Wang P, Yang, P i wsp. *The Val/Met functional polymorphism in COMT confers susceptibility to bipolar disorder: Evidence from an association study and a meta-analysis*. J. Neural. Transm. (Vienna) 2009; 116(10): 1193–1200.
31. Szczepankiewicz A, Rybakowski JK, Skibinska M, Dmitrzak-Weglarz M, Leszczynska-Rodziewicz A, Wilkosc M i wsp. *FYN kinase gene: Another glutamatergic gene associated with bipolar disorder?* Neuropsychobiology 2009; 59(3): 178–183.
32. Szczepankiewicz A, Skibinska M, Suwalska A, Hauser J, Rybakowski JK. *The association study of three FYN polymorphisms with prophylactic lithium response in bipolar patients*. Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp. 2009; 24(4): 287–291.
33. Jope RS. *Glycogen synthase kinase-3 in the etiology and treatment of mood disorders*. Front. Mol. Neurosci. 2011; 4: 16.
34. Rybakowski JK, Suwalska A, Hajek T. *Clinical perspectives of lithium's neuroprotective effect*. Pharmacopsychiatry 2018; 51(5): 194–199.

35. Rybakowski JK. *Lithium – The amazing drug in psychiatry*. Poznań: Termedia Wydawnictwa Medyczne; 2020. E-book: https://www.termedia.pl/eBook/-231.

36. Benedetti F, Serretti A, Pontiggia A, Bernasconi A, Lorenzi C, Colombo C i wsp. *Long-term response to lithium salts in bipolar illness is influenced by the glycogen synthase kinase 3-beta-50 T/C SNP*. Neurosci. Lett. 2005; 376(1): 51–55.

37. Szczepankiewicz A, Rybakowski JK, Suwalska A, Skibinska M, Leszczynska-Rodziewicz A, Dmitrzak-Weglarz M i wsp. *Association study of the glycogen synthase kinase-3beta gene polymorphism with prophylactic lithium response in bipolar patients*. World J. Biol. Psychiatry 2006; 7(3): 158–161.

38. Rybakowski JK, Abramowicz M, Szczepankiewicz A, Michalak M, Hauser J, Czekalski S. *The association of glycogen synthase kinase-3beta (GSK-3β) gene polymorphism with kidney function in long-term lithium-treated bipolar patients*. Int. J. Bipolar Disord. 2013; 1: 8.

39. Shi J, Wittke-Thompson JK, Badner JA, Hattori E, Potash JB, Willour WL i wsp. *Clock genes may influence bipolar disorder susceptibility and dysfunctional circadian rhythm*. Am. J. Med. Genet. 2008; 147B(7): 1047–1055.

40. Milhiet V, Boudebesse C, Bellivier F, Drouot X, Henry C, Leboyer M i wsp. *Circadian abnormalities as markers of susceptibility in bipolar disorders*. Front. Biosci. (Schol Ed.) 2014; 6(1): 120–137.

41. Rybakowski JK, Dmitrzak-Weglarz M, Kliwicki S, Hauser J. *Polymorphism of circadian clock genes and prophylactic lithium response*. Bipolar Disord. 2014; 16(2): 151–158.

42. Leszczyńska-Rodziewicz A, Maciukiewicz M, Szczepankiewicz A, Pogłodziński A, Hauser J. *Association between OPCRIT dimensions and polymorphisms of HPA axis genes in bipolar disorder*. J. Affect. Disord. 2013; 151(2): 744–747.

43. Ceulemans S, Zutter S, Heyrman L, Norrback K-F, Nordin A, Nilsson L-G i wsp. *Evidence for the involvement of the glucocorticoid receptor gene in bipolar disorder in an isolated northern Swedish population*. Bipolar Disord. 2011; 13(7–8): 614–623.

44. Willour VL, Chen H, Toolan J, Belmonte P, Cutler DJ, Goes FS i wsp. *Family-based association of FKBP5 in bipolar disorder*. Mol. Psychiatry 2009; 14(3): 261–268.

45. Szczepankiewicz A, Rybakowski JK, Suwalska A, Hauser J. *Glucocorticoid receptor polymorphism is associated with lithium response in bipolar patients*. Neuro. Endocrinol. Lett. 2011; 32(4): 545–551.

46. Szczepankiewicz A, Narozna B, Rybakowski JK, Kliwicki S, Czerski P, Dmitrzak-Węglarz M i wsp. *Genes involved in stress response influence lithium efficacy in bipolar patients*. Bipolar Disord. 2018; 20(8): 753–760.

47. Rybakowski JK, Skibinska M, Leszczynska-Rodziewicz A, Kaczmarek L, Hauser J. *Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene and bipolar mood disorder*. Neuromolecular. Med. 2009; 11(2): 128–132.

48. Rybakowski JK, Skibinska M, Suwalska A, Leszczynska-Rodziewicz A, Kaczmarek L, Hauser J. *Functional polymorphism of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene and response to lithium prophylaxis in bipolar patients*. Hum. Psychopharmacol. 2011; 26(2): 168–171.

49. Schulze TG, Alda M, Adli M, Akula N, Ardau R, Bui ET i wsp. *The International Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen): An initiative by the NIMH and IGSLI to study the genetic basis of response to lithium treatment*. Neuropsychobiology 2010; 62(1): 72–78.

50. Hou L, Heilbronner U, Degenhardt F, Adli M, Akiyama K, Akula N i wsp. *Genetic variants associated with response to lithium treatment in bipolar disorder: A genome – wide association study*. Lancet 2016; 387(10023): 1085–1093.

51. International Consortium on Lithium Genetics (ConLi+Gen), Amare AT, Schubert KO, Hou L, Clark SR, Papiol S i wsp. *Association of polygenic score for schizophrenia and HLA antigen and inflammation genes with response to lithium in bipolar affective disorder: A genome-wide association study*. JAMA Psychiatry 2018; 75(1): 65–74.
52. Reinbold CS, Forstner AJ, Hecker J, Fullerton JM, Hoffmann P, Hou L i wsp. *Analysis of the influence of microRNAs in lithium response in bipolar disorder*. Front. Psychiatry 2018; 9: 207.

Adres: Ewa Ferensztajn-Rochowiak
Klinika Psychiatrii Dorosłych
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
e-mail: ferensztajnewa@gmail.com

Otrzymano: 21.01.2021
Zrecenzowano: 5.08.2021
Przyjęto do druku: 5.08.2021