

## Co badania asocjacyjne całego genomu (GWAS) wniosły do psychiatrii?

### What have we learned from genome wide association studies in psychiatry?

Joanna Wiktoria Hauser

Zakład Genetyki w Psychiatrii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2013; 8, 2: 47–55

#### Adres do korespondencji:

Joanna Wiktoria Hauser  
Zakład Genetyki w Psychiatrii  
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu  
e-mail: jhauser@amp.edu.pl

#### Streszczenie

Badania populacyjne wskazały na wysoką odziedziczalność zaburzeń psychicznych, takich jak schizofrenia, zaburzenia afektywne dwubiegunowe (choroba afektywna dwubiegunowa – ChAD). W badaniach asocjacyjnych całego genomu (*genome-wide association studies* – GWAS) zastosowanie mikromacierzy umożliwia jednocześnie genotypowanie setek tysięcy SNP (*single nucleotide polymorphism*). W badaniach GWAS nie wybiera się *a priori* genów do analiz, badanie dotyczy zatem wszystkich genów. Badania asocjacyjne całego genomu w schizofrenii i zaburzeniach afektywnych wskazały na asocjacje istotne statystycznie na poziomie genomu. Potwierdziły ponadto, że warianty wielu genów związanych z ryzykiem zachorowania na schizofrenię (*ZNF7804*, *MHC*, *NRGN*) są także związane z ryzykiem rozwoju ChAD, a warianty genów związanych z ChAD (*ANK3*, *CACNA1C*) okazały się też związane z ryzykiem rozwoju schizofrenii. Uważa się, że ChAD z objawami psychotycznymi może być kliniczną manifestacją częściowo wspólnego genetycznego podłoża ChAD i schizofrenii. Badania genomu wykazały, że zmienność liczby kopii fragmentów DNA (CNV), np. mikrodelecje, występuje częściej w przypadku zaburzeń neurorozwojowych, takich jak schizofrenia, autyzm, ADHD, niepełnosprawność intelektualna, niż w populacji ogólnej. Przypuszcza się, że przy współdziałaniu dodatkowych czynników genetycznych i środowiskowych CNV mają znaczenie w zaburzeniach rozwoju mózgu, zwiększając ryzyko wystąpienia różnych zaburzeń neurorozwojowych (np. schizofrenii). Poznanie genów związanych z predyspozycją do choroby może mieć istotne znaczenie w badaniach nad patogenezą zaburzeń psychicznych. Przypuszcza się, że identyfikacja biologicznych szlaków związanych z chorobą może zrewolucjonizować diagnostykę i terapię. W niniejszej pracy przedstawione zostaną badania GWAS w schizofrenii i zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych.

**Słowa kluczowe:** badania asocjacyjne całego genomu, psychozy.

#### Abstract

Genetic epidemiological studies have shown that psychiatric disorders such as schizophrenia and bipolar disorder (BD) are highly heritable. Genome wide association studies (GWAS) involve the use of arrays that simultaneously genotype several hundred thousand single nucleotide polymorphisms (SNPs). GWAS is hypothesis-free search of every gene and intragenic regions of the genome. GWAS have reported genome-wide significant associations of common variants for schizophrenia and bipolar disorder. Many of the risk alleles identified in GWAS of schizophrenia such as *ZNF7804*, *MHC*, and *NRGN* are also implicated in BD. Also risk alleles for BD such as *ANK3* and *CACNA1C* have been implicated in schizophrenia. It has been suggested that bipolar disorder with psychosis may be the clinical manifestation of genes overlapping between SCH and BPD. Copy number variants (CNV) are found at increased frequency in neurodevelopmental diseases – schizophrenia, autism, attention-deficit hyperactivity disorder and intellectual disability. It is possible that CNV can result in disturbed brain development and in this way lead to increased susceptibility to different neuropsychiatric disorders, dependent on additional environmental and genetic factors. The identification of disease-associated genes will increase our knowledge of the pathophysiology of psychiatric disorders. The identification of biological pathways has the potential to revolutionize diagnostics and treatment. This review summarizes recent research progress in GWAS studies in psychiatric disorders such as schizophrenia and bipolar disorder.

**Key words:** genome wide association study, major psychoses.

## Wstęp

Zaburzenia psychiczne należą do tzw. chorób złożonych, których etiologia związana jest z interakcją czynników genetycznych i środowiskowych (Sullivan i wsp. 2003; Craddock i Forty 2006). W ciągu ostatnich ponad 20 lat najczęściej stosowano model badań asocjacyjnych tzw. genów kandydujących. Polega on na wybraniu *a priori* genu, który może mieć teoretycznie związek z chorobą. Wybór genów kandydujących dla chorób psychicznych nawiązuje do patogenetycznych hipotez choroby. Wskazuje się, że stosując analizę tego typu, można pominąć geny niepodważalne o związek z chorobą (Collins i wsp. 2012).

W ostatnich latach obserwujemy spektakularny postęp w badaniach z zakresu genetyki molekularnej, od 2005 r. prowadzone są badania asocjacyjne całego genomu (*genome-wide association studies* – GWAS). Jest to wieloetapowe badanie na skalę całego genomu, w którym wyzwaniem jest nie tylko genotypowanie od 500 tys. do miliona polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (*single-nucleotide polymorphism* – SNP), lecz także konceptualne i statystyczne podejście do tak rozbudowanej bazy danych. W modelu badania GWAS nie wybieramy *a priori* genu do analiz molekularnych, analizowany jest cały genom, każdy gen jest teoretycznie „genem kandydującym”. Badanie GWAS stwarza zatem nowe możliwości poznania genów związanych z etiopatogenezą zaburzeń psychicznych.

Istotnym ograniczeniem metodologicznym badań GWAS jest ujęcie w analizach tylko częstych wariantów genów, tj. SNP, które występują u ponad 5% osób w populacji. Jest to ważny problem, ponieważ uważa się, że etiopatogeneza zaburzeń psychicznych związana jest zarówno z częstymi, jak i rzadko występującymi wariantami wielu genów. Wskazuje się także, że aby moc analiz statystycznych była wystarczająca do wykrycia asocjacji SNPs o niewielkim efekcie działania (OR 1,2–1,5), należałoby do badania włączyć 10 000 chorych i 10 000 osób z grupy kontrolnej (Owen i wsp. 2010; *International Schizophrenia Consortium* 2008, 2009; Visscher i wsp. 2012; Lee i wsp. 2012; *Psychiatric GWAS Consortium* 2009; Xu i wsp. 2012).

Kolejnym problemem w badaniach GWAS jest opis fenotypu (choroby). Kliniczna i genetyczna heterogenność chorób złożonych zmniejsza moc analiz statystycznych w badaniach GWAS. Można się spodziewać, że efekt poszcze-

gólnych *loci* będzie większy w przypadku „zawężenia” fenotypu, np. uwzględnienie podtypów klinicznych choroby, badanie endofenotypów (Craddock i Owen 2005). Etiologia zaburzeń psychicznych związana jest z interakcją czynników genetycznych i środowiskowych (GxE), stąd niezwykle istotne będzie uwzględnienie interakcji GxE w modelu badań GWAS (Power i wsp. 2012; Sullivan i wsp. 2012).

W niniejszej pracy przedstawione zostaną badania genetyczne typu GWAS w zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych (ChAD) oraz w schizofrenii, a także badania analizy szlaków biologicznych, które prowadzone są na podstawie wyników GWAS.

## Badanie asocjacyjne całego genomu – choroba afektywna dwubiegunowa

Już w pierwszych badaniach GWAS w przypadku ChAD wskazano na asocjację istotną statystycznie, dotyczyła ona *loci* genu *diacylglycerol kinase eta* (*DGKH*). Badanie obejmowało 1233 osoby z ChAD i 1439 osób z grupy kontrolnej. *Diacylglycerol kinase eta* ma istotne znaczenie w przekazywaniu sygnałów w szlaku fosfatydoinozytolu, który jest związany z mechanizmem działania litu (Baum i wsp. 2008). W kolejnym GWAS najmocniejszy sygnał ( $P = 1,7 \times 10^{-7}$ ) dotyczył genu związanego z przewodnictwem glutaminergicznym – *myosin 5b* (*MYO5B*) (Sklar i wsp. 2008).

Ferreira i wsp. (2008) przeprowadzili metaanalizę badań GWAS w zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych (ChAD:  $n = 4387$ , grupa kontrolna:  $n = 6209$ ). Wskazano na dwie asocjacje istotne na poziomie genomu ( $P = 0,1 \times 10^{-9}$ , OR -1,4) – *ankyrin 3, node of Ranvier* (*ankyrin G*) (*ANK3*) oraz *calcium channel, voltage-dependent, L type, Ralphi 1C subunit* (*CACNA1C*) ( $P = 7,0 \times 10^{-8}$ , OR 1,18). *ANK3* jest białkiem związanym z aktywacją kanałów sodowych, natomiast *CACNA1C* – z aktywacją kanałów wapniowych (Vacher i wsp. 2008). Oba te geny mają też znaczenie w patomechanizmie chorób występujących epizodycznie, takich jak migrena i padaczka (Gargus 2006).

McMahon i wsp. (2010) w badaniu GWAS wskazali na asocjację istotną statystycznie na poziomie genomu dla *locus* 3p21, jest to *locus* genu *PBRM1* (*polybromo*), który ma znaczenie w regulacji transkrypcji genów. W badaniu europejskim, w którym uczestniczył m.in. ośrodek poznański, replikowano wyniki badań zespołu McMahona (2010), tj. potwierdzono asocjację genu *PBRM1* z ChAD, a także wska-

ziano na *loci NCAN (neurocan)* (Vassos i wsp. 2012; Cichon i wsp. 2011). Gen *NCAN* koduje białko, które jest związane z adhezją i migracją komórek. W badaniu tym na modelach zwierzęcych wykazano, że *NCAN* ma ekspresję w korze mózgu i hipokampie, co może mieć znaczenie w zaburzeniach funkcji poznawczych i emocjonalnych (Cichon i wsp. 2011).

Zespół *Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group* (2011) przeprowadził megaanalizę wyników badań GWAS w grupie ponad 10 000 chorych i ok. 9000 osób z grupy kontrolnej. Wyniki tych badań wskazały na *loci* istotne na poziomie genomu – genu *CACNA1C* i *ODZ4*. Gen *ODZ4* odgrywa rolę w neuronalnym przekazywaniu sygnału w synapsie.

Należy zatem podkreślić, że wyniki GWAS w zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych wskazują na znaczenie patogenetyczne genów związanych z przekazywaniem sygnałów w kanałach wapniowych, sodowych, szlaku fosfatydoinozytolu oraz w genach związanych z funkcją synapsy.

### Badanie asocjacyjne całego genomu – schizofrenia

Pierwsze badanie GWAS w przypadku schizofrenii opublikował zespół O'Donovana i wsp. (2008). Badanie obejmowało ponad 10 000 chorych i ponad 10 000 osób z grupy kontrolnej. Najmocniejsza asocjacja dotyczyła *locus ZNF804A* ( $P = 1,61 \times 10^{-7}$ ) i była jeszcze silniejsza po włączeniu do analizy chorych na ChAD ( $P = 9,96 \times 10^{-9}$ ). W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że *ZNF804A* reguluje transkrypcję genów układu dopaminergicznego, takich jak *COMT*, *DRD2* oraz genu fosfodiesterazy – *PDE4B* (Girgenti 2012). Esslinger i wsp. (2011) w badaniach neuroobrazowania mózgu wykazali, że wskazany SNP jest związany z aktywacją połączeń hipokampa i kory przedczołowej w czasie wykonywania testów neuropsychologicznych. Stefansson i wsp. (2009) w GWAS opisali kilka asocjacji: *locus* 6p21.3-22.1 – w regionie tym znajduje się gen *MHC (histocompatibility complex)*; *locus* genu *NRGN (neurogranin)* na chromosomie 11q24.2; *locus* genu *TCF4 (transcription factor 4)* na chromosomie 18q21.2. Geny *NRGN*, *TCF4* związane są z rozwojem mózgu, gen *MHC* – z układem immunologicznym (Zhong i wsp. 2009).

W metaanalizie GWAS obejmującej ponad 18 000 chorych i ponad 38 000 osób z grupy kontrolnej potwierdzono asocjację genu *ZNF804A*, *TCF4*, *NRGN* i *MHC locus* ze schi-

zofrenią (Williams i wsp. 2011). Należy podkreślić, że asocjacja tych genów ze schizofrenią została po raz pierwszy opisana w badaniach GWAS.

W badaniu europejskim obejmującym ponad 26 000 chorych na schizofrenię, w którym brał udział również ośrodek poznański, wykazano asocjację istotną statystycznie z *locus* na chromosomie 11 (Rietschel i wsp. 2012). W tym rejonie znajdują się geny: *AMBRA1*, *DGKZ* oraz *CHRM4*. Gen *AMBRA1* ma znaczenie w rozwoju mózgu, gen *DGKZ* – w przekazywaniu sygnału w szlaku inozytolowym, natomiast gen *CHRM4* jest związany z przekazywaniem cholinergicznym w mózgu (Cecconi i wsp. 2007).

Zespół *Schizophrenia Genome-Wide-Association Study Consortium* (2011) przeprowadził metaanalizę wyników badań GWAS obejmującą ponad 20 000 chorych i 30 000 osób z grupy kontrolnej. Potwierdzono asocjację istotną statystycznie dla *loci* genów: *MIR137*, *CACNA1*, *ANK3*. Gen *MIR137* jest związany z rozwojem neuronów, wpływa na ekspresję innych genów, takich jak *CACNA1C*, *TCF4* (Bemis i wsp. 2008; Kwon i wsp. 2011; Smrt i wsp. 2010).

W podsumowaniu można zatem stwierdzić, że wyniki GWAS wskazują na znaczenie genów związanych z rozwojem ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i układem immunologicznym w patogenezie schizofrenii (Chen i wsp. 2012; Weinberger 1986).

### Badanie asocjacyjne całego genomu – wspólne loci schizofrenii i zaburzeń afektywnych dwubiegunowych

W badaniach GWAS opisano asocjację *loci ZNF804A* oraz *CACNA1C* zarówno w schizofrenii, jak i w zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych (Williams i wsp. 2011; Green i wsp. 2010). W metaanalizie zespołu *International Schizophrenia Consortium* (2009) wskazano na asocjację istotną statystycznie dla trzech *loci*: genu *ZNF804A*, *ANK3* i *CACNA1C*. Asocjacja ta dotyczyła zarówno schizofrenii, jak i zaburzeń afektywnych dwubiegunowych. Wyniki badań GWAS potwierdzają zatem dane epidemiologiczne wskazujące na częściowo wspólne podłoże genetyczne schizofrenii i ChAD (Lichtenstein 2009). Przypuszcza się, że wspólne podłoże genetyczne ChAD i schizofrenii może być związane z fenotypem psychozy (Craddock i Owen 2005). Badania kliniczne wskazują, że u 60% chorych na ChAD obecne są objawy psychotyczne, opisywano też rodzinne występowanie

nie psychotycznej postaci ChAD (Potasch 2003). Lett i wsp. (2012) przeprowadzili analizę asocjacyjną genów wskazanych w badaniu GWAS (*ZNF804A*, *ANK3* i *CACNA1*) w dwóch grupach chorych na ChAD: grupa osób, u których występowały objawy psychotyczne (PSY-ChAD), i grupa chorych, u których nie występowały objawy psychotyczne (NPSY-ChAD). W psychotycznym podtypie ChAD opisano asocjację z wariantem genu *ZNF804A* i *CACNA1C*. Wyniki tych badań sugerują, że PSY-ChAD może być kliniczną manifestacją wspólnej genetycznej podatności na ChAD i schizofrenię.

### Badanie całego genomu – analiza zmienności liczby kopii fragmentów DNA (*copy number variation* – CNV)

W genetycznym podłożu chorób złożonych istotne znaczenie przypisuje się zmienności struktury genetycznej, za którą odpowiadają segmentalne insercje, duplikacje, delecje fragmentów DNA. Kopie CNV stanowią 12% genomu, w 58% zidentyfikowanych CNV stwierdzono obecność genów. Sullivan i wsp. (2012) wskazują, że CNV mogą mieć wpływ na rejony regulatorowe bądź na sekwencje kodujące genów. Dotychczasowe wyniki badań całego genomu potwierdzają znaczenie CNV w patogenezie autyzmu i niepełnosprawności intelektualnej (Sebat i wsp. 2007; Cooper i wsp. 2011; *Autism Genome Project Consortium* 2007).

Badania całego genomu, przeprowadzone w ciągu ostatnich kilku lat, wskazują na częstsze niż w grupie kontrolnej występowanie CNV u osób chorych na schizofrenię (Walsh i wsp. 2008; Xu i wsp. 2008; *International Schizophrenia Consortium* 2008; Kirov i wsp. 2009; Stefansson i wsp. 2008; Girard i wsp. 2011). Wyniki badań wykazały, że delecje występują rzadko, u ok. 2% pacjentów, ale ryzyko zachorowania na schizofrenię związane z delecją może być duże – OR 3–10 (Kirov i wsp. 2009).

W przypadku badań całego genomu w schizofrenii CNV opisano na wielu chromosomach: 1q21, 2p16, 3q29, 7q36, 15q13, 16p11, 22q11 (Levinson i wsp. 2011; Murphy i wsp. 1999; *International Schizophrenia Consortium* 2008). Od wielu lat wiadomo, że delecja na chromosomie 22q11 (zespół DiGeorge'a) jest związana z ryzykiem zachorowania na schizofrenię (Murphy i wsp. 1999). Wyniki badań GWAS wskazują, że delecja na chromosomie 1q21 wiąże się z ryzykiem rozwoju autyzmu, niepełnosprawności intelektualnej oraz zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD), delecja

na chromosomie 15q13 – z ryzykiem zachorowania na padaczkę, delecja na chromosomie 2p16 – z ryzykiem wystąpienia padaczki i opóźnienia rozwoju, delecja na chromosomie 3q29 – z ryzykiem autyzmu i niepełnosprawności intelektualnej (Mefford i wsp. 2008; Mefford i wsp. 2010; Williams i wsp. 2012; Sanders i wsp. 2011; Brunetti-Perri i wsp. 2008; Heilbeg i wsp. 2009; Weiss i wsp. 2009; Marshall i wsp. 2008; Kumar i wsp. 2008; Williams i wsp. 2012).

Wyniki badań klinicznych wykazały, że w grupie chorych na schizofrenię z niskim ilorazem inteligencji CNV występują częściej (Walsh i wsp. 2008). Stwierdzono ponadto, że w sporadycznej postaci schizofrenii częściej obserwowano CNV *de novo* (Xu i wsp. 2008). Ostatnio opublikowane wyniki sekwencjonowania całego genomu sugerują, że wiek ojca jest związany z częstością występowania mutacji *de novo* – im starszy wiek ojca, tym więcej mutacji (Kong i wsp. 2012). Badania genetyczne mogą zatem potwierdzać dane epidemiologiczne, wskazujące na zwiększone ryzyko zachorowania na schizofrenię w przypadku starszych ojców (Croen i wsp. 2007).

W przypadku ChAD wyniki badań dotyczących CNV są niejednoznaczne. W pojedynczych badaniach wykazano, że częstsze występowanie CNV może dotyczyć chorych o wczesnym początku choroby (Malhotra i wsp. 2011; Priebe i wsp. 2011).

W podsumowaniu wyników tych badań można wskazać, że CNV związane są ze schizofrenią, a także z innymi zaburzeniami neurorozwojowymi, takimi jak autyzm, niepełnosprawność intelektualna, ADHD. Uważa się, że wspólny genetyczny czynnik ryzyka związany jest z patofizjologią zaburzeń neurorozwojowych występujących w okresie dzieciństwa i w wieku dorosłym (schizofrenia) (de la Serna i wsp. 2010). Potwierdzeniem tej koncepcji mogą być badania rodzin: wykazano zwiększone ryzyko zachorowania na schizofrenię u rodziców osób z diagnozą autyzmu i niepełnosprawności intelektualnej, natomiast u krewnych osób z diagnozą schizofrenii obserwowano częstsze występowanie ADHD i niepełnosprawności intelektualnej (Daniels i wsp. 2008; Greenwood i wsp. 2004; Keshavan i wsp. 2008).

Można zatem przypuszczać, że w schizofrenii znaczenie patogenetyczne mogą mieć rzadko występujące CNV o dużym efekcie działania, a także setki wariantów genów często występujących w populacji, których efekt jest niewielki, modyfikowany przez czynniki środowiskowe.

## Neuroobrazowanie mózgu a wyniki badań GWAS

W ostatnich latach obrazowanie mózgu wniosło wiele informacji dotyczących zmian funkcjonalnych i strukturalnych mózgu, w szczególności u chorych na schizofrenię i ChAD. Dynamiczny rozwój metod genetyki molekularnej pozwolił na włączenie do modelu badań genetycznych wyników badań obrazowania mózgu – jest to tzw. model badania *neuroimaging genetics*. Badania GWAS wskazują na istotną statystycznie asocjację wariantu genu z chorobą, nie wyjaśniają jednak biologicznego znaczenia genu w patogenezie choroby. Neuroobrazowanie mózgu jest jedną z metod pozwalającą na określenie udziału genu „ryzyka” w neurobiologicznych mechanizmach związanych z chorobą. W badaniu funkcjonalnego rezonansu magnetycznego (*functional magnetic resonance imaging* – fMRI) analizowana jest zależność między aktywacją określonych struktur mózgu w czasie wykonywania testów neuropsychologicznych a genotypem osoby badanej (Meyer-Lindenberg i Weinberger 2006; Meyer-Lindenberg 2011).

Przykładem tej strategii badawczej jest praca Bigosa i wsp. (2010), której celem była analiza wyników fMRI u osób zdrowych z wariantem genu *CACNA1C* (rs100067737), który w badaniach GWAS był związany z ryzykiem zachorowania na schizofrenię i ChAD (Williams i wsp. 2011). Wyniki badań fMRI wskazują, że u osób z allelem ryzyka obserwowano większą aktywację hipokampa w czasie wykonywania testów neuropsychologicznych oceniających reaktywność emocjonalną, a także większą aktywację kory przedczołowej w czasie wykonywania testów kognitywnych. Można zatem przypuszczać, że wariant genu *CACNA1C* (rs100067737) jest związany z neurobiologią reaktywności emocjonalnej i z neurobiologią funkcji poznawczych. W badaniach fMRI u chorych z diagnozą ChAD obserwowano zwiększoną aktywację ciała migdałowatego i hipokampa w czasie wykonywania testów neuropsychologicznych dotyczących reaktywności na bodźce emocjonalne, natomiast u chorych na schizofrenię opisywano „niewydolność” kory przedczołowej w czasie wykonywania testów poznawczych, a w szczególności testów dotyczących pamięci (Almeida i wsp. 2010; Callicot i wsp. 2003). Wyniki badań Bigosa i wsp. (2010) pozwalają przypuszczać, że wariant „ryzyka” genu *CACNA1C* jest związany z neurobiologią zaburzeń funkcji poznawczych opisywanych w schizofrenii i zaburzeń

reaktywności emocjonalnej opisywanych w przypadku ChAD.

Kolejnym modelem badań typu *neuroimaging genetics* jest analiza strukturalna mózgu. U chorych na schizofrenię opisywano zmniejszenie objętości mózgu i istoty białej. Badania bliźniąt wykazały, że objętość istoty białej mózgu jest uwarunkowana genetycznie (Goldman i wsp. 2008; van Haren i wsp. 2012). Uważa się, że objętość istoty białej mózgu jest endofenotypem schizofrenii, co uzasadnia poszukiwanie genów związanych z tą cechą choroby. W badaniu zespołu *Psychiatric Genomewide Association Study Consortium* analizowano wyniki badania GWAS z uwzględnieniem fenotypu – objętość mózgu (van Schelting i wsp. 2013). Wyniki badań wskazały na geny (SNP:  $n = 186$ ) związane z objętością istoty białej mózgu zarówno u osób chorych na schizofrenię, jak i osób z grupy kontrolnej. Analiza funkcjonalności (na podstawie baz danych KEGG: [www.genome.jp/kegg](http://www.genome.jp/kegg), oraz bazy danych Biocarta: [www.biocarta.com](http://www.biocarta.com)) tych genów sugeruje, że kodują białka związane z funkcją neuronów. Można zatem przypuszczać, że geny, które mają wpływ na zaburzenia rozwoju połączeń neuronalnych, zwiększają ryzyko zachorowania na schizofrenię.

## Analiza szlaków biologicznych

Jedną z metod interpretacji wyników badań GWAS jest analiza informacji dotyczących szlaków biologicznych (*path analysis*), w których są zaangażowane określone białka lub geny (Sun 2012). Kluczowym problemem metodologicznym w tym modelu badania jest połączenie danych z badania GWAS z bazami dotyczącymi szlaków molekularnych. Analiza ścieżek polega na określeniu związku danej grupy genów (wyselekcjonowanych za pomocą odpowiednich programów statystycznych z badania GWAS) ze szlakiem biologicznym. Informacje dotyczące ścieżek biologicznych są dostępne na stronach, takich jak [www.gengo.com](http://www.gengo.com), [www.genome.jp/kegg](http://www.genome.jp/kegg) (Kanehisa i wsp. 2012; Franke i wsp. 2010).

W 2008 r. zespół brytyjski opublikował wyniki analizy szlaków biologicznych na podstawie danych GWAS (*Wellcome Trust Case Control Consortium* – WTCC 2007) w kilku chorobach, m.in. w ChAD (Torkmani i wsp. 2008). Celem tych badań było wskazanie genów, które mogą być związane z biologicznymi szlakami choroby. W przypadku ChAD wyodrębniono grupy genów należących do kilku ścieżek molekularnych. Pierwsza grupa obejmowała

geny związane ze szlakiem dopaminergicznym, druga grupa geny związane z układem glutaminergicznym, trzeci szlak molekularny związany był z procesami metabolicznymi, szlak – *Niacin HDL metabolism*. W badaniach klinicznych obserwowano częste występowanie zespołu metabolicznego u pacjentów z zaburzeniami afektywnymi, badanie brytyjskie może potwierdzać genetyczny związek ChAD i zespołu metabolicznego (Garcia-Potrillia 2008).

W kolejnej pracy WTCC do analizy wyników badania GWAS włączono ponad 3000 chorych na ChAD, korzystając z algorytmu *Random Forest* wybrano 1000 SNP do dalszych analiz (Pandey i wsp. 2012). Przeprowadzono analizę szlaków molekularnych 200 SNP znajdujących się w bazie *Reactome FI*. Wyniki badania wskazują na epistatyczny efekt działania wielu genów, wyodrębniono kilka szlaków molekularnych. Pierwszy szlak obejmował geny związane ze szlakiem sygnalizacji Wnt, drugi – geny związane ze szlakiem sygnalizacji kadheryn, kolejny szlak obejmował geny związane z rytмами dobowymi. Białka Wnt i kadheryn mają znaczenie w kontroli proliferacji komórek w okresie embriogenezy oraz w procesie synaptogenezy (Yang 2012). Wskazuje się, że szlak Wnt może mieć znaczenie w mechanizmie działania litu (Klein i Melton 1996).

W podsumowaniu można zatem wskazać, że geny związane z wieloma szlakami biologicznymi mogą się wiązać z ryzykiem zachorowania na zaburzenia afektywne dwubiegunowe. Wyniki badań Pandey i wsp. (2012) sugerują, że w badaniu genetycznego podłoża zaburzeń psychicznych należy uwzględniać epistatyczny efekt działania genów.

Ostatnio opublikowano wyniki analizy szlaków biologicznych w schizofrenii. W badaniu Lips i wsp. (2012) uwzględniono wyniki badania GWAS w grupie 4673 chorych i 4965 osób z grupy kontrolnej. Na podstawie analizy ścieżek molekularnych wskazano na istotne znaczenie genów związanych z funkcją synapsy. Wyodrębniono kilka grup genów: geny szlaku przekazywania sygnału w synapsie, geny regulujące aktywację synapsy i geny adhezji komórkowej. Wyniki tych badań wskazują, że kumulacyjny efekt wielu wariantów genetycznych może powodować zaburzenia przekazywania sygnału w synapsie. Można zatem przypuszczać, że istnieją indywidualne różnice w „zestawie mutacji” odpowiedzialnych za tę samą dysfunkcję biologiczną. Badanie Lips i wsp. (2012) wskazuje na znaczenie genów związanych z zaburzeniami funkcji synapsy w schizofrenii (Sullivan 2012; Harrison i Weinberger 2005).

## Wnioski

Badania asocjacyjne całego genomu w zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych wskazują na znaczenie patogenetyczne genów związanych z przekazywaniem sygnałów w kanałach wapniowych, sodowych, szlaku inozytoli i w genach związanych z funkcją synapsy (*CACNA1C*, *ANK3*, *NCAN*, *ODZ*, *DGKH*).

Badania asocjacyjne całego genomu w przypadku schizofrenii wskazują na znaczenie patogenetyczne genów związanych z rozwojem mózgu i genów układu immunologicznego (*ZNF804A*, *MHC*, *TCF4*, *NRGN*, *MicroRNA 173-mir137*).

W badaniach GWAS opisano asocjację tych samych *loci* zarówno w schizofrenii, jak i ChAD. Przypuszcza się, że psychotyczna postać ChAD może być kliniczną manifestacją wspólnej genetycznej podatności na obie te choroby.

Badania całego genomu wskazują na częstsze niż w grupie kontrolnej występowanie CNV u chorych na schizofrenię. Zmienność liczby kopii fragmentów DNA związana jest także z innymi zaburzeniami neurorozwojowymi, takimi jak autyzm, niepełnosprawność intelektualna, ADHD.

Badania asocjacyjne całego genomu mogą być inspiracją do dalszych badań dotyczących neurobiologii zaburzeń psychicznych.

## Piśmiennictwo

1. Almeida JR, Versace A, Hassel S, et al. Elevated amygdala activity to sad facial expression: a state marker of bipolar not unipolar depression. *Biol Psychiatry* 2010; 67: 414-421.
2. Autism Genome Project Consortium, Szatmari P, Paterson AD, Zwaigenbaum L, et al. Mapping autism risk using linkage and chromosomal rearrangement. *Nat Genet* 2007; 39: 319-328.
3. Baum AE, Akula N, Cabanero M, et al. A genome-wide association study implicates diacylglycerol kinase (DGKH) and several other genes in the etiology of bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2008; 13: 197-207.
4. Bemis LT, Chen R, Amato CM, et al. MicroRNA-137 targets microphthalmia-associated transcription factor in melanoma cell lines. *Cancer Res* 2008; 68: 1362-1368.
5. Bigos KL, Mattay VS, Callicott JH, et al. Genetic variation in *CACNA1C* affects brain circuitries related to mental illness. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67: 939-945.
6. Brunetti-Pierri N, Berg JS, Scaglia F, et al. Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities. *Nat Genet* 2008; 40: 1466-1471.
7. Callicott JH, Egan MF, Mattay VS, et al. Abnormal fMRI response of dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 709-719.

8. Cecconi F, Di Bartolomeo S, Nardacci R, et al. A novel role for autophagy and development of the nervous system. *Autophagy* 2007; 3: 506-508.
9. Chen SJ, Chao YL, Chen CY, et al. Prevalence of autoimmune disease in in-patients with schizophrenia: nationwide population-based study. *Br J Psychiatry* 2012; 200: 374-380.
10. Cichon S, Mühleisen TW, Degenhardt FA, et al. Genome-wide association study identifies genetic variation in neurocan as a susceptibility factor for bipolar disorder. *Am J Hum Genet* 2011; 88: 372-381.
11. Collins AL, Kim Y, Sklar P, et al. Hypothesis-driven candidate genes for schizophrenia compared to genome-wide association results. *Psychol Med* 2012; 42: 607-616.
12. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat Genet* 2011; 43: 838-846.
13. Craddock N, Forty L. Genetics of affective disorders. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 660-668.
14. Craddock N, Owen MJ. The beginning of the end for the Kraepelinian dichotomy. *Br J Psychiatry* 2005; 186: 346-366.
15. Croen LA, Najjar DV, Fireman B, Grether JK. Maternal and paternal age and risk of autism spectrum disorders. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2007; 161: 334-340.
16. Daniels JL, Forssen U, Hultman CM, et al. Paternal psychiatric disorders associated with autism spectrum disorders in the offspring. *Pediatrics* 2008; 121: e1357-1362.
17. de la Serna E, Baeza I, Toro J, et al. Relationship between clinical and neuropsychological characteristics in child and adolescent first degree relatives of subject with schizophrenia. *Schizophr Res* 2010; 116: 159-167.
18. Esslinger C, Kirsch P, Haddad L, et al. Cognitive and connectivity effects of the genome-wide significant psychosis variant in ZNF804A. *Neuroimage* 2011; 54: 2514-2523.
19. Ferreira MA, O'Donovan MC, Meng YA, et al. Collaborative genome-wide association analysis of 10,596 individuals supports a role for Ankyrin-G (ANK3) and the  $\alpha$ -1C subunit of the L-type voltage-gated calcium channel (CACNA1C) in bipolar disorder. *Nat Genet* 2008; 40: 1056-1058.
20. Franke A, McGovern DP, Barrett JC, et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42: 1118-1125.
21. Garcia-Portilla MP, Saiz PA, Benabarre A i wsp. The prevalence of metabolic syndrome in patients with bipolar disorder. *J Affect Disord* 2008; 106: 1056-1058.
22. Gargus JJ. Ion channel functional candidate genes in multigenic neuropsychiatric disease. *Biol Psychiatry* 2006; 60: 177-185.
23. Girard SL, Gauthier J, Noreau A, et al. Increased exonic de novo mutation rate in individuals with schizophrenia. *Nat Genet* 2011; 43: 860-863.
24. Girgenti MJ, LoTurco JJ, Maher BJ, et al. ZNF804A regulates expression of the schizophrenia associated genes PRSS16, COMT, PDE4B and DRD2. *PLoS One* 2012; 7: e32404.
25. Goldman AL, Pezawas L, Mattay VS, et al. Heritability of brain morphology related to schizophrenia: a large-scale automated magnetic resonance imaging segmentation study. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 475-483.
26. Green EK, Grozeva D, Jones I, et al. The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2010; 15: 1016-1022.
27. Greenwood CM, Husted J, Bomba MD, et al. Elevated rates of schizophrenia in a familial sample with mental illness and intellectual disability. *J Intellect Disabil Res* 2004; 48: 531-539.
27. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry* 2005; 10: 40-68.
28. Heilbeg I, Meffana HC, Sharp AJ i wsp. 15q3 microdeletion increase risk to idiopathic epilepsy. *Nat Genet* 2009; 41: 166-167.
29. International Schizophrenia Consortium, Purcell SM, Wray NR, Stone JL, et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 2009; 460: 748-752.
30. International Schizophrenia Consortium. Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature* 2008; 455: 237-241.
31. Kanehisa M, Goto S, Sato Y, et al. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 109-114.
32. Keshavan M, Montrose DM, Rajarethinam R, et al. Psychopathology among offspring of parents with schizophrenia: relationship to premorbid impairment. *Schizophr Res* 2008; 103: 114-120.
33. Kirov G, Pocklington AJ, Holmans P, et al. De novo CNV analysis implicates specific abnormalities of postsynaptic signaling complexes in the pathogenesis of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2009; 17: 142-153.
34. Klein PS, Melton DA. A molecular mechanism for the effect of lithium of development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8455-8459.
35. Kong A, Frigge ML, Masson G, et al. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature* 2012; 488: 471-475.
36. Kumar RA, KaraMohamed S, Sudi J, et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 628-638.
37. Kwon E, Wang W, Tsai LH, et al. Validation of schizophrenia-associated genes CSMD1, CACNA1C and TCF4 as miR-137 targets. *Mol Psychiatry* 2011; 18: 11-20.
38. Lee SH, DeCandia TR, Ripke S, Yang J. Estimating the proportion of variation in susceptibility to schizophrenia captured by common SNPs. *Nat Genet* 2012; 44: 247-250.
39. Lett TA, Zai CC, Tiwari AK, et al. ANK3, CACNA1C and ZNF804A gene variants in bipolar disorder and psychosis subphenotype. *World J Biol Psychiatry* 2012; 12: 392-397.
40. Levinson DF, Duan J, Oh S, et al. Copy number variants in schizophrenia: confirmation of five previous findings and new evidence for 3q29 microdeletions and VIPR2 duplications. *Am J Psychiatry* 2011; 168: 302-316.
41. Lichtenstein P, Yip BH, Bjork C, et al. Common genetic influences for schizophrenia and bipolar disorder: a population-based study of 2 million nuclear families. *Lancet* 2009; 373: 234-239.
42. Lips ES, Cornelisse LN, Toonen RF, et al. Functional gene group analysis identified synaptic gene group as risk for schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2012; 17: 996-1006.
43. Malhotra D, McCarthy S, Michaelson JJ, et al. High frequencies of de novo CNVs in bipolar disorder and schizophrenia. *Neuron* 2011; 72: 951-963.
44. Marshall CR, Noor A, Vincent JB, et al. Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 477-488.
45. McMahon FJ, Akula N, Schulze TG, et al. Meta-analysis of genome wide association study identifies risk locus for major mood disorder of 3pq21.1. *Nat Genet* 2010; 42: 128-131.
46. Mefford HC, Muhle H, Ostertag P, et al. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genet* 2010; 6: e1000962.

47. Mefford HC, Sharp AJ, Baker C, et al. Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *N Engl J Med* 2008; 359: 1685-1699.
48. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR. Intermediate phenotypes and genetic mechanism of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 818-827.
49. Meyer-Lindenberg A. The future of fMRI and genetics research. *Neuroimage* 2011; 15: 1286-1292.
50. Murphy KC, Jones LA, Owen MJ, et al. High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 940-945.
51. O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, et al. Identification of novel schizophrenia loci by genome-wide association and follow up. *Nat Genet* 2008; 40: 1053-1055.
52. Owen MJ, Craddock N, O'Donovan MC. Suggestion of roles for both common and rare risk variants in genome-wide studies of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67: 667-673.
53. Pandey A, Davis NA, White BC, et al. Epistasis network centrality analysis yields pathway replication across two GWAS cohorts for bipolar disorder. *Transl Psychiatry* 2012; 2: e154.
54. Potash JB, Zandi PP, Willour VL, et al. Suggestive linkage to chromosomal regions 13q13 and 22q12 in families with psychotic bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 680-686.
55. Power RA, Wingenbach T, Cohen-Woods S, et al. Estimating the heritability of reporting stressful life events captured by common genetic variants. *Psychol Med* 2012; 14: 1-7.
56. Priebe L, Degenhardt FA, Herms S, et al. Genome-wide survey implicates the influence of copy number variants (CNVs) in the development of early-onset bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2011; 17: 421-432.
57. Psychiatric GWAS Consortium Bipolar Disorder Working Group. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nat Genet* 2011; 43: 977-983.
58. Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee. A framework for interpreting genome wide association studies of psychiatric disorders. *Mol Psychiatry* 2009; 14: 10-17.
59. Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee. Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry* 2009; 166: 540-546.
60. Rietschel M, Mattheisen M, Degenhardt F, et al. Association between genetic variation in a region on chromosome 11 and schizophrenia in large samples from Europe. *Mol Psychiatry* 2012; 9:906-917.
61. Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V, et al. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism. *Neuron* 2011; 70: 863-885.
62. Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat Genet* 2011; 43: 969-976.
63. Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 2007; 316: 445-449.
64. Shinawi M, Liu P, Kang SH, et al. Recurrent reciprocal 16p11.2 rearrangements associated with global developmental delay, behavioural problems, dysmorphism, epilepsy, and abnormal head size. *J Med Genet* 2010; 47: 332-341.
65. Sklar P, Smoller JW, Fan J, et al. Whole-genome association study of bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2008; 13: 558-569.
66. Smrt RD, Szulwach KE, Pfeiffer RL, et al. MicroRNA miR 137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind bomb 1. *Stem Cells* 2010; 28: 1060-1070.
67. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* 2009; 460: 744-747.
68. Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, et al. Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 2008; 455: 232-236.
69. Sullivan PF, Daly MJ, O'Donovan M. Genetic architecture of psychiatric disorders: the emerging picture and its implications. *Nat Rev Genet* 2012; 13: 537-551.
70. Sullivan PF. Puzzling over schizophrenia: schizophrenia as a pathway disease. *Nat Med* 2012; 18: 210-211.
71. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 1187-1192.
72. Sun YV. Integration of biological networks and pathways with genetic association studies. *Hum Genet* 2012; 131: 1677-1686.
73. Torkamani A, Topol EJ, Schork NJ. Pathway analysis of seven common diseases assessed by genome-wide association. *Genomics* 2008; 92: 265-272.
74. Vacher H, Mohapatra DP, Trimmer JS. Localization and targeting of voltage-dependent ion in mammalian central neurons. *Physiol Rev* 2008; 88: 1407-1447.
75. van Haren NE, Rijdsdijk F, Schnack HG, et al. The genetic and environmental determinants of the association between brain abnormalities and schizophrenia: the schizophrenia twins and relatives consortium. *Biol Psychiatry* 2012; 71: 915-921.
76. van Schelting AF, Bakker SC, van Haren NE, et al. Genetic schizophrenia risk variants jointly modulate brain and white matter volume. *Biol Psychiatry* 2013; 73: 525-531.
77. Vassos E, Steinberg S, Cichon S, et al. Replication and meta-analysis in European samples supports association of the 3p21.1 locus with bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2012; 72: 645-650.
78. Visscher PM, Brown MA, McCarthy MI, Yang J. Five years of GWAS discovery. *Am J Hum Genet* 2012; 90: 7-24.
79. Walsh T, McClellan JM, McCarthy SE, et al. Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 2008; 320: 539-543.
80. Weinberger DR. The pathogenesis of schizophrenia a neurodevelopmental disorder? *Neurology of schizophrenia*. Elsevier, 1986: 387-405.
81. Weiss LA, Arking DE; Gene Discovery Project of Johns Hopkins & the Autism Consortium, Daly MJ, Chakravarti A. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature* 2009; 461: 802-808.
82. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678.
83. Williams HJ, Norton N, Dwyer S, et al. Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2011; 16: 429-441.
84. Williams NM, Franke B, Mick E, et al. Genome-wide analysis of copy number variants in attention deficit hyperactivity disorder: the role of rare variants and duplications at 15q13.3. *Am J Psychiatry* 2012; 169: 195-204.
85. Xu B, Roos JL, Dexheimer P, et al. Exome sequencing support de novo mutation paradigm for schizophrenia. *Nat Genet* 2012; 43: 864-868.



86. Xu B, Roos JL, Levy S, et al. Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia. *Nat Genet* 2008; 40: 880-885.
87. Yang Y. Wnt signaling in development and disease. *Cell Biosci* 2012; 2: 14.
88. Zhong L, Cherry T, Bies CE, et al. Neurogranin enhances synaptic strength through its interaction with calmodulin. *EMBO J* 2009; 28: 3027-3039.