

Genetička analiza mikrolelecija AZF područja kromosoma Y u muškaraca s kliničkom dijagnozom shizofrenije

Nadarević, Tin; Buretić-Tomljanović, Alena

Source / Izvornik: **Medicina Fluminensis : Medicina Fluminensis, 2011, 47, 120 - 124**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:983382>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



Genetička analiza mikrolelecija AZF područja kromosoma Y u muškaraca s kliničkom dijagnozom shizofrenije

Genetic analysis of Y-chromosome microdeletions in men with a clinical diagnosis of schizophrenia

Tin Nadarević, Alena Buretić-Tomljanović*

Zavod za biologiju i medicinsku genetiku,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Primljeno: 12. 10. 2010.
Prihvaćeno: 20. 12. 2010.

Adresa za dopisivanje:

*Prof. dr. sc. Alena Buretić-Tomljanović,
dipl. ing.

Zavod za biologiju i medicinsku genetiku
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka
e-mail: alena@medri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

Sažetak. Cilj: Stopa plodnosti bolesnika s dijagnozom shizofrenije značajno je niža negoli u općoj populaciji. Smanjenoj stopi plodnosti pridonose spol, bračni status, reproduktivna dob, socioekonomski, kulturni, ali i genetički čimbenici. U ovom smo radu pretpostavili genetičku povezanost shizofrenije i smanjene plodnosti muških bolesnika. **Ispitanici i metode:** U uzorku od 105 muškaraca s kliničkom dijagnozom shizofrenije (prema DSM-IV) i 100 kontrolnih muškaraca ispitali smo prisutnost mikrolelecija područja čimbenika azoospermije (AZF) kromosoma Y kako bismo utvrdili pridonose li spomenute mikrolelecije riziku i/ili smanjenoj plodnosti muških bolesnika. Ispitivani STS-biljezi (engl. *sequence tagged sites*) AZF područja jesu: sY86, sY134, sY255, te sY84, sY127, sY254 koji su analizirani dvjema multipleks lančanim reakcijama polimeraze. Kao kontrolni lokusi korišteni su STS-biljeg sY14 (Yp) i presudoautosomni lokus ZFX/ZFY. **Rezultati:** Mikrolelecije kromosoma Y nismo pronašli niti u uzorku bolesnika niti u kontroli. **Zaključak:** Mikrolelecije AZF područja kromosoma Y ne pridonose riziku niti smanjenoj plodnosti muškaraca oboljelih od shizofrenije.

Ključne riječi: čimbenik azoospermije, plodnost muškaraca, shizofrenija

Abstract. Aim: Fertility rate of patients with schizophrenia is lower than in the general population. The contributing factors are sex, marital status, reproductive age, socioeconomic, cultural, and genetic factors. In this work, we tested the possible genetic association between schizophrenia and lower fertility rate of male patients. **Patients and methods:** DNA samples taken from 105 male patients with clinical diagnosis of schizophrenia (according to DSM-IV criteria) and 100 control men were analysed for the presence of chromosome Y azoospermia factor (AZF) microdeletions. Six sequence tagged sites (STS) spanning AZFa-c region were analysed using two multiplex polymerase chain reactions: sY84, sY127, sY254, and sY86, sY134, sY255. STS-marker sY14 (Yp) and pseudoautosomal locus ZFX/ZFY were used as control loci in both reactions. **Results:** No evidence of AZF-microdeletions were found in both groups. **Conclusion:** Microdeletions of the chromosome Y AZF-region do not contribute to the risk or reduced fertility rate in males with schizophrenia.

Key words: azoospermia factor, male fertility, schizophrenia

UVOD

Niz studija upućuje na problem smanjene stope plodnosti bolesnika s dijagnozom shizofrenije¹. Bolesnici sa shizofrenijom sklapaju manje brakova i imaju manje djece u odnosu na opću populaciju. Važan čimbenik smanjene stope plodnosti u shizofreniji je spol, budući da muškarci prosječno obolijevaju ranije od žena, pa su češće samci i bez potomstva²⁻⁴. Osim spola i bračnog statusa na stopu plodnosti bolesnika sa shizofrenijom mogu utjecati i drugi čimbenici poput reproduktivne dobi ili socioekonomskih čimbenika, a istraživana je i mogućnost učinka antipsihotične terapije na plodnost bolesnika.⁵

Istraživanja problema smanjene plodnosti u bolesnika s dijagnozom shizofrenije važna su zbog potrebe organiziranja stručne skrbi za bolesnike, njihove potencijalne obitelji i djecu, ali i zbog moguće važnosti te činjenice za genetičku etiologiju same bolesti. Naime, genetička osnova shizofrenije još nije razjašnjena. Zasad nema zadovoljavajućih objašnjenja na koji se način u populacijama održavaju geni podložnosti za shizofreniju s obzirom na značajno nižu stopu plodnosti bolesnika u odnosu na opću populaciju, te izuzetno visoku nasljednost bolesti koja se procjenjuje na gotovo 83 %⁶. Većina autora nije pronašla dokaze da je niža stopa plodnosti bolesnika sa shizofrenijom kompenzirana višom stopom plodnosti njihovih prvih rođaka^{7,8}. Jedno od mogućih objašnjenja je i pojava mutacija *de novo* u različitim dijelovima genoma⁹.

Unatoč ranijim konfliktnim rezultatima¹⁰⁻¹³, nedavne studije^{8,14} potvrdile su značajno nižu stopu plodnosti u žena sa psihotičnim poremećajima u odnosu na skupinu zdravih, kontrolnih žena. Poglavitno je stopa plodnosti smanjena u žena s neafektivnim poremećajima u odnosu na one s afektivnom psihozom¹⁴. Pronađeno je da je plodnost muških bolesnika sa shizofrenijom smanjena za čak 70 % u odnosu na plodnost opće populacije⁸. U finskoj studiji provedenoj na 870.093 ispitanika, od kojih je 1,3 % imalo dijagnozu shizofrenije, a 2,8 % su činila njihova zdrava braća i sestre, dobiveni su zanimljivi rezultati: srednji broj potomaka oboljelih muškaraca dvostruko je manji negoli broj potomaka oboljelih žena (0,83 vs 0,44). Ta-

kođer, dok se broj individua s barem jednim djetetom nije razlikovao između sestara bolesnika sa shizofrenijom i opće populacije, među zdravom braćom oboljelih od shizofrenije broj osoba s barem jednim djetetom statistički je značajno niži⁷. Navedeni rezultati upućuju na moguću povezanost shizofrenije i smanjene plodnosti muškaraca koja bi mogla biti genetički utemeljena. Moguća povezanost problema smanjene plodnosti muškaraca i pojave bolesti iz grupe shizofrenih poremećaja nije sustavno istraživana.

Plodnost muških bolesnika sa shizofrenijom smanjena je za čak 70 % u odnosu na plodnost opće populacije. Dvije velike studije potvrdile su i značajno nižu stopu plodnosti u žena sa psihotičnim poremećajima u odnosu na skupinu zdravih, kontrolnih žena.

Jedan od mogućih uzroka smanjene plodnosti muškaraca općenito, pa tako i onih s dijagnozom shizofrenije jesu kromosomske aberacije. Kromosomske se aberacije ne ispituju rutinski tijekom kliničke obrade ispitanika sa psihozom, već se uglavnom provode u slučajevima kada je psihoza udružena s mentalnom retardacijom ili dismorfnim značajkama, stoga je i literatura o tom problemu malobrojna. Unatoč konfliktnim nalazima¹⁵, većina je autora došla do zaključka da se u bolesnika sa shizofrenijom nađu aneuploidije spolnih kromosoma poput 47,XXX, 47,XXY i 47,XYY četiri do šest puta češće negoli u općoj populaciji¹⁶⁻¹⁹. Od ostalih aberacija češće se nađe mozaicizam spolnih kromosoma, a rjeđe su opisane strukturne promjene različitih autosoma. U literaturi su opisana i tri slučaja izodicentričnog kromosoma Y u bolesnika sa shizofrenijom²⁰⁻²². Novija istraživanja varijacija broja kopija pomoću metode komparativne hibridizacije genoma na mikropoljima (*engl.* – arrayCGH) rezultirala su pronalaskom velikog broja rijetkih mikrodelecija i/ili mikroduplicacija od kojih su najčešće mikrodelecije 22q11.2, 15q11.2, 15q13.3, 1q21.1^{23,24}, a koje nose visok rizik za pojavu shizofrenije. Navedene su mikrodelecije, osim sa shizofrenijom, udružene i s pojavom urođenih defekata, mentalne retardacije, autizma ili epilepsije.

Smanjenoj plodnosti ili neplodnosti muškaraca pridonose i rijetke mikrolelecije AZF područja kromosoma Y (AZF – engl. *azoospermia factor*) koje sadrži niz gena esencijalnih za spermatogenezu. Prisutnost mikrolelecija kromosoma Y upućuje na opću nestabilnost kromosoma Y i moguć je uzrok gonadnog mozaicizma spolnih kromosoma. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati prisutnost ili odsutnost mikrolelecija AZF područja kromosoma Y u uzorku muških ispitanika u kojih je potvrđena dijagnoza shizofrenije. Zanimalo nas

Plodnost muškaraca može biti smanjena i zbog numeričkih ili strukturnih promjena u kariotipu, što može kompromitirati spermatogenezu. Niz studija indicira analizu kariotipa u specifičnim podgrupama oboljelih od shizofrenije i srodnih duševnih bolesti. Primjerice, u osoba s vrlo ranim nastupom bolesti numeričke abnormalnosti spolnih kromosoma javljaju se češće negoli u osoba u kojih je bolest počela u adultno doba.

je imaju li mikrolelecije kromosoma Y ulogu u povezanosti shizofrenije i smanjene reproduktivne sposobnosti muških bolesnika.

ISPITANICI I METODE

U ispitivanju je sudjelovalo 105 muških bolesnika s klinički potvrđenom dijagnozom shizofrenije (zadovoljen DSM-IV kriterij za shizofreniju). Bolesnici se liječe u Klinici za psihijatriju KBC-a Rijeka (N = 62), te Psihijatrijskoj bolnici Rab (N = 43). Uzorci krvi za DNA analizu prikupljeni su u razdoblju od 2007. do 2010. godine. Prosječna dob ispitanika bila je $42,49 \pm 12,01$ godina, dok je medijan dobi prve hospitalizacije zbog pojave psihotične epizode iznosio 24 godine (raspon od 14 do 57 godina). Podaci o bračnom statusu i potomstvu prikupljeni su za sve bolesnike s dijagnozom shizofrenije. Njih 83,8 % (88/105) bili su neoženjeni, dok je preostalih 16,2 % (17/105) bilo oženjeno ili rastavljeno. Oženjeni i rastavljeni muškarci u uzorku imali su prosječno 0,8 djece. Moguća povezanost bračnog statusa i dobi prve hospitalizacije testirana je izračunavanjem Spearmanovog koeficijenta korelacije. Analiza kariotipa i ispitivanje reproduktivne sposobnosti ne pripadaju rutinskim analizama prilikom kliničke obrade

bolesnika sa psihotičnom epizodom, pa ti podaci nisu bili dostupni niti za jednog ispitanika. Kontrolni ispitanici u istraživanju (N = 90) su muški dobrovoljni davatelji krvi, osobe koje ne uzimaju medikamentoznu terapiju, ali koje nisu prošle ispitivanje psihičkog statusa. Kontrolni je uzorak ispitanika prikupljen u području Primorsko-goranske županije Republike Hrvatske. Prosječna dob ispitanika u kontroli je iznosila $36,02 \pm 7,61$ godina. Njih 41 (45,6 %) činili su oženjeni muškarci, neoženjenih je bilo 29 (32,2 %), dok su za 20 (30,0 %) preostalih ispitanika podaci o bračnom statusu ostali nepoznati. Informaciju o broju potomaka pronašli smo za 21 oženjenog ispitanika u kojih je prosječno bilo 1,6 djece.

Molekularno-genetička analiza mikrolelecija AZF područja kromosoma Y provedena je na Zavodu za biologiju i medicinsku genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci. Uzorak DNA pripremljen je iz pune krvi standardiziranim postupcima. U radu su korištene dvije varijante multipleks lančane reakcije polimeraze (PCR): multipleks A i multipleks B. Multipleks reakcijama ispitivali smo 6 STS-a (engl. *sequence tagged sites*) koji se nalaze na AZF a, b i c potpodručjima Y-kromosoma. Kao kontrolu koristili smo pseudoautosomni lokus ZFX/ZFY i STS-biljeg sY14 koji je specifičan za čimbenik diferencijacije testisa (engl. *testis determining factor* – TDF) na Yp11. Ispitivani STS-biljezi AZF područja jesu: sY86, sY134, sY255 (multipleks A), te sY84, sY127, sY254 (multipleks B). Detalji molekularno-genetičke analize opisani su u prethodnom radu²⁵.

REZULTATI I RASPRAVA

Analizom mikrolelecija AZF područja kromosoma Y nismo pronašli niti jedan slučaj mikrolelecije u 105 bolesnika sa shizofrenijom, kao niti u kontrolnih ispitanika. Rezultat upućuje na zaključak da ispitivane mikrolelecije ne pridonose značajno pojavi shizofrenije u našoj muškoj populaciji. Jedan od mogućih razloga za negativan rezultat je i niska učestalost istraživanih mikrolelecija u hrvatskoj neselektiranoj populaciji muškaraca smanjene plodnosti (muški partneri neplodnih bračnih parova)²⁶. Smanjenoj stopi plodnosti bolesnih muškaraca mogu pridonositi drugi genetički čimbenici, disfunkcija hipotalamo-hipofizno-

gonadne osi, ali također i društvene i kulturne razlike. Pronađena je korelacija između negativnih simptoma u shizofreniji i razine testosterona u krvi muških bolesnika. Osobe s jače izraženim negativnim simptomima (prema ljestvici pozitivnih, negativnih i simptoma opće psihopatologije – PANSS) imaju višu razinu ukupnog i slobodnog testosterona²⁷. Prema studiji Bhatie i sur.²⁸ reproduktivni deficit uočen kod američkih muškaraca nije pronađen kod onih koji žive u Indiji, što je objašnjeno većim poteškoćama u ostvarivanju dugotrajnih veza u američkoj muškoj populaciji u odnosu na indijsku. Na našem smo uzorku potvrdili da rana pojava psihotičnih simptoma (medijan iznosi 24 godine) bitno utječe na vjerojatnost sklapanja braka i ostvarivanje reproduktivne uloge bolesnika ($R = 0,197$; $P = 0,045$).

Plodnost muškaraca može biti smanjena i zbog numeričkih ili strukturnih promjena u kariotipu što može kompromitirati spermatogenezu. Niz studija indicira analizu kariotipa u specifičnim podgrupama oboljelih od shizofrenije i srodnih duševnih bolesti: u onih s vrlo ranim nastupom bolesti češće se javljaju numeričke abnormalnosti spolnih kromosoma negoli u osoba u kojih je bolest počela u adultno doba²⁹, u onih s teškoćama u učenju, mentalnom zaostalosti ili dismorfni značajkama indicirana je analiza mikrodelecija kromosoma 22q11¹⁸. Visoka razina dezorganizacije mišljenja može upućivati na specifične deficite strukture i funkcije mozga (nedostatan procesuiranje emocija) i povećan rizik za razvoj shizofrenije, ali također i na mogućnost abnormalnog kariotipa (47,XXY)³⁰. U bolesnika sa shizofrenijom i drugim srodnim bolestima nađe se i niz strukturnih promjena kromosoma¹⁸. U slučaju bolesnika mozaičnog kariotipa s izodicentričnim Y-kromosomom mos45,X/46,X,idel(Y)(q11) autori su uveli hipotezu prema kojoj bi kraći krak Y-kromosoma mogli nositi gene koji bi, u slučajevima povećane ili smanjene genske doze, mogli predstavljati rizik za pojavu psihoze²¹. Npr. gen za protokadherin Y (PCDHY) je Yp-vezani gen čije se ekspresija i funkcija specifično povezuju s razvitkom cerebralne asimetrije u našoj vrsti^{31,32}. Također, za niz je gena AZF područja (RPS4Y, SMCY, UTY i drugi) pronađena spolno-specifična ekspresija u subpopulaci-

jama neurona što moguće pridonosi suptilnim razlikama različitih struktura mozga između muškaraca i žena³³.

Zaključujemo da rezultati upućuju da detekcija mikrodelecije AZF područja kromosoma Y nije indicirana u muškaraca s dijagnozom shizofrenije u našoj populaciji, odnosno, mikrodelecije AZF područja kromosoma Y ne pridonose riziku za bolest niti smanjenoj plodnosti muških bolesnika.

LITERATURA

1. Terzian AC, Andreoli SB, Razzouk D, Chaves AC, Mari JdeJ. Fertility and fecundity of an outpatient sample with schizophrenia. *Rev Bras Psiquiatr* 2006;28:305-7.
2. Aleman A, Kahn RS, Selten JP. Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:565-71.
3. Nimgaonkar VL, Ward SE, Agarde H, Weston N, Ganguli R. Fertility in schizophrenia: results from a contemporary US cohort. *Acta Psychiatr Scand* 1997;95:364-9.
4. Laursen TM, Munk-Olsen T. Reproductive patterns in psychotic patients. *Schizophr Res* 2010;121:234-40.
5. Joffe H. Reproductive biology and psychotropic treatments in premenopausal women with bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 2007;68 (Suppl 9):10-5.
6. Cardno AG, Marshall EJ, Coid B, Macdonald AM, Ribchester TR, Davies NJ et al. Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:162-8.
7. Haukka J, Suvisaari J, Lönnqvist J. Fertility of patients with schizophrenia, their siblings, and the general population: a cohort study from 1950 to 1959 in Finland. *Am J Psychiatry* 2003;160:460-3.
8. Svensson AC, Lichtenstein P, Sandin S, Hultman CM. Fertility of first-degree relatives of patients with schizophrenia: a three generation perspective. *Schizophr Res* 2007;91:238-45.
9. Walsh T, McClellan JM, McCarthy SE, Addington AM, Pierce SB, Cooper GM et al. Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* 2008;320:539-43.
10. Srinivasan TN, Padmavati R. Fertility and schizophrenia: evidence for increased fertility in the relatives of schizophrenic patients. *Acta Psychiatr Scand* 1997;96:260-4.
11. McGrath JJ, Hearle J, Jenner L, Plant K, Drummond A, Barkla JM. The fertility and fecundity of patients with psychoses. *Acta Psychiatr Scand* 1999;99:441-6.
12. Lane A, Byrne M, Mulvany F, Kinsella A, Waddington JL, Walsh D et al. Reproductive behaviour in schizophrenia relative to other mental disorders: evidence for increased fertility in men despite decreased marital rate. *Acta Psychiatr Scand* 1995;91:222-8.
13. Avila M, Thaker G, Adami H. Genetic epidemiology and schizophrenia: a study of reproductive fitness. *Schizophr Res* 2001;47:233-41.
14. Howard LM, Kumar C, Leese M, Thornicroft G. The general fertility rate in women with psychotic disorders. *Am J Psychiatry* 2002;159:991-7.

15. Kalsi G, Gamble D, Curtis D, Brynjolfsson J, Sigmundsson T, Butler R et al. No evidence for linkage of schizophrenia to DXS7 at chromosome Xp11. *Psychiatr Genet* 1999;9:197-9.
16. DeLisi LE, Friedrich U, Wahlstrom J, Boccio-Smith A, Forsman A, Eklund K et al. Schizophrenia and sex chromosome anomalies. *Schizophr Bull* 1994;20:495-505.
17. Mors O, Mortensen PB, Ewald H. No evidence of increased risk for schizophrenia or bipolar affective disorder in persons with aneuploidies of the sex chromosomes. *Psychol Med* 2001;31:425-30.
18. Bassett AS, Chow EW, Weksberg R. Chromosomal abnormalities and schizophrenia. *Am J Med Genet* 2000;97:45-51.
19. van Rijn S, Aleman A, Swaab H, Kahn R. Klinefelter's syndrome (karyotype 47,XXY) and schizophrenia-spectrum pathology. *Br J Psychiatry* 2006;189:459-60.
20. Nanko S, Sasaki T, Fukuda R, Hattori M, Dai XY, Kazamatsuri H et al. A study of the association between schizophrenia and the dopamine D3 receptor gene. *Hum Genet* 1993;92:336-8.
21. Yoshitsugu K, Meerabux JM, Asai K, Yoshikawa T. Fine mapping of an isodicentric Y chromosomal breakpoint from a schizophrenic patient. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003;116B:27-31.
22. Mizuguchi T, Hashimoto R, Itokawa M, Sano A, Shimokawa O, Yoshimura Y et al. Microarray comparative genomic hybridization analysis of 59 patients with schizophrenia. *J Hum Genet* 2008;53:914-9.
23. Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, Pietiläinen OP, Ingason A, Steinberg S et al. Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature*. 2008;455:232-6.
24. Bassett AS, Scherer SW, Brzustowicz LM. Copy number variations in schizophrenia: critical review and new perspectives on concepts of genetics and disease. *Am J Psychiatry* 2010;167:899-914.
25. Buretić-Tomljanović A, Vlastelić I, Marić N, Nadalin S, Radojčić-Badovinac A. Low frequency of Y-chromosome microdeletions among infertile men from the North-Adriatic region of Croatia. *Medicina* 2008;44:255-66.
26. Medica I, Gligorievska N, Prenc M, Peterlin B. Y microdeletions in the Istria county, Croatia. *Asian J Androl* 2005;7:213-6.
27. Ko YH, Jung SW, Joe SH, Lee CH, Jung HG, Jung IK et al. Association between serum testosterone levels and the severity of negative symptoms in male patients with chronic schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 2007;32:385-91.
28. Bhatia T, Franzos MA, Wood JA, Nimgaonkar VL, Deshpande SN. Gender and procreation among patients with schizophrenia. *Schizophr Res* 2004;68:387-94.
29. Eckstrand K, Addington AM, Stromberg T, Merriman B, Miller R, Gochman P et al. Sex chromosome anomalies in childhood onset schizophrenia: an update. *Mol Psychiatry* 2008;13:910-1.
30. Van Rijn S, Aleman A, De Sonneville L, Swaab H. Cognitive mechanisms underlying disorganization of thought in a genetic syndrome (47,XXY). *Schizophr Res* 2009;112:91-8.
31. Giouzezi M, Williams NA, Lonie LJ, DeLisi LE, Crow TJ. ProtocadherinX/Y, a candidate gene-pair for schizophrenia and schizoaffective disorder: a DHPLC investigation of genomic sequence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;129B:1-9.
32. Wilson ND, Ross LJ, Crow TJ, Volpi EV. PCDH11 is X/Y homologous in Homo sapiens but not in Gorilla gorilla and Pan troglodytes. *Cytogenet Genome Res* 2006;114:137-9.
33. Vawter MP, Evans S, Choudary P, Tomita H, Meador-Woodruff J, Molnar M et al. Gender-specific gene expression in post-mortem human brain: localization to sex chromosomes. *Neuropsychopharmacology* 2004;29: 373-84.