

Πολυμορφισμοί N-ακετυλοτρανσφεράσης-2 και σχιζοφρένεια

N-acetyltransferase-2 polymorphisms and schizophrenia

Pilar Alejandra Saiz, Maria P Garcia-Portilla, Celso Arango, Blanca Morales, Victoria Alvarez, Eliecer Coto, Juan M Fernandez, Manuel Bousoño, Julio Bobes

European Psychiatry 2006; 21:333-7

Στοιχεία ενός τύπου ευαισθησίας για τη σχιζοφρένεια, χαρτογράφηση στο χρωμόσωμα 8p 22-21, έχουν αναφερθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες^{4-6,17,27-30,35,39,40}. Άλλες μελέτες είτε έχουν προσφέρει λιγότερο σημαντική στατιστική υποστήριξη είτε είναι αρνητικές^{20,44}. Αμφότερες οι ενδογενείς^{13,41} και εξωγενείς^{14,26} νευροτοξικές ουσίες ενέχονται στη γένεση της σχιζοφρένειας.

Οι N-ακετυλοτρανσφεράσες (NAT) έχουν συνδεθεί με την αποτοξίνωση διάφορων διαιτητικών και επαγγελματικών αρυλαμινικών καρκινογόνων ουσιών, οι οποίες κυρίως λειτουργούν ως φάσης II συζυγίες ενζύμων. Υπάρχουν δύο γονίδια που κωδικοποιούν τη λειτουργική NAT σε ανθρώπους (NAT1 και NAT2) στο χρωμόσωμα 8p22 σε 400 kb μεταξύ τους³³. Οι αντίστοιχες πρωτεΐνες είναι ένζυμα που ενέχονται στο μεταβολισμό και την αποτοξίνωση των φαρμάκων και άλλων ξένων χημικών ουσιών και είναι δυνατό να ενέχονται στην παθολογία του εγκεφάλου μέσω της ανώμαλης αποτοξίνωσης, η οποία δευτερευόντως έχει επιπτώσεις στον εγκέφαλο⁷.

Το NAT2 είναι πολυμορφικό, μεταβολίζει αρωματικές αμίνες και περιλαμβάνεται στο μεταβολισμό φάσης II διάφορων ενώσεων, παραδείγματος χάριν της καφεΐνης και του καπνού. Αυτό το ένζυμο έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες μελέτες για τη συσχέτιση της ικανότητας ακετυλίωσης με την ασθένεια και έχει περιγραφεί κάποια σύνδεση μεταξύ της δραστηριότητας του NAT2 και της ευαισθησίας στον καρκίνο^{1,15,19,25,38}, της νόσου του Πάρκινσον^{2,8} ή του συστηματικού ερυθρηματώδη λύκου⁴³.

Το γονίδιο NAT2 έχει χαρακτηριστεί επαρκώς και 13 μοναδικοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) έχουν χαρακτηριστεί σ' αυτό. Η μεταλλαγή και ο συνδυασμός ενός έως και τεσσάρων από αυτούς περιλαμβάνουν 29 διαφορετικά αλληλόμορφα γονίδια που έχουν συσχετιστεί με την αργή, ενδιάμεση και γρήγορη ακετυλίωση

Η σχιζοφρένεια είναι μια κοινή, γενετικά ετερογενής διαταραχή που επικρατεί σε όλη τη διάρκεια της ζωής στο 1% περίπου του γενικού πληθυσμού. Οι περισσότερες μελέτες υποψήφιων γονιδίων έχουν ανιχνύσει τη λειτουργική εγκυρότητά τους από τις νευροφαρμακολογικές μελέτες που προτείνουν ότι ανωμαλίες στη νευροδιαβίβαση μονοαμινών - συγκεκριμένα ντοπαμινεργικών και σεροτονινεργικών συστημάτων- παίζουν ρόλο στην αιτιολογία της σχιζοφρένειας. Συνολικά, τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σε αυτόν τον εκτενή όγκο της βιβλιογραφίας είναι απογοητευτικά³⁴.

των φαινοτύπων⁹. Από αυτούς, δύο αποβαλλόμενες (missense) υποκαταστάσεις (T341C και G590A) εμφανίζονται να είναι οι κρισιμότερες για τον καθορισμό της κατάστασης του ακετυλικού παράγοντα σε Καυκάσιους^{3,18,31,32}. Εντούτοις, τα προηγούμενα στοιχεία υποδεικνύουν μια ανισορροπία διασύνδεσης μεταξύ των 341-C, 481-T και 803-G^{3,11,21,31,37}, οπότε η μεταλλαγή 481-C είναι ικανοποιητική για την ανίχνευση του «αργού ακετυλικού παράγοντα» (SA) αλληλόμορφου γονιδίου που ορίζεται ως NAT2*5B³¹. Η αργή ακετυλίωση του NAT2 παρατηρείται σε ένα μεγάλο μέρος των Καυκασίων (40-70%), ενώ απαντάται σπανιότερα μεταξύ των Ασιατών (10-30%)^{9,22}. Οι «αργοί ακετυλικοί παράγοντες» (SA) είναι λιγότερο αποδοτικοί από τους «γρήγορους ακετυλικούς παράγοντες» (RA) στο μεταβολισμό πολυάριθμων χημικών καρκινογόνων ουσιών και τοξινών²².

Λαμβάνοντας υπόψη τα στοιχεία ενός τύπου ευαισθησίας για τη σχιζοφρένεια, της χαρτογράφησης στο χρωμόσωμα 8p22-21, και την αποτυχία των Blaveri και συνεργατών⁷ να καταδείξουν τη συσχέτιση μεταξύ ενός πολυμορφισμού του γονιδίου NAT1 και της σχιζοφρένειας, εστίασαμε

σε άλλο υποψήφιο γονίδιο 8p22, το NAT2, το οποίο είναι άμεσα συνδεδεμένο με το NAT1. Σε αυτήν τη μελέτη, ερευνούμε τη σχέση μεταξύ δύο SNPs (C481T και G590A)^{10,42} στο γονίδιο NAT2 και τη σχιζοφρένεια.

Διακόσιοι είκοσι οκτώ εξωτερικοί ασθενείς με σχιζοφρένεια (μέση ηλικία = 35,6 έτη, πεδίο ηλικίας 15-69 έτη, άρρενες 60,5%) από την περιοχή της Asturias (Βόρεια Ισπανία, συνολικός πληθυσμός: 1 εκατομμύριο) εγγράφηκαν στη μελέτη. Όλοι οι ασθενείς είχαν διάγνωση της σχιζοφρένειας σύμφωνα με τα κριτήρια DSM-IV (οι διαγνώσεις καθορίστηκαν από πεπειραμένους ψυχιάτρους χρησιμοποιώντας την Ισπανική έκδοση της Δομημένης Κλινικής Συνέντευξης για DSM-IV - SCID-I).

Αναλύθηκαν διακόσια τυχαία επιλεγμένα υγιή άτομα (Κριτήρια της Μίνι-Διεθνούς Νευροψυχιατρικής Συνέντευξης - MINI-DSM-IV) (μέση ηλικία=45 έτη, πεδίο ηλικίας 25-75 έτη, άρρενες 75%) από τον ίδιο Καυκάσιο πληθυσμό.

Μια υψηλότερη ηλικία των ελεγχόμενων σε σύγκριση με τους σχιζοφρενείς εξωτερικούς ασθενείς τους υποδεικνύει ότι πρόκειται περί αληθών ελεγχόμενων.

Όλες οι περιπτώσεις και οι ελεγχόμενοι ήταν Καυκάσιας Ισπανικής προέλευσης είχαν κοινά όμοια κοινωνικοδημογραφικά προφίλ και ήταν συγκρίσιμοι όσον αφορά στη γεωγραφική προέλευση των οικογενειών τους. Όλοι οι υγιείς ελεγχόμενοι και οι ασθενείς που παρουσίαζαν ένα ιστορικό χρήσης ναρκωτικών ή αλκοόλ αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Εκατόν είκοσι πέντε (54,8%) ασθενείς και 65 (32,5%) υγιείς ελεγχόμενοι ήταν τρέχοντες καπνιστές. Το τρέχον κάπνισμα ορίζεται ως τρέχον καθημερινό κάπνισμα¹⁶.

Η ενημερωμένη συγκατάθεση λήφθηκε από όλα τα άτομα που εγγράφηκαν στη μελέτη. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις διατάξεις της Διακήρυξης του Ελσίνκι της Παγκόσμιας Ιατρικής Ένωσης και χορηγήθηκε θεσμική έγκριση της μελέτης⁴⁵. Η μελέτη υπόκειτο επίσης και ήταν σε συμμόρφωση με την εθνική Ισπανική νομοθεσία.

Ανάλυση RFLP του γονιδίου NAT2

Η γονοτυπία εκτελέσθηκε χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τα κλινικά στοιχεία και εις διπλούν, με τους ασθενείς και τους υγιείς ελεγχόμενους εκ των υποκειμένων να αναλύονται δίπλα-δίπλα για να εξαλειφθούν τα λάθη. Το γενετικό DNA εξήχθη από περιφερειακά λευκά κύτταρα αίματος που λήφθηκαν από κάθε υποκείμενο, χρησιμοποιώντας συμβατικό πρωτόκολλο εξαγωγής φαινόλης-χλωροφορμίου και καθίζησης αιθανόλης. Η αλλαγή του C σε T στη

θέση 481 προσδιορίστηκε από την KpnI πέψη ενός 290 bp PCR τεμαχίου που λήφθηκε με τους εγχυτήρες 5' TGTCGA TGCTGGGCTCG GAA 3' και 5' ATGAAGATGTTGGAGACGT 3' (θερμοκρασία 62°C). Αυτοί οι εγχυτήρες PCR προήλθαν από τη σειρά NAT2 (αριθμός πρόσβασης EMBL X14672). Μετά από την πέψη με περιορισμό της ενδονουκλεάσης KpnI, τα αλληλόμορφα γονίδια 481-T και 481-C απεικονίζονται ως κλάσματα του 290 bp και 170+120 bp, αντίστοιχα. Η μεταβολή του G σε A στο νουκλεοτίδιο 590 καταστρέφει μία περιοχή TaqI. Το DNA από τους ασθενείς και τους ελεγχόμενους ενισχύθηκε με τους εγχυτήρες NAT2 που περιγράφηκαν ανωτέρω και αφομοιώθηκε με περιορισμό της ενδονουκλεάσης TaqI για ανάλυση. Τα αλληλόμορφα γονίδια 590-A και 590-G απεικονίζονται ως κλάσματα των 290 και 230+60 bp, αντίστοιχα. Τα SNPs απευθύνθηκαν τελικά σε αλληλόμορφα γονίδια NAT2*4 (κανένα), NAT2*5B (481-T), και 6*B (590-A)²².

Οι παρατηρηθείσες συχνότητες συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες σύμφωνα με την ισορροπία Hardy-Weinberg μέσω δοκιμής χ^2 . Οι διαφορές μεταξύ των συχνότητων αλληλόμορφων γονιδίων και γονοτύπου αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας μια δοκιμή χ^2 . Υπολογίστηκαν επίσης οι λόγοι πιθανοτήτων (ORs) και τα κατά Cornfield 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CIs). Το λογισμικό SPSS/PC+ χρησιμοποιήθηκε για τις στατιστικές αναλύσεις. Το γενετικό-υπολογιστικό πρόγραμμα¹² χρησιμοποιήθηκε για να



συγκρίνει τις κατ' εκτίμηση συχνότητες απλότυπων στους ασθενείς και τους ελεγχόμενους υγιείς και για να ελέγξει για διαφορές με μια δοκιμή λόγου πιθανοτήτων (LRT), καθώς επίσης και για να υπολογισθεί η pair-wise ανισορροπία συσχέτισης (LD) μεταξύ όλων των ζευγών των δεικτών.

Η μέση ηλικία της ομάδας των σχιζοφρενών ήταν 35,6 (11,7) [άρρηνες: 60,5%, μέση ηλικία (SD): 34,73 (10,55) θήλεα: 39,5%, μέση ηλικία (SD): 36,96 (13,40)]. Η πλέον κοινή σχιζοφρενής υποκατηγορία ήταν η παρανοϊκή (71,9%), ακολουθούμενη από την κατάλοιπη (11,0%), αδιαφοροποίητη (6,1%), ηβηφρενική (4,4%), απλή (3,1%), κατατονική (0,4%) και απροσδιόριστη (3,1%). Η μέση ηλικία στην αρχή της ασθένειας ήταν 26,2 (9,9) έτη. Ο μέσος χρόνος της εξέλιξης της ασθένειας ήταν 9,4 (8,6) έτη. Όλοι οι ασθενείς ήταν εξωτερικοί ασθενείς κατά το χρόνο συμμετοχής τους στη μελέτη. Οι περισσότεροι από τους ασθενείς (88,6%) βρισκόνταν σε τρέχουσα

άτυπη αντιψυχωσική θεραπεία (συνήθως ολανζαπίνη, ρισπεριδόνη και κουετιαπίνη) και 11,4% ελάμβαναν τυπικά αντιψυχωσικά φάρμακα.

Και οι δύο ομάδες (ασθενείς και ελεγχόμενοι υγιείς) παρουσίασαν ισορροπία Hardy-Weinberg για την αναλυθείσα γενετική παραλλακτικότητα. Τα στοιχεία μας παρουσιάζουν συσχέτιση ανισορροπίας μεταξύ αμφοτέρων των πολυμορφισμών, σύμφωνα με τις τιμές R (Cramer V) (ασθενείς: Cramer V=0,583, $p < 0,00001$ ελεγχόμενοι υγιείς: Cramer V=0,480, $p < 0,00001$). Η κατανομή των γονοτύπων για τους πολυμορφισμούς C481T και G590A στους σχιζοφρενικούς και τους ελεγχόμενους συνοψίζεται στον πίνακα 1.

Η κατανομή των γονοτύπων NAT2 C481T και NAT2 G590A είναι παρόμοια μεταξύ των ασθενών και των ελεγχόμενων ($\chi^2=5,78$, $df=2$, $p=0,055$ και $1=2,86$, $df=2$, $p=0,239$, αντίστοιχα). Εντούτοις, περισσότερα άτομα ομοζυγωτά για το 481-T βρέθηκαν στους ασθενείς παρά στους ελεγχόμενους υγιείς ($\chi^2=5,57$, $df=1$, $p=0,018$, OR=1,80, 95% CI=1,10-2,95). Η συχνότητα των ομοζυγωτών για το 590-A ήταν παρόμοια και στις δύο ομάδες ($\chi^2=2,56$, $df=1$, $p=0,110$, OR=1,93, 95% CI=0,85-4,37). Το αλληλόμορφο γονίδιο 481-T ήταν παρόν στις συχνότητες 0,49 και 0,41 στον πληθυσμό των ασθενών και των ελεγχόμενων αντίστοιχα ($\chi^2=4,48$, $df=1$, $p=0,034$, OR=1,34, 95% CI=1,02-1,76) (πίνακας 1). Οι συχνότητες 590-A ήταν 0,27 και 0,25 στους ασθενείς και τους ελεγχόμενους, αντίστοιχα ($\chi^2=0,6$, $df=1$, $p=0,551$, OR=1,10, 95% CI=0,81-1,49) (πίνακας 1).

Οι προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι άτομα 481-T και 590-AA έχουν σημαντικά μειωμένη δραστηριότητα NAT2²³. Η κατανομή των αργών ακετυλικών παραγόντων, οριζόμενοι ως εκείνοι που ήταν ομοζυγωτικοί για τουλάχιστον έναν από τους γονοτύπους NAT2 SA ή ετεροζυγωτικοί, συγκρίθηκε επίσης μεταξύ των ασθενών και των ελεγχόμενων. Αυτές οι συχνότητες ήταν 59% στους ασθενείς και 46% στους ελεγχόμενους ($\chi^2=7,53$, $df=1$, $p=0,006$, OR=1,71, 95% CI=1,16-2,51) (πίνακας 2). Συνολικά τέσσερις απλότυποι υπολογίστηκαν από υπολογισμό γονιδίων να έχουν μη μηδενικές συχνότητες. Σημαντικές διαφορές στις συχνότητες αυτών των απλότυπων μεταξύ των ασθενών και των ελεγχόμενων ήταν προφανείς: LRT=8,62, $df=3$, $p=0,035$. Για να προσδιορισθεί ποιοι μεμονωμένοι απλότυποι συμβάλλουν στη

Πίνακας 1. Κατανομή γονοτύπων NAT2 481 και NAT2 590 και συχνότητων αλληλόμορφων γονιδίων σε εξωτερικούς ασθενείς με σχιζοφρένεια και σε ελεγχόμενους υγιείς

Γονότυπος	NAT2 C481T	NAT2 G590A
Συχνότητες ασθενών [N(%)]	55 (24,1%) TT 111 (48,7%) TC 62 (27,2%) CC	19 (8,3%) AA 83 (36,4%) AG 126 (55,3%) GG
Συχνότητες ελεγχόμενων υγιών [N(%)]	30 (15,0%) TT 105 (52,5%) TC 65 (32,5%) CC	9 (4,5%) AA 81 (40,5%) AG 110 (55,0%) GG
χ^2 (df)	5,78 (2)	2,86 (2)
p τιμή	0,055	0,239
Αλληλόμορφα γονίδια		
Συχνότητες ασθενών [N(%)]	221 (48,5%) T 235 (51,5%) C	121 (26,5%) A 335 (73,5%) G
Συχνότητες ελεγχόμενων υγιών [N(%)]	165 (41,2%) T 235 (58,8%) C	99 (24,7%) A 301 (75,3%) G
χ^2 (df)	4,48 (1)	0,36 (1)
p τιμή	0,034	0,551
OR (95% CI)	1,34 (1,02-1,76)	1,10 (0,81-1,49)

► συνολική σημασία αυτής της δοκιμής ετερογένειας, ο υπολογισμός γονιδίων εξέθεσε επίσης τις κατά προσέγγιση στατιστικές LRT και τις εκτιμώμενες συχνότητες στους ασθενείς και τους ελεγχόμενους για κάθε μεμονωμένο απλότυπο. Εντούτοις, η κατ' εκτίμηση συχνότητα του απλότυπου που συνδυάζει τα υποθετικά «προστατευτικά» αλληλόμορφα γονίδια 481-C και 590-G παρουσίασε αύξηση στους ελεγχόμενους (34%) σε σύγκριση με τους ασθενείς (25%) (LRT=5,90, df=1, p=0,041, OR=0,64, 95% CI=0,43-0,98) (πίνακας 3).

Ένας τρόπος αύξησης της πιθανότητας της εύρεσης γονιδίων που σχετίζονται με τη σχιζοφρένεια είναι η εξέταση της υποψηφιότητας των γονιδίων που χαρτογραφούν σε ένα διάστημα που έχει ήδη ενοχοποιηθεί από προγενέστερα στοιχεία γενετικής συσχέτισης⁷.

Η αποτυχία των Blaveri και συν.⁷ να καταδείξουν την σχέση μεταξύ ενός πολυμορφισμού 3' UTR του γονιδίου της αρυλαμίνης NAT1 και της σχιζοφρένειας σε ένα δείγμα 130 ασθενών με σχιζοφρένεια Καυκάσιας Ιρλανδικής, Ουαλικής, Σκωτσέζικης ή Αγγλικής εθνικότητας, μας οδήγησε να εστιάσουμε στο NAT2, ένα άλλο υποψήφιο γονίδιο που βρίσκεται στην 8p22, και είναι πολύ άμεσα συνδεδεμένο με το NAT1. Από ό,τι ξέρουμε, αυτή είναι η πρώτη έκθεση που αναλύει την σχέση μεταξύ δύο πολυμορφισμών NAT2 και σχιζοφρένειας. Τα στοιχεία μας υποστηρίζουν έναν πιθανό ρόλο στη σχιζοφρένεια για τους γονότυπους NAT2.

Σημαντικές παραλλαγές έχουν βρεθεί στην κατανομή γονότυπου NAT2 σε πληθυσμούς με διαφορετικά εθνικά υπόβαθρα^{9,22,24,32}. Εντούτοις, στη μελέτη μας, και οι ασθενείς και οι ελεγχόμενοι υγιείς ομαδοποιήθηκαν ως προς την εθνικότητα πάρεθκαν από έναν ομοιογενή πληθυσμό. Αυτό επομένως αποκλείστηκε ως εξήγηση για τις διαφορές που βρέθηκαν.

Καμία διόρθωση δεν έγινε για πολλαπλή δοκιμή. Η διόρθωση του Bonferroni χρησιμοποιείται συνήθως όταν δύο υπό μελέτη τύποι δε βρίσκονται σε ανισορροπία συσχέτισης. Επιπλέον, σύμφωνα με τον Perneger³⁶, η διόρθωση του Bonferroni είναι πάρα πολύ αυστηρή στις καταστάσεις όπου (i) οι πολλαπλοί φαινότυποι δεν είναι ανεξάρτητοι και (ii) οι αναλύσεις έχουν διενεργηθεί σύμφωνα με μια καθιερωμένη εκ των προτέρων βιολογική υπόθεση.

Οι N-ακετυλοτρανσφεράσες είναι σημαντικά αποτοξινωτικά ένζυμα

της φάσης II με ένα πανταχού παρόν προφίλ έκφρασης, που υποδεικνύουν έναν προστατευτικό ρόλο σε όλους τους ιστούς που εκτίθενται σε καρκινογόνες ουσίες ή τοξίνες. Σε αυτήν τη μελέτη, αναλύσαμε δύο από τους συχνότερους πολυμορφισμούς NAT2 που συνδέονται με τον αργό ακετυλικό παράγοντα φαινοτύπου. Η μεταβολή του C σε T στη θέση νουκλεοτιδίου 481 που καθορίζει την απώλεια μιας περιοχής KpnI είναι μια σιωπηλή μεταλλαγή¹⁰. Εντούτοις, τα χρωμοσώματα που φέρουν αυτήν τη μεταλλαγή έχουν επίσης δύο missense μεταβολές, T σε C στη θέση 341 (Ile→Thr) και A σε G στη θέση 803 (Lys→Arg), οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον αργό ακετυλικό παράγοντα του φαινοτύπου. Η ανάλυση των πολυμορφισμών 341 και 481 επέδειξε πλήρη ανισορροπία συσχέτισης μεταξύ των 341-C, 481-T και 803-G στον πληθυσμό μας (στοιχεία που δεν παρουσιάζονται)³⁷. Οι πρόσφατες μελέτες έχουν περιγράψει τη χαμηλότερη δραστηριότητα ακετυλοτρανσφεράσης για το ένζυμο με τις μεταβολές 341/481/803, το οποίο επίσης ορίζεται ως αλληλόμορφο γονίδιο NAT2*5B^{11,23}. Το δεύτερο πιο κοινό αργό ακετυλικό αλληλόμορφο γονίδιο NAT2 αποτελείται από μία μεταβολή G σε A στο νουκλεοτίδιο 590 (οριζόμενο ως αλληλόμορφο γονίδιο NAT2*6B). Η μεταβολή (Arg→Glu) του αμινοξέος 197 που εισάγεται από αυτή τη μεταλλαγή μειώνει τη δραστηριότητα NAT2 στο 24% του NAT2 άγριου-τύπου²³. Κατά συνέπεια, οι αργοί ακετυλοποιητικοί παράγοντες είναι πιο ευαίσθητοι στη χαμηλότερη

έκθεση στις περιβαλλοντικές καρκινογόνες ουσίες ή νευροτοξίνες, αλλά αυτή η υπόθεση πρέπει να ερευνηθεί σε μεταβολικές μελέτες⁸.

Η σχετικότητα της πιθανής συσχέτισης μεταξύ των γονότυπων NAT2 και της σχιζοφρένειας είναι μέχρι τώρα άγνωστη. Η σχιζοφρένεια είναι μια πολλών συντελεστών διαταραχή, και η προδιάθεση στην ανάπτυξη μιας τέτοιας διαταραχής είναι πιθανό να είναι το αποτέλεσμα διάφορων γενετικών πολυμορφισμών. Η 40ετής αναζήτηση ενός ενδογενούς ή εξωγενούς παράγοντα που παίζει ρόλο στη σχιζοφρένεια έχει μέχρις εδώ αποτύχει. Σαφώς, πρόσθετη έρευνα απαιτείται σε αυτήν την περιοχή, καθόσον, προς το παρόν, παραμένουν αναπάντητα πολλά ερωτήματα σχετικά με το ρόλο που παίζουν οι νευροτοξίνες στη σχιζοφρένεια⁴¹. Από την άλλη πλευρά, αν και στα μελετηθέντα SNPs δε φαίνεται ότι η ασθένεια προκαλεί τις παραλλαγές, εντούτοις είναι δυνατό η ανισορροπία συσχέτισης, που είναι παρούσα σε αυτά τα γονίδια, να οδηγεί στην αλληλόμορφη συσχέτιση μεταξύ του δείκτη και της ασθένειας⁷.

Συμπερασματικά, τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι οι γενετικά καθορισμένες αλλαγές στην ιδιότητα της ακετυλίωσης θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην εξασθενημένη δυνατότητα που μπορεί να έχουν οι σχιζοφρενείς ασθενείς στο μεταβολισμό των νευροτοξικών ουσιών. Εντούτοις, αν και ενδιαφέροντα, αυτά τα αποτελέσματα απαιτήσαν την περαιτέρω επιβεβαιωτική επανάληψη σε ανεξάρτητα δείγματα για να αποδειχθεί η αξιοπιστία των

συμπερασμάτων. Τέλος, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διευκρινισθεί η βιολογική σχετικότητα αυτών των συμπερασμάτων.

Βιβλιογραφία

1. Ambrosone CB, Freudenheim JL, Graham S, Marshall JR, Vena JE, Brasure JR, et al. Cigarette smoking, N-acetyltransferase 2 genetic polymorphisms, and breast cancer risk. *JAMA* 1996; 276:1494-501.
2. Agundez JA, Jimenez-Jimenez FJ, Luengo A, Molina JA, Orti-Pareja M, Vasquez A, et al. Slow allotypic variants of the NAT2 gene and susceptibility to early-onset Parkinson's disease. *Neurology* 1998; 51:1587-92.
3. Agundez JAG, Olivera M, Martinez C, Ladero JM, Benitez J. Identification and prevalence study of 17 allelic variants of the human NAT2 gene in a white population. *Pharmacogenetics* 1996; 6:423-8.
4. Blouin JL, Dombroski BA, Nath SK, Lasseter VK, Wolyniec PS, Nestadt G, et al. Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. *Nat Genet* 1998; 20:70-3.
5. Brzustowicz LM, Honer WG, Chow EW, Little D, Hogan J, Hodgkinson K, et al. Linkage of familial schizophrenia to chromosome 13q32. *Am J Hum Genet* 1999; 65:1096-103.
6. Badner JA, Gershon ES. Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatr* 2002; 7:405-11.
7. Blaveri E, Kalsi G, Lawrence J, Quedest D, Moorey H, Lamb G, et al. Genetic association studies of schizophrenia using the 8p21-22 genes: prepronociceptin (PNOC), neuronal nicotinic cholinergic receptor alpha polypeptide 2 (CHRNA2) and arylamine N-acetyltransferase 1 (NAT1). *Eur J Hum Genet* 2001; 9:469-72.
8. Bandmann O, Vaughan J, Holmans P, Marsden CD, Wood NW. Association of slow acetylator genotype for N-acetyltransferase 2 with familial Parkinson's disease. *Lancet* 1997; 350:1136-9.
9. Butcher NJ, Boukouvala S, Sim E, Minchin RF. Pharmacogenetics of the arylamine N-acetyltransferases. *Pharmacogenomics J* 2002; 2:30-42.
10. Blum M, Demierre A, Grant DM, Heim

Πίνακας 2. Κατανομή των αργών ακετυλικών παραγόντων γονοτύπων NAT2 (SA) σε εξωτερικούς ασθενείς με σχιζοφρένεια και σε ελεγχόμενους υγιείς

Κατάσταση NAT2 SA ^a	Ασθενείς με σχιζοφρένεια	Ελεγχόμενοι υγιείς
Φορείς	134 (58,8%)	91 (45,5%)
Μη φορείς	94 (41,2%)	109 (54%)

^aSA ορίζονται ως εκείνα τα άτομα ομοζυγωτά για το NAT2 481-T ή NAT2 590-A και διπλά ετεροζυγωτά $\chi^2=7,53$, df=1, p=0,006 OR=1,71, 95% CI=1,16-2,51.

Πίνακας 3. Εκτιμώμενες συχνότητες των απλοτύπων NAT2 C481T και G590A

Απλότυποι	Ασθενείς	Ελεγχόμενοι υγιείς	LTR	Τιμή p ^b
481T, 590A	0,00001	0,00003	0,005	NS
418T, 590G	0,485	0,412	2,473	NS
481C, 590A	0,265	0,248	0,265	NS
481C, 590G	0,250	0,340	5,896	0,41

^b οι τιμές p προέρχονται από την υπόθεση ότι τα στατιστικά LRT ακολουθούν κατανομή χ^2 με 1 df.

- M, Meyer UA. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:5237-41.
11. Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmoller J, Maurer A, Sperling K, Roots I. Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity. *Am J Hum Genet* 1995; 57:581-92.
 12. Curtis D, Knight J, Genecounting Program, <http://www.mds.qmul.ac.uk/statgen/dcurtis.html>2003. Accessed, November 8, 2005.
 13. Deutsch SI, Rosse RB, Schwartz BL, Mastropaolo J. A revised excitotoxic hypothesis of schizophrenia: therapeutic implications. *Clin Neuropharmacol* 2001; 24:43-9.
 14. Dean K, Murray RM. Environmental risk factors for psychosis. *Dialogues Clin Neurosci* 2005; 7:69-80.
 15. Drozdz M, Gierek T, Jendryczko A, Pilch J, Piekarska J. N-acetyltransferase phenotype of patients with cancer of the larynx. *Neoplasma* 1987; 34:481-4.
 16. De Leon J, Diaz FJ. A meta-analysis of worldwide studies demonstrates an association between schizophrenia and tobacco smoking behaviours. *Schizophr Res* 2005; 76:135-57.
 17. Gurling HMD, Kalsi G, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Sherrington R, Mankoo BS, et al. Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *Am J Hum Genet* 2001; 68:661-73.
 18. Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, Autrup JL, et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 10:1239-48.
 19. Gonzalez MV, Alvarez V, Pello MF, Menendez MJ, Suarez C, Coto E. Genetic polymorphism of N-acetyltransferase-2, glutathione S-transferase-M1, and cytochromes P450IIE1 and P450IID6 in the susceptibility to head and neck cancer. *J Clin Pathol* 1998; 51:294-8.
 20. Hovatta I, Varilo T, Suvisaari J, Terwilliger JD, Ollikainen V, Arajärvi R, et al. A genomewide screen for schizophrenia genes in an isolated Finnish subpopulation, suggesting multiple susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 1999; 65:1114-24.
 21. Hickman D, Risch A, Camilleri P, Sim E. Genotyping human polymorphic arylamine N-acetyltransferase: identification of new slow allelotypic variants. *Pharmacogenetics* 1992; 2:217-26.
 22. Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SJ, Xiao GH, et al. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9:29-42.
 23. Hein DW, Ferguson RJ, Doll MA, Rustan TD, Gray K. Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase: enzymatic analysis of 15 recombinant wild-type, mutant, and dimeric NAT2 allozymes. *Hum Mol Genet* 1994; 3:729-34.
 24. Hirvonen A. Genetic factors in individual responses to environmental exposures. *J Occup Environ Med* 1995; 37:37-43.
 25. Ilett KF, David BM, Detchon P, Castleden WM, Kwa R. Acetylation phenotype in colorectal carcinoma. *Cancer Res* 1987; 47:1466-9.
 26. Kelly C, McCreadie RG. Smoking habits, current symptoms, and pre-morbid characteristics of schizophrenic patients in Nithsdale, Scotland. *Am J Psychiatry* 1999; 156:1751-7.
 27. Kaufmann CA, Suarez B, Malaspina D, Pepple J, Svrakic D, Markel PD, et al. NIMH Genetics Initiative Millennium Schizophrenia Consortium: linkage analysis of African – American pedigrees. *Am J Med Genet* 1998; 81:282-9.
 28. Kendler KS, MacLean CJ, O'Neill FA, Burke J, Murphy B, Duke F, et al. Evidence for a schizophrenia vulnerability locus on chromosome 8p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families. *Am J Psychiatry* 1996; 153:1534-40.
 29. Levinson DF, Wildenauer DB, Scwab SG, Albus M, Hallmayer J, Lerer B, et al. Additional support for schizophrenia linkage on chromosomes 6 and 8: a multicenter study. *Am J Med Genet* 1996; 67:580-94.
 30. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, et al. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2003; 73:34-48.
 31. Lin HJ, Han CY, Lin BK, Hardy S. Slow acetylator mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 Asians, Blacks, Hispanics, and Whites: application to metabolic epidemiology. *Am J Hum Genet* 1993; 52:827-34.
 32. Lin HJ, Han CY, Lin BK, Hardy S. Ethnic distribution of slow acetylator mutations in the polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Pharmacogenetics* 1994; 4:125-34.
 33. Matas N, Thygesen P, Stacey M, Rich A, Sim E. Mapping AAC1, AAC2 and AACP, the genes for arylamine N-acetyltransferases, carcinogen metabolising enzymes on human chromosome 8p22, a region frequently deleted in tumours. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 77:290-5.
 34. O'Donovan MC, Owen ML. Candidate – gene association studies of schizophrenia. *Am J Hum Genet* 1999; 65:587-92.
 35. Pulver AE, Lasseter VK, Kasch L, Wolyniec P, Nestadt G, Blouin JL, et al. Schizophrenia: a genome scans targets chromosomes 3p and 8p as potential sites of susceptibility genes. *Am J Med Genet* 1995; 60:252-60.
 36. Pemejer TV. What's wrong with Bonferroni adjustments. *BMJ* 1998; 1236-8.
 37. Rodrigo L, Alvarez V, Rodriguez M, Perez R, Alvarez R, Coto E. N-acetyltransferase-2, glutathione S-transferase M1, alcohol dehydrogenase, and cytochrome P450IIE1 genotypes in alcoholic liver cirrhosis: a case-control study. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:303-7.
 38. Risch A, Wallace DM, Bathers S, Sim E. Slow N-acetylation genotype is a susceptibility factor in occupational and smoking related bladder cancer. *Hum Mol Genet* 1995; 4:231-6.
 39. Shaw SH, Kelly M, Smith AB, Shields G, Hopkins PJ, Loftus J, et al. A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Am J Med Genet* 1998; 81:364-76.
 40. Straub RE, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, et al. Genome-wide scans of three independent sets of 90 Irish multiplex schizophrenia families and follow-up of selected regions in all families provides evidence for multiple susceptibility genes. *Mol Psychiatr* 2002; 7:542-59.
 41. Smythies J. Endogenous neurotoxins relevant to schizophrenia. *J R Soc Med* 1996; 89:679-80.
 42. Vatsis KP, Martell KJ, Weber WW. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:6333-7.
 43. Von Schmiedeberg S, Fritsche E, Ronnau AC, Specker C, Golka K, Richter-Hintz D, et al. Polymorphisms of the xenobiotic metabolizing enzymes CYP1A1 and NAT-2 in systemic sclerosis and lupus erythematosus. *Adv Exp Med Biol* 1999; 455:147-52.
 44. Williams NM, Rees MI, Holmans P, Norton N, Cardno AG, Jones LA, et al. A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum Mol Genet* 1999; 8:1729-39.
 45. World Medical Association. Declaration of Helsinki. Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Amended by the 41st World Medical Assmblly, Hong Kong, September, 1989.