

A dopamin D4-es receptor hipoxia érzékenységének gyermekpszichiátriai vonatkozásai

MÓZES VIKTOR, BENCE MELINDA, SASVÁRI-SZÉKELY MÁRIA ÉS KESZLER GERGELY

Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet, Budapest

A figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (ADHD) az egyik leggyakoribb gyermekpszichiátriai probléma, melynek hátterében komplex genetikai és környezeti faktorok húzódnak meg. Jelen tudásunk szerint a rendellenességért elsősorban a prefrontális dopamin hiány, illetve a központi idegrendszer dopaminerg beidegzésének zavara a felelős. Ikervizsgálatok alapján az ADHD kialakulásában igen fontos szerepet játszanak az öröklött tényezők, a vizsgált kandidáns gének, többek között a dopamin rendszer komponensei. A környezeti tényezők közül a pre- és perinatális ártalmak szerepe tűnik jelentősnek. A jelen összefoglalóban áttekintjük azokat az epidemiológiai, illetve sejt- és állatkísérletekből nyert adatokat, amelyek egyrészt oki szerepet tulajdonítanak a magzati hipoxiának az ADHD-ra jellemző tünetek kialakulásában, másrészt rámutatnak a dopaminerg neurotranszmisszió hipoxia érzékenységre. A D4-es dopamin receptor (DRD4) egyes allélváltozatai és az ADHD közötti kapcsolat jól ismert, ugyanakkor a szerzők saját eredményei szerint a DRD4 gén promoterének aktivitása többszörösére emelkedik hipoxiában. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a hipoxia dopaminerg neurotranszmisszióra kifejtett hatása fontos része lehet az ADHD pathogenezisének.

Kulcsszavak: dopamin D4-es receptor, hipoxia, ADHD, pszichiátriai genetika, neurotranszmisszió

A figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (attention deficit hyperactivity disorder, ADHD) a gyermekkor leggyakrabban előforduló neuropszichiátriai zavara, amely a gyermekek 3-5%-át érinti (Nair et al., 2006). A kórkép fő tünetei közé a figyelem és összpontosítás hiánya, a hiperaktivitás és az impulzivitás sorolhatók. Az ADHD kialakulásának pontos oka nem ismert, de a háttérben a genetikai faktorokon kívül az étrend és számos környezeti és szociokulturális hatás szerepét vizsgálták, illetve bizonyították (Daley, 2004). Komplex neurokémiai és idegi képkötő eljárások a primer morfológiai és funkcionális zavart négy, egymással szoros kapcsolatban álló frontostriális régió, a laterális prefrontális cortex, a dorsalis anterior cingulum, a nucleus caudatus és a putamen területére lokalizálják (Bush et al., 2005).

Genetikai asszociációs vizsgálatok nyomán körvonalazódott, és általánosan elfogadottnak tekinthető, hogy az ADHD hátterében elsősorban a prefrontális dopaminerg szabályzó körök zavara állhat. A legelfogadottabb elképzelés szerint a dopamin rendszerek

tónusos gátlás alatt tartják ezeket a köröket, és ez a gátlás a dopaminerg rendszer károsodása során csökken. Ezzel összhangban a kórkép kandidáns génei közé sorolhatók a dopamin transzporter (DAT1), a posztzinaptikus dopamin receptorok, mint például a dopamin D4-es receptor (DRD4), valamint a dopamin bioszintézisében, illetve inaktiválásában szerepet játszó enzimek génei (Waldman et Gizer, 2006). Különös súllyal esik latba a DRD4 harmadik exonjában található hosszúság-polimorfizmus (VNTR) 7 ismétlődést magába foglaló allélja, mely az ADHD egyik legjobban igazolt genetikai rizikófaktora (Faraone et al., 2001). A DRD4 exon polimorfizmuson kívül a promoter variánsok is jelentős szerepet játszhatnak, melyet saját korábbi vizsgálataink is igazoltak (Kereszturi et al., 2007).

A MAGZATI HIPOXIA ÉS AZ ADHD KAPCSOLATÁT ALÁTÁMASZTÓ EPIDEMIOLÓGIAI ADATOK

A környezeti hatások tekintetében elsősorban a prenatális és perinatális időszakban elszenvedett hatásokkal mutattak ki kapcsolatot. Az utánkövetéses

vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy mind a koraszülés, mind pedig a perinatálisan elszünetett hipoxiás-ischaemiás károsodás jelentős rizikó faktorok. Egyes vizsgálatok szerint 1000 újszülöttből 6 születik asphyxiában, amelynek következményeként hipoxiás/ischaemiás encephalopathia alakulhat ki. Ennek oka legtöbbször placentális diszfunkció, elhúzódozó szülés, koraszülés, illetve kardiovaszkuláris újraélesztés. A hipoxiás károsodás leginkább a kéri kolinerg és monoaminerg innervációt érinti, az axonok degenerációjához vezet, és a gyermekkori neuropszichiátriai problémákon túl az időskori demencia prevalenciáját is fokozza (Nyakas et al., 1996). A hipoxiás károsodás súlyossága szerint három csoportot különíthetünk el, amelyek eltérő tünetekkel járnak. Súlyos fokú károsodásnál gyakori a különböző fokú cerebrális paresis, mentális károsodás és epilepszia, ezzel szemben mérsékelt és enyhe esetekben jelentős maradványtünetek nem feltétlenül jönnek létre, később azonban gyakoriak lehetnek a magatartási zavarok, tanulási nehézségek és egyéb kognitív zavarok (van Handel et al., 2007).

Milberger és munkatársai 6-17 év közötti ADHD-ban szenvedő és kontroll gyermekeket hasonlítottak össze kórelőzményük alapján. A terhességi, szülési és gyermekkori komplikációkat elszünetett gyermekekben később gyakrabban jelent meg ADHD, illetve kognitív feladatokban és az iskolai eredményeket tekintve is rosszabbul teljesítettek (Sprich-Buckminster et al., 1993; Milberger et al., 1997).

Marlow és munkatársai 2005-ös tanulmányukban korábban hipoxiás-ischaemiás károsodást elszünetett iskoláskorú gyermekek kognitív, tanulásbeli teljesítményét, illetve viselkedését vizsgálták, és azt találták, hogy azok a gyermekek, akiknél egyébként motoros károsodás nem volt kimutatható, kortársaikhoz képest rosszabb kognitív teljesítményt nyújtottak és gyakoribb volt náluk a figyelemhiány és a hiperaktivitás (Marlow et al., 2005). Állatkísérletekben is hasonló összefüggéseket mutattak ki a perinatális hipoxiás károsodás és a később kialakuló hiperaktivitás között (Lun et al., 1990; Dell'Anna et al., 1991).

A perinatálisan elszünetett károsodás helyét elsősorban a striatumba lokalizálják (Toft, 1999). Állatkísérletek tanúsága szerint a striatum kifejezetten érzékeny az agy korai fejlődési stádiumában, és valószínű, hogy az itt létrejött enyhe, elsősorban a dopaminerg rendszert érő károsodás fontos szerepet játszik a későbbi viselkedészavar kialakulásában. Képzővizsgálatok is alátámasztották a jobb féltekei frontostriatális körök struktúráit (prefrontális kéreg, striatum) érintő deficitet (Castellanos, 1997).

A károsodás kialakulásában a koraszülésnek is jelentős szerepe lehet. Egyes adatok szerint a 36. hét előtt született újszülöttek 59-84%-nál fordul elő intermittáló légzészavar, ami az artériás vér deszaturációjával és ennek következtében hipoxiával jár (Poets et al., 1994). Ennek szintén szerepe lehet a későbbi viselkedészavarok kialakulásában.

A gyermekkori intermittáló hipoxia gyakori formája az obstruktív alvási apnoe (sleep-disordered breathing), amelynek előfordulása szintén korrelációt mutat a figyelemhiányos hiperaktivitással és egyéb kognitív diszfunkciókkal (Chervin et al., 2002; Bass et al., 2004). Az obstruktív alvási apnoe szindrómában (OSAS) alvás alatt a felső légutak elzáródása, esetleg ritkán centrális okok miatt intermittáló hipoxia/asphyxia keletkezik. Ez egyrészt éjszakai felriadásokhoz, ezáltal az alvás fragmentálódásához és alvászavarokhoz, másrészt az említett neuropszichológiai elváltozásokon kívül kardiovaszkuláris és metabolikus kórképekhez vezet. Annak ellenére, hogy patkánymodellek segítségével is igyekeztek feltérképezni az alvási apnoe által okozott, elsősorban a hippocampusban és prefrontális kéregben megfigyelt elváltozások okát, nem tisztázott, hogy az említett agyi elváltozásokban és az említett tünetek kialakulásában a hipoxiának vagy az alvás fragmentálódásának van-e elsődleges szerepe (Gozal et Kheirandish-Gozal, 2007).

A MAGZATI HIPOXIA KÖZPONTI IDEGRENSZERI HATÁSAI ÁLLATMODELLEKEN

A perinatális hipoxia modellezésére számos állatmodellt dolgoztak ki. Brake és munkatársai patkányokon vizsgálták a szülési komplikációk hatását. Császármetszéssel, illetve 15 perc anoxia után császármetszéssel született patkányokat hasonlítottak normál hüvelyi úton született társaikkal. A 15 perc anoxiát szenvedett, illetve császármetszéssel született patkányok szignifikánsan magasabb lokomotoros aktivitást, a jobb oldali prefrontális kéregben emelkedett dopamin transzporter (DAT) szintet, illetve stressz hatására csökkent dopamin kiáramlást mutattak hüvelyi úton született társaikhoz képest (Brake et al., 2000).

Decker és munkatársai kísérleteikben újszülött patkányokat a 7-11. születés utáni napon (ami emberben kb. a 32-36. gesztációs hétnek felel meg) intermittáló hipoxiás kezelésnek vetettek alá (20 másodpercen keresztül 10%-os oxigéntartalmú levegő belélegzése óránként 60 alkalommal), majd megvizsgálták lokomotoros aktivitásukat, alvás-ébrenléti ciklusukat, tanulási képességüket és munkamemóriájukat. A 80. napon elölt állatokban a prefrontális kéreg,

a szenzoros kéreg és a striatum területén post mortem meghatározták a tirozin hidroxiláz, a vezikuláris monoamin transzporter, a dopamin transzporter és a D1-es dopamin receptor fehérje szinteket western blot segítségével, illetve megvizsgálták az extracelluláris dopamin szintet is. A hipoxiával kezelt patkányok ébrenléti periódusuk alatt lokomotoros hiperaktivitást mutattak, míg összességében kevesebb ideig voltak ébren, több időt töltöttek REM alvási fázisban és a munkamemóriát tekintve is rosszabbul teljesítettek társaiknál. A kezelt állatokban szignifikánsan alacsonyabb volt a striatum dopamintartalma, ami szintén a striatum, illetve a prefrontális körök dopaminerg rendszerének zavarára utal (Decker et al., 2002, 2003). Érdekes módon mások azt bizonyították, hogy a hipoxia fokozza a középgygi dopaminerg neuronok differenciálódását *in vitro* (Studer et al., 2000). Az ellentmondást azzal tudjuk feloldani, hogy nyilvánvalóan nem mindegy, hogy a hipoxia a magzati fejlődés melyik szakaszában érinti az agy meghatározott területeit, továbbá az *in vitro* kísérletek eredményei nem feltétlenül tükrözik az *in vivo* viszonyokat.

HIPOXIA HATÁSA A DOPAMINERG NEUROTRANSMISSZIÓRA

A nigrostriatalis pályán betöltött, az extrapiramidális mozgásokat szabályzó szerepén túl a dopamin a hangulati-érzelmi élet, az impulzivitás és a kognitív funkciók egyik legfontosabb faktora (Fremeau et al., 1991). A dopaminerg neurotranszmisszió rendkívül érzékenyen reagál ischaemiás és anoxiás körülményekre, amelyeket ezért a schizofrenia és a korábban „minimális agyi diszfunkcióként” definiált ADHD kialakulásában is lényegesnek tartanak (Singh et al., 2007).

A hipoxiának a dopaminerg neurotranszmisszióra kifejtett hatása azonban mind a mai napig nem tisztázott pontosan. A kandidáns gének hipoxia függése egyrészt erősen függ a vizsgált agyterülettől, másrészt a hipoxiás epizódok hosszúsága is kiemelt fontosságú. A D2-es dopamin receptor hipoxiás szabályzását (DRD2) elsősorban a schizofrenia pathogenezisében bizonyított szerepe miatt vizsgálták, de az adatok meglehetősen ellentmondásosak. Huey és Powell kimutatták, hogy a DRD2 hipoxiás szabályozása régióspecifikus. A DRD2 gén mRNS szintje hipoxiás kezelés hatására kezdetben emelkedett patkány dorsalis nucleus tractus solitarii-ben, míg 48 óra elteltével szignifikáns csökkenést tapasztaltak. Ezzel szemben a rostralis n. tractus solitarii-ben markáns expresszió fokozódást észleltek a hipoxiás kezelés

teljes időskálájában (Huey és Powell, 2000). A képet tovább bonyolítja, hogy újabb vizsgálatok alapján az olyan széles körben elfogadott kísérleti eredmények létjogosultságát is megkérdőjelezték, mint a dopamin bioszintézis sebesség meghatározó lépését katalizáló tirozin hidroxiláz indukciója hipoxiás környezetben (Decker et al., 2003).

Saját korábbi eredményeink arra utalnak, hogy az ADHD pathogenezisében fontos szerepet játszó D4-es dopamin receptor expressziója SK-NF-I neuroblasztóma sejtek 1%-os oxigénben történő inkubálás hatására a kezeletlen (normoxiás) kontrollhoz képest nyolcszoros emelkedést mutatott. Ugyanilyen körülmények között a D3-as dopamin receptor (DRD3) hasonló nagyságrendű transzkripció aktiválódását figyelhettük meg CCF-STTG1 asztrocitóma sejtvonalban. Ugyanakkor a dopamin transzporter (DAT1), a monoamin oxidáz (MAO), a katekolamin-O-metiltranszferáz (COMT) és a D2 receptor gének expressziója egyik sejtvonalban sem változott szignifikánsan hipoxiás kezelés hatására (Bence et al., 2009).

A hipoxiára adott sejtválaszt a génextpresszió szintjén elsősorban a hipoxia indukált faktor (HIF-1 α) közvetíti, amelynek legismertebb célgénjei az eritropoetin és a vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) (Bergeron et al., 1999). Mivel a fent bemutatott vizsgálatainkban a VEGF aktiválódása már háromórás hipoxiás kezelés hatására megindult, szemben a DRD3 és DRD4 promoterek időben jóval később jelentkező transzaktiválódásával, valószínűsíthetjük, hogy a két posztzinaptikus dopamin receptor aktiválásáért nem közvetlenül a HIF-1 α , hanem más, lassan reagáló, hipoxia érzékeny transzkripció faktorok lehetnek felelősek. Ez a tény azért érdekes, mert a tirozin hidroxiláz promotérét a HIF-1 α közvetlenül, tehát a hipoxiás behatás első óráiban aktiválhatja (Schnell et al., 2003). Véleményünk szerint a tirozin hidroxiláz korai, illetve a DRD4 gén késői aktiválódása egy közös kompenzációs mechanizmus része lehet magzati hipoxiában. Feltételezhető, hogy a dopaminerg rendszer hipoxiás károsodása következtében fellépő dopamin hiányt a sejtek úgy próbálják kompenzálni, hogy már rövid időn belül fokozzák a bioszintézis sebesség meghatározó lépését katalizáló tirozin hidroxiláz génjének átírását, majd később a posztzinaptikus dopamin receptorok promotere is aktiválódik a neuronokban és az asztrocitákban. A hipoxia és az ADHD kapcsolatának molekuláris szintű feltérképezése azonban még további vizsgálatokat igényel.

Nyilatkozat. A szerzők nem jelöltek meg támogatási forrást a közleményben ismertetett kutatáshoz és nem számoltak be érdekkonfliktusról.

Levezető szerző: Dr. Keszler Gergely, Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet, 1094 Budapest, Tűzoltó utca 37-47.

Levezézési cím: H-1444 Budapest, Pf. 260. tel.: 459-1500/60132 e-mail: gergely.keszler@eok.sote.hu

IRODALOM

- Bass, J.L., Corwin, M., Gozal, D., Moore, C., Nishida, H., Parker, S., Schonwald, A., Wilker, R.E., Stehle, S., Kinane, T.B., 2004, The effect of chronic or intermittent hypoxia on cognition in childhood: a review of the evidence. *Pediatrics* 114, 805-16.
- Bergeron, M., Yu, A.Y., Solway, K.E., Semenza, G.L., Sharp, F.R., 1999, Induction of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and its target genes following focal ischaemia in rat brain. *Eur J Neurosci* 11, 4159-70.
- Bence, M., Kereszturi, E., Mózes, V., Sasvari-Szekely, M., Keszler, G., 2009, Hypoxia-induced transcription of dopamine D3 and D4 receptors in human neuroblastoma and astrocytoma cells. *BMC Neuroscience*, 10, 92.
- Brake, W.G., Sullivan, R.M., Gratton, A. 2000, Perinatal distress leads to lateralized medial prefrontal cortical dopamine hypofunction in adult rats. *J Neurosci* 20, 5538-43.
- Bush, G., Valera, E.M., Seidman, L.J., 2005, Functional neuroimaging of attention-deficit/hyperactivity disorder: a review and suggested future directions. *Biol Psychiatry*. 57, 1273-84.
- Castellanos, F. X., 1997, Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin Pediatr (Phila)* 36, 381-93.
- Chervin, R.D., Archbold, K.H., Dillon, J.E., Panahi, P., Pituch, K.J., Dahl, R.E., Guilleminault, C., 2002, Inattention, hyperactivity, and symptoms of sleep-disordered breathing. *Pediatrics* 109, 449-56.
- Daley, K.C., 2004, Update on attention-deficit/hyperactivity disorder. *Curr Opin Pediatr*. 16, 217-26.
- Decker, M.J., Rye D.B., 2002, Neonatal intermittent hypoxia impairs dopamine signaling and executive functioning. *Sleep Breath* 6, 205-10.
- Decker, M.J., Hue, G.E., Caudle W.M., Miller G.W., Keating G.L., Rye D.B., 2003, Episodic neonatal hypoxia evokes executive dysfunction and regionally specific alterations in markers of dopamine signaling. *Neuroscience* 117, 417-25.
- Dell'Anna, M.E., Calzolari, S., Molinari, M., Iuvone, L., Calimici, R., 1991, Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficits and CA1 cell density reduction in developing rats. *Behav Brain Res* 45, 125-34.
- Faraone, S.V., Doyle, A.E., Mick, E., Biederman, J., 2001, Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D(4) receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry*. 158, 1052-7.
- Freneau, R.T. Jr, Duncan, G.E., Fornaretto, M.G., Dearry, A., Gingrich, J.A., Breese, G.R., Caron, M.G., 1991, Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 3772-6.
- Gozal, D., Kheirandish-Gozal, L., 2007, Neurocognitive and behavioral morbidity in children with sleep disorders. *Curr Opin Pulm Med* 13, 505-9.
- Huey, K.A., Powell, F.L., 2000, Time-dependent changes in dopamine D(2)-receptor mRNA in the arterial chemoreflex pathway with chronic hypoxia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 75, 264-70.
- Kereszturi, E., Kiraly, O., Csapo, Z., Tarnok, Z., Gadoros, J., Sasvari-Szekely, M., Nemoda, Z., 2007, Association between the 120-bp duplication of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder: genetic and molecular analyses. *Am J Med Genet B (Neuropsychiatric Genetics)* 144(2), 231-6.
- Lun, A., Dominick, B., Gross, J., 1990, An animal model of perinatal hypoxic brain damage: behavioural aspects. *Biomed Biochim Acta* 49, 1021-6.
- Milberger, S., Biederman, J., Faraone, S.V., Guite, J., Tsuang, M.T., 1997, Pregnancy, delivery and infancy complications and attention deficit hyperactivity disorder: issues of gene-environment interaction. *Biol Psychiatry* 41, 65-75.
- Nair, J., Ehimare, U., Beitman, B.D., Nair, S.S., Lavin, A., 2006, Clinical review: evidence-based diagnosis and treatment of ADHD in children. *Mo Med*. 103, 617-21.
- Nyakas, C., Buwalda, B., Luiten, P.G., 1996, Hypoxia and brain development. *Prog Neurobiol*. 49, 1-51.
- Poets, C.F., Samuels, M.P., Southall, D.P., 1994, Epidemiology and pathophysiology of apnoea of prematurity. *Biol Neonate* 65, 211-9.
- Schnell, P.O., Ignacak, M.L., Bauer, A.L., Striet, J.B., Paulding, W.R., Czyzyk-Krzeska, M.F., 2003, Regulation of tyrosine hydroxylase promoter activity by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and hypoxia-inducible transcription factors. *J Neurochem.*, 85, 483-91.
- Singh, V., Carman, M., Roeper, J., Bonci, A., 2007, Brief ischemia causes long-term depression in midbrain dopamine neurons. *Eur. J. Neurosci.* 26, 1489-99.
- Sprich-Buckminster, S., Biederman, J., Milberger, S., Faraone, S.V., Lehman, B.K., 1993, Are perinatal complications relevant to the manifestation of ADD? Issues of comorbidity and familiarity. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 32, 1032-7.
- Studer, L., Csete, M., Lee, S.H., Kabbani, N., Walikonis, J., Wold, B., McKay, R., 2000, Enhanced proliferation, survival, and dopaminergic differentiation of CNS precursors in lowered oxygen. *J Neurosci.* 19, 7377-83.
- Toft, P.B., 1999, Prenatal and perinatal striatal injury: a hypothetical cause of attention-deficit-hyperactivity disorder? *Pediatr Neurol*, 21, 602-10.
- van Handel, M., Swaab, H., de Vries, L.S., Jongmans, M.J., 2007, Long-term cognitive and behavioral consequences of neonatal encephalopathy following perinatal asphyxia: a review. *Eur J Pediatr* 166, 645-54.
- Waldman, I.D., Gizer, I.R., 2006, The genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Clin Psychol Rev*. 26, 396-432.

Dopamine D4 receptor hypoxia sensitivity and child psychiatric disorders

Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most frequent child psychiatric problems with a complex genetic and environmental background. According to the prevailing view, main factors of the disorder are prefrontal dopamine deficiency and incomplete central dopaminergic functioning. Twin studies suggest substantial heritability in the background of the disease, and the studied candidate genes involve components of the dopamine system. Moreover, various noxious pre- and perinatal environmental impacts have been implicated in the pathogenesis of ADHD. Here we review experimental results from epidemiological, tissue and animal studies that assigned a causal role to fetal hypoxia in the development of ADHD and pointed out that the dopaminergic neurotransmission is sensitive to hypoxia. Allelic variants of the D4 dopamine receptor (DRD4) are well characterized risk factors of ADHD. Recently we have reported that hypoxia enhanced the promoter activity of DRD4 gene several fold. These observations suggest that the effect of hypoxia on the dopaminergic neurotransmission might be an important factor in the pathomechanism of ADHD.

Keywords: dopamine D4 receptor, hypoxia, ADHD, psychiatric genetics, neurotransmission