

Állatorvostudományi Egyetem
Ökológiai Tanszék

A monoamin transzporter gének asszociáció elemzése gyermekpszichiátriai
zavarok körében

Készítette: Hantos-Horváth Erzsébet Zsófia

Témavezető: Dr. Nemoda Zsófia

Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és
Patobiokémiai Intézet

Belső konzulens: Dr. Szabó Krisztián

Állatorvostudományi Egyetem, Ökológiai Tanszék

Budapest, 2020

Tartalomjegyzék

Rövidítés jegyzék.....	2
1. Bevezetés	3
1.1. A vizsgált pszichiátriai zavarok főbb jellemzői	4
1.1.1. Figyelemhiányos hiperaktivitási zavar	4
1.1.2. Tourette-szindróma	4
1.1.3. Kényszeres zavar	5
1.2. Genetikai háttér	5
1.3. Neurobiológiai háttér.....	7
1.3.1. Monoamin rendszerek.....	9
1.3.2. Dopamin transzporter.....	10
1.3.3. Szerotonin transzporter	12
2. Célkitűzések, hipotézisek	14
3. Anyagok és módszerek.....	15
3.1. Vizsgált személyek.....	15
3.2. Mintavétel és DNS izolálás	16
3.3. Genotipizálás.....	17
3.4. Statisztikai elemzések	20
4. Eredmények.....	21
4.1. Dopamin transzporter.....	21
4.2. Szerotonin transzporter	22
5. Értékelés, következtetések.....	25
6. Összefoglalás	27
Abstract.....	29
Irodalom.....	31
Köszönetnyilvánítás.....	36
Melléletek	37
1. sz. melléklet: A vizsgált pszichiátriai zavarok főbb tünetei a Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders alapján	37
2. sz. melléklet: A szerotonin transzporter gén vizsgált polimorfizmusai.....	39
3. sz. melléklet: A szerotonin transzporter gén vizsgált polimorfizmusai.....	40
Nyilatkozatok.....	41

Rövidítés jegyzék

RÖVÍDÍTÉS	ANGOL JELENTÉS	MAGYAR JELENTÉS
5-HT	Serotonin (5-hydroxy-tryptamine)	szerootonin (5-hidroxi-triptamin)
5-HTTLPR	Serotonin Transporter Linked Polymorphic Region	szerootonin transzporterhez kapcsolt polimorf régió
ADHD	Attention Deficit Hyperactivity Disorder	figyelemhiányos hiperaktivitási zavar
DA	Dopamine	dopamin
DAT	Dopamine Transporter	dopamin transzporter
DRD2	Dopamine Receptor D2	dopamin receptor D2
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders	Mentális Betegségek Diagnosztikai és Statisztikai Kézikönyve
MINI-KID	Mini-International Neuropsychiatric Interview, child version	
MRI	Magnetic Resonance Imaging	mágneses magrezonancia
OCD	Obsessive Compulsive Disorder	kényszeres zavar
PCR	Polymerase Chain Reaction	polimeráz-láncreakció
PET	Positron Emission Tomography	pozitronemissziós tomográfia
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	restrikciós fragmentum hossz polimorfizmus
RT-PCR	Real-Time Polymerase Chain Reaction	valós idejű polimeráz-láncreakció
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	egy pontos nukleotid polimorfizmus
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography	
SSRI	Selective Serotonin Reuptake Inhibitors	szerootonin újrafelvétel-gátlók
TS	Tourette Syndrome	Tourette-szindróma
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats	hosszúság polimorfizmus

1. Bevezetés

Dolgozatomban három gyermekpszichiátriai zavar pszichogenetikai kutatásainak eredményeit szeretném összefoglalni. Ezek a zavarok feltehetőleg közös és/vagy átfedő neurobiológiai, illetve genetikai háttérrel rendelkeznek. Ezen három kórkép a figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD), a Tourette-szindróma (TS) és a kényszeres zavar (Obsessive Compulsive Disorder, OCD). A fenti pszichés zavarok jellegzetesen gyermekkorban alakulnak ki, azonban sokszor megmaradhatnak a felnőttkor során is. Egyes esetekben a tünetek csökkennek, vagy teljesen eltűnnek; ennek valószínűsíthető oka, hogy a felnőtté válás során kifejlődnek (úgymond „megérnek”) azok az agyi szabályzó körök, melyek érintettek ezekben a zavarokban. Ezért is nevezik ezeket a kórképeket idegfejlődési, más szóval neurodevelopmentális zavaroknak.

Mindhárom kórképben a frontális kéreg szabályozó köreinek korai sérülését, illetve fejlődésének elmaradását feltételezik. Emiatt a genetikai kutatások azokra az agyi jelátvivő rendszerekre koncentrálnak, amelyek ezeken a területeken fejtik ki hatásukat. Az eddigi kandidáns gén típusú kutatások nagy része a monoamin jelátvivő rendszereket célozták, mivel az általunk vizsgált zavarok gyógyszeres kezelése ezekre a rendszerekre hat. A dopamin (DA) a figyelem és a kognitív funkciók kialakításában, míg a szerotonin (5-HT: 5-hidroxi-triptamin) az emocionális folyamatokban kiemelkedő szerepű. Mivel a neurotranszmitterek preszinaptikus neuronba való visszavételét végző transzportert gátolják a gyógyszerek, így a géneik régóta állnak a pszichogenetikai kutatások középpontjában.

Fontos megemlíteni, hogy mindhárom neurodevelopmentális zavarnál multifaktoriális, poligénes öröklésmenetet feltételeznek, azaz számos génváltozat együttes hatása áll fenn, melyeknek önállóan, önmagukban nagyon kicsi a hatásuk. Másik fontos tényező, hogy a környezeti hatásokkal együtt kell vizsgálnunk a genetikai hajlamosító, avagy preventív faktorokat. A genetikai variációk nagy része egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP: Single Nucleotide Polymorphism), melyeket a genom-szintű kutatásokban is széleskörűen használnak. Azonban a hosszúság polimorfizmusok (VNTR: Variable Number of Tandem Repeats) feltehetően komolyabb biológiai hatást fejtenek ki, és ezeket továbbra is kandidáns gén alapú rendszerben vizsgálják. Dolgozatomban ezért a dopamin és a szerotonin transzporter gének egy pontos és hosszúság polimorfizmusainak vizsgálatait szeretném bemutatni.

1.1. A vizsgált pszichiátriai zavarok főbb jellemzői

1.1.1. Figyelemhiányos hiperaktivitási zavar

A klinikai gyakorlatban használt hiperkinetikus zavar (Betegségek Nemzetközi Osztályozása, 10. kiadás, BNO-10; WHO Egészségügyi Világszervezet, 1995) megfelelője a kutatásokban világszerte használt amerikai Mentális Betegségek Diagnosztikai és Statisztikai Kézikönyve szerint (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-5, Amerikai Pszichiátriai Társaság, 2013) figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD) néven ismert, ezért én is ezt az elnevezést fogom használni a dolgozatomban. Az ADHD az egyik leggyakrabban előforduló, gyermekkorban kezdődő pszichiátriai zavar, a népesség 5,3%-át érinti (Polanczyk et al., 2014). Fiúk körében gyakrabban diagnosztizálják, de ennek egyik lehetséges oka, hogy a hiperaktivitással és impulzivitással járó funkciózavar náluk látványosabb tüneteket okoz, mint csak a figyelemzavarral járó forma. Ugyanis a legjellemzőbb tünetei a figyelmetlenség és a hiperaktivitás megjelenhetnek együtt és külön is (ez adja a DSM szerinti figyelemhiányos, hiperaktív-impulzív és kombinált altípusokat, részleteket lásd az 1. sz. mellékletben). A BNO-10 hiperkinetikus magatartászavart, illetve az aktivitás és a figyelem zavarait különbözteti meg a magatartászavar jelenléte vagy hiánya szerint. Emellett sok más komorbid zavar is megjelenhet gyermekkorban, mint például tanulási nehézségek, hangulati zavarok és szorongás. Idővel a hiperaktivitás tünetei csökkennek vagy el is tűnhetnek, de a felnőtt lakosság 3%-a így is érintett (Faraone és Larsson, 2018). Kamasz- és fiatal felnőttkorban megnövekedhet a droghasználat valószínűsége a kezeletlen ADHD-s betegek körében (Biederman, 2005). Bármennyire is sokféle tünet jelentkezhet, mai napig az ADHD az egyik legjobban validált diagnózis a gyermekpszichiátriában. Örökölhetőségét 76%-ra becsülik (Faraone et al., 2005), ezért is próbált sok genetikai kutatás specifikus rizikófaktorokat azonosítani e kórkép hátterében az utóbbi évtizedekben (Faraone és Larsson, 2018).

1.1.2. Tourette-szindróma

A Tourette-szindrómát (Tourette syndrome, TS) akkor diagnosztizálják, ha többszörös motoros tic mellé minimum egyféle vokális tic társul (lásd 1. sz. melléklet). Tic-nek nevezzük a hirtelen, gyors, ismétlődő, nem ritmusos sztereotip mozgást vagy hangadást.

Vokális tic-ek lehetnek artikulálatlan hangok vagy köhögés, felmordulás, de fennállhat palilalia (saját szavait ismétli), echolalia (más szavait ismétli) és coprolalia (káromkodások). Motoros tic lehet például tárgyak érintése, szökdelés, saját lábnyomaiba történő visszalépés. TS az iskolás korú gyerekek közel 1%-át érinti, míg tic-zavar (csak vokális tic vagy egyszeres motoros tic jelenléte) a gyerekek 6-12%-ánál észlelhető (Pauls et al., 2003). TS sokszor jár együtt ADHD-val és OCD-vel, valamint gyakoribb fiúk körében. Család- és ikervizsgálatok alapján a TS örökölhetősége 80-90% (O'Rourke et al., 2009), de ezidáig nem sikerült azonosítani egy major gén hatást sem. Az esetek kis részében a tic tünetek egy A csoportba tartozó streptococcus fertőzés után jelennek meg, melyeket így egy külön névvel illetnek: PANDAS (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections, Swedo et al., 1998).

1.1.3. Kényszeres zavar

A kényszeres zavart (Obsessive Compulsive Disorder, OCD) olyan visszatérő kényszergondolatok jellemzik, melyek jelentős stresszt okoznak. Jellemzően repetitív kényszercselekvésekkel próbálja a beteg elűzni e gondolatokat és a szorongását csökkenteni. Az OCD nagyon sokféle formában jelentkezhet, leggyakoribbak a gyűjtögetés és ellenőrzés, valamint a szennyeződéstől való félelem, mely tisztasági kényszercselekvésekkel jár. Fontos megjegyezni, hogy csak akkor beszélhetünk pszichés zavarról, ha ezek a tünetek időigényesek (naponta több, mint egy órát vesznek igénybe), vagy jelentősen kihatnak a szokványos napi tevékenységre, a tanulmányi vagy munkateljesítményre, illetve a szokásos szociális aktivitásra vagy kapcsolatokra (lásd 1. sz. melléklet). Felnőttek esetén a zavar bizonyos pontján a személy felismeri, hogy a kényszerei túlzottak vagy észszerűtlenek, de ez gyerekek esetében nem jellemző. Leggyakoribb komorbid tünetek a szorongás, hangulati zavarok, tic-zavarok és droghasználat (Abramowitz et al., 2009). A gyermekkorban kialakult OCD prevalenciája 1-3%, ennek a genetikai meghatározottsága nagyobb, mint a felnőtt korban kezdődő formának, de így is csak 45-65% (van Grootheest et al., 2005).

1.2. Genetikai háttér

A molekuláris genetikai vizsgálatokat minden esetben család- és ikervizsgálatok előzik meg, ezzel felmérhető, hogy milyen mértékű a genetikai faktorok szerepe az egyes betegségek kialakulásában. Családvizsgálatok során meghatározzák, hogy milyen az adott betegség

előfordulása a családtagok körében, és ez hogyan aránylik az átlag populációban megfigyelhető gyakorisághoz; ez az arány adja a relatív rizikófaktort. Például, TS esetén az érintett gyermekek rokonai között a kórkép 10-15%-ban, míg a tic-tünetek 15-20%-ban fordulnak elő, mely szignifikánsan magasabb az átlagpopulációban mérhető 1%, illetve 4-5%-hoz képest (Pauls et al., 2003). Hasonlóképpen, a kényszeres tünetek előfordulása 3-12-szer magasabb az elsőfokú rokonok körében, mint az átlagpopulációban mérhető 3-5% (Grados et al., 2003). Ikervizsgálatok során az egy- illetve kétpetéjű ikrek konkordanciáját összehasonlítva kapható meg az örökölhetőség, melyet a szakirodalomban egyaránt 0-1 skálán illetve százalékos formában adhatnak meg; dolgozatomban ez utóbbit követem. Becsült örökölhetőség ADHD esetén 65-70% (Faraone et al., 2005), míg TS esetén 70-80% (Pauls et al., 2013). A kényszeres zavarnál különbséget tesznek a gyermekkorban kialakuló OCD és a csak felnőttkorban megjelenő kórkép között. A gyermekkori OCD-nél az örökölhetőség 45-65%, míg a később induló formánál ez inkább csak 30% körüli (Grados et al., 2003).

A pszichiátriai zavarok nagy részénél multifaktoriális öröklésmentet feltételeznek, vagyis kialakulásuknál egyaránt fontosak a genetikai és környezeti tényezők. A környezeti tényezők közül eddig csak olyan (nem specifikus) faktorokat sikerült azonosítani, amelyek sok más gyerekkori betegségben és pszichiátriai zavarban is jelentősek. Ezek például a perinatális distressz (terhesség során kialakuló anyai betegség, illetve drog- vagy alkoholfogyasztás, esetleg komplikációk a szülés közben), pszichoszociális rizikófaktorok (családi konfliktus, egyedül nevelő szülő, szülői pszichiátriai kórkép), és alacsony szocioökonómiai státusz. Fontos környezeti faktor továbbá a korai elszakadás az anyától, az elhanyagolás, a gyerekként megélt traumás életesemények. Ezek a negatív környezeti faktorok azonban sokszor nem okoznak problémát, azaz magas a reziliencia (lelki ellenálló képesség) aránya. Emiatt a jelenlegi kutatások egy része nem csak genetikai rizikófaktorokra, hanem védő (rezilienssé tevő) génvariánsokra is irányul.

Érdekes módon, az eddig összegyűlt gén-környezeti kölcsönhatások eredményei arra utalnak, hogy bizonyos genetikai variánsok nem feltétlenül szolgálnak kockázati vagy védő tényezőként, hanem inkább érzékenyítik az egyedet a környezeti hatásokra, és ezért őket a környezeti hatások összefüggésében kell vizsgálni (Belsky et al., 2009). Például a szerotonin transzporterhez kapcsolt polimorf régió (5-HTTLPR) rövid allélja úgy működhet, hogy érzékenyebbé teszi a gyereket mind a negatív, mind a pozitív környezeti feltételek irányába, amelyek így akár rosszabb, akár jobb pszichés funkciókat eredményeznek. Ezzel szemben a

polimorfizmus hosszú allélja ellenállóbbá teszi a gyereket a különböző környezeti tényezőkkel szemben.

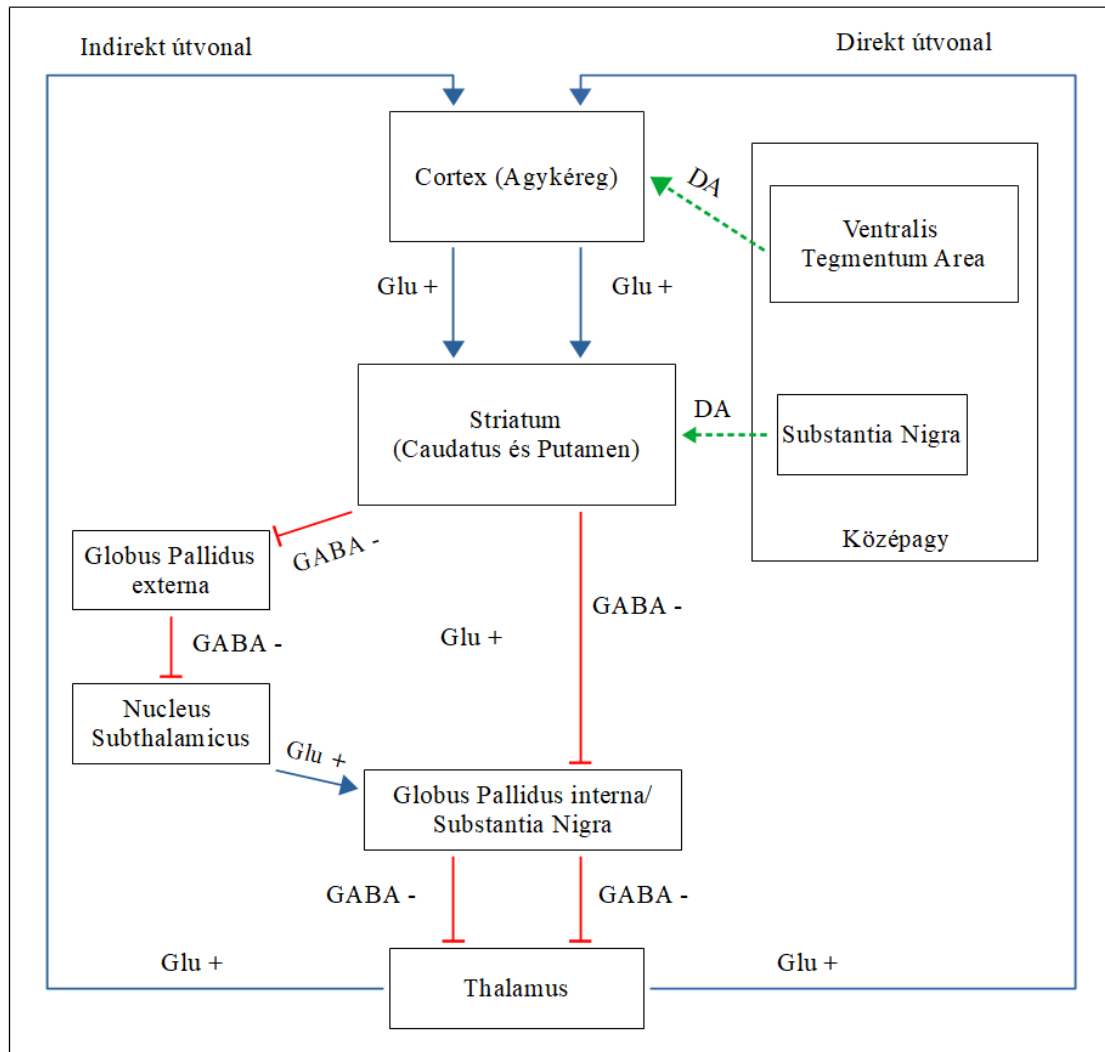
Fontos megjegyezni, hogy a pszichiátriai zavarokra hajlamosító genetikai faktorok egyenként kis mértékű hatással rendelkeznek. Feltehetőleg többféle rizikó- avagy érzékenyítő genetikai variáns együttes jelenléte szükséges a tünetek kialakulásához. Ma a poligénes öröklődést két eltérő közelítésben kutatják. Az egyik lehetőség a genom-szintű vizsgálat, ahol minden ismert humán génből több markert mérnek. Azonban ezek az asszociáció vizsgálatok ritkán érik el a genom-szintű statisztikai szignifikancia értéket, és így több ezer beteg és kontroll személy adata szükséges a kis genetikai hatások kimutatására. Ezzel szemben a kandidáns gének vizsgálata esetén (megfelelő elemszám mellett) jóval nagyobb a statisztikai bizonyító erő. Ilyenkor elméleti alapon kerül egy gén vagy géncsalád kiválasztásra, és célzottan vizsgálják, hogy van-e valamelyik alléljának hatása a kórkép kialakulására. Mivel a kis hatású genetikai faktorok azonosítása nehéz, nagyon fontosak a genetikai asszociációk replikációja független beteg populációkban. Dolgozatomban ezért olyan kandidáns génvizsgálatot végeztem, amely a monoamin transzporterek eddig vizsgált polimorfizmusaira irányultak, hogy eredményeinket könnyen össze tudjuk hasonlítani más európai / kaukázusi populáción megfigyelt genetikai asszociációkkal.

1.3. Neurobiológiai háttér

A prefrontális kéreg mind az evolúció mind az egyedfejlődés során a legkésőbb kialakult része az agynak, melynek fejlődése gyermekkorban fejeződik be. Az agy fehérállományának folyamatos növekedése jól mutatja gyerekeknél az új neuronális kapcsolatok kialakulásának ütemét és ezzel együtt a kognitív funkciók fejlődését. A mágneses magrezonancia képalkotó eljárásokkal (MRI: Magnetic Resonance Imaging) kapott eredmények igazolták több gyermekpszichiátriai zavar esetében a bazális ganglionok érintettségét. Kimutatták például, hogy ADHD és TS esetében csökken a törzsdúcok (nucleus caudatus, putamen, globus pallidus) térfogata, illetve aszimmetria jelenik meg a féltekék között (Sheppard et al., 1999).

A bazális ganglionoknak fontos szabályozó szerepük van, hiszen a frontális lebeny feldolgozó körei itt kapcsolnak át, és mindegyik körnek található egy serkentő és egy gátló pályája (1. ábra jobb és bal oldala). A frontális kéregben elindított cselekvések a különböző magokban erősödhetnek a serkentő direkt pályán, illetve gátlódhatnak az indirekt gátló pályán. Normál működés esetén az adott szituációban kívánatos viselkedésformák kerülnek

erősítésre, míg a nem kívánatos viselkedésformák gátlásra (pl. a tanár beszédére figyel és nem az ablakban megjelenő pillangóra).



1. ábra. A bazális ganglionok pályái. Az agykéregből induló szignál a direkt pályában a globus pallidus interna és substantia nigra szintjén kapcsolódik át, mely együttesen a thalamus diszinhibíciójához (a gátlás gátlásához) vezet, így a kéregből induló viselkedésmintázatok megerősödnek. Az indirekt pályán belül az átkapcsolás először a globus pallidus externa, majd a nucleus subthalamicus szintjén történik, így végső soron a thalamus, illetve a kéregből jövő impulzusok gátlása történik. A serkentő, glutaminerg pályák kék nyíllal, míg a gátló, GABA-erg projekciók piros nyíllal vannak jelölve. A közepagy ventralis tegmentumából induló mesocorticalis, illetve a substantia nigrából induló nigrostriatalis dopaminerg pályákat zöld szaggatott nyilak jelölik.

Ugyan fenotípusosan különböző pszichés tünetekkel rendelkeznek, de mind az ADHD, a TS és az OCD esetén hasonló agyi folyamatok diszfunkcióját feltételezik. Ezért a neurobiológiai teóriák gyakran sorolják egy csoportba őket. Ilyen például a kognitív kontroll elmélet is, amely szerint a helytelen gondolatok és cselekvések gátlásának a képtelensége áll

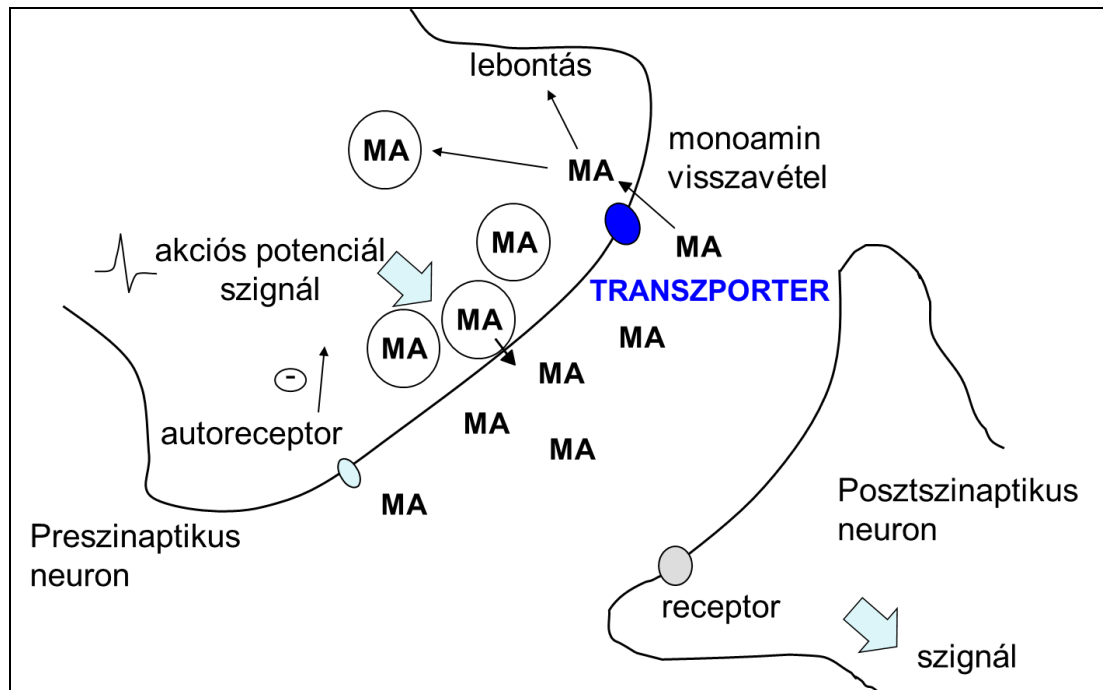
mindhárom neurodevelopmentális zavar hátterében (Casey et al., 2001). Az ADHD esetén ez megnyilvánul a feladatok megoldásához szükséges figyelem fenntartásának nehézségében, és olyan impulzív cselekvésekben, amelyek a nem megfelelően működő direkt (serkentő) bazális ganglion pálya eredményeképpen jönnek létre. Míg az indirekt (gátló) pályák zavara okozhatja a TS-re jellemző akaratlan mozgásokat, hangadásokat, valamint az OCD során fellépő repetitív gondolatokat és cselekvéseket. Alternatív elmélet, hogy egy hiperaktív direkt út ismétlődő viselkedéshez és gondolatokhoz vezethet, és egy túlműködő indirekt út megszakított viselkedést okozhat.

Feltehetően a korcsoporti átlaghoz képest lassabb ütemben való agyfejlődés vezet ezekhez az idegfejlődési zavarokhoz, hiszen az ADHD tünetei nagy mértékben, TS és OCD tünetei kevésbé, de csökkenhetnek az életkor előrehaladtával (a gyerek úgymond „kinövi” e zavarokat). A gátlás, avagy inhibíció képessége párhuzamosan fejlődik az agyi körök kialakulásával, a frontális kéregbe jövő asszociációs pályák, valamint az onnan kiinduló beidegződések kiépülésével. Normális fejlődés során a gyermek egyre jobban képes az irreleváns információk kiszűrésére, a fontos információk hatékony feldolgozására és fenntartására, valamint a nem odaillő válaszreakciók elnyomására.

1.3.1. Monoamin rendszerek

A monoaminok olyan neurotranszmitterek, amelyek aminosavak átalakulásával jönnek létre. Tirozínból alakul ki a dopamin (DA), majd a noradranalin, triptofánból pedig a szerotonin (5-HT). Az idegsejtek közötti jelátvitel erőssége, illetve minősége sok tényezőtől függ, mint például a neurotranszmitterek szinapszisban létrejövő koncentrációja, valamint a poszt-szinaptikus membránban található receptorok mennyisége és minősége (2. ábra). Normál működés esetén egy gyorsan létrejövő, nagymértékű neurotranszmitter felszabadulás adja a jelet, amely gyorsan lecseng egy aktív visszavételt végző transzporter segítségével, hogy minél előbb teret adjon a következő, új impulzusnak. Ha ez nem történik meg és túl sokáig tart mire a jelátvivő molekulák visszavétele megtörténik, akkor az a receptorok (mind a poszt-szinaptikusak, mind a preszinaptikusak) funkciójának változását eredményezheti. Az elsődleges és másodlagos folyamatok következtében az ingerület intenzitása megváltozik, akár alul-, akár túlműködés alakulhat ki, ami hosszútávon pszichés zavarokhoz vezethet. A tünetek enyhítésére alkalmazott szerek hatása során is megkülönböztetünk gyors, azonnali hatást (pl. a pszichostimulánsok transzporter gátlása), illetve másodlagos, kompenzáló

folyamatok során létrejövő hatásokat (pl. az antidepresszív szerotonin transzporter gátlók), amelyek csak hetek, hónapok alatt vezetnek látható eredményre.



2. ábra. Monoamin neurotransmisszió. Az akciós potenciál a monoamint (MA) tartalmazó vezikulumok exocitózist váltja ki, a neurotranszmitter a szinapszisba kerülve a poszt-szinaptikus receptorokon hatva fejt ki hatását. Ezt a hatást a transzporter függeszti fel azáltal, hogy visszaveszi a monoamint a preszinaptikus sejtbe.

1.3.2. Dopamin transzporter

A dopaminerg rendszerek hosszan tartó érése gyermekkorban magyarázhatja az ADHD, TS vagy OCD tünetek számának és gyakoriságának csökkenését serdülőkor után, ugyanis a thalamocorticalis gátló körök fontos szabályozó rendszere a bazális ganglionok szintjén a dopamin neurotransmisszió (1. ábra). A dopamin transzporter (DAT) sűrűsége itt a legnagyobb az agyban (Robbins és Arnsten 2009). A subcorticalis régiókban hatékonyan fejeződik be a dopamin neurotransmisszió, amikor a DAT visszaveszi a dopamint a szinapsziszból a preszinaptikus neuronba (2. ábra). A pszichostimuláns szerek, mint például a kokain, az amfetamin és az ADHD kezelése során használt metilfenidát (többek között) a DAT-ot célozzák.

A DAT gén kódoló régiójának variánsai ritkák; ezért a nem kódoló régiók polimorfizmusait vizsgálták genetikai asszociáció elemzéseknél. A 3' nem-kódoló régióban

(untranslated region, UTR) található egy 40 bázispáros VNTR, az ismétlődési számok 3 és 13 között vannak (Vandenbergh et al., 1992). A leggyakoribb allél 10 ismétlést tartalmaz, amelyet a 9 ismétlésű allél követ; a többi ritka változat. A leggyakoribb variánsokat összehasonlító vizsgálatok eredményei ellentmondásosak, akár a riporter gént-vizsgálatokat (Fuke et al., 2001; Miller és Madras, 2002; Mill et al., 2005), akár a postmortem agyi expressziós adatokat (Mill et al., 2002; Wonodi et al., 2009) nézzük. Úgy tűnik, hogy a SPECT elemzések egységesebb eredményeket mutatnak: két független tanulmány hasonló különbséget mutatott a striatális transzporter sűrűségében, ha egészséges populációkat tanulmányoztak (van Dyck et al., 2005; van de Giessen et al., 2009). A legutóbbi meta-analízisek alátámasztották, hogy a 9-ismétlődésű allél legalább egy példányával (9/9, 9/10 és 9/11 genotípus) rendelkezők szignifikánsan nagyobb transzporter sűrűséget mutattak a 10/10 genotípus csoporthoz képest (Costa et al., 2011; Faraone et al., 2014).

A 8. intronban található 30 bázispáros VNTR ritkábban vizsgált DAT polimorfizmus, ennek leggyakoribb alléljei 2- és 3-ismétlésűek. In vitro kísérletekkel kimutatták, hogy a 3-as allél expressziója kisebb a 2-es allélhez képest, azonban a 3-as allél háromszor nagyobb indukcióval rendelkezik KCl-ra és forskolinra, mint a 2-es allél (Guindalini et al., 2006). A 3-as allél magasabb szintű transzkripciós aktivitását is kimutatták post mortem agyszövetekben (Brookes et al., 2007). Az intron-8 VNTR képkötő vizsgálatait illetően az első kisméretű mintában nem találtak különbségeket (Guindalini et al., 2010), de egy későbbi, 95 egészséges résztvevővel végzett PET-vizsgálat szignifikánsan magasabb DAT sűrűséget mutatott a nucleus caudatusban a 2-es allélt hordozóknál (Shumay et al., 2011). Ezért egyelőre nem lehet teljes bizonyossággal megítélni, hogy melyik a kisebb aktivitású intron-8 allél, de humán agyi vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy a két VNTR-ből származtatott 10-3 haplotípus vezet a legalacsonyabb DAT sűrűséghez a bazális ganglionok szintjén (Shumay et al., 2011).

Az ADHD dopamin-hipotézise farmakológiai és képkötő vizsgálatokon, valamint állatmodellek adatain alapul (Madras et al., 2005). Az ADHD farmakoterápiában a leggyakrabban használt gyógyszer a pszichostimuláns típusú metilfenidát, amely blokkolja a dopamin transzportert, így növeli az extracelluláris katekolaminok szintjét. Egy SPECT tanulmányban kimutatták (Krause et al., 2000), hogy felnőtt ADHD betegekben a 4-hetes metilfenidát kezelés lecsökkentette a DAT sűrűséget a striátumban a kontroll alanyok szintjére. Az állatmodellekben szélsőséges állapotokat lehet létrehozni, így például a DAT knockout egerek hiperaktivitást mutattak, feltehetően hiperdopaminerg állapotban

(Gainetdinov et al., 1999). Egy másik állatkísérlet kimutatta, hogy a DAT túlzott mértékű expressziója célzottan a nucleus accumbensben nem okozott változást a motoros aktivitásban, hanem a késleltetett jutalom kísérletekben fokozta az impulzivitást és a kockázatvállalási viselkedést (Adriani et al., 2009). Ennek eredményeként az ADHD-ban legszélesebb körben vizsgált gén a DAT. A 3' UTR VNTR-rel kapott eredményeket feldolgozó meta-analízisek kimutatták a 10-es allél kismértékű, de szignifikáns fontosságát 1,12-1,13 esélyhányadossal (Faraone et al., 2005; Gizer et al., 2009). Emellett az intron-8 VNTR 3-szor ismétlődő allélját és az rs27072 G-allélját tartják az ADHD kockázati alléljainak (Gizer et al., 2009). Fontos megemlíteni, hogy az összevont elemzésekben nem jelentettek szignifikáns hatást a dopamin katabolizmusát szabályozó enzimek génvariánsainak vizsgálata során (Faraone et al., 2005; Gizer et al., 2009).

A TS dopamin-hipotézise farmakológiai és képalkotó vizsgálatok bizonyítékain alapul. A klasszikus antipszichotikus gyógyszerek, mint például a haloperidol, hatékonyan elnyomhatják a tic-et a DRD2 antagonizmus révén (Singer, 2005). A legtöbb SPECT-vizsgálat kimutatta, hogy a TS betegek striatumában megnövekedett a DAT-sűrűség a kontrollokhöz képest (Albin és Mink, 2006; Hienert et al., 2018). Post mortem elemzések pedig a DAT és DRD2 emelkedett szintjét mutatták ki a frontális agyi régiókban (Yoon et al., 2007). Ezért a legszélesebb körben vizsgált kandidáns gének TS-ben a dopamin rendszerhez tartoznak. A DAT 3' UTR VNTR esetében a vizsgálatok nem mutattak egyértelmű összefüggést a TS diagnózisával (Pauls et al., 2003). A dimenziós megközelítés alkalmazása során viszont a 9-es allélhoz társítottak nagyobb tic súlyosságot (Tarnok et al., 2007). Az OCD-vel való gyakori komorbiditás miatt azonban sok tanulmány elemezte a szerotonerg géneket is.

1.3.3. Szerotonin transzporter

A szerotonin transzporter (5-HTT, hivatalosan SLC6A4) eltávolítja a neurotranszmittert a szinaptikus részből, szabályozva ezzel a posztzinaptikus receptorok által közvetített jelátvitel nagyságát és időtartamát. Ez a transzporter számos antidepresszáns és szorongásoldó SSRI (selective serotonin reuptake inhibitor, például Prozac) célpontja. A szelektív szerotonin transzporter gátló gyógyszerek az OCD farmakoterápiájában is használatosak, ezért a legtöbb kandidáns génvizsgálat az 5-HTT és a szerotonin receptorok polimorfizmusaira összpontosított (Grados, 2010; Walitza et al., 2010). A leggyakrabban vizsgált polimorfizmus

az 5-HTTLPR (serotonin transporter linked polymorphic region) a 5-HTT gén promóter régiójában található, és 20-23 ismétlődő bázispárból áll (6. ábra a Módszerek részénél). A polimorfizmusnak két gyakori formája van: a rövid (S: short) változat 14, a hosszú (L: long) változat 16 ismétlődő elemet tartalmaz. A rövid forma 2 ismétlődő elem deléciójával jön létre, ezért 44 bp deléciós változatnak is nevezik. A különféle sejtvonalakon végzett funkcionális vizsgálatok azt mutatták, hogy a rövid allél transzkripció aktivitása arányosan kisebb, mint a hosszú allél (Heils et al., 1996). Limfoblast sejtek mRNS és fehérje szintjének mérései is arra utalnak, hogy a rövid allél alacsonyabb expresszióval rendelkezik (Lesh et al., 1996). A későbbi vizsgálatok egy funkcionális A/G SNP-t (rs25531) jeleztek az 5-HTTLPR-en belül, ezért fontos különbséget tennünk az L_A- és az L_G-allélek között, mivel az L_G-allél az S-allélhez hasonlóan csökkent transzkripció aktivitást mutatott (Hu et al., 2006). Az első PET-elemzés nem jelzett szignifikáns különbséget a 5-HTTLPR genotípus csoportok között a transzporter sűrűségében a különböző agyi régiókban (Parsey et al., 2006). Ugyanakkor a későbbi, a specifikusabb vegyületet felhasználva, az L_AL_A genotípusú egészséges egyéneknél magasabb 5-HTT sűrűségről számoltak be a bazális ganglionokban (Praschak-Rieder et al., 2007; Kalbitzer et al., 2009). A gyermekkorban fellépő OCD-vel az 5-HTTLPR L illetve L_A-allélját hozták összefüggésbe (Bloch et al., 2008; Grados, 2010; Walitza et al., 2010).

A 5-HTT gén második intronjában található egy 17 bázispár hosszú VNTR, amit STin2-nek neveztek el. Leggyakrabban a 10-es és 12-es ismétlődésű allélok fordulnak elő. A 12-es allélnél figyeltek meg magasabb génextpressziót in vitro kísérletekben (MacKenzie et al., 1999). Asszociáció elemzésekben kimutatták, hogy a STin2 12-es allélja szignifikánsan gyakoribb OCD-ben szenvedők körében, mint a kontroll csoportban (Gomes et al., 2018). Az OCD-vel összefüggést mutató többi 5-HTT polimorfizmus SNP típusú, melyek a két VNTR között helyezkednek el (lásd 2. sz. melléklet). Ezek közül Wendland et al. (2009) a promóterben lévő rs25532 C/T SNP, valamint az 1. intronban található rs2020933 A/T SNP és rs16965628 C/G SNP szerepére hívta fel a figyelmet. Ezért genetikai vizsgálatunk egyik célja ezen 5-HTT polimorfizmusok OCD-vel való összefüggésének vizsgálata, a 2009-ben publikált asszociáció megerősítése, avagy elvetése.

2. Célkitűzések, hipotézisek

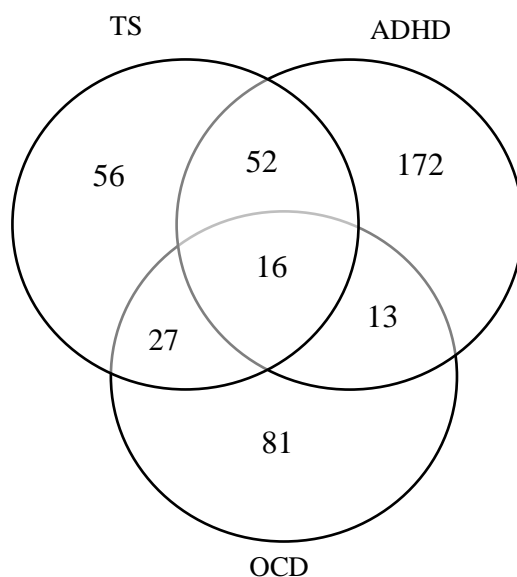
Kutatómunkám során a magas örökölhetőségű gyermekpszichiátriai zavarok genetikai rizikófaktorainak feltérképezésébe kapcsolódtam be, melyet leginkább a kandidáns gének asszociáció vizsgálatával végeztünk. Kandidáns gének kiválasztása általában neurobiológiai teóriák alapján történik, melyek sokszor a gyógyszeres kezelésben alkalmazott szerek támadáspontjain alapulnak. Ezért a monoamin neurotranszmitter transzporterek genetikai variánsait régóta vizsgálják. Mivel a pszichiátriai kórképek területén számos ellentmondó eredmény született mind a teljes genom, mind a kandidáns gének vizsgálata során, ezért fontos, hogy egyes géneket minél több kutatócsoport vizsgálja, minél nagyobb és genetikailag független beteg csoportokon. Éppen ezért a szakdolgozatom alapjául szolgáló kutatás célja, hogy a dopamin és a szerotonin transzporter gén legszélesebb körben vizsgált polimorfizmusait megvizsgáljuk három gyakori gyermekpszichiátriai zavarral (ADHD, OCD, TS) összefüggésben egy magyar beteg populáción. A genotípus frekvencia értékeinket egészséges magyar fiatal felnőttek adataival terveztük összehasonlítani. További célunk volt a közös és/vagy átfedő neurobiológia alátámasztására az esetleges közös genetikai rizikófaktorok feltárása.

Az irodalmi áttekintésben vázolt összefüggések alapján feltételeztük, hogy a dopamin transzporter mennyiségére ható hosszúság polimorfizmusok leginkább a TS és/vagy az ADHD egyik meghatározó tényezője lehet. Azonban a TS és OCD gyakori komorbiditása alapján feltételeztük, hogy a DAT polimorfizmusok hatása OCD-ben is megjelenhet. Genetikai asszociáció vizsgálatunk másik célja az 5-HTT polimorfizmusok OCD-vel való összefüggésének megerősítése. A gyakori komorbiditás miatt a két funkcionális szerotonin VNTR vizsgálatát TS betegekre is kiterjesztettük.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Vizsgált személyek

A beteg csoport 417 gyermekből állt, mindannyian a Vadaskert Kórház és Szakambulancia betegei voltak. Mivel ezek a gyermekpszichiátriai zavarok főként a fiúk körében fordulnak elő, ezt tükrözi a mintában a nemi arány is: 82,8%-ban fiúk. A vizsgálatba való bevonásukkor (ami nem feltétlenül a tünetek kezdetét jelenti) az átlagéletkor $11,7 \pm 4,3$ év volt. A diagnózisokat a DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) szerint (American Psychiatric Association, 1994), a kísérő kórképeket pedig a MINI-kid (Mini-International Neuropsychiatric Interview, child version) segítségével állapították meg. Fődiagnózis szerint a betegek eloszlása a következő volt: 195 ADHD, 116 TS, 106 OCD gyermek. A 3. ábrán látható a zavarok tényleges előfordulása, ami jól mutatja, hogy sok esetben volt együttes előfordulás. Például a fődiagnózis szerinti 116 TS beteg úgy oszlik el, hogy 95 esetben valamelyik másik zavarral együtt fordul elő.



3. ábra. A vizsgált pszichiátriai kórképek eloszlása.

A kontroll csoport résztvevői kaukázusi, magyar etnikumú, egészséges fiatal felnőttek voltak, akiket Dr. Székely Anna irányítása alatt az Eötvös Loránd Tudományegyetem Pedagógiai és Pszichológiai Karának Pszichológia Intézetének munkatársai toboroztak

különböző felsőoktatási intézményekben. Önbevallásos kérdőíveket töltöttek ki, melyek alapján sem krónikus szomatikus, sem pszichiátriai diagnózissal nem rendelkező egyéneket válogattunk be a genetikai elemzésbe. Összesen 552 kontroll személy felelt meg ennek a kitételnek. A nemi arányt próbáltuk a beteg csoporthoz illeszteni, így a férfiak aránya 67,9% lett. Mivel vizsgálatunkban olyan gyermekpszichiátriai zavarokat vizsgáltunk, melyek 18 éves kor előtt alakulnak ki, a kontroll csoport átlagéletkora $21,9 \pm 4,4$ volt, hogy biztosak lehessünk benne, hogy náluk már nem jelennek meg ezek a pszichés tünetek.

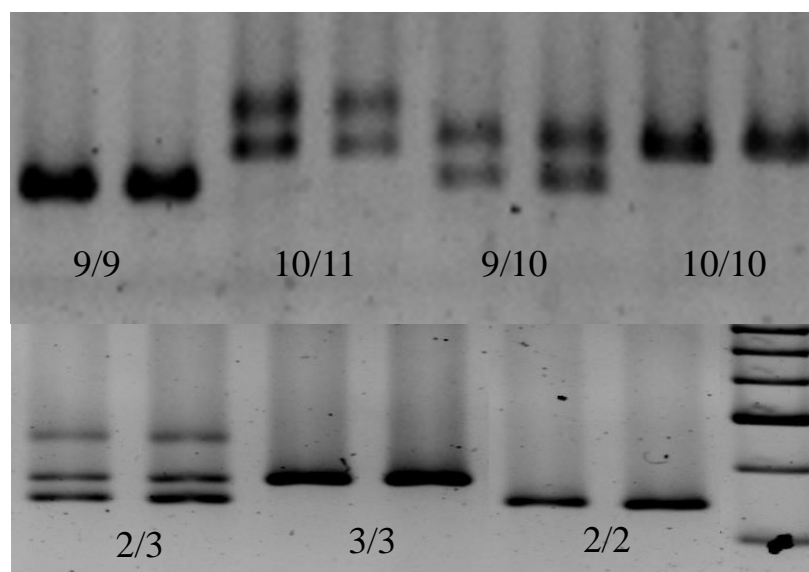
Mind a betegek, mind a kontroll egyének mintái egyedi kódszámokat kaptak. A kutatást a Helsinki Nyilatkozat irányelvei alapján végeztük el, a vizsgálati protokollt a helyi etikai bizottság (TUKEB) hagyta jóvá. A kutatás céljának ismertetése a DNS minta vétel előtt történt, és a résztvevők, illetve a beteg gyerekek és szülei beleegyező nyilatkozatot írtak alá.

3.2. Mintavétel és DNS izolálás

A DNS-mintavétel a laboratóriumunkban kidolgozott non-invazív módszerrel történt. Az eljárás során minden résztvevőt megkértünk, hogy vattapálcával 15–20 másodpercig dörzsölje az íny és a belső száj nyálkahártya felületét, majd ezt ismétlje meg egy második vattapálcával. Ez elegendő mennyiségű sejtet biztosított a DNS-izoláláshoz, de biztonsági okokból egy személytől két független mintát kértünk (A és B minta) és a mintákat feldolgozásig -20 °C -on tároltuk. A DNS-izolálás előtti napon a vattapálcákra $400\ \mu\text{l}$ össztérfogatú mintavevő puffert mértünk ($0,1\ \text{M NaCl}$, $0,01\ \text{M Tris-HCl}$ ($\text{pH} = 8,0$), $0,5\%$ SDS és $0,2\ \text{mg/ml}$ proteináz K), majd a mintákat egy éjszakán át 56 °C -on inkubáltuk, ezalatt a sejtek lizáltak, az SDS denaturálta, a proteináz K pedig megemésztette a fehérjéket. Ezután a DNS tartalmú lizátumot centrifugálással ($2000\ \text{g}$, $10\ \text{perc}$) távolítottuk el a vattapálcákról. A DNS-t az így kapott oldat $350\ \mu\text{l}$ -jéből nyertük ki, amelyben először $0,4\ \text{mg}$ RNáz A-val elemésztettük az RNS-eket, majd $6\ \text{M}$ -os NaCl oldattal kicsaptuk a fehérjéket. A második centrifugálás ($13000\ \text{g}$, $10\ \text{perc}$, 4 °C) után a DNS a felülúszóban maradt, melyet izopropanol és glikogén segítségével csapadékba vittünk. A DNS-csapadékot centrifugálással ($16000\ \text{g}$, $15\ \text{perc}$, 4 °C) nyertük, majd 70% -os etanolos mosás után megszáritottuk, és végül $10\ \text{mM}$ Tris ($\text{pH}=8$) és $1\ \text{mM}$ EDTA-t tartalmazó pufferrel feloldottuk. A DNS koncentrációját Nanodrop készülékkel mértük, és ez alapján 2-10-szeres hígítást készítettünk, hogy átlagosan $10\text{-}20\ \text{ng}/\mu\text{l}$ koncentrációjú mintákkal végezzük a genotipizálást.

3.3. Genotipizálás

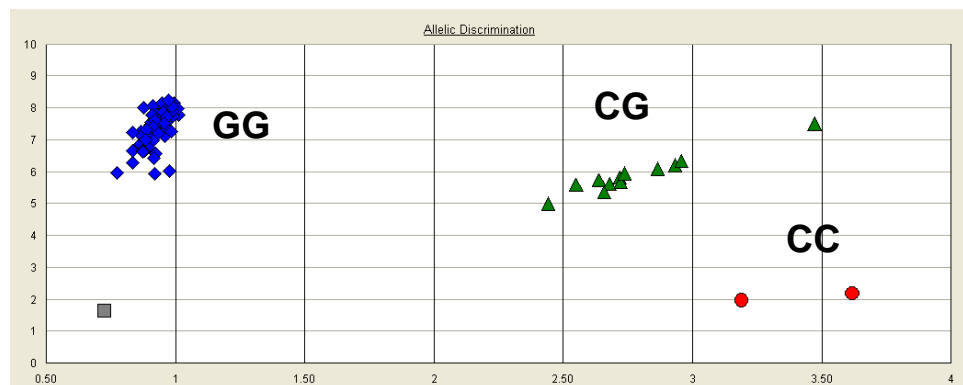
Összesen 969 személy mintáján határoztuk meg sikeresen a DAT és 5-HTT hosszúság polimorfizmusokat. A szakirodalomban széleskörűen használt primereket alkalmaztuk, azaz a DAT 8. intronjában található 30 bp VNTR esetén Vandenberg et al., 1992, a DAT 3' UTR 40 bp VNTR esetén Guindalini et al., 2006, a STin2-nél pedig Lesch et al. 1996-os cikkében publikált primerekkel és Hot Star Taq DNS polimeráz (Qiagen®) enzimmel végeztük a PCR-t. Majd horizontális agaróz gélelektroforézis segítségével választottuk el a különböző számú ismétlést tartalmazó PCR termékeket. A 4. ábrán látható, hogy minden személytől két mintát futtattunk, melyek mindig egymás mellé kerültek. A 100 bázispáros létra segítségével megállapíthatók az egyes fragmentumok hosszai, ezek kombinációiból pedig a genotípus. Az így kapott genotípus frekvencia adatok nem tértek el szignifikánsan a Hardy-Weinberg egyensúlytól a kontroll csoportban ($p > 0,1$). Mivel a kontroll személyeket többfajta vizsgálat során elemeztük, az egyes 5-HTT SNP-kre nem sikerült mindenkit genotipizálni, így ott polimorfizmusonként eltérhet az elemszám.



4. ábra. Dopamin transzporter gén VNTR-jeinek elektroforetikus képei. DAT 3' UTR 40 bp (felső), DAT intron-8 30 bp (alsó).

A szerotonin transzporter SNP-k genotipizálását kétféle módszerrel végeztük. A promotor régió kívüli SNP-eket Real-Time PCR alapú módszerrel határoztuk meg előre tervezett TaqMan SNP kit használatával (rs2020933 esetén C_11424045_10, rs16965628 esetén C_32472275_10, Applied BioSystem). A Real-Time PCR lehetővé teszi a PCR

ciklusok során keletkező termékek valós idejű detekcióját és mennyiségi mérését, a PCR-termék képződésével arányos intenzitású fluoreszcencia jel megmérésével. A genotipizálás során a polimorf allélok megkülönböztetésére szekvencia specifikus jelölt próbákat használunk (FAM és VIC). A reakció 7300 Real-Time PCR System (Applied BioSystem) alkalmazásával, 6 μ l végtérfogatban zajlott, kb. 10 ng genomiális DNS templát alkalmazásával. A termociklus első lépése 95 °C kezdeti denaturáció volt 10 percig: genomiális DNS denaturálása és a DNS-polimeráz aktiválása. Ezt követte 40 ciklus, ciklusonként 15 másodperc denaturálás 95 °C-on; majd 1 perc anneálás és extenzió, mindkettő 60 °C-on; itt történik a fluoreszcencia-jel leolvasás is ciklusonként. A termociklus végpontjában is történik jelintenzitás mérés (end-point analysis), ez alapján a program egy olyan koordináta rendszerben ábrázolja a mintákat, ahol a kétféle fluoreszcens jel intenzitása adja a tengelyeket (5. ábra). A kétséges mintáknál elemeztük a ciklusonként elmentett fluoreszcencia-jel értékeit.



5. ábra. Az rs16965628 C/G SNP Real-Time PCR képe. Látható, hogy a három különböző genotípus három jól elkülönülő felhőt alkot.

A 5-HTT promotor régióján belüli SNP-k meghatározására a restriktív fragmentum hossz polimorfizmus (RFLP) módszert használtuk. A 5-HTTLPR és az rs25531 SNP együttes genotipizálására a Wendland et al. (2006) által publikált primereket használtuk, azonban az rs25532 SNP-re saját primereket kellett terveznünk. Ez azért is volt nehéz, mivel az egyik primert a VNTR-en belülre kellett tervezni (lásd a 6. ábrán sárgával jelölt primerek). Ezeknél a 8 μ l végtérfogatú PCR elegy összetevői a következők voltak: 200 μ M dNTP; 1 μ M Forward és Reverse primer; 0,2 egység Qiagen® HotStarTaq™ DNS polimeráz; a gyártó által forgalmazott és adalék (1 μ l Q-oldat); valamint kb. 10 ng DNS templát. Az alkalmazott termociklus első lépése 95 °C kezdeti denaturáció volt 15 percig; a genomiális DNS denaturálása, és a hot start enzim aktiválása. Ezt követte 40 ciklus, ciklusonként 1 perc

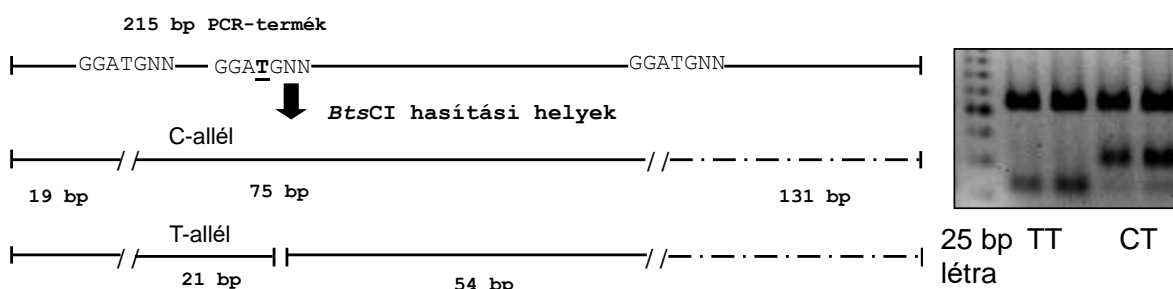
denaturálás 94 °C-on; 30 másodperc anneálás 56 °C-on és végül 1 perc extenzió 72 °C-on. A 72 °C-os 10 perces végső extenzió után a mintákat 8 °C-ra hűtöttük le, ezzel zárva a PCR amplifikációt. A PCR-termékhez 10 µl restriktív enzim mixet adtunk; rs25531-nél *HpaII*, rs25532-nél pedig *BtsCI* restriktív enzimet (7. ábra) a gyártó által ajánlott pufferben, BSA-val kiegészítve. Az elegyet minimum 3 órán keresztül inkubáltunk 37 °C-on, majd gélelektroforézissel választottuk el a fragmenseket (1,5%-os agaróz és 2% metaphor gél keverékében), 40 mM Tris-acetátot (pH=8) és 2 mM EDTA-t tartalmazó (TAE) futtató pufferben, 7 V/cm térerő alkalmazásával.

```

TTTGGCCCTCCTGGAAAGGACACTTTGCGTTTTCTGTTGCCCTTGCCTATACAGCACAAACATGCTCATT
TAAGAAGTGGAACGTGGGAGGCAGCAGACAACACTGTGTTTCATCTGAAAGGAGGAGGCCCCACTCCCCTGCA
GGCGCTGCCCTGGGGGTGAAATTCCCAAGCTTGTGGGGATTCTCCCGCTGGCGTTGCCGCTCTGAAT
GCCAGCACCTAACCCCTAATGTCCCTACTGCAAGCCCTCCAGCATCCCCCTGCAACCTCCAGCAACTC
CCTGTAACCCCTCCTAGGATCGCTCCTGCAATCCCCCATTATCCCCCCTTCAACCCCTCGCGGCATCCCCC
TGCAACCCCA/GGCATCCCCCTGCAAGCCCCCAGCATCTCCCCGCAACCCAGCATCCCCCTGCAAG
CCCCCTGCACCCAGCATCCCCCTGCAGCCCCCAGCATCTCTCCAGCATCCCCCTGCAACCTCTC
CCAGGATCTCCCCGCAACCCATTATCCCCCTGCAACCCCTCGCAGTATCCCCCTGCAACCCAGC
ATCCCCCATGCAACCCCGGCTATCCCCCTGCAACCCCTCCAGCATTCTCCTGCAACCTACCAGTATT
CCCCGCATCCCGGCTCCAAGCCTCCCGCCACCTTGCAGTCCCCGCTCCCGCCCTGGCGTCTAGGTGGCACCAG
AATCCCGCGGACTCCACCCGCTGGGAGCTGCCCTCGCTTGCCC GTGGTTGTCCAGCTCAGTCCCTCTA
GACGCTCAGCCCAACCGCCGACAGTTTTTCAGGGTTCAGTTCTCCCAAGTACAAGGGGCGGTGGCTTCT
CTGGAGCTGCAAACCTGTCACTGCTATTTCTTTTCGGTCTTCTACTTCTATCGTTTCTGGCCTCCTCTT
GGGGAGAGGTAGAGCCCTCTCCTTTCCGCCTCAGGGACAACCCAAAGCAAGTACTGCATGTGCCCTTTTT
AAAGTTTTAAATAATTTTAGCAAAAAGGATATTAACATTAATCAATTTTTAAACTTTTTGAAAAATTA

```

6. ábra. A szerotonin transzporter gén promotor szakasza. A képen a 17. kromoszóma negatív szálán elhelyezkedő 5-HTTLPR 20-23 bp ismétlődő szakaszait dőlt betűk jelzik (16 ismétlődés, hosszú (L) allél). Vastag betűkkel látható „TGCA” az ismétlődő szakaszok kezdete. A piros színnel kiemelt 7. és 8. ismétlődés deléciója esetén beszélünk rövid S-allélról (14 ismétlődés). Halványkék háttér jelöli az rs25531 A/G SNP-t, míg zöld az rs25532 C/T SNP-t. A sárga háttérrel való kiemelés az rs25532 SNP primerjeit mutatja. A *BtsCI* restriktív enzim felismerő helyének (GGATG) reverz komplementer szekvenciáit (CATCC) aláhúzás jelöli.



7. ábra. Az rs25532 meghatározása RFLP módszerrel. T-allél esetén hasít a *BtsCI* restriktív enzim a polimorf helyen, valamint két másik nem-polimorf helyen, így az 54 bp-os fragmentet a 75 bp-os fragmenstől kell elkülöníteni az elektroforézis során.

3.4. Statisztikai elemzések

Mivel a VNTR-eknél nem csak kétféle allél létezik, a szakirodalom által rizikónak tartott allél alapján és/vagy az allélok génexpresszióra kifejtett hatása szerint csoportosítottuk a genotípusokat, így DAT intron-8 30 bp VNTR esetén a 3-as allél, míg a 3' UTR 40 bp VNTR esetén a 9-es allél alapján alkottuk a csoportokat. Az 5-HTTLPR-nél kétfajta módszer alapján csoportosítottunk. Az első módszer esetén csak a VNTR-t vettük figyelembe, ahol is a csoportjainkat az S-allélok és az L-allélok alkották. A második módszer esetén már a funkcionális rs25531 A/G SNP-t is figyelembe vettük. Ezek alapján az L-allél felbomlott L_A és L_G -allélekre, viszont funkcionálisan az S- és L_G -allélek hasonlítanak egymásra, hasonlóan csökkent transzkripció aktivitást mutatnak (Hu et al., 2006). Így az S- és L_G -allélok csoportját összevontuk, és a továbbiakban S' néven hivatkozunk rá, míg az L_A -allélra L'-vel fogunk hivatkozni. Az S'S' genotípus jelöli az alacsonyabb expressziós szintű genotípusokat, azaz az SS, SL_G , L_GL_G típusokat, az S'L' az SL_A és L_AL_G genotípusokat foglalja magában, míg az L'L' a legmagasabb génexpressziójú L_AL_A genotípust jelenti.

A Hardy-Weinberg egyensúly kiszámolását χ^2 próbával végeztük MS Excelben, több allél esetén pedig Knud Christensen online programját használtuk (<http://www.husdyr.kvl.dk/htm/kc/popgen/genetik/applets/kitest.htm>). A genetikai asszociáció elemzésekhez a χ^2 tesztet használtuk az SPSS 17-es verziójában, míg a haplotípus elemzésekhez az Unphased programot (Dudbridge, 2008) futtattuk le.

4. Eredmények

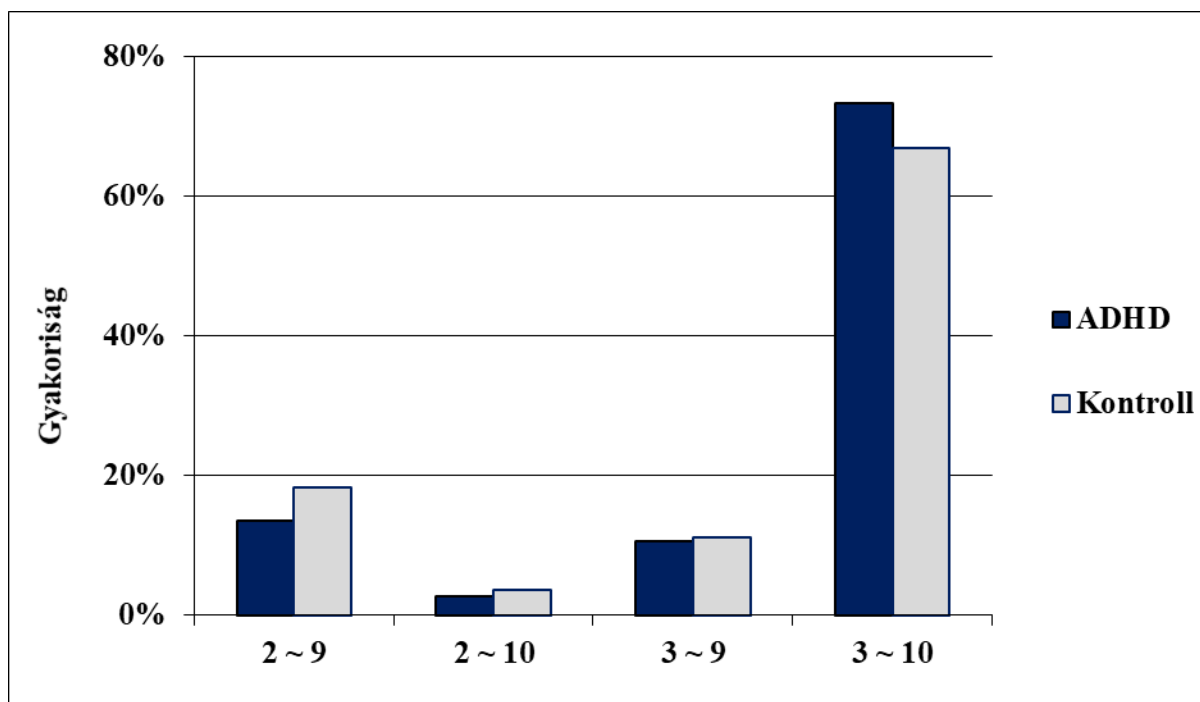
4.1. Dopamin transzporter

A dopamin transzporter gén esetén két VNTR-t genotipizáltunk a nagy elemszámú kontroll és beteg csoportban. A 3' UTR régióban található 40 bázispáros VNTR-nél a két leggyakoribb allél, a 9-es és a 10-es allélok szerint végeztük az elemzést. A többi, ritka allélt tartalmazó genotípusokat kizártuk a mérésből. A 8. intronban lévő 30 bázispáros VNTR-nél csak a 2-es és 3-as allélt figyeltük meg, így az általuk alkotott 3 genotípus csoporton végeztük az asszociáció elemzést. A kontroll csoport genotípus frekvencia adatait hasonlítottuk az összesített beteg csoporthoz, és külön-külön az adott kórképekhez (1. táblázat).

1. táblázat. Dopamin transzporter gén hosszúság polimorfizmusainak genotípus gyakoriságai.

VNTR helye	Genotípus	Kontroll N (%)	Beteg N (%)	Kontroll vs. Beteg	ADHD N (%)	TS N (%)	OCD N (%)	Kontroll vs. kórkép
3'UTR	9/9	58 (10,5%)	25 (6,2%)	$\chi^2= 6,27$ df= 2 p= 0,043	11 (5,8%)	11 (9,8%)	3 (2,9%)	$\chi^2= 3,378$ df= 3 p= 0,337
	9/10	217 (39,3%)	156 (38,5%)		71 (37,4%)	40 (35,7%)	44 (43,1%)	
	10/10	277 (50,2%)	224 (55,3%)		108 (56,8%)	61 (54,5%)	55 (53,9%)	
Intron 8	2/2	19 (4,5%)	15 (3,6%)	$\chi^2= 2,70$ df= 2 p= 0,259	8 (4,2%)	4 (3,5%)	3 (2,9%)	$\chi^2= 9,20$ df= 3 p= 0,027
	2/3	147 (35,0%)	125 (30,4%)		45 (23,7%)	44 (38,3%)	35 (33,3%)	
	3/3	254 (60,5%)	271 (65,9%)		137 (72,1%)	67 (58,3%)	67 (63,8%)	

Míg a 3' UTR VNTR-nél a teljes beteg csoportban is megemelkedett a 10/10 genotípusúak aránya, addig az intron-8 VNTR-nél csak az ADHD vonatkozásában kaptunk szignifikáns asszociációt (post-hoc elemzés az ADHD vs. kontroll csoport összehasonlításakor $p = 0,017$ szignifikáns eltérést mutatott genotípus szinten, $p = 0,016$ allél szinten). Ezért a két DAT polimorfizmusra elvégeztünk egy haplotípus elemzést is a kontroll és az ADHD csoport összehasonlításával (8. ábra). Szignifikáns eltérést az intron-8 VNTR 3-as allélja és a 3' UTR VNTR 10-es alléljának kombinációjánál figyeltünk meg.



8. ábra. Dopamin transzporter gén intron-8 és 3' UTR polimorfizmusainak haplotípus elemzése.

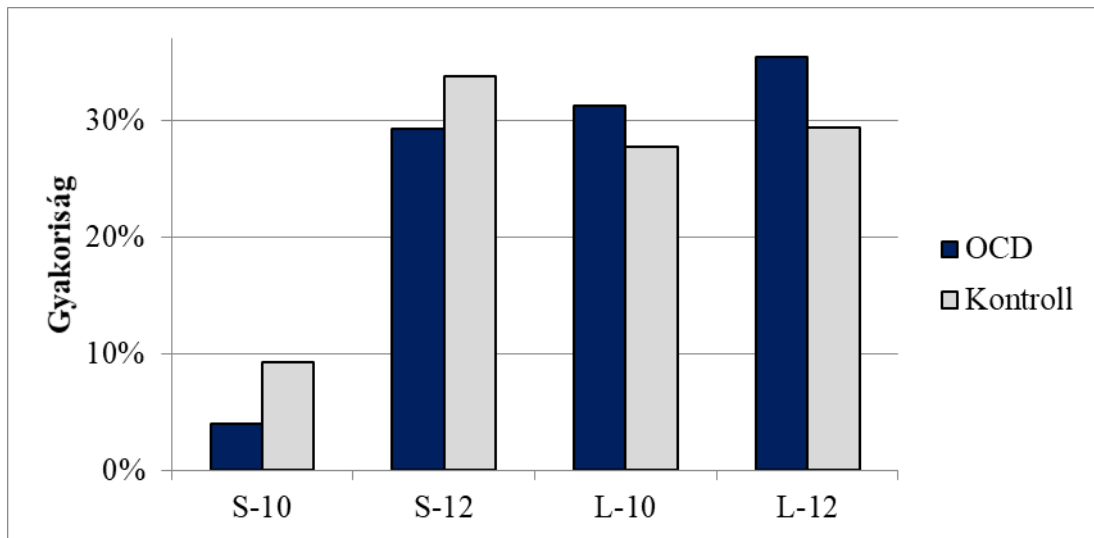
4.2. Szerotonin transzporter

A szerotonin transzporter gén esetében kettő VNTR-t és négy SNP-t genotipizáltunk. A 2. táblázatban találhatóak a kontroll minták és az OCD-s minták esetén a genotípus gyakoriságok (a többi csoporttal történt összehasonlítás a 3. sz. mellékletben található). Az 5-HTTLPR esetén az ismétlődések száma lehet 14 (S-allél) vagy 16 (L-allél). Az LL genotípus gyakoribban jelent meg az OCD-s gyerekek körében a kontroll csoporthoz képest ($p=0,047$). Ha ehhez hozzávesszük a funkcionális rs25531 A/G SNP-t, akkor a módszerek fejezetben tárgyalt funkcionális felosztást kapjuk, amiket S' és L' jelöl, így viszont már nem láttunk szignifikáns különbséget a genotípus eloszlások között (2. táblázat). Az rs25532 C/T SNP esetén a T-allélból lényegesen kevesebbet találtunk. A két intron SNP esetén is megfigyelhető, hogy az egyik allél lényegesen ritkább a másikonál, az rs2020933 A/T SNP esetén az A-alléllal, míg az rs16965628 C/G SNP esetén a C-alléllal homozigóták nagyon ritkák, ezért ezeket heterozigótákhoz csoportosítva csupán két genotípus csoportban végeztük az elemzést, ezt mutatja a szabadsági fok (df, degree of freedom) 1-re csökkenése.

2. táblázat. Szerotonin transzporter gén polimorfizmusainak genotípus gyakoriságai.

Polimorfizmus	Genotípus	Kontroll N (%)	OCD N (%)	Genotípus szintű			Allél szintű	
				χ^2	df	p	χ^2	p
5-HTTLPR VNTR	SS	42 (18,9%)	14 (13,7%)	6,09	2	0,047	5,53	0,019
	SL	107 (48,2%)	40 (39,2%)					
	LL	73 (32,9%)	48 (47,1%)					
5-HTTLPR rs25531 +	S'S'	51 (23,3%)	22 (21,5%)	0,55	2	0,758	0,82	0,365
	S'L'	106 (48,4%)	47 (46,1%)					
	L'L'	62 (28,3%)	33 (32,4%)					
rs25532 C/T SNP	CC	167 (74,9%)	79 (77,5%)	0,25	1	0,617	0,87	0,351
	CT	50 (22,4%)	23 (22,5%)					
	TT	6 (2,7%)	0 (0,0%)					
intron1 rs2020933 A/T SNP	AA	3 (1,4%)	2 (2,0%)	0,89	1	0,345	0,84	0,350
	AT	23 (10,5%)	14 (13,7%)					
	TT	193 (88,1%)	86 (84,3%)					
intron1 rs16965628 C/G SNP	CC	4 (1,8%)	2 (2,0%)	0,22	1	0,640	0,24	0,620
	CG	22 (10,0%)	12 (11,7%)					
	GG	193 (88,2%)	88 (86,3%)					
STin2 intron2 VNTR	9/10	2 (0,9%)	2 (2,0%)	0,48	2	0,786	0,23	0,889
	9/12	5 (2,2%)	2 (2,0%)					
	10/10	30 (13,5%)	11 (10,8%)					
	10/12	102 (45,7%)	48 (47,0%)					
	12/12	84 (37,7%)	39 (38,2%)					

A haplotípus elemzés során az OCD betegek és a kontroll csoport esetszámait hasonlítottuk össze (2. sz. melléklet 3. táblázat). Mivel az SNP-k gyakorisága nem különbözött szignifikánsan a beteg és a kontroll csoport között (lásd 2. táblázat), a haplotípus elemzést lefuttattuk a két VNTR-re (9. ábra). A STin2 esetén csak a 10-es és 12-es ismétlődésű allélokat használtuk, azaz a 9-es alléllal rendelkező egyéneket kihagytuk az elemzésből. A tendenciózus haplotípus eltérések hátterében azonban csak az 5-HTTLPR L-allél gyakoriságának növekedése állt, és nem láttunk specifikus haplotípus kombináció megemelkedését OCD betegek körében.



9. ábra. A szerotonin transzporter gén 2 VNTR-ének (5-HTTLPR és STin2) haplotípus elemzése.

Az OCD és TS gyakori együttes előfordulása miatt lemértük a két 5-HTT VNTR-t a TS csoportban is, de nem láttunk szignifikáns különbséget sem a genotípus, sem az allélok gyakoriságánál a TS beteg alcsoport és kontroll csoport között (2. sz. melléklet).

5. Értékelés, következtetések

Szignifikáns asszociációt kaptunk a dopamin transzporter gén 3' nem kódoló régiójában található hosszúság polimorfizmus vizsgálatánál. A kontroll csoport és a teljes beteg csoport genotípus frekvencia adatai eltértek ($p=0,043$): a 9-ismétlődést tartalmazó allél aránya lecsökkent, míg a 10/10 homozigóták aránya megnőtt a gyerekszihiátriai beteg csoportban. Ez az eltérés az OCD-s és az ADHD-s csoportokból adódik. ADHD-ban tendenciózusan magasabb a 10/10-es homozigóták aránya. Ez a genetikai eredményünk az ADHD körében végzett meta-analízisek eredményeit támasztja alá, ahol is a 10/10 genotípust találták kis hatású (1,12-1,13 kockázati arányú) rizikófaktornak (Faraone et al., 2005; Gizer et al., 2009). TS és OCD genetikai asszociáció vizsgálatai e polimorfizmus tekintetében a szakirodalomban még elég ellentmondásosak (Grisham et al., 2008; O'Rourke et al., 2009), de vizsgálatunkból kimutatható, hogy az OCD-ben a 9/10-es heterozigóták aránya is megnőtt.

Ha a dopamin transzporter másik hosszúság polimorfizmusát is vizsgáljuk, ami a 8. intronban található, akkor itt már csak az ADHD esetén találunk szignifikáns eltérést. Látható, hogy a 3/3-as genotípus aránya növekedett meg jelentősen. Haplotípus elemzésünk eredményei is alátámasztják a 3-as és a 10-es allél együttes előfordulásának jelentőségét ADHD-ban, ugyanis ez a 3 ~ 10 haplotípus tendenciózusan magasabb arányban volt jelen ADHD-sok körében a kontroll csoporthoz képest. Ez összecseng a Nemzetközi Multicenter ADHD Gén projekt családvizsgálatban kapott eredményeivel (Asherson et al., 2007). Mint azt Shumay és munkatársai 2011-ben közölték, az intron-8. VNTR 2-es allélját hordozók, illetve a 3' UTR VNTR 9-es allélját hordozók, valamint a kettő kombinációja esetén a DAT sűrűsége magasabb a bazális ganglionokban, így ez alátámasztja, hogy a csökkent DAT sűrűséget okozó allél rizikófaktor lehet az ADHD esetén. A 8. ábrán látható, hogy ez a DAT a 3 ~ 10 haplotípus a kontroll csoportban is jelentősen magasabb a többi haplotípushoz képest, ennek evolúciós magyarázata lehet, hiszen a csoport túlélése szempontjából előnyös lehet egy kis százaléku hiperaktív egyén, akik nagyobb valószínűséggel mennek messzebbre felfedezni, vagy merik megkóstolni az eddig ismeretlen bogyókat. Mivel az ADHD poligénes és multifaktoriális, így pusztán ennek a DAT haplotípusnak a jelenléte kevés a kialakulásához, ezért ezek az allélok fennmaradhattak és elterjedhettek az evolúció során.

A szerotonin transzporter gén esetén a Wendland és munkatársai által 2009-ben publikált asszociáció elemzést szeretnénk volna replikálni, mely alapján a magasabb

expressziót kiváltó L- illetve L'-allél hajlamosító tényező az OCD-sek körében. Eset-kontroll elemzésünkben nominálisan szignifikáns eredményt kaptunk az 5-HTTLPR esetén, az L-allél előfordulása magasabb volt az OCD-s gyerekek körében, mint a kontroll csoportban (genotípus szinten $p=0,047$, allél szinten $p=0,019$). Azonban ha az rs25531 G-allél jelenléte alapján átkódoljuk az L-allélt, akkor ez az asszociáció eltűnik (2. táblázat). A hatás eltűnésének több oka lehet. Egyrészt lehetséges ok a kis mintaszám. Másrészt az OCD nagyon szerteágazó tünet csoportokkal rendelkezik, ezért a pszichiátriai genetikában is egyre nagyobb hangsúlyt kap a dimenzionális szemlélet, miszerint az átfedő tünetek mesterséges csoportosításával nyert, heterogén betegség kategóriák helyett magukat a tüneteket, mint kvantitatív változókat vizsgálják. Sem a STin2, sem a többi SNP esetén nem sikerült szignifikáns különbséget találnunk az OCD betegek és a kontroll csoport genotípus frekvenciái között.

Haplotípus elemzéseink is megerősítették az asszociáció eredményeinket. Ha együtt vizsgáltuk a két VNTR-t, akkor is csak az látható, hogy az L-allélt tartalmazó kombinációk gyakoribbak (9. ábra), a STin2 allélok esetén semmilyen tendencia-szintű eltérés nem látszik. A leggyakoribb haplotípus kombinációk vizsgálatakor ugyancsak az 5-HTTLPR L-allél gyakoribb előfordulását találtuk, a többi polimorfizmus nem mutatott szignifikáns eltérést. Ugyan nem sikerült teljesen replikálnunk Wendland és munkatársainak 2009-ben publikált eredményét, hasonló tendenciát láttunk az $L_A - C - T - C - 12$ haplotípusnál, miszerint az a magyar beteg csoportban is megemelkedett (2. sz. melléklet). Ez is jól mutatja, hogy fontos minél több genetikailag független csoporton elvégezni ezeket az asszociáció elemzéseket.

Fontos megemlíteni, hogy ha az elvégzett statisztikai elemzések számára korrigáljuk az eredményeinket, akkor egyik sem maradt szignifikáns. Azonban ha az egyes elemzéseinket az irodalmi adatokkal összevetjük, akkor ugyanazok a tendenciák látszanak a mi mintáinkon is. Így elmondható, hogy genetikai asszociáció eredményeink hozzájárulhatnak egy nagy elemszámú vizsgálat (pl. meta-analízis) során megfigyelt hatások értelmezéséhez, mely ADHD-ban a DAT 10/10 genotípus, OCD-ben az 5-HTTLPR L-allél szerepére hívja fel a figyelmet. Ugyanígy fontosak a negatív asszociációk publikálása, melyek megmutatják, hogy melyik genetikai variánst nem érdemes vizsgálni a jövőben. Például az 5-HTT polimorfizmusokat vizsgáló méréseink eredménye megjelent a legfrissebb meta-analízisben, mely megcáfolja az rs25532 C/T és a rs16965628 C/G SNP összefüggését OCD-vel (Grünblatt et al., 2018).

6. Összefoglalás

Az elmúlt évtizedek genetikai kutatásai főleg a gyakori betegségek komplex genetikai hátterének feltérképezésére irányultak, így jelentős eredmények születtek a pszichiátriai genetika területén is. Sok kutatócsoport próbálja a poligénes háttér feltérképezését a magas (~70-80%) genetikai meghatározottságot mutató pszichiátriai zavarokban, úgymint a figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD) és a Tourette-szindróma (TS). Azonban a mai napig nem ismerjük teljességgel ezen kórképek patobiokémiai folyamatait. Mivel a kényszeres zavar (Obsessive Compulsive Disorder, OCD) gyakran fordul elő együttesen TS-sel, ezért e három gyermekpszichiátriai zavart együttesen vizsgáltuk genetikai elemzéseinkben. Többféle megfigyelés alapján elmondhatjuk, hogy a thalamocorticalis gátló körök bazális ganglionok szintjén való dopaminerg neurotranszmisszió funkciózavara esetén megnő e három neurodevelopmentális zavar kialakulásának veszélye. Azért fontos ezen terület kutatása, mivel a dopamin transzporter sűrűsége itt a legnagyobb az agyban, alátámasztva az általunk vizsgált kórképek közös neurobiológiai és genetikai hátterét.

Összesen 417 beteg gyereket vizsgálva a dopamin transzporter 3' UTR 40 bp VNTR 10/10 genotípus gyakoriságát találtuk nagyobbak, amely feltehetően csökkenti a transzporter sűrűségét a bazális ganglionokban. A genetikai asszociációnk az ADHD körében végzett meta-analízisek eredményeit támasztja alá, ahol is a dopamin transzporter 3' UTR 40 bp VNTR 10/10 genotípust találták kis hatású rizikófaktornak (Faraone et al., 2005; Gizer et al., 2009). Nekünk sikerült ezt a genetikai asszociációt kiterjesztenünk a másik két kórképre is. Specifikus rizikófaktornak tűnnek ADHD esetén a dopamin transzporter intron-8 30 bp VNTR 3/3 genotípusa és a DAT 3 ~ 10 haplotípusa. Ezen asszociáció eredmények hasonlóak a Gizer és munkatársai által publikáltakkal, illetve a Nemzetközi Multicenter ADHD Gén projekt családvizsgálat alapú tanulmányával. Mindezek alapján feltételezhetünk egy alulműködő dopamin transzportert, amely nem megfelelő viselkedési gátlást eredményez e neuropszichiátriai zavarok hátterében, de leginkább ADHD-ban. Az OCD központú asszociáció vizsgálatunk esetén az 5-HTTLPR L-allélját találtuk specifikus rizikófaktornak. Azonban nem sikerült teljes mértékben replikálni a Wendland és munkatársai által publikált kapcsolatot a szerotonin transzporter gén többi polimorfizmusai és az OCD között. A

publikációtól függetlenül megvizsgáltuk az 5-HTT gén és a TS kapcsolatát, de itt sem kaptunk szignifikáns asszociációt.

Abstract

Genetic association analyses of monoamine transporter polymorphisms in child psychiatric disorders

Genetic research in recent decades has focused on mapping the complex genetic background of common diseases. Important results have been accumulating in the field of psychiatric genetics, but the pathomechanisms of mental illnesses are still not clear. Many research groups are trying to map the polygenic background in psychiatric disorders with high estimated heritability (~ 70-80%). We aimed to study three child psychiatric disorders: Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), Obsessive Compulsive Disorder (OCD) and Tourette Syndrome (TS). The inability to suppress inappropriate behaviors or thoughts is the common core deficit in these disorders, which are often present as comorbid conditions. Impulsivity in ADHD, involuntary movements and vocalizations in TS, and obsessions or compulsions in OCD might reflect a common immature inhibitory control of the basal ganglia thalamocortical circuits, with possibly altered dopaminergic neurotransmission. Therefore, our aim was to determine common and/or specific genetic factors in the background of ADHD, OCD and TS, focusing on monoamine transporter genes. Buccal DNA samples were collected from 417 patients (82,8% male, mean age: $11,7 \pm 4,3$). Genetic polymorphisms of the serotonin and dopamine transporter genes were compared to a sex matched young adult control group (67,9% male, mean age: $21,9 \pm 4,4$).

Supporting the common neurobiological and genetic background of these three child psychiatric disorders, we found higher frequency of the dopamine transporter (DAT) 3' UTR 40 bp VNTR 10/10 genotype, which can lead to reduced transporter density. This genetic association supports previous meta-analyses in ADHD, where this genotype was indicated as risk factor (Faraone et al., 2005; Gizer et al., 2009). The DAT intron-8 30 bp VNTR 3/3 genotype and DAT 3 ~ 10 haplotype appeared to be specific risk factors for ADHD in our Hungarian sample. These genetic associations are similar to the results of Gizer et al., and to the family-based study of the International Multicenter ADHD Gene Project. Based on these similarities, we can hypothesize a dysfunctional dopamine transporter that results in inadequate behavioral inhibition in the background of these neuropsychiatric disorders, but most notably in ADHD. In terms of OCD, we found the 5-HTTLPR L-allele as a specific risk

factor, supporting previous associations. However, we could not totally replicate the associations between other serotonin transporter gene polymorphisms and OCD.

Irodalom

- Abramowitz J. S., Taylor S., & McKay D. (2009). Obsessive-compulsive disorder. *Lancet*, 374(9688), 491-499.
- Adriani W., Boyer F., Gioiosa L., Macri S., Dreyer J. L., & Laviola G. (2009). Increased impulsive behavior and risk proneness following lentivirus-mediated dopamine transporter over-expression in rats' nucleus accumbens. *Neuroscience*, 159(1), 47-58.
- Albin R. L., & Mink J. W. (2006). Recent advances in Tourette syndrome research. *Trends Neurosci*, 29(3), 175-182.
- Asherson P., Brookes K., Franke B., Chen W., Gill M., Ebstein R. P., Buitelaar J., Banaschewski T., Sonuga-Barke E., Eisenberg J., Manor I., Miranda A., Oades R. D., Roeyers H., Rothenberger A., Sergeant J., Steinhausen H. C., & Faraone S. V. (2007). Confirmation that a specific haplotype of the dopamine transporter gene is associated with combined-type ADHD. *Am J Psychiatry*, 164(4), 674-677.
- Association American Psychiatric. (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (4th ed.). Washington, DC: : American Psychiatric Press.
- Battle D. E. (2013). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM). *Codas*, 25(2), 191-192. doi:10.1590/s2317-17822013000200017
- Belsky J., Jonassaint C., Pluess M., Stanton M., Brummett B., & Williams R. (2009). Vulnerability genes or plasticity genes? *Mol Psychiatry*, 14(8), 746-754.
- Biederman J. (2005). Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol Psychiatry*, 57(11), 1215-1220.
- Bloch M. H., Landeros-Weisenberger A., Rosario M. C., Pittenger C., & Leckman J. F. (2008). Meta-analysis of the symptom structure of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*, 165(12), 1532-1542.
- Bloch M. H., Landeros-Weisenberger A., Sen S., Dombrowski P., Kelmendi B., Coric V., Pittenger C., & Leckman J. F. (2008). Association of the serotonin transporter polymorphism and obsessive-compulsive disorder: systematic review. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 147B(6), 850-858.
- Brookes K. J., Neale B. M., Sugden K., Khan N., Asherson P., & D'Souza U. M. (2007). Relationship between VNTR polymorphisms of the human dopamine transporter gene and expression in post-mortem midbrain tissue. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 144B(8), 1070-1078.
- Comings D. E. (2001). Clinical and molecular genetics of ADHD and Tourette syndrome. Two related polygenic disorders. *Ann N Y Acad Sci*, 931, 50-83.
- Costa A., Riedel M., Muller U., Moller H. J., & Ettinger U. (2011). Relationship between SLC6A3 genotype and striatal dopamine transporter availability: a meta-analysis of human single photon emission computed tomography studies. *Synapse*, 65(10), 998-1005. doi:10.1002/syn.20927
- Diaz-Anzaldúa A., Joober R., Riviere J. B., Dion Y., Lesperance P., Richer F., Chouinard S., & Rouleau G. A. (2004). Tourette syndrome and dopaminergic genes: a family-based

- association study in the French Canadian founder population. *Mol Psychiatry*, 9(3), 272-277.
- Faraone S. V. (2004). Genetics of adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychiatr Clin North Am*, 27(2), 303-321.
- Faraone S. V., & Larsson H. (2019). Genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry*, 24(4), 562-575. doi:10.1038/s41380-018-0070-0
- Faraone S. V., Perlis R. H., Doyle A. E., Smoller J. W., Goralnick J. J., Holmgren M. A., & Sklar P. (2005). Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*, 57(11), 1313-1323.
- Faraone S. V., Spencer T. J., Madras B. K., Zhang-James Y., & Biederman J. (2014). Functional effects of dopamine transporter gene genotypes on in vivo dopamine transporter functioning: a meta-analysis. *Mol Psychiatry*, 19(8), 880-889. doi:10.1038/mp.2013.126
- Fuke S., Suo S., Takahashi N., Koike H., Sasagawa N., & Ishiura S. (2001). The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J*, 1(2), 152-156.
- Gainetdinov R. R., Jones S. R., & Caron M. G. (1999). Functional hyperdopaminergia in dopamine transporter knock-out mice. *Biol Psychiatry*, 46(3), 303-311.
- Gizer I. R., Ficks C., & Waldman I. D. (2009). Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet*, 126(1), 51-90.
- Gomes C. K. F., Vieira-Fonseca T., Melo-Felippe F. B., de Salles Andrade J. B., Fontenelle L. F., & Kohlrausch F. B. (2018). Association analysis of SLC6A4 and HTR2A genes with obsessive-compulsive disorder: Influence of the STin2 polymorphism. *Compr Psychiatry*, 82, 1-6. doi:10.1016/j.comppsy.2017.12.004
- Grados M. A. (2010). The genetics of obsessive-compulsive disorder and Tourette syndrome: an epidemiological and pathway-based approach for gene discovery. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 49(8), 810-819, 819 e811-812. doi:10.1016/j.jaac.2010.04.009
- Grados M. A., Walkup J., & Walford S. (2003). Genetics of obsessive-compulsive disorders: new findings and challenges. *Brain Dev*, 25 Suppl 1, S55-61.
- Grisham J. R., Anderson T. M., & Sachdev P. S. (2008). Genetic and environmental influences on obsessive-compulsive disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 258(2), 107-116.
- Grunblatt E., Marinova Z., Roth A., Gardini E., Ball J., Geissler J., Wojdacz T. K., Romanos M., & Walitza S. (2018). Combining genetic and epigenetic parameters of the serotonin transporter gene in obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatr Res*, 96, 209-217. doi:10.1016/j.jpsychires.2017.10.010
- Guindalini C., Howard M., Haddley K., Laranjeira R., Collier D., Ammar N., Craig I., O'Gara C., Bubb V. J., Greenwood T., Kelsoe J., Asherson P., Murray R. M., Castelo A., Quinn J. P., Vallada H., & Breen G. (2006). A dopamine transporter gene functional variant associated with cocaine abuse in a Brazilian sample. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(12), 4552-4557.

- Guindalini C., Martins R. C., Andersen M. L., & Tufik S. (2010). Influence of genotype on dopamine transporter availability in human striatum and sleep architecture. *Psychiatry Res*, 179(2), 238-240. doi:10.1016/j.psychres.2009.07.017
- Heils A., Teufel A., Petri S., Stober G., Riederer P., Bengel D., & Lesch K. P. (1996). Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem*, 66(6), 2621-2624. doi:10.1046/j.1471-4159.1996.66062621.x
- Hienert M., Gryglewski G., Stamenkovic M., Kasper S., & Lanzenberger R. (2018). Striatal dopaminergic alterations in Tourette's syndrome: a meta-analysis based on 16 PET and SPECT neuroimaging studies. *Transl Psychiatry*, 8(1), 143. doi:10.1038/s41398-018-0202-y
- Hu X. Z., Lipsky R. H., Zhu G., Akhtar L. A., Taubman J., Greenberg B. D., Xu K., Arnold P. D., Richter M. A., Kennedy J. L., Murphy D. L., & Goldman D. (2006). Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet*, 78(5), 815-826. doi:10.1086/503850
- Kalbitzer J., Frokjaer V. G., Erritzoe D., Svarer C., Cumming P., Nielsen F. A., Hashemi S. H., Baare W. F., Madsen J., Hasselbalch S. G., Kringelbach M. L., Mortensen E. L., & Knudsen G. M. (2009). The personality trait openness is related to cerebral 5-HTT levels. *Neuroimage*, 45(2), 280-285. doi:10.1016/j.neuroimage.2008.12.001
- Krause K. H., Dresel S. H., Krause J., Kung H. F., & Tatsch K. (2000). Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett*, 285(2), 107-110.
- Lesch K. P., Balling U., Gross J., Strauss K., Wolozin B. L., Murphy D. L., & Riederer P. (1994). Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect*, 95(2), 157-162.
- Lesch K. P., Bengel D., Heils A., Sabol S. Z., Greenberg B. D., Petri S., Benjamin J., Muller C. R., Hamer D. H., & Murphy D. L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 274(5292), 1527-1531.
- MacKenzie A., & Quinn J. (1999). A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region, correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(26), 15251-15255. doi:10.1073/pnas.96.26.15251
- Mill J., Asherson P., Browes C., D'Souza U., & Craig I. (2002). Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *Am J Med Genet*, 114(8), 975-979.
- Mill J., Asherson P., Craig I., & D'Souza U. M. (2005). Transient expression analysis of allelic variants of a VNTR in the dopamine transporter gene (DAT1). *BMC Genet*, 6, 3.
- Miller G. M., & Madras B. K. (2002). Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry*, 7(1), 44-55.
- O'Rourke J. A., Scharf J. M., Yu D., & Pauls D. L. (2009). The genetics of Tourette syndrome: a review. *J Psychosom Res*, 67(6), 533-545.

- Parsey R. V., Hastings R. S., Oquendo M. A., Hu X., Goldman D., Huang Y. Y., Simpson N., Arcement J., Huang Y., Ogden R. T., Van Heertum R. L., Arango V., & Mann J. J. (2006). Effect of a triallelic functional polymorphism of the serotonin-transporter-linked promoter region on expression of serotonin transporter in the human brain. *Am J Psychiatry*, *163*(1), 48-51. doi:10.1176/appi.ajp.163.1.48
- Pauls D. L. (2003). An update on the genetics of Gilles de la Tourette syndrome. *J Psychosom Res*, *55*(1), 7-12. doi:10.1016/s0022-3999(02)00586-x
- Polanczyk G. V., Willcutt E. G., Salum G. A., Kieling C., & Rohde L. A. (2014). ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis. *Int J Epidemiol*, *43*(2), 434-442. doi:10.1093/ije/dyt261
- Praschak-Rieder N., Kennedy J., Wilson A. A., Hussey D., Boovariwala A., Willeit M., Ginovart N., Tharmalingam S., Masellis M., Houle S., & Meyer J. H. (2007). Novel 5-HTTLPR allele associates with higher serotonin transporter binding in putamen: a [(11)C] DASB positron emission tomography study. *Biol Psychiatry*, *62*(4), 327-331. doi:10.1016/j.biopsych.2006.09.022
- Robbins T. W., & Arnsten A. F. (2009). The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annu Rev Neurosci*, *32*, 267-287.
- Sheppard D. M., Bradshaw J. L., Purcell R., & Pantelis C. (1999). Tourette's and comorbid syndromes: obsessive compulsive and attention deficit hyperactivity disorder. A common etiology? *Clin Psychol Rev*, *19*(5), 531-552.
- Shumay E., Chen J., Fowler J. S., & Volkow N. D. (2011). Genotype and ancestry modulate brain's DAT availability in healthy humans. *PLoS One*, *6*(8), e22754. doi:10.1371/journal.pone.0022754
- Singer H. S. (2005). Tourette's syndrome: from behaviour to biology. *Lancet Neurol*, *4*(3), 149-159.
- Swedo S. E., Leonard H. L., Garvey M., Mittleman B., Allen A. J., Perlmutter S., Lougee L., Dow S., Zamkoff J., & Dubbert B. K. (1998). Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *Am J Psychiatry*, *155*(2), 264-271. doi:10.1176/ajp.155.2.264
- Tarnok Z., Ronai Z., Gervai J., Kereszturi E., Gadoros J., Sasvari-Szekely M., & Nemoda Z. (2007). Dopaminergic candidate genes in Tourette syndrome: association between tic severity and 3' UTR polymorphism of the dopamine transporter gene. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *144B*(7), 900-905. doi:10.1002/ajmg.b.30517
- Taylor A., & Kim-Cohen J. (2007). Meta-analysis of gene-environment interactions in developmental psychopathology. *Dev Psychopathol*, *19*(4), 1029-1037.
- van de Giessen E. M., de Win M. M., Tanck M. W., van den Brink W., Baas F., & Booij J. (2009). Striatal dopamine transporter availability associated with polymorphisms in the dopamine transporter gene SLC6A3. *J Nucl Med*, *50*(1), 45-52.
- van Dyck C. H., Malison R. T., Jacobsen L. K., Seibyl J. P., Staley J. K., Laruelle M., Baldwin R. M., Innis R. B., & Gelernter J. (2005). Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *J Nucl Med*, *46*(5), 745-751.
- van Grootheest D. S., Cath D. C., Beekman A. T., & Boomsma D. I. (2005). Twin studies on obsessive-compulsive disorder: a review. *Twin Res Hum Genet*, *8*(5), 450-458.

- Vandenberg D. J., Persico A. M., Hawkins A. L., Griffin C. A., Li X., Jabs E. W., & Uhl G. R. (1992). Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics*, *14*(4), 1104-1106. doi:10.1016/s0888-7543(05)80138-7
- Walitza S., Wendland J. R., Gruenblatt E., Warnke A., Sontag T. A., Tucha O., & Lange K. W. (2010). Genetics of early-onset obsessive-compulsive disorder. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, *19*(3), 227-235. doi:10.1007/s00787-010-0087-7
- Wendland J. R., Martin B. J., Kruse M. R., Lesch K. P., & Murphy D. L. (2006). Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol Psychiatry*, *11*(3), 224-226.
- Wendland J. R., Moya P. R., Kruse M. R., Ren-Patterson R. F., Jensen C. L., Timpano K. R., & Murphy D. L. (2008). A novel, putative gain-of-function haplotype at SLC6A4 associates with obsessive-compulsive disorder. *Hum Mol Genet*, *17*(5), 717-723. doi:10.1093/hmg/ddm343
- Wendland J. R., Moya P. R., Timpano K. R., Anavitarte A. P., Kruse M. R., Wheaton M. G., Ren-Patterson R. F., & Murphy D. L. (2009). A haplotype containing quantitative trait loci for SLC1A1 gene expression and its association with obsessive-compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*, *66*(4), 408-416.
- Wonodi I., Hong L. E., Stine O. C., Mitchell B. D., Elliott A., Roberts R. C., Conley R. R., McMahon R. P., & Thaker G. K. (2009). Dopamine transporter polymorphism modulates oculomotor function and DAT1 mRNA expression in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *150B*(2), 282-289.
- Yoon D. Y., Rippel C. A., Kobets A. J., Morris C. M., Lee J. E., Williams P. N., Bridges D. D., Vandenberg D. J., Shugart Y. Y., & Singer H. S. (2007). Dopaminergic polymorphisms in Tourette syndrome: association with the DAT gene (SLC6A3). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *144B*(5), 605-610.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Nemoda Zsófiának, hogy tudásával, hasznos tanácsaival és türelmes segítőkészségével támogatta szakdolgozatom létrejöttét.

Szeretném megköszönni belső konzulensemnek, Szabó Krisztiánnak, hogy a konzultációk során biztosított tanácsaival segítséget nyújtott szakdolgozatom elkészüléséhez.

Köszönettel tartozom a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet volt és jelenlegi igazgatójának a lehetőségért, hogy ott dolgozhattam, és az intézet minden munkatársának a tőlük kapott segítségért.

Külön köszönöm páromnak, Norbinak, hogy egyetemi éveim során végtelen kitartással és szeretettel támogatta céljaim elérését, és hogy nélkülözhetetlen tanácsaival valamint segítségével hozzájárult e dolgozat megírásához.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretném hálámat kifejezni szüleimnek, önzetlen támogatásukért, és amiért megteremtették számomra a tanulás lehetőségét.

Mellékletek

1. sz. melléklet: A vizsgált pszichiátriai zavarok főbb tünetei a Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders alapján

ADHD Figyelemhiányos/hiperaktivitási zavar

Mint a nevéből is adódik, figyelemhiányos, hiperaktív/impulzív, vagy mindkét tünetegyüttes fennállása a jellemző. Az alábbi tünetekből kategóriánként legalább 6 jelentkezik és legalább 6 hónapig olyan mértékben áll fenn, ami nem felel meg a fejlődési szintnek.

- Figyelmetlenség:
 - Gyakran nem figyel megfelelően a részletekre, vagy gondatlan hibákat vét az iskolai és egyéb munkában, illetve más tevékenységben.
 - Gyakran nehézséget jelent a figyelem megtartása a feladat vagy játék-tevékenységen belül.
 - Gyakran úgy tűnik, nem figyel, amikor beszélnek hozzá.
 - Gyakran nem követi az instrukciókat, vagy elmarad az iskolai és egyéb munka, illetve kötelességek, stb. befejezésében (nem oppozíciós viselkedés vagy az instrukciók megértési zavara miatt).
 - Gyakran nehéz a feladatok és a tevékenységek megszervezése.
 - Gyakran elkerüli, nem szereti, vagy ellenáll, hogy olyan feladatokban vegyen részt, melyek tartós mentális tevékenységet igényelnek.
 - Gyakran elveszíti a feladatokhoz vagy tevékenységhez szükséges dolgokat (pl. játékokat, iskolai felszerelést, ceruzákat, könyveket vagy szerszámokat).
 - Gyakran könnyen elvonják a figyelmét külső ingerek.
 - A napi tevékenységekben gyakran feledékeny.
- Hiperaktivitás
 - Gyakran babrál valamivel, kezével matat, lábát változtatja, az ülésen fészkelődik.
 - Gyakran elhagyja helyét az osztályban vagy más helyzetekben, ahol az ülve maradást várják el.
 - Gyakran rohangál vagy ugrál, mászik olyan helyzetekben, amikor az nem helyénvaló (serdülőknél vagy felnőtteknél ez korlátozódhat a nyugtalanság szubjektív érzéseire).
 - Gyakran nehézségei vannak az önálló, nyugodt játéktevékenységben vagy az abban való részvételben.
 - Gyakran „izeg-mozog”, vagy gyakran úgy cselekszik, „mint akit felhúztak”.
 - Gyakran szertelenül, túlzott mennyiségben beszél.
- Impulzivitás
 - Gyakran kimondja a választ, még mielőtt a kérdés befejeződött volna.

- Gyakran nehézsége van a várakozással.
- Gyakran félbeszakít másokat (pl. beszélgetéseket vagy játékokat).

További feltételek:

- Olyan hiperaktív-impulzív tünetek vagy figyelmetlenség, amelyek a 7. életév előtti megjelenés esetén sérülést okozhatnak.
- Legalább két vagy több helyzetben (pl. iskolában, munkahelyen vagy otthon) a tünetek miatt bizonyos funkciózavar van jelen.
- A szociális, iskolai vagy foglalkozási működésben egyértelműen észlelhető a klinikailag jelentős károsodás.
- A tünetek nem kizárólag átfogó fejlődési zavar, skizofrénia vagy egyéb pszichotikus zavar folyamán jelentkeznek és nem magyarázhatók jobban más mentális zavarral (pl. hangulatzavar, szorongásos zavar, disszociatív zavar vagy személyiségzavar).

Gilles de la Tourette szindróma

A zavar diagnosztizálása akkor történik meg, ha fennáll többszörös motoros és egy vagy több vokális tic bizonyos időszakokban, de nem szükségszerűen egyidejűleg. Tic-nek nevezzük a hirtelen, gyors, ismétlődő, nem ritmusos sztereotip mozgást vagy hangadást. Ezek a tic-ek naponta többször előfordulnak, általában halmozottan, több mint 1 éven keresztül, és ezen idő alatt nem lehet 3 hónapnál hosszabb egybefüggő tünetmentes időszak. A diagnosztizálás egyik feltétele, hogy a zavar észrevehető szenvedést, vagy életminőségbeli (szociális, foglalkozási) romlást okoz és 18 éves kor előtt megjelenik.

Kényszeres zavar

Vagy gondolati vagy cselekvési kényszerek teljesülése szükséges.

Kényszergondolat megállapításához az alábbi négy pont együttes teljesülése szükséges:

- 1) Visszatérő és tartós gondolatok, késztetések vagy képzetek, amelyeket a zavar folyamán a személy időnként annyira kényszerűnek és alkalmatlannak él meg, hogy az észrevehető szorongást vagy szenvedést okoz.
- 2) A gondolatok, késztetések vagy képzetek nem egyszerűen az élet reális problémáival kapcsolatos túlzott aggodalmak megnyilvánulásai.
- 3) A személy igyekszik ezeket a gondolatokat, késztetéseket vagy képzeteket elnyomni, figyelmen kívül hagyni vagy valamilyen más gondolattal/cselekvéssel semlegesíteni.
- 4) A személy felismeri, hogy a kényszergondolatok, késztetések vagy képzetek saját pszichéjének termékei (és nem kívülről erednek, mint a gondolatátvitelnél).

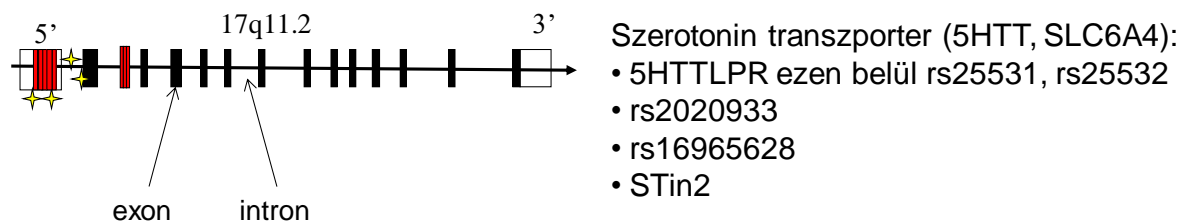
Kényszereselekvés megállapításához az alábbi két pont együttes teljesülése szükséges:

- 1) Repetitív magatartásformák (pl. kézmosás, rendezgetés, ellenőrzés) vagy gondolati folyamatok (imádkozás, számolás, szavak néma ismétlgetése), amelyet a személy a kényszergondolatokra válaszul vagy mereven alkalmazott szabályok szerint végez.
- 2) A magatartásformák vagy mentális folyamatok célja a szenvedés megelőzése, csökkentése vagy valamilyen rettegett esemény bekövetkezésének elhárítása; miközben ezek a magatartásformák vagy nincsenek reális kapcsolatban azzal a

dologgal, amelynek semlegesítésére, illetve megelőzésére létrejönnek, vagy nyilvánvalóan eltűztek.

A kényszerek észrevehető szenvedést okoznak, időigényesek (naponta több, mint egy órát vesznek igénybe), vagy jelentősen kihatnak a szokványos napi tevékenységre, a tanulmányi vagy munkateljesítményre, a szokásos szociális aktivitásra vagy kapcsolatokra.

2. sz. melléklet: A szerotonin transzporter gén vizsgált polimorfizmusai



10. ábra. A szerotonin transzporter gén sematikus ábrája. A szerotonin transzporter génjében fekete téglalapok jelzik az exonokat, az üres téglalapok pedig a nem kódoló régiókat (UTR). Piros dobozok a 2 VNTR-t, a sárga csillagok az SNP-eket jelölik.

	Triallelic 5-HTTLPR	rs25532	rs2020933	rs16965628	STin2	Haplotype frequency		Haplotype-specific tests (df = 1)	
						OCD	Controls	P-value	Odds ratio
H1	S	C	A	G	12	0.251	0.274	ns	0.89
H2	L _A	C	A	G	10	0.270	0.240	ns	1.19
H3	L _A	C	A	G	12	0.166	0.184	ns	0.85
H4	S	T	A	G	12	0.074	0.068	ns	1.12
H5	S	T	A	G	10	0.063	0.046	ns	1.48
H6	L _A	C	T	C	12	0.074	0.047	0.026	1.60
H7	L _G	C	A	G	12	0.036	0.049	ns	1.45
H8	S	C	A	G	10	0.048	0.047	ns	1.02
H9	L _G	C	A	G	10	0.012	0.025	0.019	0.28
H10	L _A	T	A	G	10	0.007	0.020	0.005	0.13
Functionality ^a	L _A > L _G > S	C > T	T > A	C > G	12 > 10	Omnibus $\chi^2 = 25.3$ (df = 9), $P < 0.003$			
MAF OCD	L _G , 0.046	T, 0.142	T, 0.086	C, 0.099	10, 0.405				
MAF controls	0.072	0.134	0.064	0.070	0.378				
Single locus test ^b	ns	ns	ns	$P < 0.040$	ns				

11. ábra. Haplotípus elemzés eredménye Wendland et al., 2009-es cikkéből.

3. táblázat. A szerotonin transzporter vizsgált polimorfizmusainak haplotípus elemzése.

promoter HTTLPR + rs25531	rs25532 C/T SNP	intron 1 rs2020933 A/T SNP	intron 1 rs16965628 C/G SNP	intron 2 VNTR Stin2	Haplotípus gyakoriság OCD	Haplotípus gyakoriság kontroll
S'	C	A	G	10	0,024	0,021
S'	C	A	G	12	0,310	0,316
S'	T	A	G	10	0,020	0,060
S'	T	A	G	12	0,093	0,071
L'	C	T	C	12	0,073	0,053
L'	C	A	G	10	0,295	0,274
L'	C	A	G	12	0,166	0,178

3. sz. melléklet: A szerotonin transzporter gén vizsgált polimorfizmusai

4. táblázat. Szerotonin transzporter gén polimorfizmusainak genotípus gyakoriságai.

Polimorf.	Geno- típus	Kontroll N (%)	Beteg N (%)	ADHD N (%)	TS N (%)	OCD N (%)	Kontroll vs. kórkép
5-HTTLPR VNTR	SS	66 (16,5%)	65 (15,7%)	28 (14,5%)	22 (19,0%)	14 (13,7%)	$\chi^2= 9,09$ df= 6 p= 0,169
	SL	199 (49,9%)	199 (48,1%)	96 (49,7%)	60 (51,7%)	40 (39,2%)	
	LL	134 (33,6%)	150 (34,9%)	69 (35,8%)	34 (29,3%)	48 (47,1%)	
5-HTTLPR + rs25531	S'S'	95 (23,9%)	94 (22,5%)	41 (21,1%)	29 (24,8%)	22 (21,6%)	$\chi^2= 2,73$ df= 6 p= 0,843
	S'L'	199 (50,1%)	202 (48,4%)	95 (49,0%)	58 (49,6%)	47 (46,1%)	
	L'L'	103 (25,9%)	121 (29,0%)	58 (29,9%)	30 (25,6%)	33 (32,4%)	
rs25532 C/T SNP	CC	327 (78,8%)	313 (75,8%)	149 (77,2%)	87 (74,4%)	79 (77,5%)	$\chi^2= 1,07$ df= 3 p= 0,785
	TT + CT	88 (21,2%)	100 (24,2%)	44 (22,8%)	30 (25,6%)	23 (22,5%)	
intron1 rs2020933 A/T SNP	TT	351 (87,1%)	359 (86,1%)	169 (87,1%)	100 (85,5%)	86 (84,3%)	$\chi^2= 0,71$ df= 3 p= 0,871
	AA + AT	52 (12,9%)	58 (13,9%)	25 (12,9%)	17 (14,5%)	16 (15,7%)	
intron1 rs16965628 C/G SNP	GG	360 (88,0%)	359 (86,1%)	166 (86,6%)	100 (85,5%)	88 (86,3%)	$\chi^2= 0,83$ df= 3 p= 0,842
	CC + CG	49 (12,0%)	58 (13,9%)	27 (14,0%)	17 (14,5%)	14 (13,7%)	
STin2 intron2 VNTR	10/10	60 (14,2%)	57 (13,7%)	25 (13,0%)	19 (16,2%)	13 (12,7%)	$\chi^2= 1,18$ df= 6 p= 0,978
	10/12	197 (46,8%)	196 (47,0%)	90 (46,6%)	51 (43,6%)	50 (49,0%)	
	12/12	164 (39,0%)	164 (39,3%)	78 (40,4%)	47 (40,2%)	39 (38,3%)	

Nyilatkozatok

4. melléklet

Közzétételi elengedezés

Alulírott Dr. Nemoda Zsófia..... Igazolom, hogy

Hantos-Horváth Erzsébet Zsófia (a hallgató neve)

A monoamin transporter gének asszociációs elemzése
gyermekpáncsiátriai zavarok esetében
című diplomamunkát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2020 április 16......

Dr. Nemoda Zsófia.....

a témavezető neve és aláírása

Semmelweis Egyetem

Orvosi Vegytani, Mol. Biol. és Patobiofiziológiai
Intézet

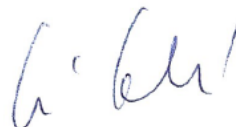
tanszék

Alulírott Dr. Szabó Krisztián Igazolom, hogy **Hantos-Horváth Erzsébet Zsófia**

„A monoamin transzporter gének asszociáció elemzése gyermekpszichiátriai zavarok körében”

című diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Győr, 2020. április. 23.



Dr. Szabó Krisztián

ÁTE Ökológiai Tanszék