dc_1935_21

MTA Doktori Értekezés

Az endokannabinoid rendszer szerepe a pszichés zavarokban: molekuláris biológiai és klinikai vizsgálatok

Dr. Lazáry Judit

Országos Mentális, Ideggyógyászati és Idegsebészeti Intézet

Budapest

2021

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke		4
Előszó		6
1.	**Bevezetés**	8
1.1.	Az endokannbinoid rendszer felépítése, működése	8
1.2.	Az eCB jelátviteli mechanizmus	9
1.3.	Az eCB szerepe a stresszválasz szabályozásában	10
1.4.	Genetikai asszociációs vizsgálatok az eCB rendszerrel összefüggésben	11
1.5.	Az eCB rendszer pszichofarmakológiai vonatkozásai	12
1.6.	A depresszió előfordulása, népegészségügyi jelentősége és biológiai háttere	13
1.7.	A depresszió klasszikus és új típusú kezelési lehetőségei	16
1.8.	A kannabisz, mint az öngyógyítás egyik eszköze	19
1.8.1.	A kannabisz indukálta szkizofréniapsektrumzavar	21
2.	**Célkitűzések**	23
3.	**Módszerek**	26
3.1.	Vizsgálati alanyok	26
3.1.1.	A genetikai asszociációs vizsgálatok alanyai	26
3.1.2.	Az rTMS kezelés alanyai	26
3.2.	Fenotípus kérdőívek	27
3.2.1.	A genetikai asszociációs vizsgálatban alkalmazott kérdőívek	27
3.2.2.	Az rTMS kezeléssel kapcsolatos vizsgálatban alkalmazott kérdőívek	30
3.3.	Genetikai vizsgáló módszerek	31
3.4.	A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálatának protokollja	34
3.5.	Az rTMS kezeléssel kapcsolatos vizsgálat protokollja	35
3.6.	A szérum endokannabinoidok szintjének mérése	36
3.7.	Statisztikai módszerek	37
3.7.1.	A genetikai asszociációs vizsgálatok statisztikai módszerei	37
3.7.2.	A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavarral kapcsolatos vizsgálat statisztikai módszerei	37
3.7.3.	Az rTMS kezeléssel kapcsolatos vizsgálatban alkalmazott statisztikai módszerek	37
4.	**Eredmények**	39
4.1.	A genetikai asszociációs vizsgálatok eredményei	39
4.1.1.	A CB1 receptor gén (CNR1) és a szorongás asszociációs vizsgálata	39
4.1.2.	A FAAH C385 és gyermekkori trauma interakciós hatása a depressziós és szorongásos tünetekre	41
4.1.3.	A CNR2 R63Q SNP és a gyermekkori trauma hatásának vizsgálata szorongással összefüggésben	44
4.1.4.	Az eCB jelátviteli útvonal genetikai markereinek vizsgálata	48
4.1.5.	A KCNJ6 és CREB1 gének hatásának vizsgálata ruminációval összefüggésben	52
4.2.	**Klinikai vizsgálatok**	55
4.2.1.	A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálata	55
4.2.2.	A perifériás endokannabinoid szint mérése terápia rezisztens depresszióban szenvedő	59

	betegek rTMS kezelés hatásával összefüggésben	
5.	**Megbeszélés**	67
5.1.	A CB1R promóter variánsainak hatása és a szorongásos fenotípus variancája közötti kapcsolat	67
5.2.	A FAAH gén és a gyermekkori trauma interakciós hatása az affektív tünetekre	69
5.3.	A CB2 receptor gén és gyermekkori trauma interakciós hatása az affektív fenotípusra	73
5.4.	Az eCB jelátviteli útvonal genetikai asszociációs vizsgálat eredményei	76
5.5.	A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálatának eredményei	79
5.6.	Az rTMS kezelés hatása a perifériális eCB koncentráció változására és a depressziós tünetekre terápia rezisztens depresszióban	81
5.7.	A genetikai asszociációs és a klinikai vizsgálatok eredményeinek értelmezése terápiás hasznosíthatóság szempontjából	84
6.	**Összefoglalás, konklúzió**	86
7.	**Új megállapítások**	87
8.	**Köszönetnyílvánítás**	88
9.	**Az értekezés alapjául szolgáló publikációk listája**	90
10.	**Tudománymetriai táblázat**	92
11.	**Irodalomjegyzék**	93

Rövidítések jegyzéke

2-AG	2-arachinoidoil-glicerol
5-HT	szerotonin
5-HTT	szerotonin transzporter
5-HTTLPR	szerotonin transzporter polimorf régiója
ACC	anterior cingulate cortex
AEA	anandamide
ANOVA	analysis of variance
BAI	Beck Anxiety Inventory
BDI	Beck Depression Inventory
BDNF	brain-Derived Neurotrophic Factor
BSI	Brief Symptom Inventory
cAMP	cyclic adenosine monophosphate
CB1R	1-es típusú kannabinoid receptor
CB2R	2-es típusú kannabinoid receptor
CBD	kannabidiol
CGI-I	clinical global impression-improvement
CGI-S	clinical global impression-severity
CHA	gyermekkori traumák száma
CHQ	Childhood Adversity Questionnaire
CMP	cannabis for medical purpose
$Cnbs_0$	kannabiszt nem használó betegcsoport
$Cnbs_1$	kannabiszt használó betegcsoport
CREB	cAMP kapcsolt régióhoz kötött fehérje
DALY	disability-adjusted life year
DBS	deep brain stimulation
DNS	Dezoxiribonukleinsav
DLPFC	dorsolateral prefrontal cortex
DSM	Diagnostic and statistical manual of mental disorders
eCB	endokannabinoid
ECT	electroconvulsive therapy
FAAH	fatty acid amid hydrolase
fMRI	functional Magnetic Resonance Imaging
GABA	gamma aminobutyric acid
GxE	gén-környezet interakció
GxG	gén-gén interakció
GxGxE	gén-gén-környezet interakció
GIRK	G-protein gated inwardly rectifying K+ channel
GLM	Generalized Linear Model
GPCR	G-protein-coupled receptor
GWAS	genome-wide association study
HA	Harm Avoidance
HPA	hypothalamic-pituitary-adrenal axis
HPLC	High-performance liquid chromatography
ISI	Insomnia Severity Index
KCNJ6	subunit 6 of J family of inwardly rectifying K+ channel gene

KCNJ3	subunit 3 of J family of inwardly rectifying K+ channel gene
LTCC	feszültségfüggő kálcium csatorna
MAGL	monoacilglicerol lipáz
MADRS	Montgomery-Asberg Depression Rating Scale
MAF	minor allele frequency
MAPK	mitogén-akitvált protein kináz
MDD	major depressive disorder
mOFC	medial orbitofrontal cortex
NEA	N-aciletanolamin
NEO-PI-R	NEO Personality Inventory
NS	Novelty Seeking
OR	odds ratio
RD	Reward Dependency
RRS	Ruminative Response Scale
RSQ	Response Style Questionnaire
SCID-II	Structured clinical interview for DSM-V Axis II disorders
SCL-90-R	Symptom Checklist-90-Revised
SCWT	Stroop Color-Word Test
SHAPS	Snaith-Hamilton Pleasure Scale
SNP	single nucleotide polymorphism
SNRI	selective norepinephrine reuptake inhibitor
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor
STAI	State-Trait Anxiety Inventory
STAI-S	állapot szorongás alskála
STAI-T	vonás szorongás
TCA	tricyclic antidepressant
THC	Δ-9-tetra-hidrokannabinol
TMS	transzkraniális mágneses stimuláció
TMT-A	Trail making test-A
TMT-B	Trail making test-B
TPQ	Tridimensional Personality Questionnaire
VNS	vagus nerve stimulation
WHO	World Health Organization
ZSDS	Zung Self-Rating Depression Scale

Előszó

Az orvostudomány sikeresen dolgozott ki hatékony gyógymódot számos betegség kezelésére és ennek köszönhetően a várható élettartam jelentősen nőtt. A nyugati társadalmak jelentős fejlesztéseinek az egészségi állapotra gyakorolt pozitív hatásai mellett negatív következményei is lettek a táplálkozás túlzásba vitelével, az alvási mintázat megváltozásával és a pszichológiai stressz emelkedésével, amelyek növelik az obezitás, a diabetes mellitus, a szorongás és a depresszió kockázatát (Hillard, 2018). Jelentős preklinikai adatok bizonyítják, hogy a felsorolt kórállapotok, tünetek mindegyikében meghatározó szerepet játszik az endokannabinoid (eCB) rendszer. Nem meglepő tehát, hogy az eCB rendszerrel foglalkozó vizsgálatok a main stream kutatások közé tartoznak. Ugyanakkor az eCB rendszerrel kapcsolatos ismereteink meglehetősen ellentmondóak és a terápiás célú alkalmazása már-már bizarrnak ható utat jár be. Elég csak azt említeni, hogy az eCB rendszeren ható kannabiszt, amely rekreációs drogként volt jelen sokáig a modern társadalmak többségében és amellyel kapcsolatban felmerült, hogy emeli a szkizofrénia kockázatát, napjainkban egyre több országban legalizálják. További meglepő fejlemény volt, hogy az eCB rendszerre ható molekula anxiolítikumként való gyógyszeripari fejlesztése halált okozó szövődmény miatt leállt. A 2010-es évek végére mégis kannabinoid (CBD) tartalmú gyógyhatású készítmények árasztották el világszerte a herbáriákat szorongás, depresszió és alvászavar enyhítésének ígéretével, mely hatásokat randomizált kettős-vak vizsgálatokban nem sikerült bizonyítani. A preklinikai, a klinikai és a naturalisztikus beszámolók merőben eltérnek továbbra is, de az eCB jelentőségéből ez mit sem von le, sőt, izgalmas és ígéretes terület a központi idegrendszeri vizsgálatok szempontjából. Kutatásaink során arra kerestük a választ, hogy az eCB rendszer genetikai variánsai és a korai traumatikus életesemények hogyan határozzák meg az affektív fenotípust, valamint agyi stimuláció hatása befolyásolja-e a perifériás eCB szintet depressziós betegekben.

Az első vizsgálatsorozatban a depresszióra való hajlam és az eCB rendszer genetikai variánsainak összefüggéseinek elemzését tűztem ki célul. Az Európai Unió 6. keretprogram támogatásával a NewMood projekt keretében átlagos populációs mintában, több, mint 2000 önkéntes résztvevő komplex fenotípus- és genetikai adatait elemeztük az eCB rendszerrel összefüggésben. Ebben a vizsgálatsorozatban egyrészt kandidáns génpolimorfizmusokat vizsgáltunk gyermekkori traumákkal interakcióban a depressziós és szorongásos fenotípus varianciájával összefüggésben, másrészt egy második méréssel a teljes genom vizsgálatán keresztül az endokannabinoid jelátviteli útvonal komplex genetikai analízisét végeztük el. Utóbbit az MTA Bolyai János kutatói ösztöndíj program támogatásával tudtam megvalósítani.

Egy további, vezető kutatóként irányított és szervezett vizsgálatsorozatunkban perifériás endokannabinoidok szintjének változását mértük transzkraniális mágneses

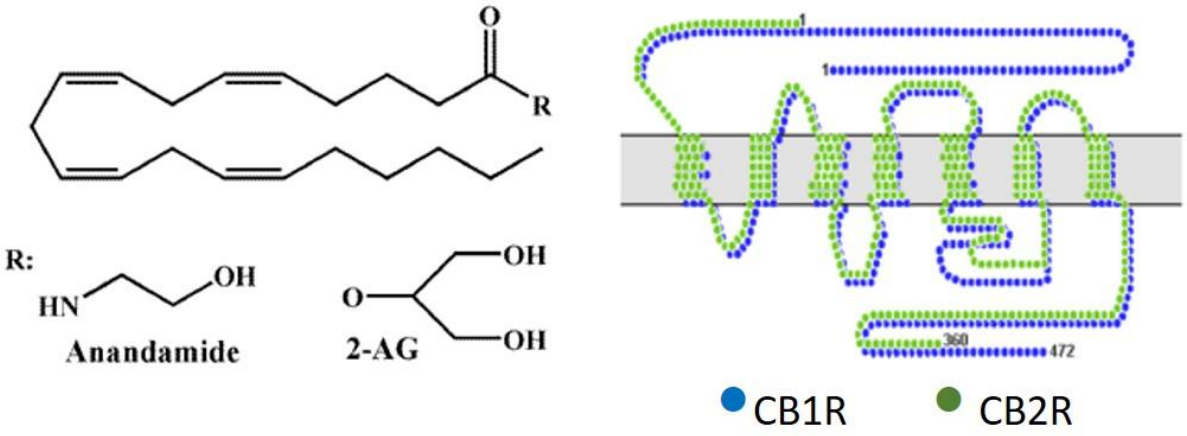
stimulációs (TMS) kezelés hatásával összefüggésben, melyet az NKFIH FK OTKA pályázati forrásából valósítottuk meg. A vizsgálatban Magyarországon rutin klinikumban még nem elérhető, az USA-ban és egyes európai országban azonban már alkalmazott módszer, a TMS kezelés hatását elemeztük komplex fenotípus és biomarker mérés segítségével terápia rezisztens depresszióban szenvedő betegek körében. Kutatásunk során a perifériás vérben mértük az endokannabinoidok szintjének változását és az ezekkel kapcsolatos eredményeket munkacsoportunk publikálta elsőként a nemzetközi szakirodalomban. Emellett a kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálatát végeztük kannabiszt használó és nem használó betegek összehasonlításával.

1. Bevezetés

1.1. Az endokannabinoid rendszer felépítése, működése

Az endokannabinoid (eCB) rendszer receptorokból (1-es típusú kannabinoid receptor, CB1R; és 2-es típusú kannabinoid receptor, CBR2), a receptorok ligandjaiból, azaz az endokannabinoidokból (2-arachinoidoil-glicerol, 2-AG; anandamide, AEA; N-aciletanolamin, NEA), transzporterekből, szintetizáló és lebontó enzimekből (zsírsavamid hidroláz, fatty acid amid hydrolase, FAAH; monoacilglicerol lipáz, MAGL) áll (1. ábra). A CB1R nagy számban expresszálódik az emberi agy kortikolimbikus régióiban, beleértve a mediális prefrontális kortexet, a hippokampuszt és a basolaterális amigdalát, melyek a szorongás pathomechanizmusában fontos szerepet játszanak (Mackie, 2005). A CB2R funkcióját elsőként a perifériális immunrendszerhez kapcsolták, később azonban kimutatták, hogy az agyi neurohormonális centrumokban, amelyek részt vesznek az emócionális válasz és a stresszre adott válasz kialakításában, szintén expresszálódik (Onaivi *et al.*, 2006; Malfitano *et al.*, 2014; Morena *et al.*, 2016). A CB1R és CB2R fő ligandjai a 2-AG és az AEA és a receptor aktiválódása esetén inhibitoros hatást gyakorol a preszinaptikus neuron neurotranszmitter (elsősorban a GABA és a glutamát) felszabadulására. Az AEA lebontásáért a zsírsavamid hidroláz (fatty acid amide hydrolase, FAAH) felel, amelynek aktivitása meghatározó az AEA koncentráció szabályozásában.

1.ábra Az endokannabinoidok (anandamid, AEA és 2-arahidonoil-glicerol, 2-AG), valamint a kannabinoid receptorok (CB1R és CB2R) kémiai szerkezete



Doyle és mstai (2011) és Di Marzo (2010) nyomán

Az agyban a CB1 receptor preszinaptikusan helyezkedik el és lokális retrográd modulátorként vesz részt idegélettani folyamatokban, valamint a szinaptikus plaszticitás diverzitásának kialakításában elsősorban olyan agyterületeken, amelyek a kognitív funkciók, memória és a hangulat szabályozásában vesznek részt (Ohno-Shosaku *et al.*, 2001; Wilson & Nicoll, 2001; Kreitzer & Regehr, 2002; Piomelli, 2003). A CB1R aktiválása során elsősorban a GABA és glutamát felszabadulását gátolja (Freund *et al.*, 2003). Az eCB rendszer neuroprotektív funkciója is felmerült, mivel megvédi az idegsejteket az állandó aktivitástól, ami következményes excitotoxicitáshoz vezetne (Chevaleyre *et al.*, 2006; Marsicano & Lutz, 2006). Az eCB rendszer különböző, további neurotranszmitter rendszerekkel való kapcsolatát számos munkacsoport vizsgálta. Nakazi és mtsai (2000) adatai azt mutatták, hogy a CB1R aktivációja gátolja a szerotonin (5-HT) felszabadulását egér agyban (Nakazi *et al.*, 2000). Két másik munkacsoport CB1R szelektív antagonistával kezelt egereket és megnövekedett 5-HT, dopamin és noradrenalin effluxot, valamint metabolitot mértek a prefrontális kéregben (Darmani *et al.*, 2003; Tzavara *et al.*, 2003). Mato és mtsai CB1 knockout egereket vizsgálva azt találták, hogy a CB1R-ok fontos szerepet játszanak a szerotonerg rendszer szabályozásában (Mato *et al.*, 2007). A legújabb adatok szerint CB1R-ok mutathatók ki a raphe magok szerotonerg sejtjeiben, ami tovább erősítette azt a feltételezést, mely szerint a szerotonerg és az endokannabinoid rendszer direkt kapcsolatban áll egymással és együttesen vesznek részt az érzelmi élet szabályozásában (Haring *et al.*, 2007). További eredmények szintén a két rendszer kapcsolatát bizonyítják (Hermann *et al.*, 2002; Gobbi *et al.*, 2005), azonban erre vonatkozó humán adatok nem állnak rendelkezésre az irodalomban.

Az eddigi ismereteink szerint a kannabinoid receptorok és azok endogén lignadjai egy összefüggő rendszert alkotva (endokannabinoid rendszer) számos ponton vesznek részt a központi idegrendszer magatartást szervező folyamataiban, úgy mint a lokomotoros aktivitásban (Dewey, 1986), nocicepcióban (Lichtman & Martin, 1991; Calignano *et al.*, 1998; Ledent *et al.*, 1999) a tanulásban, a memóriában, a táplálékfelvételben, az addikcíós mechanizmusokban (Martin *et al.*, 2000), valamint érzelmi élet szabályozásában (Martin *et al.*, 2002).

1.2. Az eCB jelátviteli mechanizmus

A CB1R és a CB2R G-protein kapcsolt receptorok (G-protein-coupled receptor, GPCR). A CB1R a központi idegrendszerben a legnagyobb számban expresszálódó GPCR, elsősorban a koretxben, a bazális magvakban, a hippokampuszban, valamint a cerebellum területén. A ligand bekötődésének hatására a CB1R/CB2R jellemzően a G_i fehérjékhez kapcsolódik, majd attól függően, hogy milyen altípusú a G-fehérje, különböző kaszkádok aktiválódnak. A Gαi aktivációja az adenil cikláz gátlását eredményezi, melynek következtében a cAMP expresszió csökken, vagy a mitogén-akitvált protein kináz (MAPK) aktivációján kereztül különböző gének expressziója változik meg. A CB1R szignalizációban a β-arresztin is részt vesz, amely nem csak a receptor deszenzitizációjáért és internalizációjáért felel, de triggereli az extracellular signal-regulated kinase (ERK) útvonalat is. A β-arresztin-2 szerepét a CB2R szignalizációban szintén

vizsgálják. A CB1R G_s és G_q proteinnel való kapcsolódását bizonyos körülmények között, úgy mint patkány agy striatalis neuron vonalon és WIN 55,212-2-vel kezelt egerek hippokampuszában, szintén kimutatták (Li *et al.*, 2020).

Habár a CB1R és a CB2R szekvenciája 44%-ban egyezik, funkcióbeli különbségüket jól jellemzi, hogy a két receptor teljesen szelektív antagonistáit sikerült szintetizálni, ugyanakkor az agonista készítmények eltérő affinitással ugyan, de mind a CB1R, mind a CB2R recptorokhoz kötődnek (Li *et al.*, 2020). A különböző agonisták és antagonisták összefoglalását az 1. táblázat mutatja be.

1.táblázat A CB1R és a CB2R szintetikus agonistái és antagonistái

Receptor	Ligand	Szignál protein	hatás
CB1R	AM6538	-	inaktivál
	Taranabant	-	inaktívál
	AM841	-	Aktvál
	CP55940	-	aktivál
	ORG27569	-	aktivál
	AM11542	-	aktivál
	FUB	G_i	aktivál
	AMB841	G_i	aktivál
CB2R	AM10257	-	inaktivál
	AM12033	G_i	aktivál
	WIN55, 212-2	G_i	aktivál

Li és mtsai (2020) nyomán (Li *et al.*, 2020)

1.3. Az eCB rendszer szerepe a stresszválasz szabályozásában

Az eCB rendszer molekuláris szinten meghatározó szerepet játszik a stressz válasz szabályozásában, különösen a stressz által kiváltott HPA tengely aktivációjának nyugalmi helyzetre történő visszaállításában, azaz a túlműködés kivédésében.

Nyugalmi helyzetben a konstitutív AEA hatás eredményeként a HPA tengely állandó gátlás alatt van. Akut stressz hatás esetén első lépéseként a FAAH aktivitásának megnövekedése következtében csökken az AEA koncentráció az amigdala és a prefrontalis kortex területén, melynek köszönhetően a HPA rendszer aktiválódása szabad utat kap és kortizol szabadul fel (Hill *et al.*, 2009a; McLaughlin *et al.*, 2014). Ezután a gyors stressz-válasz után, az eCB rendszer, ezen belül is a 2-AG játszik főszerepet a HPA tengely nyugalmi helyzetbe történő visszarendeződésben a negatív feedback mechanizmuson keresztül, melyet a hippokampuszban és a prefrontális kortexben található glukokortikoid receptor aktiválódása indít el (Wang *et al.*, 2012). Krónikus stressz esetén az állatkísérletes adatok arra utalnak, hogy a tartósan aktivált FAAH működés közrejátszik a perzisztáló csökkent AEA koncentrációhoz, amely fokozott szorongás fenntartásával jár együtt. Ezzel összhangban, a basolaterális amigdala izgalmát fokozza a CB1R antagonizmus, amely a HPA tengely túlaktivációján keresztül szorongást provokál állatmodellben (Patel *et al.*, 2005; Newsom *et*

al., 2012; Meye *et al.*, 2013). További konzekvens eredmény arra utal, hogy a FAAH enzim farmakológiai gátlása az AEA koncentráció emelésével anxiolítikus hatást eredményez (Haller *et al.*, 2009; Hill *et al.*, 2009a), ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy ez a hatás bizonyos agyi régiókhoz és a stressz hatás típusához kötötten érvényes (Haller *et al.*, 2009).

A stressz válasz szabályozásában újabb adatok szerint a CB2R szintén részt vesz. A jól ismert gyulladásos mechanizmusok és a stresszválasz közötti kapcsolat miatt a CB2R szerepe a szorongásban korábban is felmerült, de különösen nagy figyelmet kapott, miután kimutatták a CB2R-t hippokampalis piramissejteken és interneuronokon (Gong *et al.*, 2006; Onaivi *et al.*, 2006; Brusco *et al.*, 2008). Experimentális vizsgálatokban bizonytíották, hogy a CB2R krónikus aktiválása növeli a hippokampusz excitátoros szinaptikus transzmisszióját (Kim & Li, 2015), továbbá, mind a mikrogliális, mind a neuronális CB2R fontos szerepet játszik a hippokampsz kontextuális félelmi memória mechanizmusában (Li & Kim, 2016). CB2R agonista adása anxiolítikus és antidepresszív hatást vált ki állatkísérletes körülmények között, míg előzetesen antagonistával kezelt állaton eliminálható ez a farmakológiai hatás (Bahi *et al.*, 2014). Emellett eCB agonista upregulálja és megnöveli a prefrontális kortex szerotonin 2A receptor aktivitását (amely az antidepresszívumok hatásának közvetítésében kulcsszerepet játszik), amely hatás bizonyítottan a CB2R-hoz köthető (Franklin & Carrasco, 2013b; a). A génexpressziós vizsgálatok megerősítették, hogy korai sterssz esetén minden eCB gén expressziója indukálódik, sőt, a szorongásos viselkedés kifejezetten a hippokampalis CB2R gén fokozott expressziójával jár együtt (Robertson *et al.*, 2017). Ishiguro és mtsai (2018) arról számoltak be, hogy a CB2R gén stresszel interakcióban emeli a depresszió kockázatát egerekben és a CB2R-t potenciális farmakológiai targetként említették (Ishiguro *et al.*, 2018).

1.4. Genetikai asszociációs vizsgálatok az eCB rendszerrel összefüggésben

Tekintettel arra, hogy az AEA szint a FAAH enzim aktivitásától függ, a FAAH gén funkcionális polimorfizmusa jelentős szerepet játszhat az affektív zavarok kialakulásában az eCB szignál regulációs mechanizmusának befolyásolásán keresztül. A FAAH C385A polimorfizmus egy missense funkcionális polimorfizmus, amely szignifikáns hatással bír az enzim aktivitás szintjére. Egy humán T-limfociták vizsgálatot bemutató közlemény arról számolt be, hogy az AA genotípussal mintegy 50%-kal alacsonyabb enzimatikus aktivitás és magasabb AEA szint járt együtt, mint a homozigóta CC genotípussal (Chiang *et al.*, 2004). Annak ellenére, hogy néhány áttekintő tanulmány felvetette, hogy a FAAH C385A polimorfizmusnak komoly szerepe lehet bizonyos mentális zavarok kialakulásában (Hillard *et al.*, 2012; Gunduz-Cinar *et al.*, 2013a), meglepően kevés humán genetikai asszociációs vizsgálat született a témában.

Néhány humán fMRI vizsgálatban a FAAH C385A jelentős hatását bizonyították az emocionális-motivációs válaszokkal összefüggésben. Hariri és mtsai azt találták, hogy az A allél hordozása csökkent amigdala aktivitással járt együtt félelmet és dühöt kifejező arcok

látványa során, míg a ventrális striatalis aktivitás emelkedését figyelték meg kockázatvállalási tesztnél, ami alapján inkább az impulzivitással hozták összefüggésbe a molekuláris különbséget és kevésbé a szorongással (Hariri *et al.*, 2009). Egy másik fMRI vizsgálatban a CC genotípus hordozók erőteljesebb emócionális választ produkáltak boldogtalanságot kifejező képekre, ugyanakkor boldogságot kifejező képekre csökkent emócionális aktivitást detektáltak (Conzelmann *et al.*, 2012; Gunduz-Cinar *et al.*, 2013b). Ami a humán genetikai vizsgálatokat illeti, a szorongással, vagy depresszióval összefüggő kutatások a FAAH C385A polimorfizmus tekintetében, nagyon kevés adat áll rendelkezésre a szakirodalomban. Monteleone és mtsai (2010) arról számolt be, hogy az A allél gyakoribb volt a bipoláris zavarban és a major depresszióban szenvedő pácienseknél, mint az egészséges kontroll személyek esetén (Monteleone *et al.*, 2010a), ugyanakkor egy korábbi vizsgálat nem talált szignfikáns különbséget egyetlen pszichiátriai zavar esetén sem a genotípus eloszlás vonatkozásában (Sipe *et al.*, 2002).

A CB2R gén (CNR2) 2. exonjában elhelyezkedő R63Q polimorfizmus összefüggést mutat a receptor funkciójával, ezért funkcionális SNP-nek tekinthető. Ishiguro és mtsai összefüggést találtak a szkizofrénia és az R63Q között és az alkoholizmus és más CNR2 gén polimorfizmus között (Ishiguro et al. 2010). A homozigóta RR genotíous hordozása gyakoribb volt depresszióban szenvedő pácienseknél, mint a Q allél (Onaivi *et al.*, 2008a; Onaivi *et al.*, 2008b). Egy másik CNR2 gén polimorfizmus a bipoláris zavarral mutatott együttjárást (Minocci *et al.*, 2011).

A funkcionális kandidáns gén polimorfizmus kutatások mellett a genetikai vizsgálatok metodikai fejlődésének köszönhetően egyre szélesebb eszköztár áll rendelkezésre komplexebb elemzések megvalósítására. Tekintettel arra, hogy az affektív vulnerábilitás poligénes, multifaktoriális pathomechanizmussal alakul ki és az eCB rendszer több eleme is szignifikáns összefüggést mutatott a szorongással, célkitűzéseink között szerepelt az eCB jelátviteli útvonal komplex genetikai elemzése is szintén stressz hatással interakcióban.
Saját vizsgálatainkban a FAAH C385A és a CNR2 R63Q funkcionális SNP-k, valamint az eCB jelátviteli útvonal, a gyermekkori trauma és az affektív fenotípus variábilitásának összefüggését tanulmányoztuk.

1.5. Az eCB rendszer pszichofarmakológiai vonatkozásai

Az endokannabnoid rendszer pszichofarmakológiai vonatkozásai meglehetősen összetettek. Míg az exogén úton bejuttatott THC alkalmazása több ezer évre nyúlik vissza és szorongásoldó, hangulatjavító, illetve fájdalomcsillapító hatása miatt élvezeti/kábítószerként világszerte használják tömegesen, a központi idegrendszerben található specifikus jelközvetítő endokannabinoid (eCB) rendszert csak néhány évtizede fedezték fel. Annak ellenére azonban, hogy kézenfekvő fejlesztési iránynak tűnik az eCB rendszeren keresztül ható gyógyszer szintézise, a próbálkozások ezzel kapcsolatban több alkalommal is megbuktak. Először a szelektív antagonisták kerültek fókuszba drog addikció, metabolikus

zavar és obezitás elleni terápiás szerként. A rimonabant (SR141716A) az első CB1 antagonista/inverz agonista fogyasztószerként került piacra. Azonban súlyos pszichiátriai mellékhatások (öngyilkossági rizikó fokozása) miatt 2008-ban az FDA jelentése alapján a piacokról visszavonták és leállították további antagonista vegyületek (taranabant, otenobant, ibinabant és surinabant) fejlesztését is (Le Foll *et al.*, 2009). Ezt követően a szintén az eCB rendszeren keresztül ható FAAH inhibitor (BIA 10-2474) anxiolítikumként került kifejlesztésre, amelynek humán klinikai fázisában a vizsgálati alanyok súlyos agyi károsodása és az egyik alany halála miatt a vizsgálatokat le kellett állítani 2016-ban. A tragédia hátterében az ún. off-target hatásokat feltételezik, azaz olyan mechanizmusok aktivizálódását, melyek a hatóanyag eredeti célpontján kívüli egyéb, más célpontokkal történő interakciókon alapul. Az események után az eCB-t, mint fejlesztési targetet a gyógyszeripar CNS pipelinejaiból kivonták (Mallet *et al.*, 2016).

Az eCB rendszert célzó fejlesztések más területeken viszont továbbra is ígéretes. Mivel a CB1R és CB2R expresszálódik perifériális szövetekben is, szelektíven a periférián ható szerek (amelyek az agyban nem fejtik ki hatásukat) biztonságosan alkalmazhatók. Ilyen például a máj fibrózis, melynek kezelése kapcsán a CB1R terápiás hatását lehet hasznosítani a CNS mellékhatások nélkül (Li *et al.*, 2020).

1.6. A depresszió előfordulása, népegészségügyi jelentősége és biológiai háttere

A depresszió tartós hangulati nyomottsággal, negatív érzelmi és kognitív tünetekkel járó mentális zavar, mely a testi,- lelki,- szellemi és szociális egészség károsodásához vezet és a rutin napi tevékenység elvégzését akadályozza. A tünetek súlyossága alapján megkülönböztetünk enyhe (minor) és klinikai súlyosságú (major) depressziót, valamint a lefolyás alapján egyszeri major depressziós epizódot és rekurrens (krónikus) formát. A korábbi klasszifikációs rendszerek a depressziós zavarokon belül különítették el az ún. unipoláris és bipoláris depresszív zavarokat, azonban az Amerikai Pszichiátriai Társaság által kiadott Mentális Zavarok Diagnosztikai és Statisztikai kézikönyve, a Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) 5. verziójában már külön önálló főkategóriát képeznek a Depresszív zavarok és a Bipoláris zavarok tekintettel a biológiai evidenciák által bizonyított eltérő patomechanizmusra, klinikumra, prognózisra és kezelési protokollra (Association, 2013).

A depresszió egyre növekvő élettartam prevalenciája miatt a fejlett országokban a leggyakoribb mentális betegségek közé sorolható világ szerte. A WHO adatai szerint a depresszió a 3. leggyakoribb oka az egészségkárosodással leélt éveknek (Years lived with disability, YLD). A WHO prognózisa szerint 2030-ra az egészségkárosodással korrigált életévek (DALY) legfőbb oka a depresszió lesz (Moller *et al.*, 2012). Magyarországon a nemzetközi adatokkal egyezően a depresszió élettartam, 1 éves és 1 hónapos prevalenciája 15,1%, 7,1% és 2,6% (Szadoczky *et al.*, 2000). Hazánkban tehát minden hónapban közel 200 000 major depressziós beteggel kell számolni, akik közül csak 40-45% áll aktuálisan

orvosi kezelés alatt. A depresszió gyakran ismétlődő (rekurrens) vagy krónikus lefolyást mutat és a rekurrens formában egyre hosszabb és egyre súlyosabb epizódok jelentkeznek.
A kezeletlen depresszióban szenvedő betegek 5-10%-a öngyilkosság következtében hal meg és több, mint egyharmaduk kísérel meg öngyilkosságot élete folyamán (Rihmer, 2007). Magyarországon a befejezett öngyilkosságok száma az elmúlt 20 évben jelentősen csökkent, az utóbbi 10 évben 32,6-ról 15,9-ra csökkent a 100 ezer lakosra vetített érték, azaz 51,4%-kal csökkent a szuicid ráta. Azonban még ezzel a javult értékkel is hazánkban detektálható az egyik legmagasabb öngyilkossági arány az EU-n belül (Németh, 2021).

A depresszió leggyakoribb tünete a szorongás, illetve a szorongásra való hajlam fokozza a depresszió kialakulásának esélyét. Emellett a szorongásos zavarok (úm. generalizált szorongásos zavar, pánik zavar, szociális szorongás zavar, agorafóbia, kényszerzavarok stb.) leggyakoribb társuló tünete depresszió. A depresszív és szorongásos zavarok között tehát jelentős tüneti átfedés és komorbiditás áll fenn. A patomechanizmust meghatározó neurobiológiai eltérésekben és a pszichofarmakológiai kezelést illetően szintén átfedés van. Ezek miatt a tényezők miatt a depresszióra és a szorongásra való hajlamot együttesen affektív vulnerábilitásnak nevezzük és együttes molekuláris biológiai vizsgálatuk indokolt.

A depresszió patomechanizmusát genetikai és környezeti hatások együttese határozza meg, azaz multifaktoriális kórkép. Azoknak a különböző agyi biológiai rendszereknek alapján, melyek változásait kimutatták a depresszióban szenvedő páciensekben, számos elmélet született. Ilyen a monoaminerg hipotézis, stressz hipotézis, a citokin hipotézis, a neuroinflammációs és neuroplaszticitás hipotézis, a GABA-glutamát hipotézis, a cirkadián hipotézis és a kolinerg-monoaminerg interakció hipotézis.

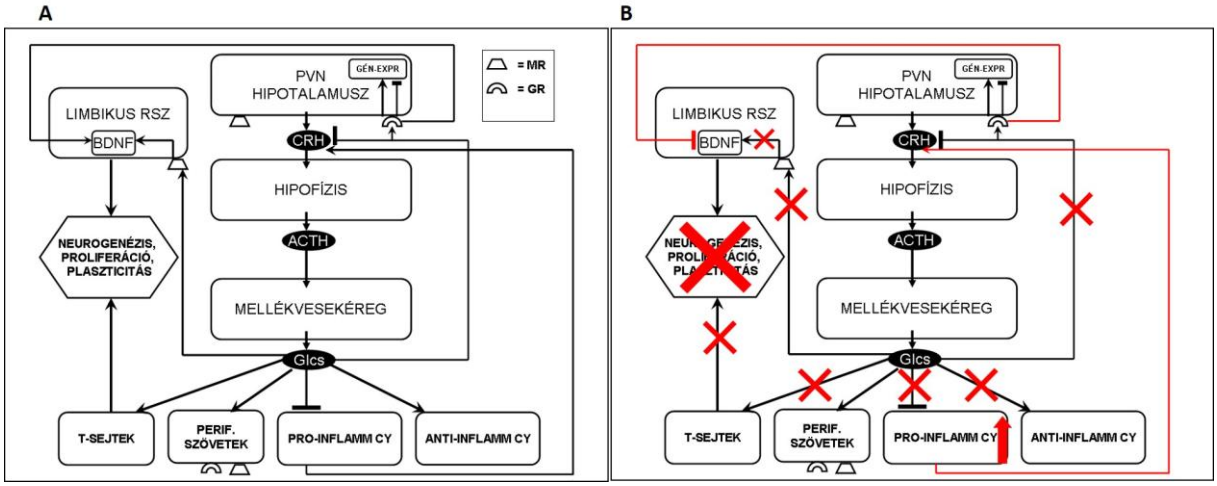
A környezetei hatások közül a stresszt vizsgálták leggyakrabban a depresszióval összefüggésben. A stressz szerepe az affektív zavarok kialakulásában régóta ismert, a háttérben álló molekuláris mechanizmusok intenzív kutatások tárgya. Számos bizonyíték támasztja alá, hogy a gyermekkori trauma kóros molekuláris és strukturális változásokat idéz elő a fejlődő központi idegrendszerben, úgy mint HPA túlműködés, hyperaktivált immunrendszer és csökkent hippokampális volumen, mely elváltozások a szorongásos és depressziós zavarokban szintén megjelennek (Heim *et al.*, 2008; Frodl & O'Keane, 2013). Továbbá egyes epigenetikai vizsgálatok a glukokortikoid receptor gén, valamint a BDNF gén promoter régiójának hipermetilációját erősítették meg olyan öngyilkosság következtében elhunyt személyek DNS vizsgálata során, akiknél gyermekkori trauma szerepelt az anamnézisében (McGowan *et al.*, 2009; Keller *et al.*, 2010). Ezek az adatok mind arra utalnak, hogy a gyermekkori trauma életre szóló diszregulációs hatással bírnak a HPA tengely működésére, amely a stressz válasz szabályozásának központi eleme.

A genetikai vizsgálatok eredményei alapján ma már tudjuk, hogy az affektív vulnerábilitást számos, egyenként kis hatású genetikai variáns összessége alakítja ki (poligén hatás) a patogén és a protektív hatások kiegyensúlyozatlansága révén. A genetikai hatások és a környezeti faktorok kölcsönhatását az ún. gén-környezet (GxE) interakciós modellel írta le először Caspi és mtsai a szerotonin transzporter gén promóterében elhelyezkedő 5-HTTLPR hosszúság polimorfizmusával és a stresszkeltő életeseményekkel kapcsolatban

(Caspi *et al.*, 2003). A modell korszakalkotó hatású volt, az összefüggés replikációja, a modell alapján fejlesztett további vizsgálatok új irányokat jelöltek ki a depesszió genetikai kutatásában. Az ismételt vizsgálatok alapján egyre egyértelműbbé vált, hogy egyetlen polimorfizmus hatása nem rendelkezik elég magyarázó erővel, ezért multifaktoriális modellek kidolgozása felé mozdultak a kutatások. Saját vizsgálatunkkal az elsők között dolgoztunk ki egy modellt, melyben az 5-HTTLPR mellet egy további, a szerotonin transzporter génben elhelyezkedő polimorfizmus és a negatív életesemények hármas interakciójának szignifikáns hatását írtuk le (GxGxE) a depressziós fenotípussal összefüggésben és igazoltuk a hármas interakció erősebb hatását az egy polimorfizmushoz képest (Lazary *et al.*, 2008).

A depresszió diagnózisát jelenleg klinikai vizsgálattal és pszichodiagnosztikai módszerekkel állapítjuk meg, objektív, biológiai alapú eszköz nem áll rendelkezésre. A rutin klinikumban alkalmazható, specifikus és validált biomarkerek azonosítása intenzív kutatások tárgya, tekintettel arra, hogy mind a diagnózis, mind az állapot követése, mind pedig a kezelés megfelelő tervezése szempontjából áttörést jelentene a depresszió hatékony ellátása szempontjából (Lazary, 2018). A széleskörű vizsgálatok eredményei bíztatóak ugyan, de a klinikumban alkalmazható depresszióra specifikus biomarkert még nem sikerült identifikálni.

2.ábra A depresszió potenciális biomarkereinek szerepe a HPA tengely, a gyulladás és a neurogenézis szabályozó rendszereiben



A depresszió patomechanizmusában közreműködő neurobiológiai rendszerek egymásra hatása egészséges (A) és depressziós állapotban (B) (Lazary, 2018).

A rutin klinikumban a leggyorsabban, a beteg számára a legkisebb terheléssel járó és legolcsóbban alkalmazható eljárás a perifériás vérminta laboratóriumi vizsgálata, ezért a perifériás biomarkerek azonosítására intenzív kutatások irányulnak. Annak ellenére, hogy az agyban expresszálódott fehérjék a vér-agy-gáton nem tudnak átjutni, a központi idegrendszer és a perifériás rendszerek között olyan kommunikációs folyamatok mutathatók ki, melyek miatt a periférián mérhető változásokról egyértelműen igazolni lehetett, hogy tükrözik az agyi folyamatokat. A legjelentősebb eredmények a HPA tengely működéséhez, a

gyulladásos citokinekhez és a neurotrófikus faktorokhoz köthető biomarkerekkel közölték (Lazary, 2018; 2020) (2. ábra). Ugyanakkor specifikus, diagnosztikailag megbízható és validálható perifériás biomarkert még nem sikerült azonosítani (Lazary, 2020).

A perifériális szérum endokannabinoidokat, mint potenciális biomarkereket vizsgálta néhány munkacsoport. Hill és mtsai MDD-ben szenvedő nők szérum 2-AG koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt az egészséges kontroll személyekhez és a 2-AG koncentráció annál alacsonyabb volt, minél hosszabb volt a depressziós epizód. Az AEA szint nem különbözött szignifikánsan a beteg és egészséges csoport között, de negatív korrelációt mutatott a Hamilton Depresszió Skála kognitív és szomatikus szorongásos tételeinek pontszámával. A minor depressziós személyek vérmintájában az AEA szint szingifikánsan emelkedett volt (Hill *et al.*, 2008). Egy további vizsgálatban ugyanez a munkacsoport a szintén szignfikánsan alacsonyabb 2-AG és AEA szérum szintet mutató MDD-s betegek 2-AG szintje jelentősen megemelkedett Társas Stressz próbát követően, de a válasz nagysága egészséges kontrollokéhoz hasonló volt (Hill *et al.*, 2009b). Meyer és mtsai arról számoltak be 20 MDD-ben szenvedő betegek vizsgálata alapján, hogy 20 perc testmozgást követően a depressziós és szorongásos tünetek negatív korrelációt mutattak a szérum AEA éa 2-AG szinttel (Meyer *et al.*, 2019). Heyman és mtsai egészséges sportoló férfiak vérmintájából eCB és BDNF koncentráció mértek testmozgást követően és azt találták, hogy a testmozgás során a BDNF szint szignifikánsan megemelkedett, majd 15 perccel utána visszatért a nyugalmi szintre, míg az AEA szint szintén megemelkedett és 15 perc elteltével is emelkedett maradt, a 2-AG szint pedig végig változatlan maradt, melyből arra következtettek a szerzők, hogy a testmozgás antidepresszív hatásának közvetítésében az AEA-nak szerepe lehet (Heyman *et al.*, 2012). Annak ellenére, hogy állatkísérletes vizsgálatokkal igazolták az eCB rendszer szerepét az rTMS kezelés antidepresszív hatásának közvetítésében (Wang *et al.*, 2014; Fang & Wang, 2018; Xue *et al.*, 2019), az rTMS kezeléssel összefüggő perifériális eCB koncentráció méréséről a szakirodalomban nem szerepel humán vizsgálattal kapcsolatos adat.

1.7. A depresszió klasszikus és új típusú kezelési lehetőségei

A depressziós zavarok kezelésének legújabb (2021) irányelve az elsővonalbeli kezelések között a pszichoterápiát és az antidepresszívumok alkalmazása mellett új elemként az rTMS kezelést is javasolja (Kollégium, 2021). Tekintettel arra, hogy a pszichoterápia csak nagyon limitált mértékben érhető el a depresszív zavar miatt kezelésre szoruló páciensek nagytömegű számához képest, a farmakológiai terápia a legszélesebb körben alkalmazott kezelés mindenhol a világon. Az akut kezelés fázisában erős ajánlással rendelkeznek az antidepresszívumok között a szelektív szerotnin visszavétel gátlók (SSRI), a szelektív szerotonerg és noradrenerg visszavétel gátlók (SNRI), a mirtazapin, a mianszerin, a bupropion, az agomelatin és a vortioxetin. Gyenge ajánlással bírnak a triciklikis antidepresszívumok (TCA), a trazodon és a moklobemid (Kollégium, 2021).

A depresszió hatékony gyógyszeres kezelését számos kihívás nehezíti. Az egyik, hogy a betegek kb. 50%-a tekinthető reszpondernek (azaz az elsőként kiválasztott antidepresszívum

hatására javulnak a tünetek), ugyanakkor remissziót csak 30%-35%-ban (remitterek) lehet elérni (Nemeroff, 2007; Bauer *et al.*, 2017). A másik, hogy a betegek egy jelentős része a rendelkezésre álló gyógyszerek mellékhatásait nem tolerálják és még a terápiás hatás kifejlődése előtt elhagyják a gyógyszert, ezért a gyógyulás esélye csökken és a szövődmények kockázata jelentősen emelkedik, ami a depresszió krónicizálódását, az addikciós komorbiditást, a kardiovaszkuláris, valamint cerebrovaszkuláris betegségek és a szuicidum kockázatának emelkedését vonja maga után. Az új generációs gyógyszerekre ezért éppen a tolerálhatóbb mellékhatás jellemző, míg a terápiás hatásban a régi típusú, TCA-khoz képest jelentős változást nem sikerült elérni (Kollégium, 2021) .

Egy másik komplikáció az ún. tachyphylaxis jelensége, amikor a kezdetben hatékonynak bizonyuló antidepresszívum részlegesen, vagy teljesen elveszíti hatékonyságát. A tachyphylaxis az MDD-s betegek kb. 9-57%-ban figyelték meg (Rihmer *et al.*, 2016).

Mindezeknek a problémáknak a tükrében az utóbbi években jelentősen fellendült a neuromodulációs terápiás beavatkozások fejlesztése, mely technikák merőben eltérő mechanizmus útján fejtik ki antidepresszív hatásukat. Jelentős előrelépés, hogy míg más stimulációs intervenciók, mint a vágusz ingerlés (VNS), a mély agyi stimuláció (DBS) és az elektrokonvulzív terápia (ECT) csak harmadvonalbeli terápiás eszközként javasolt, az rTMS az elsővonalbeli kezelések között szerepel a legújabb magyar szakmai irányelvben (Kollégium, 2021).

A repetitív transzkraniális mágneses stimuláció (rTMS) hatékonyságát számtalan tanulmány igazolta major depresszióban, ennek megfelelően a világ számos vezető szakmai szervezete jóváhagyta alkalmazását ebben az indikációban (Elemery *et al.*, 2019; Faludi, 2021).

Barker és munkatársai (1985) tervezték meg az első, emberi agy ingerlésére alkalmas mágneses stimulátort (TMS). A klinikai alkalmazás ajánlásait a Nemzetközi Neurofiziológiai Szövetség 1994-ben foglalta össze és adta ki első alkalommal (Rossini *et al.*, 1994). Az Egyesült Államokban és Ausztráliában kivitelezett nagy, multicentrikus, randomizált, placebó-kontrollált vizsgálat megerősítette az rTMS antidepresszív hatékonyságát, így ezt követően az amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerfelügyelelet (FDA) 2008-ban jóváhagyta alkalmazását ebben az indikációban (O'Reardon *et al.*, 2007). Magyarországon az rTMS elsősorban neurológiai betegségek kezelésére érhető el, bár ebben az indikációban is csak korlátozottan. A depresszió és egyéb pszichiátriai betegségek kezelésének céljából a rutin klinikai eszköztárból az rTMS teljesen hiányzik annak ellenére, hogy az eljárás jelentőségére már korábban felhívták a figyelmet a hazai szakemberek (Morvai *et al.*, 2016; Elemery *et al.*, 2019).

A TMS kezelés célja a neurális hálózat stimulációja. Alapja a Faraday által leírt mágneses indukció jelensége, mely szerint az időben változó mágneses tér egy vezetőkörben elektromos feszültséget indukál.

Az eszköz tartalmaz egy nagy teljesítményű pulzusgenerátort, ami igen rövid idő (0.4 msec) alatt több ezer amperes áramerősséget vezet át a tekercsen 1.0-2.5 Tesla erősségű mágneses mezőt generálva ezáltal (Hallett, 2007). A létrejött mágneses tér erőssége megfelel az első generációs MRI készülékek által előállított mágneses térerőnek. Fontos különbség, hogy a TMS generálta mágneses mező fókuszált, azaz a tekercstől néhány cm-re már alig detektálható, illetve időben igen rövid életű ellentétben az MRI készülékekkel, ahol a mágneses tér egyáltalán nem fókuszált és időben folyamatosan jelen van (Milev *et al.*, 2016; Perera *et al.*, 2016; Brunoni *et al.*, 2019)

A bal oldali dorsolaterális prefrontális kortex (DLPFC) ingerlése fokozza a dopaminerg jelátvitelt mind a kortikális (ACC, mOFC) mind a szubkortikális (azonos oldali striátum) struktúrákban. Ezen kívül a magas frekvenciájú rTMS hatására növekszik a BDNF expresszió, illetve súlyos depresszióban alkalmazott sikeres magas frekvenciájú kezelés esetén a 5-HT_{2A} receptorok denzitása emelkedik a DLPFC-ben illetve csökken a hippokampuszban. Ez utóbbi változások megegyeznek az antidepresszív szerek és az ECT kezelés kapcsán tapasztaltakkal (Baeken & De Raedt, 2011; Janicak & Dokucu, 2015; Dunlop *et al.*, 2017)

A bal oldali DLPFC feletti 10 Hz-es ingerlés a legelterjedtebb protokoll világszerte, azonban számos közlemény számolt be ettől eltérő paraméterekkel végzett kutatásokról. A kezelés lokalizációja, a stimuláció frekvenciája, az egyes kezelések időtartama, a kezelések száma, a köztük eltelt idő mind a vizsgálatok tárgyát képezték (Lefaucheur *et al.*, 2014). Korábbi kutatások azt mutatták ki, hogy a depressziós beteg esetében az agyi aktivitás csökken a bal oldali DLPFC-ben, illetve nő a jobb oldali DLPFC területén (Silberman & Weingartner, 1986; Fitzgerald *et al.*, 2008). A két legelterjedtebb protokoll unilaterális stimulációt alkalmaz: mind a magas frekvenciájú (>5Hz) rTMS a bal oldali DLPFC felett, mind az alacsony frekenciájú (≤ 1Hz) rTMS a jobb oldali DLPFC felett hatékony MDD-ben. A magas frekvenciájú ingerlés esetén a kortikális aktivitás növekedését írták le, míg az alacsony frekvencia alkalmazása ezzel ellentétes hatásúnak bizonyult (Chen *et al.*, 2014). Egy 2013-ban publikált metaanalízis szerint nem találtak szignifikáns különbséget a két protokoll hatékonysága között (Chen *et al.*, 2013). Egyes tanulmányok az alacsony frekvenciás kezelés alkalmazását részesítette előnyben tekintettel arra, hogy az jobban tolerálható és kisebb az epilepsziás görcsroham rizikója mivel az gátló hatással bír (Fitzgerald *et al.*, 2003; Loo & Mitchell, 2005). Mivel mindkét oldali unilaterális kezelés hatékonynak bizonyult, felvetődött, hogy a bilaterális kezelés alkalmazása optimális módszer lehet, ami növeli a hatékonyságot (Fitzgerald *et al.*, 2006; Daskalakis *et al.*, 2008). A kutatások megerősítették a jobb oldali alacsony frekvenciás stimuláció és a bal oldali magas frekvenciájú kezelés egymást követő, kombinált alkalmazásának hatékonyságát (Blumberger *et al.*, 2012).

A későbbiekben számos hatékonyságra irányuló vizsgálatot végeztek, ami az unilateralis módszer (mind jobb, mind bal oldalon) és a bilateralis kezelések eredményeit elemezte. Egy 2016-ban kiadott kanadai ajánlás szerint a bilaterális kezelési protokoll is egyes szintű evidenciával rendelkezik (Milev *et al.*, 2016). Az rTMS kezelés hatásmechanizmusában

közreműködő molekuláris folyamatok tisztázása céljából további vizsgálatokra van szükség a hatékonyabb terápiás protokoll kidolgozása érdekében.

A neurostimuláció mellett a depresszió kezelésével kapcsolatos fent említett kihívások megoldására a farmakológiai fejlesztések új irányvonalai a korábban kábítószerként számontartott hatóanyagok felé mozdult. Ilyen fejlesztések közé tartozik az eszketamin, a kannabinoid és a pszilocibin.

1.8. A kannabisz, mint az öngyógyítás egyik eszköze

A Cannabis sativa növényt (kannabisz) évezredek óta használják gyógyító és rekreációs céllal. Két fő pszichoaktív komponense a Δ-9-tetra-hidrokannabinol (THC) és a kannabidiol (CBD) (Walsh *et al.*, 2017). A THC-nek tulajdonítanak anxiolítikus, antidepresszív és altató hatást, míg a CBD gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító, antikonvulziós és anxiolítikus hatását írták le (Walsh *et al.*, 2017). A két komponens közül elsősorban a THC (CB1R és CB2R parciális agonista) tehető felelőssé erősebb pszichoaktív hatásokért, úgy mint eufória, relaxáló hatás, percepciózavar és magasabb dózisban pánik rohamot, paranoid állapotot és szorongást provokálhat (D'Souza *et al.*, 2004; Fusar-Poli *et al.*, 2009). A CBD a CB1R nonkompetitív negatív allosztérikus modulátora, a CB2R inverzív agonistája és AEA reuptake inhibitora. A két összetevő aránya széles skálán mozoghat és okozhat eltérő pszichés hatásokat, de az együttes használata során a CBD-ről feltételezik, hogy semlegesíti a THC nem kívánt anxiogén hatását (Karniol *et al.*, 1974; Zuardi *et al.*, 1982). Mivel számos kannabinoid származék létezik és a marihuána növény egyéb hatóanyagot is tartalmaz, nagyon nehéz a kannabisz viselkedést befolyásoló hatását egzakt módon vizsgálni emberben, szemben az állatkísérletes modellekben, ahol viszont tisztított, vagy szintetikus THC-t alkalmaznak. A kannabiszt rekreációs és/vagy orvosi célra (cannabis for medicial propose, CMP) számos országban (CMP-t legtöbbször onkológiai, krónikus gyulladásos és epilepszia betegségekben), többek között Hollandiában, Olaszországban, Németországban, Izraelben, az Egyesült Királyságban, Chilében, Kolumbiában, Jamaikában, Urugvájban Svájcban, Tájföldön, az Egyesült Amerikai Államok egy részén és Kanadában engedélyezték különböző feltételrendszerekkel az utóbbi években (Rehm *et al.*, 2019).

A kannabisz eufórikus és ellazító hatásáról a használók többsége beszámol, rekreációs drogként világszerte ezek miatt a hatások miatt a legelterjedtebb pszichoaktív drog. A 2018-ban Európában a 15-24 éves korosztály kb. 20%-a fogyasztott marihuánát az ECCMDA jelentése szerint. A National Epidemiologic Survey on Alcohol and related Conditions jelentése szerint a hangulatzavarban szenvedők 10%-a, a szorongásos zavarban szenvedők 7,6%-a használt kannabiszt (Lev-Ran *et al.*, 2012; Aspis *et al.*, 2015).

A kannabisz antidepresszív hatását randomizált kontrollált vizsgálati körülmények között nem sikerült igazolni és az anxiolítikus hatását csak nagyon gyenge erejűnek találták (Whiting *et al.*, 2015); továbbá a szakirodalomban számos vizsgálat során a rendszeres kannabisz használat mellett gyenge tüneti javulásról és alacsony életminőségről számolnak be a

fogyasztók (Lev-Ran *et al.*, 2012; Aspis *et al.*, 2015); sőt, Lev-Ran és mtsai (2014) a kannabisz használat depresszogén hatását állapította meg több tanulmány meta-analízése alapján (Lev-Ran *et al.*, 2014). Egy friss fMRI vizsgálat eredményeiből az derült ki, hogy affektív zavarban szenvedő kannabisz használók agyában a jutalom nagyságának feldolgozása gyengült, ami az affektív tünetek perzisztálásában játszik közre (Spechler *et al.*, 2020). Mindezek ellenére a kannabisz fogyasztók jelentős része depressziós és szorongásos tüneteik öngyógyítása céljából használják (Sarvet *et al.*, 2018; Wycoff *et al.*, 2018). A CMP alkalmazóinak 52%-a a szorongásos tüneteinek, 35%-a pedig a depressziós tüneteinek enyhítésére fogyasztja (Kosiba *et al.*, 2019). Egy kanadai tanulmányban a szintén orvosi indikációban alkalmazott kannabisz használó minta 43,7%-a arról számolt be, hogy a szorongásos tünetek kezelése céljából használja a szert és a minta 46,3%-a a kannabiszt használta a pszichiáter által felírt gyógyszer helyettesítésére. A vizsgálati alanyok többsége nem gondolta, hogy kontrollálási problémája lehet, vagy a kannabisznak lehet káros hatása (Turna *et al.*, 2019). Annak megítélése, hogy a CMP egyéb indikációban történő használata során észlelt affektív tüneti javulás milyen mértékben köszönhető az alapbetegség (ti. onkológiai kísérőtünetek, krónikus gyulladásos betegségek, epileszia stb.) enyhülésének és milyen mértékű a pszichés tünetekre gyakorolt direkt hatás, meglehetősen nehéz.

A rekreációs és speciális indikációban orvosi vényre rendelt felhasználás mellett a legalizációval egyre nagyobb teret nyernek a CBD tartalmú termékek, különböző gyógyhatású készítmények („light cannabis”) oldatok, extrakciók és cukorkák formájában, melyeket többek között hangulatjavító és szorongásoldásra javasolnak a gyártók (Carrieri *et al.*, 2020). Carrieri és mtsai vizsgálatából az derül ki, hogy a „light cannabbis” megjelenésével párhuzamosan szignifikáns mértékben, az anxiolítikumok kiváltása 11,5%-kal, az antipszichotikumoké pedig 4,8%-kal csökkent egy olasz régióban (Carrieri *et al.*, 2020). A CBD piac robbanásszerű megjelenése váratlanul érte a szakembereket, amire jó példa, hogy a Food and Drug Administration (FDA) 2019-ben figyelmeztetést adott ki, mely szerint a CBD-vel kapcsolatos félrevezető információk alapján a fogyasztók veszélybe kerülhetnek azzal, ha az öngyógyító képesség tudatában nem jutnak el professzionális egészségügyi ellátóhelyre és nem kérnek szaksegítséget (https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-questions-andanswers#farmbill). Ennek következményeként 2019-ben NewYork City, majd Kansas, Indiana, Louisiana, Texas és North Carolina szigorításokat vezetett be a CBD tartalmú termékekre. Hasonló okok miatt az Olasz Nemzeti Egészségügyi Tanács 2018-ban szintén korlátozásokat vezetett be (Carrieri *et al.*, 2020).

A kannabisz használat számos negatív következményéről található vizsgálat a szakirodalomban, úgy mint kriminalizáció (Carrieri *et al.*, 2020), közlekedési baleset, tinédzser korúak kannabisz fogyasztása (Wen *et al.*, 2015), fertilitás (Baggio *et al.*, 2020), elhízás (Sabia *et al.*, 2017), a szkizofrénia rizikójának emelkedése és az ún. szkizofréniaspektrumzavar kialakulásának fokozott esélye.

1.8.1. A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar

A szkizofréniaspektrumzavar egy gyűjtő fogalom az olyan kórállapotok összefoglalására, melyeknél a szkizofrénia alap tünetei (úm. hallucináció, téveszme, dezorganizált gondolkodás és viselkedés, az érzelmi és kognitív funkciók károsodása) különböző mértékben jelennek meg, de a definitív szkizofrénia kritériumai (legtöbbször az időkritérium) nem teljesülnek maradéktalanul (Faludi *et al.*, 2011). A különböző drogok által indukált pszichotikus állapotok leggyakrabban az akut, átmeneti pszichotikus diagnózisának kritériumait merítik ki, mely a nevének megfelelően a drog hatásának megszűnése után eliminálódik. Ezzel szemben, a szkizofréniaspektrumzavar diagnózis esetén a rendszeres drog (kannabisz) használata kapcsán kialakult tartós, hosszútávú kezelést igénylő állapotról van szó, mely hosszmetszeti klinikai kép alapján leggyakrabban paranoid szkizofrénia diagnózisába vált át.

A rendszeres kannabisz fogyasztás irodalmi adatok szerint egyéb rizikófaktorok korrigálása esetén is összefüggést mutat pszichotikus zavar kialakulásával (Andreasson *et al.*, 1987; Arseneault *et al.*, 2002; van Os *et al.*, 2002). Több vizsgálat meta-analízisének eredménye szerint a valaha kannabiszt használt személyekben a pszichotikus zavar kialakulása 1,4-szer nagyobb, mint a soha nem használók körében és a szkizofrénia esetek 8-14%-áért a kannabisz használat tehető felelőssé (Henquet *et al.*, 2005; Moore *et al.*, 2007). A kannabisz használók esetében az első pszichotikus epizód korábban jelentkezik (Veen *et al.*, 2004; Green *et al.*, 2005; Barnes *et al.*, 2006; Gonzalez-Pinto *et al.*, 2008) és fordítva, a pszichotikus zavar kialakulása szempontjából esékenyebb populációnál nagyobb eséllyel alakul ki pszichotikus epizód kannabisz hatására (Miller *et al.*, 2001; Kristensen & Cadenhead, 2007; Arendt *et al.*, 2008) . Emellett a szkizofrénia előfordulása szignifikánsan gyakoribb a kannabisz dependens személyek között és a kannabisz használat jellemzően évekkel megelőzi a szkizofrénia klinikai manifesztációját (Buhler *et al.*, 2002; Green *et al.*, 2010). Továbbá Boydell és mtsai a kannabisz használat emelkedésével párhuzamosan növekvő szkizofrénia incidenciáról számolt be Dél-London területén (Boydell *et al.*, 2006). Ugyanakkor a kannbinoidokat fogyasztó nagy elemszámú populációban csak nagyon kis arányban alakul ki klinikai szintű pszichiátriai kórkép, ami a szkizofrénára való hajlamot meghatározó genetikai vulnerábilitás szerepére és a kannabisz, mint környezeti precipitáló tényezőre utal (D'Souza *et al.*, 2009). Különösen kritikus a kannabisz hatása a még fejlődő agy esetében. Állatkísérletben a kannabinoid kezelés fiatal állatok normál agyi fejlődésében károsodást okozva szkizofrénia szerű állapotot okoz a felnőtt állatban (Keshavan *et al.*, 1994; Robbe *et al.*, 2001; Fernandez-Espejo *et al.*, 2009), valamint az endokannbinoid rendszer elváltozását figyelték meg kezelés hatására (Leweke *et al.*, 1999; De Marchi *et al.*, 2003; Giuffrida *et al.*, 2004; Fernandez-Espejo *et al.*, 2009). Továbbá a CB1R stimulációja a mezolimbikus rendszerben a dopamin felszabadulását facilitálja és a dopaminerg aktivitás diszregulációját vonja maga után, ami a szkizofrénia patomechanizmusában központi elem (Pertwee, 2005; Fernandez-Espejo *et al.*, 2009).

A szakirodalomban intenzív vita zajlik arról, hogy külön entitásként értelmezendő-e a kannabisz indukálta szkizofrénia, vagy inkább a kannabisz preciptálja a szkizofrénia megjelenését az arra hajlamos egyénekben a gén-interakció modellnek megfelelően. Ennek a kérdésnek az eldöntése céljából a kannabisz indukálta szkizofrénia klinikai karakterizációjára törekszik számos vizsgálat. A krónikus pszichotikus zavar kannabisz használattal és anélküli csoportok összehasonlítása heterogén eredményeket produkált. A vizsgálatok egy része nem talált szignifikáns különbséget a 2 csoport között, mások kevesebb gondolkodási zavart és ritkább negatív tüneteket találtak a kannabisz használók esetében (Bersani *et al.*, 2002; Buhler *et al.*, 2002; Boydell *et al.*, 2007). Soyka és mtsai gyakoribb inkoherenciát, delúzív tünetet, vizuális hallucinációt, több elsőrendű tünetet, de kevesebb bűnösségi téveszmét és gyengébb betegségtudatot írt le a kannabisz használó szkizofrénia esetében (Soyka *et al.*, 2001). A szkizofrénia miatt kezelés alatt álló anyák gyermekeinél 5-szörös volt az esély a szkizofrénia és 2,5-szeres a kannabisz indukálta pszichózis kialakulására (Arendt *et al.*, 2008; Compton *et al.*, 2009). Más szerzők arról számoltak be, hogy a napi kannabisz és dohány használat emelkedése emeli a pszichotikus tünetek megjelenésének esélyét.

A szkizofréniában szenvedő páciensek több tanulmány szerint szintén öngyógyító céllal alkalmazzák a kannabiszt elsősorban a diszfória és a depresszió tünetek csökkentése érdekében (Gregg *et al.*, 2007; Bizzarri *et al.*, 2009).

Ugyanakkor első pszichotikus epizódon átesett betegek követése során kiderült, hogy azok között, akik a kórházból való emissziót követő 1 évben továbbra is rendszeresen fogyasztottak kannabiszt, a magasabb depresszió pontszámmal rendelkezőknél erős betegségtudat mutatható ki, azaz a permanens kannabisz használat a posztpszichotikus depresszió fenntartásában játszik közre (Elowe *et al.*, 2020). További eredmények arra utalnak, hogy az erős betegségtudat emelheti a depresszió szintjét (Misdrahi *et al.*, 2014) és a szuicid magatartás rizikóját (Vilaplana *et al.*, 2015). Utóbbit „insight paradox" jelenségként ismer a szakirodalom és kialakulásában a kannabisz fogyasztása szintén szerepet játszhat (Belvederi Murri *et al.*, 2015; Elowe *et al.*, 2020).

2. Célkitűzések

A vizsgálataink célja az endokannabinoid rendszer és a pszichés tünetek összefüggéseinek feltárása volt.

A vizgsálatok első csoportjában genetikai asszociációs elemzéseket végeztünk átlagos populációs mintában és azt analizáltuk, hogy van-e szignifikáns kapcsolat az eCB rendszer genetikai variánsai, a gyermekkori trauma, mint stresszkeltő környezeti hatás és az affektív vulnerábilitás között. A kutatásban célul tűztem ki, hogy feltárjam, van-e összefüggés

1. a CB1R gén promóter polimorfizmusainak hatása a szorongásos fenotípus varianciája között;
2. a CB1R gén promóter és a szerotonin transzporter gén promóter polimorfizmusainak interakciós hatása és a szorongásos fenotípus varianciája között;
3. a FAAH gén enzimaktivitást befolyásoló funkcionális polimorfizmus és a szorongásos, depressziós fenotípus varianciája között;
4. a FAAH gén enzimaktivitást befolyásoló funkcionális polimorfizmus hatását módosító gyermekkori trauma és szorongásos, depressziós fenotípus varianciája között;
5. a CB2R genetikai variánsa és az affektív fenotípus variánsok között;
6. a CNR2 genetikai variánsai, a gyermekkori trauma és az affektív variánsok között;
7. a CNR2 és a FAAH genetikai variánsai, a gyremekkori trauma és az affektív variánsok között;
8. az eCB jelátviteli útvonal genetikai markereinek hatása és a szorongásos, depressziós fenotípus varianciája között 2 független mintában;
9. az eCB jelátviteli útvonal genetikai markereinek a gyermekkori traumával interakcióban és a szorongásos, depressziós fenotípus varianciája között 2 független mintában;
10. a KCNJ6 és a CREB1 gének önálló és interakciós hatása a ruminatív válaszadási stílus (RRS pontszém) varianciája között,

A vizsgálatok második felében szkizofréniaspektrumzavarban szenvedő klinikai mintán belül azt elemeztük, hogy feltárható-e jelentős klinikai különbség a kannabisz indukálta szkizofréniapsektrumzavar ($Cnbs_1$) és a kannabiszt nem használó szkizofréniaspektrumzavarban szenvedő ($Cnbs_0$) csoportok között. A kérdéseink arra vontakoztak, hogy kimutatható-e különbség a Cnbs1 és a Cnbs0 csoport között a

11. nem és életkor
12. familiáris anamnézis
13. szuicidalis anamnézis
14. hospitalizáció időtartama
15. tüneti profil

16. alkalmazott gyógyszerek típusa
17. alkalmazott gyógyszerek dózisa
18. globális klinikai állapot felvételkor (CGI-S) és távozáskor (CGI-I) vonatkozásában?

A klinikai vizsgálatok másik csoportjában a major depresszív zavarban szenvedő pácienseknél mértük a klinikai változását részletes fenotípus mérő eszközökkel és a szérum endokannabinoidok (AEA és 2-AG) koncentrációnak rTMS kezelése előtt (vizit$_1$) és közvetlenül utána (vizit$_2$), valamint a kezelést követő 2 hét után (vizit$_3$). A vizsgálatban célul tűztük ki, hogy megállapítsuk, van-e összefüggés az rTMS kezelés hatása és

19. az általános depressziós tünetek (MADRS, BDI) ;
20. a szorongásos tünetek (BAI);
21. az alvászavar (ISI);
22. az anhedónia (SHAPS);
23. neurokognitív funkciókat mérőskálák (TMT-A és TMT-B) pontszám változása között ?

    Továbbá vizsgáltuk, hogy az rTMS kezelés hatására

24. különböznek-e szignifikáns szinten a szérum 2-AG koncentráció értékei a kezelés előtti (V1) és a kezelés után közvetlenül (V2) mért időpontokban;
25. különböznek-e szignifikáns szinten a szérum AEA koncentráció értékei a kezelés előtti (V1) és a kezelés után közvetlenül (V2) mért időpontokban;
26. különböznek-e szignifikáns szinten a szérum 2-AG koncentráció értékei a kezelés előtt (V1) és a kezelést követő 2. hét végén (V3) mért időpontokban;
27. különböznek-e szignifikáns szinten a szérum AEA koncentráció értékei a kezelés előtt (V1) és a kezelést követő 2. hét végén (V3) mért időpontokban?

    Emellett elemeztük, hogy van-e korreláció

28. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és az általános depressziós tünetek változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés után közvetlenül mért időpontra (V2) vonatkozóan;
29. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és a szorongásos tünetek változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés után közvetlenül mért időpontra (V2) vonatkozóan;
30. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és az alvászavar változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés után közvetlenül mért időpontra (V2) vonatkozóan;
31. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és az anhedónia változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés után közvetlenül mért időpontra (V2) vonatkozóan;
32. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és a neurokognitív tünetek változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés után közvetlenül mért időpontra (V2) vonatkozóan;

33. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és az általános depressziós tünetek változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés utáni 2. hét végén mért időpontra (V3) vonatkozóan;
34. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és a szorongásos tünetek változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés utáni 2. hét végén mért időpontra (V3) vonatkozóan;
35. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és az alvászavar változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés utáni 2. hét végén mért időpontra (V3) vonatkozóan;
36. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és az anhedónia változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés utáni 2. hét végén mért időpontra (V3) vonatkozóan;
37. a szérum 2-AG és az AEA koncentráció változásának és a neurokognitív tünetek változásának mértéke között a kezelés előtt (V1) és a kezelés utáni 2. hét végén mért időpontra (V3) vonatkozóan?

3. Módszerek

3.1. Vizsgálati alanyok

3.1.1. A genetikai asszociációs vizsgálatok alanyai

A genetikai asszociációs vizsgálatok átlagos populációs mintával egy nemzetközi konzorcium keretében, a New Molecules in Mood Disorders (NewMood) projekt keretében valósultak meg (6.EU Keretprogram LSHM-CT-2004-503474).

A vizsgálatsorozatba az átlagos populációt reprezentáló, 1000 önkéntes, magyar felnőtt személyt vontunk be (kb. 30% férfi és 70% nő, átlag életkor: 30 év) pszichiátriai előzményektől függetlenül, felső oktatási intézményeken, felnőtt képzési programokon, házi orvosokon és különböző közösségi hálózatokon keresztül. Minden résztvevő saját bevallása alapján kaukázusi népességhez tartozó személynek tekinthető. A vizsgálati alanyok szóbeli és írásbeli tájékoztatásban részesültek a vizsgálat részleteiről és írásos beleegyezésüket adták ahhoz. A kutatást az ETT TUKEB engedélyével végeztük.

Az egyes vizsgálatok esetén különböző elemszámú adatbázist használtunk fel attól függően, hogy az adott elemzéshez hány személytől állt rendelkezésre megfelelő minőségű adat.

Az eCB jelátviteli útvonal genetikai asszociációs vizsgálata során a magyar minta mellett feldolgoztuk a manchesteri konzorciumi partnerünk által gyűjtött adatokat is. A manchesteri minta (MN) mintegy 1200 személyből áll (kb. 30% nő, 70% férfi, átlag életkor 34 év), a bevonás ebben az esetben házi orvosokon és internetes felületen keresztül történt Greater Manchesterben (UK). A vizsgálatot a North Manchester Local Research Ethics Committee hagyta jóvá.

A rumináció genetikai asszociációs vizsgálatában a würzburgi konzorciális partnerünk mintája is szerepel az elemzésben. Ebben a mintában 565 személyiségzavarral küzdő járó- és fekvőbeteg intézményben kezelt páciens szerepelt (40% férfi és 60% nő, átlag életkor: 35 év). A személyiségzavart a DSM-IV kritérium rendszer alapján és a SCID-II alkalmazásával állapították meg. A vizsgálatot szintén a helyi Kutatásetikai Bizottság hagyta jóvá.
A vizsgálati protokollokat a Helsinki Deklarációnak megfelelően dolgoztuk ki.

3.1.2. Az rTMS kezelés alanyai

A vizsgálatba összesen 18 felnőtt személyt vontunk be (5 férfi és 23 nő; életkor: 47,7±12,1 év), akik major depresszióban szenvedtek legalább 1 éve. A páciensek a Semmelweis Egyetem Kútvölgyi Klinikai Tömb Klinikai és Mentálhigiénés Osztályán álltak kezelés alatt. A beválasztási kritérium a DSM-IV feltételeinek megfelelő aktuálisan zajló major depressziós epizód és az anamnézis alapján megállapítható terápia rezisztencia volt

(legalább 2 antidepresszívum alkalmazása során remisszió nem volt elérhető megfelelő dózis és hatásidő kivárását követően). A diagnózist minden esetben pszichiáter szakorvos állította fel. Az rTMS kezelés ideje alatt az éppen alkalmazott antidperesszívumot tovább szedte a páciens a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően. A páciensek önként vettek részt a vizsgálatban részletes szóbeli és írásbeli tájékoztatást követően és az rTMS terápiához beleegyezésüket adták. Az rTMS kezelést megelőzően részletes klinikai vizsgálatot végeztünk beleértve a pszichiátriai, a neurológiai és fizikális vizsgálatokat. Minden betegnél történt a kezelés előtt EEG vizsgálat az esetleges epilepszia, vagy emelkedett konvulziós rizikó kizárása céljából. Az rTMS potenciális szövődményeire kockázatot jelentő faktorok szisztematikus szűrése céljából alkalmaztunk egy nemzetközi biztonsági kérdőívet (Saftey Questionnaire), mely a fémimplantátumok viselését, az alkohol és/vagy benzodiazepin abúzust, az epilepszia tüneteit stb. tárja fel. Kizárási kritérium volt bármely pszichiátriai komorbiditás az MDD mellett; személyiségzavar; epilepszia; fémimplantátum; krónikus testi betegség. Mindegyik beteg írásos beleegyezését adta a vizsgálathoz. A kutatást az ETT TUKEB és az OGYÉI (OGYEI/13689/2018) engedélyével végeztük.

3.2. Fenotípus kérdőívek

3.2.1. A genetikai asszociációs vizsgálatokban alkalmazott kérdőívek

Háttérinformáció kérdőív

A Háttér kérdőívet, amely a vizsgálati alanyok anamnézisét, körülményeit, szocio-ökonómiai hátterét tárja fel, a Manchesteri Egyetem Epidemiológiai Tanszéke dolgozta ki célzottan a NewMood vizsgálatsorozat részére. A kérdőív 22 tételből áll és szintén önkitöltős eszköz.

Rövid Tünetleltár

A Rövid Tünetleltárt (Brief Symptom Inventory, BSI) Derogatis fejlesztette ki az SCL-90-R kérdőív rövidítésével (Derogatis & Melisaratos, 1983) pszichiátriai és nem pszichiátriai populáció pszichés tüneteinek általános felmérése céljából. A BSI-53 alkalmazásával 9 tüneti dimenziót (úgy, mint depressziós, szorongásos, szomatizációs, hosztilitás, fóbiás, paranoid, pszichotikus, interperszonális szenzitivitás és obszcesszív-kompulzív tünetek) és 3 globális indexet lehet mérni. Saját vizsgálatunkban egy 26-tételes verziót alkalmaztunk, mely depressziós, szorongásos, obszcesszív-kompulzív, interperszonális szenzitivitás és addícionális alskálákból áll. Az alanyok 0-tól (egyáltalán nem) 4-ig (teljes mértékben) terjedő skálán jelölhetik, hogy mennyire tartják jellemzőnek saját magukra az adott tételben megfogalmazott tünetet. Az értekezésben szereplő vizsgálatok során a depressziós és a szorongásos alskálákat használtuk fel.

Állapot-Vonás Szorongás Kérdőív

Az Állapot-Vonás Szorongás Kérdőív (State-Trait Anxiety Inventory, STAI) egy 40 tételes, önértékelő kérdőív, melynek segítségével a szorongást részletesebben lehet vizsgálni

(Spielberger, 1970). Két alskálából áll: az állapot szorongás (STAI-S) és a vonás szorongás (STAI-T). A tételeket 4-fokú Likert típusú skálán értékelhetik a résztvevők 1-től 4-ig.

Zung-féle Depresszió Skála

A depressziós tünetek további mérése céljából alkalmaztuk a 20 tételből álló Zung-féle önértékelő Depresszió Skálát (Zung Self-rating Depression Sclae, ZSDS), mely szintén önértékelő kérdőív (Zung, 1965). A kérdőív segítségével a depresszió különböző tüneti dimenzióit, úgy mint hangulati, kognitív, impulzív, vegetatív és szuicid tüneteit lehet vizsgálni és az egyes tételek értékelése úgyszintén 1-től 4-ig terjedő skálán lehetséges.

TEMPS-A kérdőív

A Temperament Evaluation of Memphis, Pisa, Paris and San Diego Autoquestionnaire (TEMPS-A) 110 tételt tartalmazó, önértékelő kérdőív, mely 5 affektív temperamentum mérésre szolgál: a depresszív, a hypertím, a ciklotím, az irritábilis és a szorongó affektív temperamentum (Akiskal *et al.*, 2005). Az egyes tételekben megfogalmazott állításokra igen/nem típusú választ lehet megadni a vizsgálati alany általánosan magáról alkotott kép alapján. Korábbi közleményünkben az affektív temperamentumok a családi anamnézisben előforduló hangulatzavarokkal összefüggést mutatott (Lazary *et al.*, 2009a).

Gyerekkori Trauma Kérdőív

A Gyerekkori Trauma Kérdőív (Childhood Adversity Questionnaire, CHA) az eredeti verzió (Childhood trauma Questionnaire) rövidítéséből született (Bernstein *et al.*, 1997) a gyermekkorban elszenvedett érzelmi-, fizikai-, és szexuális trauma, valamint elhanyagolás felmérése céljából. Saját vizsgálatunkban a kérdőívet kiegészítettük a szülők korai elvesztésére vonatkozó tételekkel. A kérdőív tételeit 0-tól 4-ig terjedő 5-fokú skálával lehet értékelni. A FAAH génnel és a CHA-val kapcsolatos interakciós hatás illusztrációjához a CHA-t csoportosítottuk az alábbiak szerint CHA 1 (nincs trauma), CHA 2 (1-3 trauma) and CHA 3 (3-nál több trauma).

Válaszadási Stílus Skála

A ruminatív tendenciát a Válaszadási Stílus Skála (Response Style Questionnaire, RSQ) Ruminatív Válaszolási Skáláját (Ruminative Response Scale, RRS) teszteltük (Nolen-Hoeksema, 1991). Az eredeti skála „Brooding" 10 tételét használtuk, amely magában foglalja mind a Brooding, mind a Reflection tételeket.

A vizsgálatokban alkalmazott kérdőíveket az 2. táblázat foglalja össze.

Személyiség skálák

A würzburgi munkacsoport a vizsgálat során a személyiségprofil analizálása céljából a NEO Személyiség Skálát (NEO Personality Inventory, NEO-PI-R) (Costa & McCrae, 1997) és a Tridimenzionális Személyiség Kérdőívet (Tridimensional Personality Questionnaire; TPQ)

(Cloninger *et al.*, 1993) használta. A NEO-PI-R kérdőív a Neuroticizmus, az Extraverzió, a Nyitottság, a Barátságosság és a Lelkiismeretesség dimenziókból áll; a TPQ skálának pedig 3 dimenzióját különböztetjük meg: az Újdonságkeresés (Novelty Seeking, NS), az Ártalomkerülés (Harm Avoidance, HA) és a Jutalomfüggőség (Reward Dependency, RD).

2.táblázat A genetikai asszociációs vizsgálatokban alkalmazott kérdőívek

Magyar név	Eredeti név	Rövidítés	Mit mér?	Tételek száma, alskálák
Háttér kérdőív	Background questionnaire	BQ	egyéni és családi anamnézis, tanulmányok, szocioökonómiai körülmények	22 tétel
Rövid tünetleltár	Brief Symptom Inventory	BSI	depressziós, szorongásos, obszcesszív-kompulzív tünetek (tünetbecslés)	26 tétel BSI-DEP BSI-ANX
Állapot-Vonás Szorongás kérdőív	State-Trait Anxiety Inventory	STAI	állapot és vonás szorongás (tünetbecslés)	40 tétel STAI-S STAI-T
Zung Depresszió Skála	Zung Self-rating Depression Scale	ZSDS	depressziós tünetek (tünetbecslés)	20 tétel szuicid tétel, vegetatív alskála, szorongásos alskála
Affektív Temperamentum Skála	Temperament Evaluation of the Memphis, Pisa, Paris and San Diego-Autoquestionnaire	TEMPS-A	affektív temperamentumok (pszichometriai kérdőív)	110 tétel depresszív, szorongásos, ciklotím, irritábilis, hipertím
Gyerekkori Trauma kérdőív	Childhood Adversity Questionnaire	CHA	gyermekkori trauma (retrospektív)	5 tétel
Válaszadási Stílus Skála, Ruminatív Válaszadási Stílus alskála	Response Style Questionnaire, Ruminative Response Scale	RSQ; RRS	Ruminatív válaszadási stílus	10 tétel

3.2.2. Az rTMS kezeléssel kapcsolatos vizsgálatban alkalmazott kérdőívek

Montgomery-Asberg Depresszió Skála (MADRS) és Beck Depressziós Kérdőív (BDI)

A depresszió súlyosságát a 10 tételes MADRS skála segítségével határoztuk meg és monitoroztuk, amely nemzetközileg elismert és széleskörben használt klinikai mérőeszköz (Montgomery & Asberg, 1979). A MADRS interjú során minden tételhez 4 megállapítás tartozik, melynek alapján 0-tól 6 pontig értékelheti a pszichiáter a beteget megfigyelései és válaszai alapján. Az interjút gyakorlott pszichiáter szakorvos végezte minden esetben.
A depressziós tüneteket a 13 x 4 megállapítást tartalmazó Beck Depresszió Kérdőív (Beck Depression Inventory, BDI) segítségével, önértékeléses módszerrel is felmértük és követtük (Beck *et al.*, 1961).

Beck-féle Szorongás Leltár (Beck Anyxiety Inventori, BAI)

A szorongásos tüneteket egy külön skálával, a Beck-féle Szorongás Leltárral is mértük, mely egy 21 tételes, önértékelő, struktúrált eszköz a szorongás különböző (érzelmi, viselkedésbeli, gondolkodásbeli és testi) dimenzióinak feltárására alkalmas (Beck *et al.*, 1988). Az értékelés az egyes tételek esetén 0-tól 3 pontig terjedő skálán lehetséges.

Snaith-Hamilton-féle Örömképesség Skála (Snaith-Hamilton Pleasure Scale , SHAPS)

Az anhedóniát egy struktúrált, 14 tételes kérdőív, a SHAPS segítségével mértük fel, amely szintén önkitöltős eszköz (Snaith *et al.*, 1995). A SHAPS az örömképesség négy területét tárja fel: az érdeklődési kört/szabadidő tevékenységeket, a szociális interakciókat, az érzékeléssel kapcsolatos működést és a táplálkozást érintő témaköröket. A vizsgálati személy egy 4 fokú Likert skálán értékelheti az egyes állításokat.

Alvászavart jelző skála (Insomnia Severity Index, ISI)

Az Insomnia Severity Index (ISI) egy rövid, önértékelő kérdőív, mellyel az alvászavar súlyosságát és esetleges változását vizsgáltuk (Bastien *et al.*, 2001). A 7 megállapítást tartalmazó kérdőív az elalvás, átalvás, korai ébredés észlelésére, az alvásminőséggel való szubjektív megelégedettségre, az alvászavar mások számára feltűnő voltára, az alvászavar miatti aggodalomra, valamint az alvászavar nappali tevékenységre gyakorolt hatására terjed ki. A páciens 0-tól 4-ig terjedő skálán adhat értékelést az adott tételről.

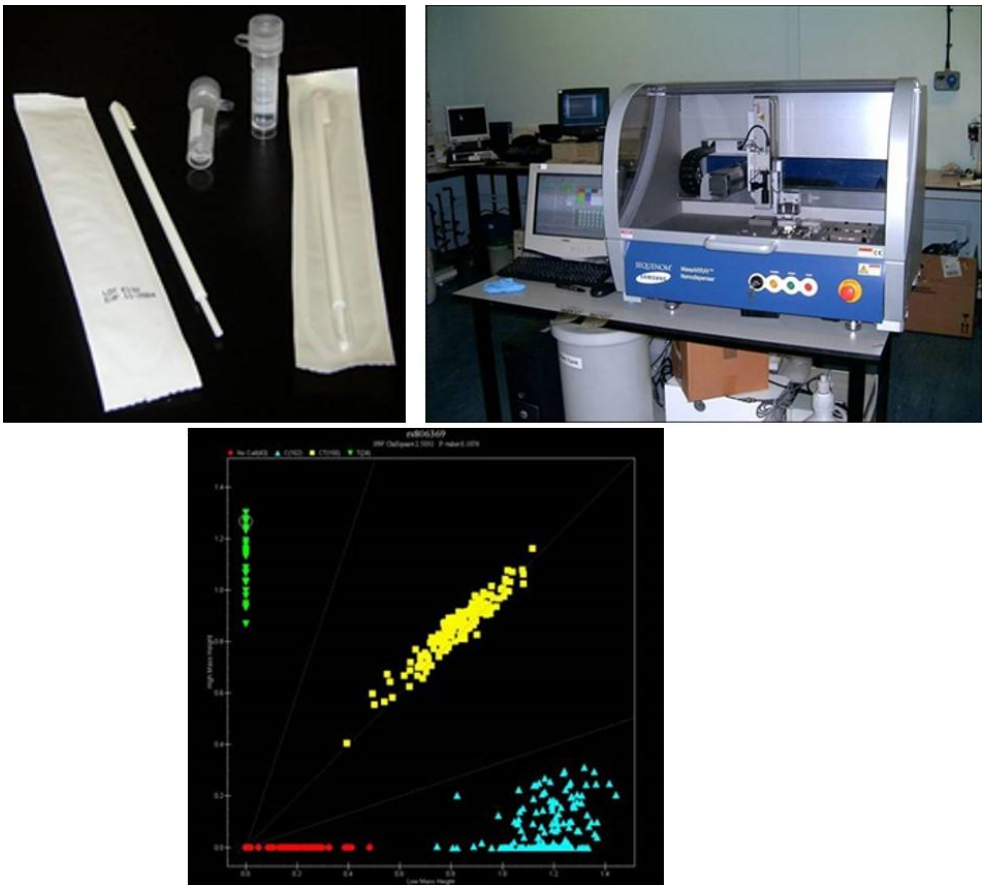
Neurokognitív tesztek

A figyelem, a munkamemória és a feldolgozási sebesség vizgsálatára a Trail Making Teszt (TMT-A és TMT-B) (Partington, 1949), valamint a Stroop teszt (Stroop Color-Word Test, SCWT) Golden-féle verzióját alkalmaztuk (Golden, 1975). A TMT-A és TMT-B esetében a feladat elvégzésének az idejét és a hibák számát mértük. Az SCWT esetében sokféle számolási metódus terjedt el. Tekintettel arra, hogy saját vizsgálatunkban nem a neurokognitív vizsgálat volt a fő cél, egy egyszerűbb pontozási módszert választottunk Troyer és mtsai nyomán (Troyer *et al.*, 2006). Megadtuk a nyers hiba értékeket, valamint teljesítési időket a szó (word, W), a szín (colour, C) és az interferencia (CW) feladatokra, illetve az alacsony (W/C) és magas (CW/C) interferencia pontokat számoltuk ki. A vizsgálati alanyok mindegyik tesztet elvégeztek a kezelés előtt (vizit1; V1); közvetlenül a kezelés után (vizit2; V2) és 2 héttel a kezelést követően (vizit3; V3).

3.3. Genetikai vizsgáló módszerek

A genetikai elemzéshez a vizsgálati alanyok szájnyálkahártya mintát szolgáltattak (2. ábra), melyből Freeman és mtsai által leírt módszer alapján történt a DNS izoláció (Freeman *et al.*, 2003). A DNS mintákat a feldolgozásig -80 fokos hűtőben tároltuk. A DNS kvalitatív és kvantitatív meghatározása NanoDrop B-100 spektrofotométerrel történt és a minták higítása egységesen 20ng/µl koncentrációra történt. Az SNP azonosítására a Sequenom MassArray technológia (Sequenom Inc., CA, USA) alkalmazásával a Manchesteri Egyetemen a Centre for Integrated Genomic Medical Research laborjában került sor (3. ábra). A post-PCR egybázis primer extenziója iPLEX^{TM} assay segítségével történt a gyártó előírása szerint. A genotípizálás a fenotípusra nézve vakon történt. Az 5-HTTLPR polimorfizmusának genotípusait egy 6-FAM jelzésű forward primer segítségével amplifikáltuk, részleteket illetően utalok korábbi cikkünkre (Lazary *et al.*, 2008). Minden laboratóriumi munkafolyamat az ISO 9001:2000 minősítésnek megfelelően került kivitelezésre. A vizsgálatban szerepelő SNP-k mindegyike Hardy-Weinberg egyensúlyban volt (p>0.05).

3.ábra A genetikai vizsgálatokban alkalmazott mintavételhez szükséges eszközök és a Sequenom MassArray készülék a hozzátartozó kiértékelő szoftverrel.



A genotipizálási folyamatok a Manchesteri Egyetem Centre for Integrated Genomic Medical Research laboratóriumában zajlottak.

3.táblázat A genetikai asszociációs vizsgálatokban szereplő polimorfizmusok fontosabb paraméterei

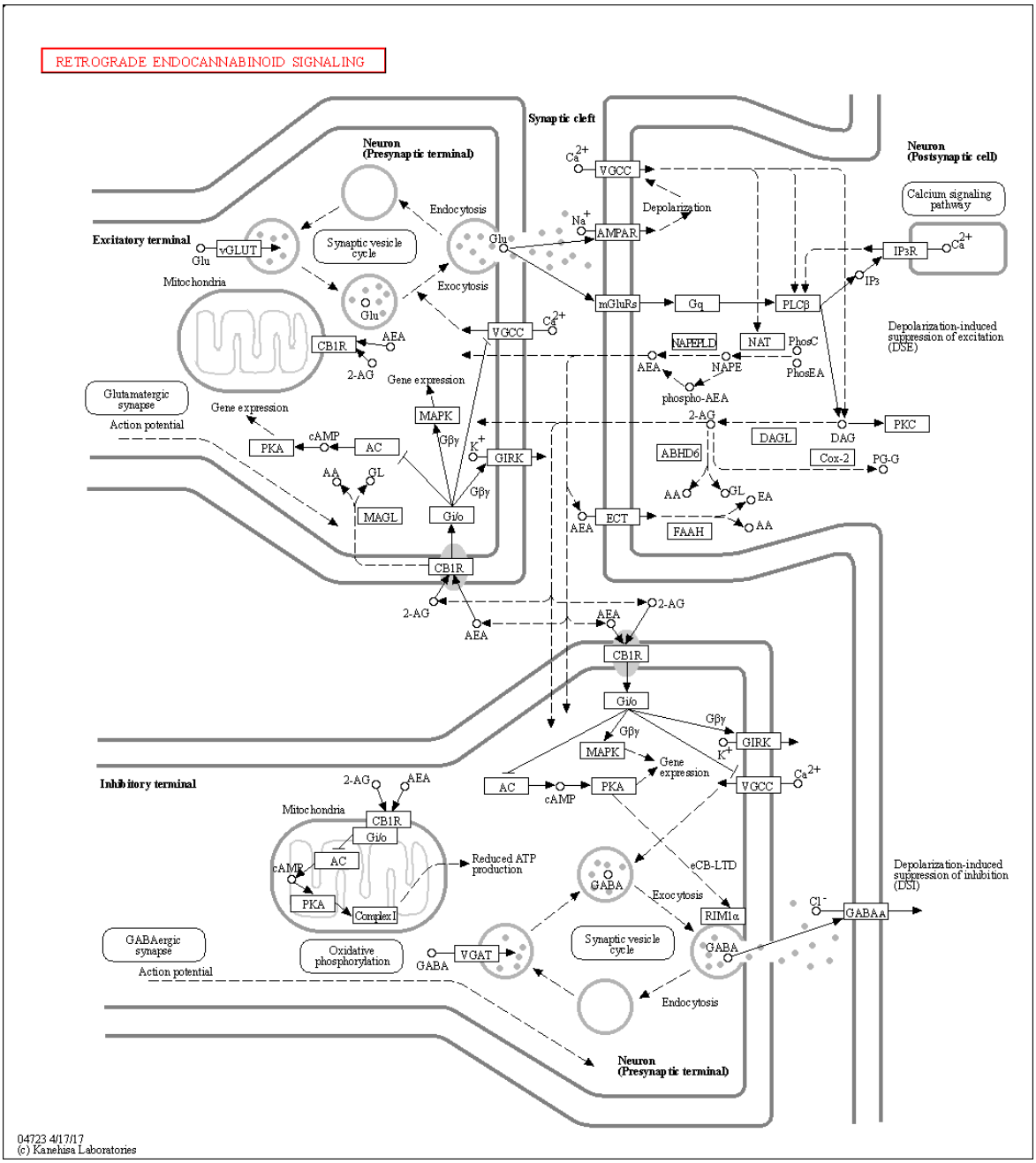
	Pozíció	Gén régió	Funkció	MAF
CNR1				
rs2180619	chr6:88168233	5’ régió	konvencionális promóter	41,2%(G)
rs806379	chr6:88151548	intron 2	alternatív promóter	45,4% (T)
rs1535255	chr6:88151489	intron 2	alternatív promóter	15,4% (G)
rs2023239	chr6:88150763	intron 2	alternatív promóter	15,1% (C)
CNR2				
R63Q (rs1573462811)	chr2:73902421	exon 2	AS csere (Arg63Gln)	47,5%(Q)
FAAH				

C385A (rs324420)	chr1:46405089	exon 3	AS csere (Pro129Thr)	21% (A)
KCNJ6				
rs2070995	chr21:37714662	Exon 3	Pro165Pro	22,6% (T)
CREB1				
rs2253206	chr2:207527254	5’ régió	promóter	48,7% (G)

Az eCB jelátviteli útvonal genetikai elemzéséhez a teljes genom asszociációs vizsgálatunk adatait használtuk fel. A genotipizálás Illumina CoreExom PsychChip (Illumina, SanDiego, CA, USA) alkalmazásával történt, melynek során 573 141 variáns azonosítása került sorra. A genomikai pozíciók meghatározása a GRCh37/hg19 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000001405.13/) alapján történt. A kvalitatív kontroll és az imputációs procedúra Coleman és mtsai által javasolt módszerrel történt (Coleman *et al.*, 2016). A teljes genom asszociációs vizsgálat részleteit illetően utalok korábban publikált közleményünkre (Eszlari *et al.*, 2019).

Az elemzéshez 18897 SNP-t választottunk ki az eCB szignalizációhoz tartozó receptorokat, metabolikus enzimeket, valamint transzport fehérjéket kódoló 119 gén területéről a Kyoto Encyclopedia of Genes and Genoms (KEGG) adatbázis alapján (https://www.genome.jp/kegg/pathway.htlm). A kereséshez az „endocannabinoid pathway” kulcsszavakat adtuk meg, melynek alapján két pathway térképet azonosított a rendszer (retrograde endocannabinoid pathway, map04723 és thermogenesis map04714). A gének kiválasztásához a map04723-at választottuk, amely 119 gén szelekcióját eredményezte (last update: 4/17/2017, Kaneshia Laboratories, 4.ábra). Miután ellenőriztük a KEGG gének listáját és az ezekhez a genetikai lókuszokhoz tartozó genotípizált, annotált SNP-inket, meghatároztuk azt az SNP készletet, amely az analízisre alkalmas. A szelektált gének és a tőlük ±10kb-nyira található régióból kiválasztottuk a gének promóter régióiban elhelyezkedő SNP-ket. A szelekciós kritériumok a következők voltak: call rate>99%; MAF>1%; Hardy-Weinberg equilibrium $p>1x10^{-5}$. A gének pozíciói a hg19 RefGene adatbázis alapján kerültek azonosításra (http://grass.cgs.hku.hk/limx/kgg/index.htlm).

4.ábra A KEGG útvonal meghatározó adatbázisban azonosított eCB jelátviteli útvonal sematikus ábrázolása
https://www.kegg.jp/keggbin/highlight_pathway?scale=1.0&map=map04723&keyword=endocannabinoid



3.4. A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálatának protokollja

A vizsgálatba 85 szkizofréniaspektrumzavar miatt hosptializált pácienst vontunk be a Nyírő Gyula Kórház 1. Pszichiátriai Osztályáról és a Semmelweis Egyetem Kútvölgyi Klinikai Tömb Klinikai és Kutatási Mentálhigiénés Osztályáról. A 35 évnél idősebb életkor és korábbi

hospitalizáció kizárási kritérium volt. A diagnózis és az anamnézis alapján két csoportot képeztünk: a $Cnbs_0$ csoportba azok a betegek kerültek, akiknél az anamnézisében nem szerepelt kannabisz használat (n=43), míg azok a pszichotikus tüneteket produkáló páciensek, akik legalább 1 évig kannabisz fogyasztásáról számoltak be, a $Cnbs_1$ csoportba kerültek (n=42). Az utóbbi csoportba tartozók napi 0,5-1g kannabisz használatáról számoltak be. Az aktuális kannabisz fogyasztást standard vizelet gyorsteszttel igazoltuk a felvétel során. A szkizofréniaspektrumzavar diagnózisát pszichiáter szakorvos állapította meg a DSM-IV diagnosztikai kritériumok alapján. Az egyéni és családi anamnézissel, a pszichés státusszal és a kezeléssel kapcsolatos klinikai adatokat az elektronikai orvosi adatbázisból nyertük. A felvételkor és az emissziókor jellemző általános klinikai állapot súlyosságát a Globális Klinikai Skála (Clinical Global Impression Scale, CGI-S) és az Általános Klinikai Javulás Skála (Clinical Global Improvement Scale, CGI-I) segítségével értékeltük (Guy, 2000).

3.5. Az rTMS kezeléssel kapcsolatos vizsgálat protokollja

Az rTMS kezeléshez Magstim Rapid 2 terápiás rendszert használtunk 70mm-es léghűtéses nyolcas formájú tekerccsel (5.ábra). Bilaterális stimulációs technikát alkalmaztunk a két oldalon különböző beállításokkal (magas frekvencia a baloldali DLPFC és alacsony frekvencia a jobb oldalon). A stimuláció lokalizációját a Beam szerinti módszerrel (Beam *et al.*, 2009) határoztuk meg a motoros küszöb azonosítását követően. A motoros küszöb megállapításához megkerestük azt a legkisebb intenzitású stimulust, melynek hatására a kontralaterális musculus abductor pollicis brevis vagy az első interosseus dorsalis motoros válasza megjelenik. A pácienseknél 2x5 napon át alkalmaztuk a kezelést (14 nap alatt 10 alkalommal hétköznapokon, összesen tehát 10 alkalommal). A baloldali DLPFC felett 10Hz-es intenzitású impulzust alkalamztunk, az impulzus intervallum 4 szekundum, az intertrain intervallum 23 szekundum volt (kortikális neuron stimuláció kiváltása). Az egy ülés során leadott összimpulzus szám 2000, a kezelés ideje átlagosan 22,5 perc volt a bal oldalon. A jobb oldalon folyamatos, 1Hz-es impulzust alkalmaztunk szünet nélkül (inhibitoros hatás kiváltása). Az összimpulzus szám ezen az oldalon 990 volt és átlagosan 16,5 percig tartott. A kezeléseket követően egy mellékhatást mérő kérdőívet vettünk fel a páciensekkel, amely a hajas fejbőr fájdalmára, fejfájás intenzitására, fájdalomcsillapító gyógyszer szükségességére, fülészeti panaszokra, szédülésre, hányingerre és egyéb kellemetlenség megjelenésére kérdez rá. A vizsgálati protokoll a nemzetközi ajánlásokkal és a Helsinki Deklarációval harmonizált.

5.ábra Az rTMS kezelés gyakorlati kivitelezése (Klinikai és Kutatási Mentálhigiénés Osztály, Semmelweis Egyetem)

A fotó a beteg beleegyezésével történt.

3.6. Szérum endokannabnioidok szintjének mérése

Az endokkannabinoid koncentráció mérése a Budapesti Műszaki Egyetem Analítikai és Anorganikus Tnaszékének laboratóriumában történt Dr. Tóth Blanka közreműködésével. A vérmintákat a klinikai rutin vérvétellel megegyező módon végeztük mindhárom vizit alkalmával és mindig éhgyomorral, azonos időpontban és körülmények között. A mintákat 3000 x g paraméterrel beállított készülékkel centrifugáltuk és a szérumot -80 C-on tároltuk a feldolgozásig. 100 µl plazmamintához 300 µl kicsapószer adása történt, ami 80 % metanolt, 20% izopropanolt és a deuterált belső standardokat (100 ng/ml 2-AG-d_5 és 1 ng/ml AEA-d_4) tartalmazta. A minták centrifugálása ezután 18000 rpm fordulatszámmal 15 ^{o}C-on történt, majd a felülúszóból 10 µl került a kromatográfiás rendszerbe. A kromatográfiás elválasztás egy Phenomenex Kinetex C18 kolonnán (50mm x 2,1 mm, 2.6 µm, 100 Å) történt gradiens elúciós módszerrel egy Perkin Elmer Series 200 típusú HPLC-s berendezéssel. A detektálás egy Sciex 4000 QTrap tömegspektrométerrel MRM módban zajlott. A mennyiségi meghatározást belső standard módszer biztosította.

3.7. Statisztikai módszerek

3.7.1. A genetikai asszociációs vizsgálatok statisztikai módszerei

A vizsgált SNP-k egyedi hatásait a fenotípus variábilitással összefüggésben lineáris regresszió módszerrel (Generalized Linear Model, GLM) teszteltük a rizikó allél hordozást figyelembe véve additív, domináns és recesszív modellben, majd az egyes genotípus csoportok összehasonlításához post hoc tesztet végeztünk (Tukey'spost hoc test). Az elemzéshez a kérdőív pontszámok átlagértékét alkalmaztuk. A gyermekkori trauma interakciós hatását a genetikai hatással együtt a fenotípus variábilitással összefüggésben szintén lineáris modellben vizsgáltuk. A többszörös tesztelést figyelembe véve a Bonferroni-féle kritérium szerint a p-értéket akkor tekintettük szignifikánsnak, amikor a 0,05 és a tesztek számának hányadosánál kisebb érték szerepelt. A statisztikai számításokhoz a PLINK v1.07 (http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/), az SPSS 20.0 és az R 2.0 ('SNP assoc' package') (R Foundation for Statistical Computing, Austria) szoftvereket alkalmaztuk. A minor allél frekvencia és a Hardy-Weinberg ekvilibrium számításához a HaploView 4.2. szoftvert használtuk. A vizsgálatok statisztikai erejének becslését a Quanto 1.2. szoftverrel végeztük.

Az endokannabinoid jelátviteli útvonal genetikai markerek és a fenotípus variábilitás összefüggéseit szintén az R 2.0 szoftverrel, azon belül a GWAST programban regressziós modell segítségével vizsgáltuk (Gogarten *et al.*, 2012). A tesztek eredményeinek p-értékét Wald teszt segítségével számolta a program és a p-értékek korrigálása Benjamini &Hochberg metodika szerint történt (Benjamini, 1995). A program az első 100 p-érték listáját adja meg, amelyek a legerősebb szignifikanciára utalnak. Ezeket a listákat grafikus ábrázolással, míg a top 10 *p*-értékkel bíró SNP-k listáját táblázatban mutatjuk be.

3.7.2.A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavarral kapcsolatos vizsgálat statisztikai módszerei

A kategórikus változók összehasonlítását khi négyzet próbával számoltuk és az esélyhányadost (odds ratio, OR) logisztikus regressziós próbával végeztük. A folytonos változók összehasonlítását a két csoport között t-teszttel és ANOVA tesztekkel végeztük, utóbbi esetben nemre és életkorra korrigált változókat használtunk. Az eredmények *p*-értékeit szignifikánsnak fogadtuk el 0,05 alatti és trendszintűnek 0,05 és 0,08 közötti érték esetén. A statisztikai elemzéseket az SPSS 23.0 szoftver alkalmazásával végeztük.

3.7.3.Az rTMS kezeléssel kapcsolatos vizsgálatban alkalmazott statisztikai módszerek

A kezelés előtti és kezelés utáni kérdőív pontszámokat hasonlítottuk össze a terápiás hatás mérése céljából. A változások korrelációjának tesztelése céljából a V1-nél mért értékekből kivontuk a V2-nél mért értékeket és a különbségek korrelációját vizsgáltuk. Ugyanígy tettünk a V1 és V3 időpontjában mért értékekkel. A korreláció kimutatására a

Pearson-féle korrelációs próbát, valamint generalizált regressziós modellt alkalmaztunk. A különböző vizit időpontokban kiszámolt átlag értékek összehasonlításait páros t-próbával végeztük SPSS 24.0. szoftver segítségével. A *p*-értéket 0,05 alatti érték esetén fogadtuk el szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. A genetikai asszociációs vizsgálatok eredményei

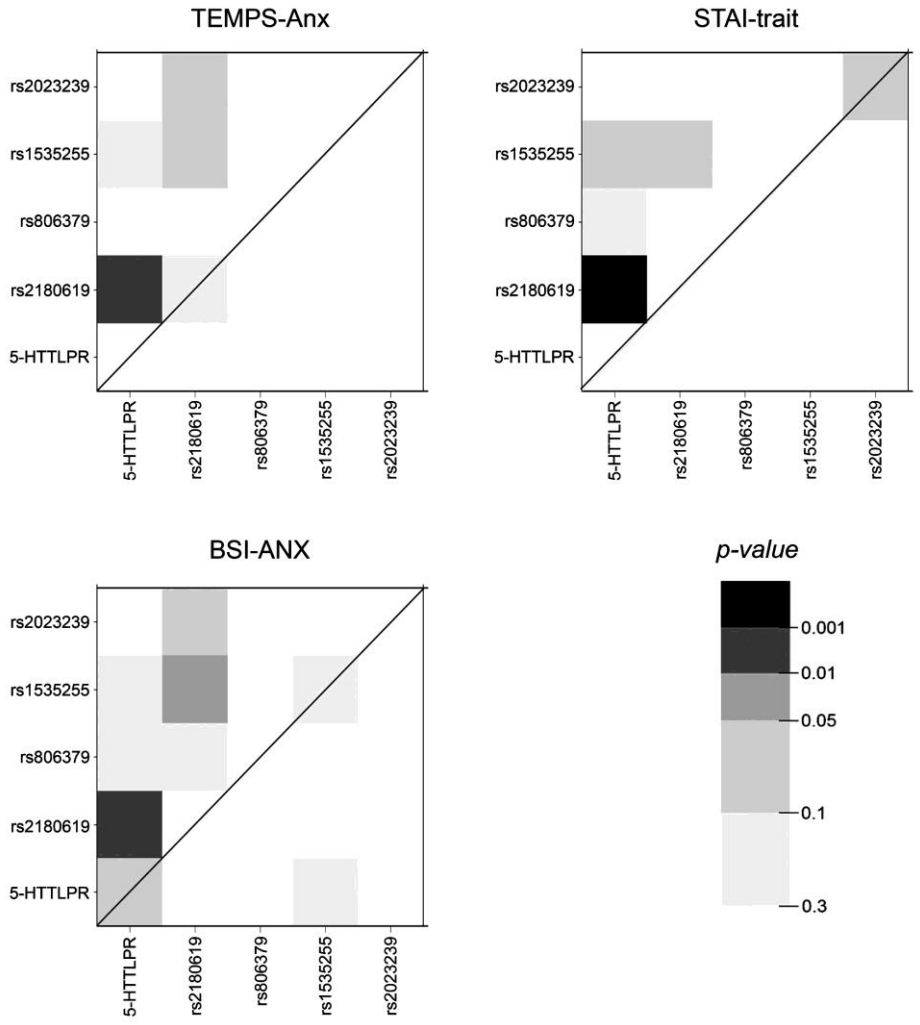
4.1.1. A CB1 receptor gén (CNR1) és a szorongás asszociációs vizsgálata

A vizsgálatban 706 fő (572 nő és 132 férfi, átlag éltekor: 30,2±10,6 év) adatait elemeztük. A CNR1 gén polimorfizmusainak egyedi hatásai nem bizonyultak szignifikánsnak a szorongásos fenotípus varianciájára nézve.

Tekintettel azokra az állatkísérletes adatokra, melyek az eCB rendszer és a szerotonerg rendszer kapcsolatát igazolják, megvizsgáltuk a CNR1 gén polimorfizmusok és az 5-HTTLPR lehetséges interakciós hatását is. A gén-gén interakciós elemzés alapján szignifikáns asszociációt mutattunk ki az rs2180619 SNP, az 5-HTTLPR és a szorongás pontszámok varianciái között (6. és 7. ábra). Eredményeink szerint azok, akik az rs2180619 SNP-re nézve homozigóta GG genotípus mellett az 5-HTTLPR SS genotípusát hordozzák, szignifikánsan magasabb pontszámot értek el a STAI-T (p=0,0006) és a TEMPS-Anx (p=0,0013) alskálákon a többi genetikai konstellációhoz képest (7. ábra). Az esélye, hogy GG+SS hordozás esetén a magas szorongás pontszámú kategóriába kerüljön a vizsgálati személy, majdnem 5-szörös volt (OR=4,64, 95% CI:1,7-12,7) összehasonlítva az A és L allél hordozókkal. Ugyanakkor a GG genotípus az L allél hordozással a súlyos szorongás ellen protektívnek bizonyult (OR=0,36; 95% CI:0,1-1,2).

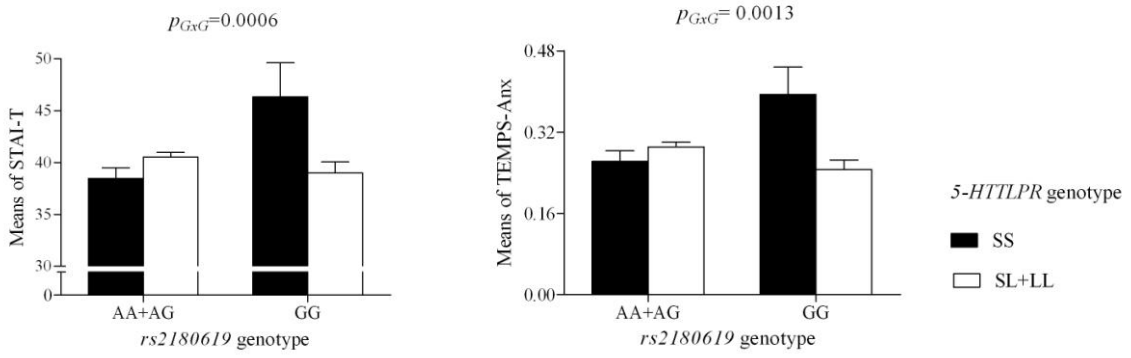
A CNR1 promóteréhez tartozó SNP-kből haplotípus genereálását követően megvizsgáltuk az 5%-nál gyakoribb haplotípusok és a becsült fenotípus átlagok asszociációját. Eredményeink szerint a GTGC haplotípushoz tartozott a legmagasabb STAI-T és TEMPS-Anx pontszám, de csak azokban a személyekben, akik egyszersmind SS genotípust hordoztak az 5-HTTLPR-re nézve, míg ugyanezt a haplotípust az L allél hordozása mellett szignifikánsan alacsonyabb pontszám jellemezte (8. ábra).

6.ábra A CNR1 SNP-k és az 5-HTTLPR genetikai interakciójának vizuális ábrázolása (SNPassoc, R 2.0 program)



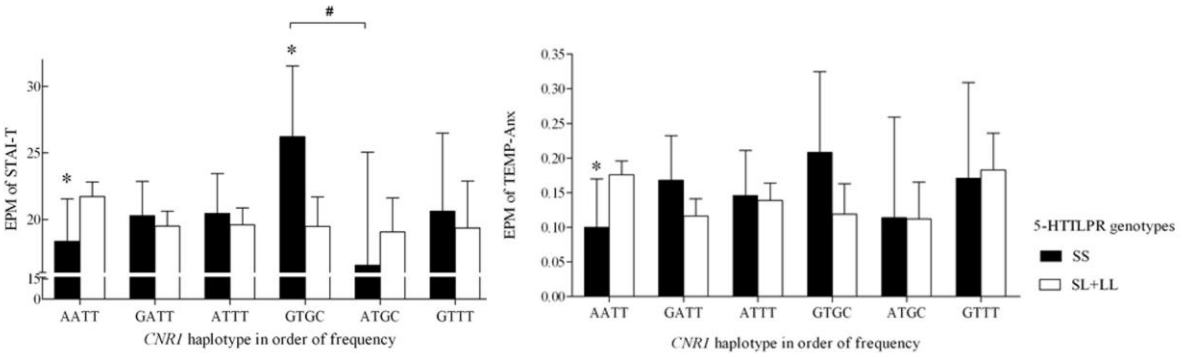
A négyzetek színárnyalata a gén-gén interakciós hatás p-érték csökkenésével arányos.

7.ábra Az 5-HTTLPR és az rs2180619 interakciója a STAI-T és a TEMPS-Anx pontszámokkal összefüggésben



Szignifikáns interakció az rs2180619 (CNR1) és az 5-HTTLPR polimorfizmus között a STAI-T és a TEMPS-Ans pontszámokkal összefüggésben.

8.ábra A CNR1 promóter haplotípus és az 5-HTTLPR interakciója a STAI-T és a TEMPS-ANX skála becsült fenotípus átlag (Estimated Phenotypic Mean, EPM) értékekkel



A GTGC haloptípust hordozók magasabb STAI-T és TEMPS-Anx pontszámot érnek el SS genotípus esetén.

4.1.2. A FAAH C385 és gyermekkori trauma interakciós hatása a depressziós és szorongásos tünetekre

A vizsgálatban 928 fő (296 férfi és 632 nő; átlag életkor: 31,2±10,5 év) adatait elemeztük. A FAAH C385A egyedi hatása nem volt szignifikáns egyik genetikai modellben sem a fenotípus variábilitásra lineáris regresszió analízis alapján (4.táblázat). Ugyanakkor az A allél hordozása több, mint kétszeres rizikót jelentett a 48 pont feletti ZSDS pontszámmal járó fenotípusra (OR=2,053; *p*=0.016). Az interakciós hatás elemzése azt eredményezte, hogy az A allél hordozás szignifikánsan magasabb BSI-ANX és STAI-T pontszámmal társult a homozigóta CC genotípushoz képest nagyobb számú gyermekkori trauma esetén ($p_{BSI-ANX}$=0,00002; p_{STAI-T}=0,0023; 5.táblázat). A depressziós fenotípus vizsgálata hasonló eredményt nyújtott (4. tábla). Szignifikánsan magasabb BSI-DEP és ZSDS pontszám volt megfigyelhető azoknál a FAAH C385A A allél hordozóknál, akik több gyermekkori traumát

éltek át a CC genotípusúakhoz viszonyítva ($p_{BSI\text{-}DEP}$=0,0005 és p_{ZSDS}=0,004; 6.táblázat és 9.ábra). A ZSDS esetén a *p*-érték korrekcióját követően nem maradt szignifikáns.

4.táblázat A FAAH C385A genotípus alcsoportokhoz tartozó fenotípus kérdőív pontszámok

	ZSDS	BSI-DEP	BSI-ANX	STAI-S	STAI-T
ADD					
CC	38,5±5,5	0,5±0,7	0,69±0,7	37,1±10,9	39,5±10,3
CA	39,3±5,9	0,7±0,77	0,73±0,78	38,6±11,8	41,3±11,4
AA	37,4±8,3	0,52±0,70	0,65±0,63	38,2±12,3	37,4±9,9
DOM					
CC	38,5±5,5	0,54±0,67	0,69±0,69	37,1±10,9	39,5±10,3
CA+AA	39,0±6,3	0,63±0,76	0,72±0,77	38,5±11,9	40,8±11,3
REC					
AA	37,4±8,3	0,52±0,65	0,65±0,63	38,2±12,3	37,4±9,9
CA+CC	38,8±5,8	0,58±0,70	0,70±0,72	37,6±11,2	40,1±10,7

ADD, additív; DOM, domináns; REC, recesszív modell

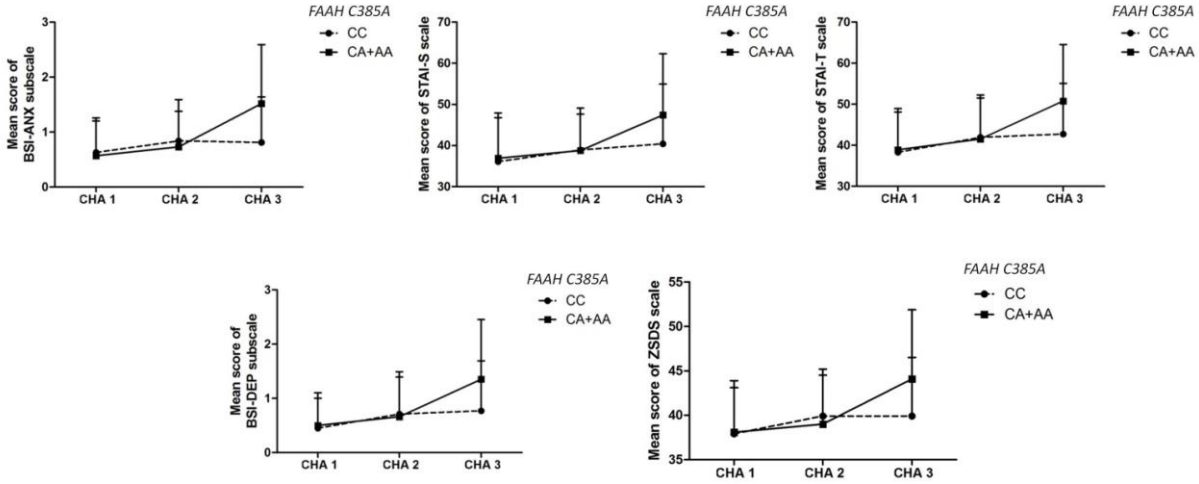
5.táblázat A FAAH C385A és a gyerekkori trauma hatásai a fenotípus változókra lineáris regressziós modellben

	Beta	S.E.	95% C.I.	STAT	*p-érték*
BSI-DEP					
FAAH C385A (DOM)	-0,07	0,06	-0,19-0,06	-1,08	ns
CHA	0,05	0,01	0,03-0,07	5,48	$5{,}6\times10^{-8}$
FAAH C385A (DOM) x CHA	0,05	0,02	0,02-0,08	3,50	5×10^{-4}
BSI-ANX					
FAAH C385A (DOM)	-0,18	0,07	-0,30-0,05	-2,71	7×10^{-3}
CHA	0,04	0,01	0,02-0,06	3,71	2×10^{-4}
FAAH C385A (DOM) x CHA	0,07	0,02	0,04-0,10	4,32	$1{,}7\times10^{-5}$
ZSDS					

FAAH C385A (DOM)	-0,58	0,53	-1,61-0,45	-1,10	ns
CHA	0,37	0,08	0,22-0,53	4,65	$3{,}8 \times 10^{-6}$
FAAH C385A (DOM) x CHA	0,37	0,13	0,12-0,62	2,88	4×10^{-3}
STAI-S					
FAAH C385A (DOM)	-0,73	1,06	-2,81-1,35	-0,69	ns
CHA	0,59	0,16	0,27-0,90	3,64	3×10^{-4}
FAAH C385A (DOM) x CHA	0,60	0,26	0,09-1,10	2,29	0,0219
STAI-T					
FAAH C385A (DOM)	-0,97	0,97	-2,88-0,93	-1,00	ns
CHA	0,69	0,15	0,40-0,98	4,69	$3{,}1 \times 10^{-6}$
FAAH C385A (DOM) x CHA	0,72	0,24	0,26-1,19	3,05	$2{,}3 \times 10^{-3}$

CHA: gyermekkori trauma száma

9.ábra A FAAH C385A, a gyermekkori trauma száma (CHA) és a fenotípus skála pontszámok összefüggése



A FAAH C385A A allél hordozása a CHA emelkedésével magasabb szorongásos és depressziós pontszámmal való együttjárást eredményez.

6.táblázat A fenotípus skála pontszámok a különböző genotípus és trauma csoportok közötti eloszlása, összefüggéseik szignifikanciája

	ZSDS	BSI-DEP	BSI-ANX	STAI-S	STAI-T
CHA 1					
CC	37,9±5,2	0,45±0,55	0,63±0,63	36,1±10,7	38,3±9,8
CA+AA	38,1±5,8	0,50±0,60	0,57±0,63	36,9±11,0	38,9±10,0
CHA 2					
CC	39,9±5,3	0,71±0,78	0,84±0,75	38,9±8,7	41,9±9,6
CA+AA	39,0±5,5	0,66±0,73	0,73±0,65	38,8±10,3	41,5±10,7
CHA 3					
CC	39,9±6,6	0,77±0,92	0,81±0,83	40,4±14,5	42,7±12,4
CA+AA	44,1±7,8	1,35±1,11	1,52±1,07	47,4±14,9	50,8±13,7
p	$4x10^{-3}$	$1x10^{-3}$	$3x10^{-6}$	0,052	$5x10^{-3}$

Az vizsgálat becsült ereje az interakciós elemzés során 93,3% (βG=-0,068; βE=0,053; βGE=0,054) volt a BSI-DEP és 98,1% (βG=-0,176; βE=0,0367; βGE=0,069) a BSI-ANX esetén.

4.1.3. A CNR2 R63Q SNP és a gyermekkori trauma hatásának vizsgálata szorongással összefüggésben

A vizsgálatban 921 fő (295 férfi és 626 nő, átlag életkor: 31,2±10,5 év) adatait használtuk fel. A CNR2 R63Q egyedi hatását vizsgálva azt találtuk, hogy az RR genotípus hordozása szignifikánsan magasabb ZSDS pontszámmal járt együtt a Q allél hordozáshoz képest (p=0,007), míg a STAI-T és a BSI-ANX esetén mindössze nominálisan szignifikáns volt ez az összefüggés (p_{STAI-T}=0,021 és $p_{BSI-ANX}$=0,017; 7.táblázat). Az interakciós hatás elemzése azt eredményezte, hogy az RR genotípusú személyek szignifikánsan magasabb pontszámot értek el a ZSDS, a STAI-T és a BSI-ANX skálákon abban az esetben, ha nagyobb számú gyermekkori trauma szerepelt az előzményben (p_{ZSDS}=0,009; p_{STAI-T}=0,003; $p_{BSI-ANX}$=0,001; 8. táblázat). A harmadik lépésben gén-gén interakciós hatást elemeztünk a CNR2 R63Q és a FAAH C385A SNP-k esetén. Az A allél együtt hordozása az RR genotípussal a legmagasabb ZSDS, STAI-T és

BSI-ANX pontszámmal járt együtt ebben a modellben (p_{ZSDS}=0,009; p_{STAI-T}=0,007, $p_{BSI-ANX}$=0,007; 9.táblázat). Végül, a gén-gén-környezet interakciós modell alapján elvégzett számítás azt igazolta, hogy a rizikó allélok együttes hordozása a traumatizált csoportban szignifikánsan magasabb pontszámmal járt együtt szintén a BSI-DEP, a STAI-T és a BSI-ANX skálák esetén (p_{ZSDS}=0,006; p_{STAI-T}=0,001; $p_{BSI-ANX}$=3,8x10^{-5}, 10.ábra). Az összes modell közül ebben a modellben észleltük a legmagasabb pontszámokat a traumatizált csoportban (ZSDS=43,3±6,7; BSI-DEP=1,2±0,9; STAI-T=49,9±13,2; BSI-ANX=1,4±1,0). A legalacsonyabb pontszámok az A allél hordozás esetén trauma hiányában volt látható (ZSDS=37,6±5,4; BSI-DEP=0,4±0.6; STAI-T=38,3±10,3; BSI-ANX=0,6±0,6).

7.táblázat Az R63Q egyedi hatása és a fenotípus kérdőív pontszámok átlag értékei, valamint a GLM elemzés eredményei

	RR		**RQ+QQ**		**GLM**		
	átlag±S.D.	**N (%)**	**átlag±S.D.**	**N (%)**	**df**	**F**	***p*-érték**
ZSDS	39,5±5,9	34,2%	38,4±5,8	65,8%	1	7,3	0,007
BSI-DEP	0,6±0,8	34,7%	0,5±0,7	65,3%	1	2,3	0,13
STAI-T	41,3±11,16	34,6%	39,3±10,5	65,2%	1	4,6	0,021
BSI-ANX	0,7±0,7	34,3%	0,6±0,6	65,7%	1	5,6	0,017

8.táblázat Az R63Q, a gyermekkori trauma száma (CHA) és a fenotípus kérdőív pontszámok átlag értéke, valamint a GLM elemzés eredményei

		RR		**RQ+QQ**		**GLM**		
	CHA	**átlag±S.D.**	**N (%)**	**átlag±S.D.**	**N (%)**	**df**	**F**	***p*-érték**
	0	38,3±5,2	33,6%	37,6±5,4	66,4%			
ZSDS	1	40,6±5,7	34,2%	39,2±5,2	65,8%	1	6,8	0,009
	2	42,8±7,2	42,1%	40,2±7,3	57,9%			
	0	0,4±0,6	33,9%	0,4±0,6	66,1%			
BSI-DEP	1	0,8±0,8	34,2%	0,6±0,8	65,8%	2	3,75	0,024
	2	1,2±1,0	41,7%	0,9±1,1	58,3%			

	0	38,5±9,6	33,7%	38,3±10,3	66,3%			0,003
STAI-T	1	44,0±11,0	34,2%	40,8±9,4	65,8%	2	3,78	
	2	48,5±13,7	42,1%	43,1±12,8	57,9%			
	0	0,6±0,6	33,8%	0,6±0,6	66,2%			0,001
BSI-ANX	1	0,9±0,7	34,8%	0,7±0,7	65,2%	1	11,30	
	2	1,4±1,0	39,6%	0,8±0,9	60,4%			

9.táblázat A gén-gén (R63Q és C385A) interakció vizsgálat eredményei

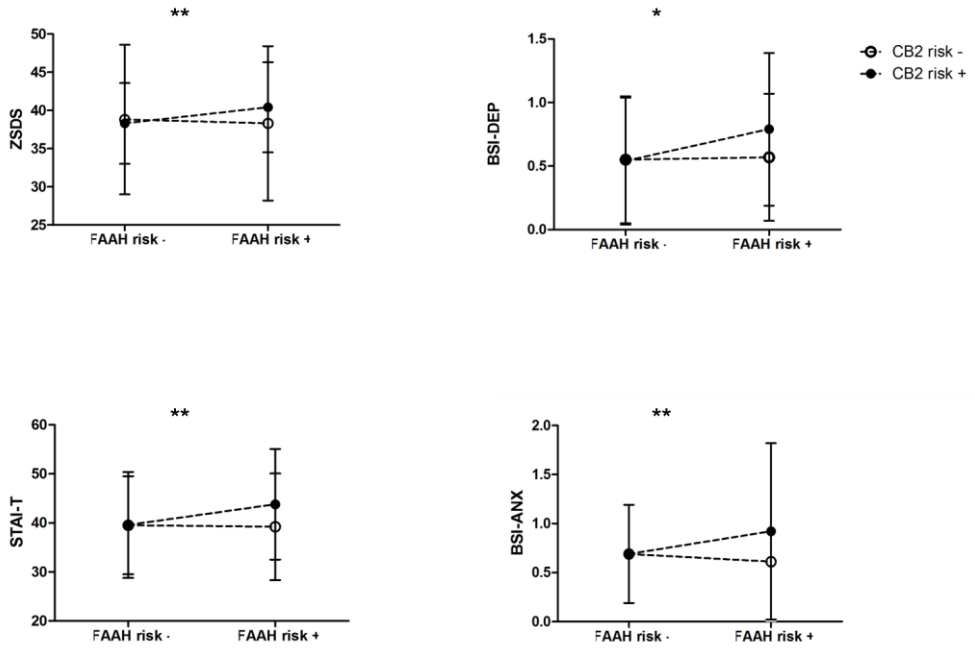
		***FAAH* C385A**		**GLM**		
		CC	**CA+AA**	**df**	**F**	***p*-érték**
	CNR2	**átlag±S.D.**	**átlag±S.D.**			
ZSDS	RR	38,6±5,7 (n=60,4%)	40,4±5,9 (n=39,6%)	1	6,8	0,009
	RQ+QQ	38,3±5,3 (n=58,7%)	37,9±6,3 (n=41,3%)			
	CNR2					
BSI-DEP	RR	0,5±0,7 (n=60,8%)	0,8±0,9 (n=39,2%)	1	3,76	0,053
	RQ+QQ	0,5±0,7 (n=62,7%)	0,57±0,8 (n=37,3%)			
	CNR2					
STAI-T	RR	39,4±10,7 (n=60,4%)	42,9±11,5 (n=39,6%)	1	7,2	0,007
	RQ+QQ	39,5±10,3 (n=375)	38,8±10,8 (n=221)			
	CNR2					
BSI-ANX	RR	0,7±0,6 (n=32,6%)	0,9±0,8 (n=67,4%)	1	7,3	0,007
	RQ+QQ	0,7±0,7 (n=62,8%)	0,6±0,6 (n=37,2%)			

10.táblázat A GxGxE interakció a CNR2, FAAH és a CHA között az affektív fenotípussal összefüggésben

	CNR2	FAAH	ZSDS	BSI-DEP	STAI-T	BSI-ANX	N (%)
CHA-	RR	CA+AA	37,8±5,4	0,43±0,5	37,6±10,0	0,60±0,64	14,4%
		CC	39,1±4,9	0,48±0,5	39,7±8,9	0,62±0,68	9,1%
	RQ+QQ	CA+AA	37,8±5,1	0,46±0,5	38,7±10,2	0,64±0,67	29,4%
		CC	37,4±6,0	0,47±0,6	37,7±10,4	0,53±0,59	17,5%
CHA+	RR	CA+AA	43,3±6,7	1,2±0,9	43,5±11,3	0,89±0,7	6,5%
		CC	40,4±6,0	0,81±0,7	49,9±13,2	1,4±1,0	4,4%
	RQ+QQ	CA+AA	39,8±5,7	0,72±0,8	41,7±10,5	0,78±0,79	11,7%
		CC	39,4±6,7	0,71±0,8	41,7±11,5	0,77±0,74	6,6%
***p*-érték**			**0,04**	**0,006**	**0,001**	**3,8 x10^{-5}**	

Gyermekkori trauma csoportjai: Nincs (CHA-); 1 vagy annál több (CHA+).

10.ábra A CNR2 R63Q and FAAH C385A szignifikáns interakciós hatása a különböző fenotípus skála pontszámokkal összefüggésben



A „risk” allél a FAAH esetén az A allélja a C385A SNP-nek és az R allél a CB2R gén

R63Q SNP-nek.

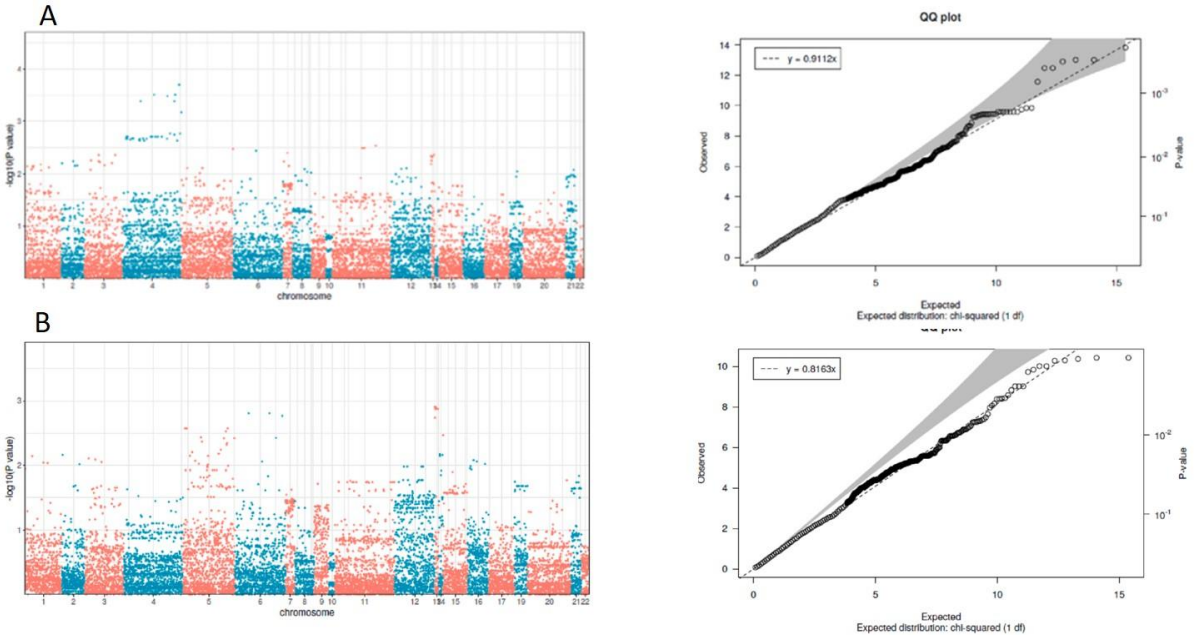
* p<0,05; ** p<0,01

4.1.4. Az eCB jelátviteli útvonal genetikai markereinek vizsgálata

A BP minta 837 főből (278 férfi és 569 nő, átlag életkor: 30,8±10,5 év volt), a MN minta 988 fő (265 férfi és 723 nő, életkor: 34,0±10,4 év) főből állt.

A BP mintában a legmarkánsabb szignifikancia értékkel a KCNJ3 génben található SNP mutatott összefüggést a depressziós pontszámmal a regressziós modellben (p=6,1x10^{-5}) és ugyanennek az SNP-nek az interakciós hatása bizonyult a legerősebbnek a GxE modellben is (11. és 12. táblázat). További szignifikáns asszociáció volt azonosítható a GNB5, a MAPK10 és a CACNA1C gének régióiban elhelyezkedő SNP-éivel is. A BP minta összes SNP eloszlását a 11. ábra mutatja be.

11.ábra A BP minta Manhattan és Q-Q grafikus ábrázolása az összes SNP-re nézve



Az SNP-k szinifikancia értékeinek ábrázolása a kromoszómák sorrendjében depressziós (A) és a szorongásos (B) fenotípussal összefüggésben.

11.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a BP mintában vizsgált SNP-k a BSI-DEP varianciájára gyakorolt hatásai alapján

Rank	rsID	Gén	régió	Est	SE	Wald *p*-value
1	rs63005164	*KCNJ3*	intron	0,129	0,032	6,1x10^{-5}
2	rs1077383	*GNB5*	upstream	0,163	0,042	1,2x10^{-4}
3	rs12903769	*GNB5*	upstream	0,156	0,042	2,3x10^{-4}
4	rs8025737	*GNB5*	upstream	0,154	0,042	2,3x10^{-4}

5	rs7659520	*MAPK10*	intron	0,176	0,050	$3,9x10^{-4}$
6	rs13110593	*MAPK10*	intron	0,176	0,050	$3,9x10^{-4}$
7	rs28756326	*MAPK10*	intron	0,176	0,050	$3,9x10^{-4}$
8	rs12593936	*GNB5*	upstream	0,156	0,044	$3,9x10^{-4}$
9	rs12593938	*GNB5*	upstream	0,155	0,044	$4,1x10^{-4}$
10	rs12916135	*GNB5*	upstream	0,155	0,044	$4,1x10^{-4}$

12.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a BP mintában vizsgált SNP-k és a gyermekkori trauma GxE interakciós hatása a BSI-DEP varianciájára

Rank	rsID	Gén	Régió	Est	SE	Joint *p*-value
1	rs63005164	*KCNJ3*	intron	-0,037	0,069	$6,1x10^{-5}$
2	rs7975229	*CACNA1C*	intron	0,172	0,148	$1,2x10^{-4}$
3	rs12593939	*GNB5*	upstream	-0,002	0,092	$1,2x10^{-4}$
4	rs12916135	*GNB5*	upstream	-0,002	0,092	$1,2x10^{-4}$
5	rs35712143	*GNB5*	upstream	-0,002	0,092	$1,2x10^{-4}$
6	rs7183278	*GNB5*	upstream	-0,002	0,092	$1,4x10^{-4}$
7	rs4776013	*GNB5*	upstream	-0,002	0,092	$1,4x10^{-4}$
8	rs12593936	*GNB5*	upstream	0,001	0,093	$1,4x10^{-4}$
9	rs12903769	*GNB5*	upstream	0,027	0,090	$1,5x10^{-4}$
10	rs1077383	*GNB5*	3’ UTR	0,021	0,089	$1,5x10^{-4}$

A szorongásos fenotípust tekintve, a legrobosztusabb hatása a GNG12 génben található SNP-knek volt (p=$6,7x10^{-6}$). Hasonló nagyságrendű *p*-értékkel a PLB1 gén SNP mutatott összefüggést a BSI-ANX pontszámmal (13. táblázat). A GxE interakciós modellben a GNG12, a GABRB3, a CACNA1D és a PLB1 gének markereivel találtunk erős összefüggést a szorongásos fenotípusra vonatkozóan (14.táblázat).

13.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a BP mintában vizsgált SNP-k a BSI-ANX varianciájára gyakorolt hatásai alapján

Rank	rsID	Gén	régió	Est	SE	Wald *p*-value
1	rs3766267	*GNG12*	intron	0,747	0,167	$7,4x10^{-6}$
2	rs17130232	*GNG12*	intron	0,747	0,167	$7,4x10^{-6}$
3	rs17130233	*GNG12*	intron	0,747	0,167	$7,4x10^{-6}$
4	rs116547574	*PLB1*	intron	0,430	0,096	$7,4x10^{-6}$
5	rs115860390	*PLB1*	intron	0,430	0,096	$7,4x10^{-6}$
6	rs144519463	*GNG12*	intron	0,746	0,167	$7,7x10^{-6}$
7	rs41296163	*GNG12*	3’ UTR	0,745	0,167	$7,8x10^{-6}$
8	rs184476856	*GNG12*	intron	0,745	0,167	$7,8x10^{-6}$
9	rs114212567	*PLB1*	intron	0,413	0,099	$2,9x10^{-5}$
10	rs75893014	*PLB1*	intron	0,416	0,101	$3,5x10^{-5}$

14.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a BP mintában vizsgált SNP-k és a gyermekkori trauma GxE interakciós hatása a BSI-ANX varianciájára

Rank	rsID	Gén	régió	Est	SE	Joint *p*-value
1	rs3766267	*GNG12*	intron	1,475	0,473	$1,4x10^{-5}$
2	rs17130232	*GNG12*	intron	1,475	0,473	$1,4x10^{-5}$
3	rs17130233	*GNG12*	intron	1,475	0,473	$1,4x10^{-5}$
4	rs144519463	*GNG12*	intron	1,475	0,473	$1,4x10^{-5}$
5	rs41296163	*GNG12*	3' UTR	1,474	0,473	$1,5x10^{-5}$
6	rs184476856	*GNG12*	intron	1,474	0,473	$1,5x10^{-5}$
7	rs2162243	*GABRB3*	upstream	-0,051	0,301	$1,5x10^{-5}$
8	rs28835384	*GABRB3*	upstream	-0,051	0,301	$1,5x10^{-5}$
9	rs13084908	*CACNA1D*	upstream	-0,174	0,125	$2,4x10^{-5}$
10	rs116547574	*PLB1*	intron	0,446	0,256	$2,5x10^{-5}$

A MN mintában általánosságban gyengébb p-értékű asszociációk szerepeltek a BP mintához viszonyítva a nagyobb elemszám ellenére. A PRKCB, az ITPR2, a KCNJ6 és a PLCB1 géneket jelölő SNP-k jelentek meg a top 10 *p*-érték listában a depressziós fenotípusra vonatkozóan (15. táblázat). A GxE interakciós modellben vizsgálva az adatokat azt találtuk, hogy a CACNA1C, a GNG2, a PRKCB, az ADCY1 és a GRIA2 gének területén elhelyezkedő SNP-k mutattak markáns asszociációt a BSI-DEP pontszámmal (16. táblázat). A MN minta SNP eloszlásait a 12.ábra szemlélteti.

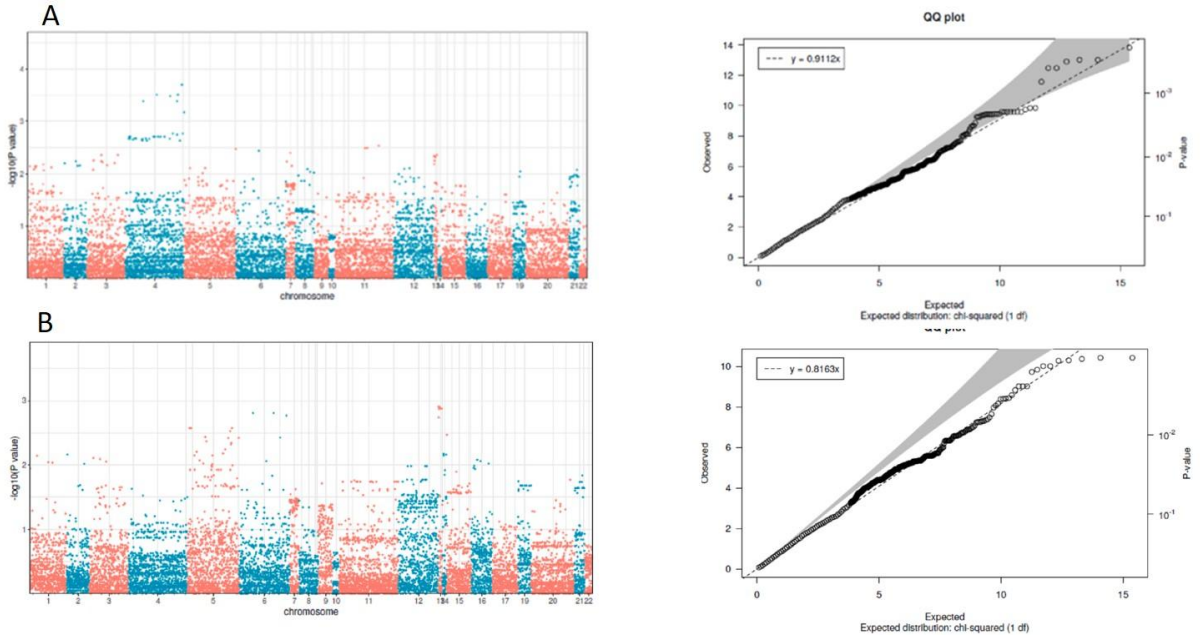
15.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a MN mintában vizsgált SNP-k a BSI-DEP varianciájára gyakorolt hatásai alapján

Rank	rsID	Gén	Régió	Est	SE	Wald p-value
1	rs17809041	*PRKCB*	intron	-0,290	0,078	$5,0x10^{-4}$
2	rs901835	*ITPR2*	downstream	-0,183	0,055	$9,7x10^{-4}$
3	rs901837	*ITPR2*	downstream	-0,180	0,055	$1,1x10^{-3}$
4	rs7976546	*ITPR2*	downstream	-0,180	0,055	$1,1x10^{-3}$
5	rs1628656	*KCNJ6*	intron	0,390	0,121	$1,2x10^{-3}$
6	rs7978483	*ITPR2*	downstream	-0,179	0,055	$1,2x10^{-3}$
7	rs857949	*KCNJ6*	intron	0,389	0,121	$1,2x10^{-3}$
8	rs857950	*KCNJ6*	intron	0,389	0,121	$1,2x10^{-3}$
9	rs62195911	*PLCB1*	intron	0,671	0,217	$1,9x10^{-3}$
10	rs62195912	*PLCB1*	intron	0,671	0,217	$1,9x10^{-3}$

16.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a MN mintában vizsgált SNP-k és a gyermekkori trauma GxE interakciós hatása a BSI-DEP varianciájára

Rank	rsID	Gén	Régió	Est	SE	Joint *p*-value
1	rs2239097	*CACNA1C*	intron	0,144	0,109	$1{,}6 \times 10^{-4}$
2	rs3742539	*GNG2*	intron	0,232	0,175	$6{,}4 \times 10^{-4}$
3	rs3742540	*GNG2*	intron	0,232	0,175	$1{,}4 \times 10^{-3}$
4	rs3742541	*GNG2*	intron	0,232	0,175	$1{,}5 \times 10^{-3}$
5	rs10848668	*CACNA1C*	intron	0,171	0,121	$1{,}9 \times 10^{-3}$
6	rs17809041	*PRKCB*	intron	-0,048	0,151	$2{,}2 \times 10^{-3}$
7	rs11762453	*ADCY1*	intron	-0,086	0,103	$2{,}7 \times 10^{-3}$
8	rs11771815	*ADCY1*	intron	-0,065	0,102	$2{,}9 \times 10^{-3}$
9	rs114405569	*GRIA2*	intron	-0,116	0,301	$2{,}9 \times 10^{-3}$
10	rs77819592	*GRIA2*	intron	-0,116	0,301	$2{,}9 \times 10^{-3}$

12.ábra A MN minta Manhattan és Q-Q grafikus ábrázolása az összes SNP-re nézve



Az SNP-k szinifikancia értékeinek ábrázolása a kromoszómák sorrendjében depressziós (A) és a szorongásos (B) fenotípussal összefüggésben.

Ami a szorongásos fenotípust illeti, ebben a modellben találtuk a leggyengébb szignifikancia szinteket. Ugyanakkor a HTR2A génben található SNP-k (a missense rs1805055 SNP-t is beleértve), amely gén klasszikus kandidáns génnek tekinthető, konzekvensen megjelentek a top 10 *p*-érték listában mindkét modellben. Emellett jelentős hatásúnak bizonyult az ADCY2 és a CACNA1B génekhez tartozó SNP-k a szorongásra nézve (17 és 18. táblázat).

17.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a MN mintában vizsgált SNP-k a BSI-ANX varianciájára gyakorolt hatásai alapján

Rank	rsID	Gén	Régió	Est	SE	Wald p
1	rs117382368	*ADCY1*	intron	0,663	0,187	$4{,}0 \times 10^{-4}$
2	rs147978030	*ADCY1*	intron	0,663	0,187	$4{,}0 \times 10^{-4}$
3	rs60697399	*ADCY1*	intron	0,546	0,188	$4{,}6 \times 10^{-4}$
4	rs117388050	*HTR2A*	intron	0,546	0,157	$4{,}8 \times 10^{-4}$
5	rs1805055	*HTR2A*	exon	0,546	0,157	$4{,}9 \times 10^{-4}$
6	rs115590113	*ADCY1*	intron	0,616	0,184	$8{,}3 \times 10^{-4}$
7	rs116609112	*ADCY1*	downstream	0,636	0,192	$9{,}0 \times 10^{-4}$
8	rs183628399	*ADCY1*	downstream	0,635	0,192	$9{,}1 \times 10^{-4}$
9	rs147924502	*ADCY1*	intron	0,634	0,192	$9{,}3 \times 10^{-4}$
10	rs142957688	*ADCY1*	intron	0,634	0,192	$9{,}3 \times 10^{-4}$

18.táblázat A TOP 10 szignifikanciát elérő SNP-ket bemutató lista a MN mintában vizsgált SNP-k és a gyermekkori trauma GxE interakciós hatása a BSI-ANX varianciájára

Rank	rsID	Gén	Régió	Est	SE	Joint *p*-value
1	rs12552643	*CACNA1B*	intron	0,483	0,129	$8{,}6 \times 10^{-4}$
2	rs140288968	*HTR2A*	intron	1,730	0,489	$1{,}4 \times 10^{-3}$
3	rs117388050	*HTR2A*	intron	0,763	0,350	$1{,}4 \times 10^{-3}$
4	rs1805055	*HTR2A*	exon	0,763	0,349	$1{,}4 \times 10^{-3}$
5	rs117382368	*ADCY1*	intron	0,737	0,436	$1{,}7 \times 10^{-3}$
6	rs147978030	*ADCY1*	intron	0,737	0,436	$1{,}7 \times 10^{-3}$
7	rs111280417		intergenic	1,312	0,370	$1{,}7 \times 10^{-3}$
8	rs111570063		intergenic	1,312	0,370	$1{,}7 \times 10^{-3}$
9	rs112659086		intergenic	1,312	0,370	$1{,}7 \times 10^{-3}$
10	rs189735918		intergenic	1,312	0,370	$1{,}7 \times 10^{-3}$

4.1.5. A KCNJ6 és a CREB1 gének hatásának vizsgálata rumináciával összefüggésben

A vizsgálatban a BP, a MN és a Würzburg minták adatait elemztük (a 3 minta nembeli, életkorbeli és depresszió prevalencia jellemzőit a 19. táblázat szemlélteti).

Az egyedi hatásuk a KCNJ6 (rs2070995) és a CREB1 (rs2253206) SNP-knek nem volt szignifikáns a ruminációs fenotípusra vontakozóan sem a BP sem a MN mintában. A két SNP interakciós hatása ugyanakkor szignifikánsnak bizonyult az RRS pontszám variábilitás tekintetében mindkét minta esetében (20.táblázat, 13.ábra). Az KCNJ6 homozigóta TT és a CREB1 homozigóta GG genotípus hordozók szignifikánsan magasabb pontszámot értek el a többi genotípusúakhoz képest (p_{BP}=0,0009; p_{MN}=0,0027). Az interakciós hatások statisztikai ereje jelentős maradt a nemre történő korrekció esetén is. A Brooding és Reflection tételek külön-külön vizsgálata nem mutatott szignifikáns asszociációt egyik mintában sem.

19. táblázat A vizsgálati minták nem, életkor és depresszió prevalencia jellemzői

	BP minta	MN minta	Würzburg minta
N	651	1174	565
Életkor	30,0±10,69	34,17±10,43	34,98±12,67
Férfiak	124 (19,0%)	349 (29,3%)	238 (42,1%)
Nők	527 (81,0%)	841 (70,7)	327 (57,9%)
MDD prevalenciája	131 (20,1%) (ÉT prevalencia)	527 (44,3%) (ÉT prevalencia)	84 (14,9%) (P prevalencia)

ÉT, élettartam; P, pont

20.táblázat Az rs2070995 és a rs2253206 interakciós hatása az RRS pontszámra a BP (a) és a MN mintában (b)

a)

Az RRS skála pontszám átlag±S.D. a BP mintában

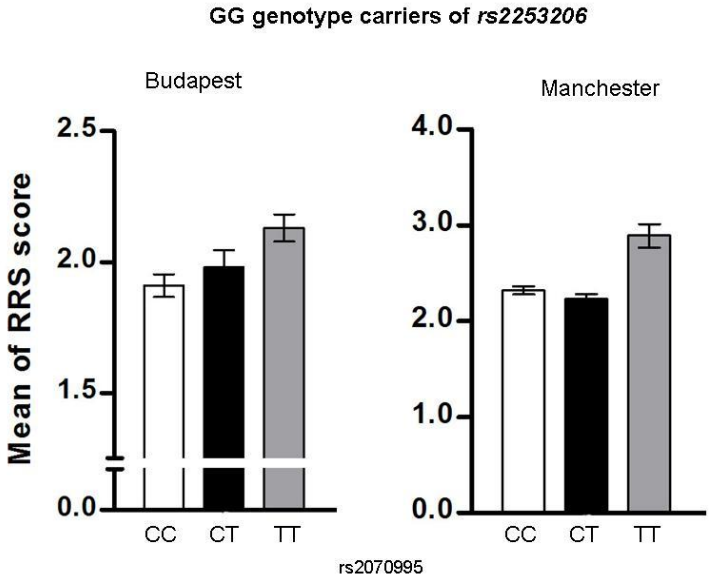
p_{int}=0,0009		rs2070995 *(KCNJ6)*		
		CC	**CT**	**TT**
rs2253206 (*CREB1*)	**GG**	1,91±0,04 (n=96)	1,98±0,07 (n=50)	2,13±0,05 (n=9)
	GA	1,94±0,030(n=192)	2,10±0,05(n=102)	2,00±0,08 (n=20)
	AA	2,08±0,050 (n=86)	1,8±0,07 (n=48)	2,06±0,14 (n=8)

b)

Az RRS kála pontszám átlag±S.D. a MN mintában

p_{int}=0,0027		rs2070995 *(KCNJ6)*		
		CC	**CT**	**TT**
rs2253206 (*CREB1*)	**GG**	2,32±0,043 (n=187)	2,23±0,051 (n=116)	2,89±0,122 (n=9)
	GA	2,26±0,032 (n=358)	2,22±0,043 (n=207)	2,07±0,159 (n=22)
	AA	2,15±0,044 (n=169)	2,32±0,070 (n=93)	2,12±0,189 (n=13)

13.ábra Az rs2253206 GG genotípust hordozó csoporton belül az rs2070995 SNP genotípus elsozlása és az alcsoportokhoz tartozó RRS pontszámok



Az rs2070995 T allél minél nagyobb számú hordozása magasabb RRS pontszámmal jár együtt az rs2253206 GG genotípust hordozók között mindkét mintában.

A fenti két SNP hatását egy harmadik mintában (Würzburg) is vizsgáltuk személyiségzavarral és vonással összefüggésben. A KCNJ6 variáns önmagában nem mutatott szignifikáns asszociációt, azonban a CREB1 rs22553206 G allélja az A allélhoz képest csökkent pontszámmal járt együtt a NEO PR Barátságosság (beta=-2,44; SE=0,89, *p*=0,006) és Lelkiismeretesség (beta=-3,54; SE=1,2; *p*=0,004) alskáláján, míg a TPQ Újdonságkeresés alskáláján magasabb pontszámmal társult (beta=0.85, SE=0,31; *p*=0,006). A gén-gén interakciós próba alapján az együttes hatás szignifikáns asszociációt mutatott a C klaszterű személyiség csoporttal (OR, 95% C.I. és *p*-érték a rs2070995 T allél esetében: 0,72; 0,54-0,96; 0.02; a rs2253206 G ellél esetében: 0.40; 0,21-0,74; 0,004; az interakció esetén: 1,94; 1,24-3.03; *p*=0,003).

A CREB1 génben található rs2253206 potentciális transzkripciós faktor kötődési profilját in silico analízis segítségével vizsgáltuk. A G allélhez tartozóan a GR-alpha transzkripciós faktor, míg az A alléhoz tartozóan a HNF1A, a HNF1B és a HNF1C faktorok kötődési helyét lehetett azonosítani több, mint 90%-os valószínűséggel a TRANSFAC adatbázis alapján a PROMO web-alapú szoftver alkalmazásával (Messeguer *et al.*, 2002).

4.2. Klinikai vizsgálatok

4.2.1. A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálata

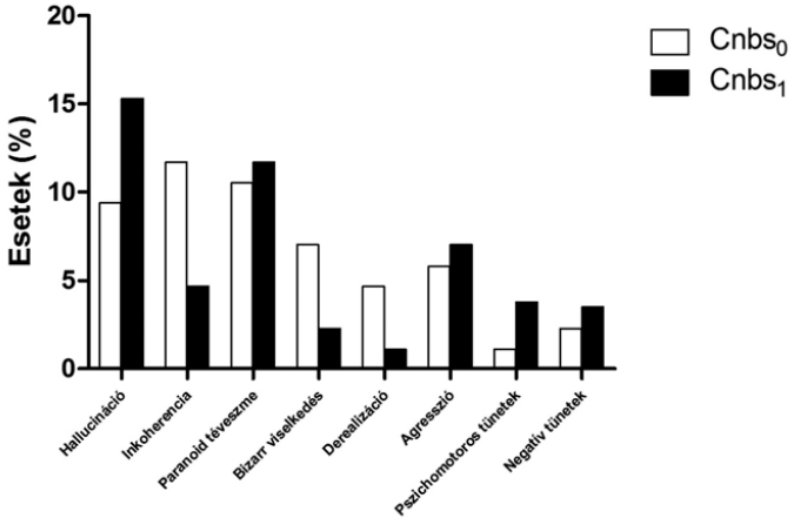
A $Cnbs_1$ csoport átlag életkora szignifikánsan alacsonyabb volt (24,45±4,4 év vs. 31,3±3,0 év; *p*=0,0001) és a férfiak aránya magasabb volt a $Cnbs_0$ csoporthoz képest (OR=2,3; *p*=0,007; 21. táblázat). A kannabisz dependenciával élők magasabban kvalifikált (*p*=0,001) és jobb szociális körülmények közötti páciensek voltak (*p*=0,002) a másik csoporthoz képest. A kannabiszt nem használó férfi betegek körében majdnem 5-ször nagyobb eséllyel fordult elő öngyilkossági kísérlet (OR=5,25; *p*=0,016). A hospitalizáció időtartama a $Cnbs_0$ csoportban szignifikánsan hosszabb volt (*p*=0,026). A dohányzást jellemző cigaretta/nap (cigarette per day, CPD) értéke alapján számított erős dohányos (CPD>10) szintén szignifikánsan magasabb volt a kannabiszt nem használók csoportjában (OR=1,36; *p*=0,047) a $Cnbs_1$ csoporthoz képest. A pszichotikus tünetek előfordulását tekintve szignifkáns különbség nem volt detektálható. A $Cnbs_0$ kategóriába tartozók között az inkoherens gondolkodás, a $Cnbs_1$ csoportba sorolt pácienseknél a hallucináció volt a leggyakoribb tünet, ugyanakkor az agresszió egyforma arányban fordult elő a 2 csoportban (14. ábra). A felvételi állapot és az emissziókor észlelt javulás mértéke a két betegcsoportban nem különbözött számottevően a CGI-S és CGI-I pontszámok alapján (21.táblázat).

21.táblázat A vizsgálati minta anamnesztikus és szociodemográfiai jellemzői

	$Cnbs_0$ (n=43)	**$Cnbs_1$** (n=42)	***p-érték***(OR; 95%C.I.)
Életkor (átlag±S.D.)	31,3±3	24,45±4,4	**0,0001**
Nem (n)			
Férfiak	22 (51%)	33 (78%)	**0,007** (2,28; 1,18-4,38)
Nők	21 (48%)	9 (21%)	
pozitív pszichiátriai familiáris anamnézis (n)	10 (23%)	7 (17%)	ns
Szülők korai halála (n)	10 (23%)	4 (0,9%)	ns
Szuicidális kísérlet (n)	11 (26%)	6 (14%)	ns
férfiakban	7 (0,9%)	2 (0,03%)	**0,016** (5,25;1,2-22,97)
Dohányzás (n)	23 (53%)	19 (45%)	**0,047** (1,36; 0,98-1,89)
Alkohol fogyasztás (n)	12 (28%)	13 (31%)	ns
Iskolázottság (n)			

általános iskola	27	18	**0,001**
szakközépiskola	10	7	
főiskola	5	16	
egyetemi diploma	1	1	
Munkaviszony (n)			
nincs	31	24	**0,002**
átmeneti	1	8	
tartós	7	1	
rehab.foglalkoztatott	4	9	
Családi állapot (n)			
hajléktalan	6	1	ns
egyedülálló	3	10	
házas/élettársi kapcsolat	8	0	
szüleivel él	25	29	
intézetben él	1	2	

14.ábra A szkizofréniaspektrumzavar tüneteinek eloszlása a $Cnbs_0$ és $Cnbs_1$ csoportok közöt



A tünetek gyakorisága között szignifikáns eltérés nem volt a 2 csoportban.

Az alkalmazott gyógyszeres kezelés különbségeit szintén vizsgáltuk a két csoportban. A $Cnbs_0$ csoportban az akut kezelés során aripiprazolt és ziprasidont nem alkalmaztunk egyáltalán. Annak az esélye, hogy olanzapint vagy aripiprazolt kaptak fenntartó terápiaként a $Cnbs_1$ csoportba tartozó betegeknek több, mint 2,5-szerese volt a kannabiszt nem használókhoz képest (OR=2,66; p=0,048 és OR=3,67; p=0,052; 22. táblázat). A típusos és atípusos antipszichotikumok alkalmazása egyforma volt a 2 csoportban (p=0,78). Az átlagos gyógyszer dózisok tekintetében megállapítható volt, hogy a $Cnbs_0$ csoportba tartozók magasabb dózisokat kaptak, kivéve az olanzapin és a zuclopenthixol esetében. A kvetiapin dózisa trendszerűen magasabb volt a $Cnbs_0$ csoportban (p=0,053). Ugyan a klonazepam

dózisának átlag értékei a két csoportban nem különbözött jelentősen, a kannabisz dependens férfi pácienseknél trendszerűen magasabb adagra volt szükség (p=0,053) a $Cnbs_0$ csoport férfi tagjainál alkalmazott mennyiséghez képest (23. táblázat, 15.ábra).
A hosszútávú terápia vonatkozásában a kannabisz dependens páciensek magasabb dózisban beállított klozapint és alprazolamot igényeltek, ugyanakkor az olanzapint a $Cnbs_0$ csoportba tartozók szignifikánsan magasabb dózisban kapták a $Cnbs_1$ csoporthoz képest (p=0,040; 15.ábra).

A tartós hatású antipszichotikum injekció (long-acting injectable antipsychotic, LAI) beállítására nagyobb esélye volt a kannabisz dependens pácienseknek (OR=1,68; p=0,042). A típusos és atípusos antipszichotikum tartalmú LAI alkalmazási gyakorisága a két csoport között nem különbözött (p=0,67). A riszperidon hatóanyagú LAI dózisa (6 hónapra számolva) marginális szignifikancia szinten magasabb volt a $Cnbs_0$ csoportban (p=0,063) és a $Cnbs_0$ csoportba tartozó nőknél szignifikánsan magasabb dózist alkalmaztunk a $Cnbs_1$ csoportba tartozó nőkhöz viszonyítva (p=0,020; 22. táblázat).

22.táblázat A különböző antipszichotikum választásának esélye a $Cnbs_1$ alcsoportban

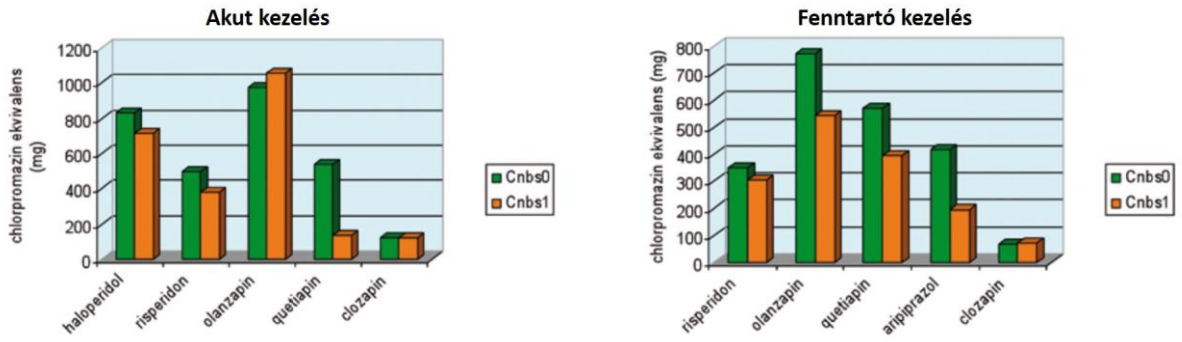
	A kezelés esélye (O.R.) a $Cnbs_1$ csoporton belül	**95%C.I.**	***p-érték***
Akut kezelés			
olanzapin	2,66	0,75-9,37	**0,048**
aripiprazol	0,47	0,37-0,59	**0,023**
Fenntartó kezelés			
aripiprazol	3,67	0,59-22,86	**0,052**
Hosszúhatású antipszichotikum injekció (LAI)	1,68	0,94-3,01	**0,042**
HPDC	0,47	0,37-0,59	**0,023**

23.táblázat Akut és fenntartó kezelés során alkalmazott gyógyszerek dózisai $Cnbs_1$ és $Cnbs_0$ csoportokban

	$Cnbs_0$	**$Cnbs_1$**	***p-érték***
Akut kezelés(mg/day)			
haloperidol	16,63±11,18 (n=8)	14,27±7,82 (n=13)	ns
riszperidon	5,50±4,03 (n=10)	4,22±1,85 (n=9)	ns
olanzapin	24,38±15,45 (n=8)	26,50±33,23 (n=2)	ns

kvetiapin	**600,0±316,22 (n=8)**	**153,33±214,55 (n=3)**	**0,053**
aripiprazol	30,0±0,00 (n=5)	-	-
klozapin	300,0±100 (n=3)	300±0,0 (n=1)	ns
ziprasidon	160,0±0 (n=2)	-	-
alprazolam	2,34±1,28 (n=7)	1,81±0,89 (n=4)	ns
klonazepam	3,33±1,83 (n=18)	4,25±2,01 (n=16)	ns
férfiakban	**2,94±1,89 (n=8)**	**4,69±1,88 (n=13)**	**0,053**
diazepam	40,0±0 (n=2)	33,33±5,77 (n=3)	ns
Fenntartó kezelés (mg/day)			
aripiprazol	30,0±15,35 (n=6)	15,0±0 (n=1)	ns
klozapin	162,50±194,45 (n=2)	175,0±139,19 (n=3)	ns
olanzapin	**19,29±1,89 (n=7)**	**13,61±6,96 (n=10)**	**0,040**
kvetiapin	633±239,79 (n=9)	440,0±341,23 (n=5)	ns
riszperidon	3,88±1,35 (n=8)	3,38±1,19 (n=13)	ns
alprazolam	**1,30±0,51 (n=11)**	**1,90±0,742 (n=5)**	**0,076**
klonazepam	3,36±1,95 (n=11)	2,80±2,15 (n=10)	ns
Antipszichotikum LAI (n)	15 (34%)	8 (19%)	ns
riszperidon (mg/6 months)	**578,57±56,69 (n=7)**	**430,00±178,88 (n=5)**	**0,063**
in women	**600±0,0 (n=2)**	**250±70,71 (n=2)**	**0,020**
zuclopenthixol (mg/6months)	1733,33±611,01 (n=3)	2400,0±0,0 (n=2)	ns
flupenthixol (mg/6months)	160,0±0,0 (n=1)	180,0±84,85 (n=2)	ns
HPDC (mg/6months)	480±164,31 (n=5)	-	**-**
Hospitalizációs idő (nap)	**35,72±26,96**	**23,02±19,28**	**0,026**
CGI-S	4,98±0,55	5,22±0,51	ns
CGI-I	2,51±0,79	2,59±0,57	ns

15. ábra A különböző antipszichotikumok dózisának ábrázolása az akut kezelés (a) és a fenntartó kezelés (b) esetében a két vizsgált alcsoportban.



A dózisokat klórpromazin ekvivalencia alapján adtuk meg (Woods, 2003). Az akut kezelés során a kvetiapin dózisa trendszinten, a fenntartó kezelés esetén az olanzapin dózisa szignifikánsan alacsonyabb volt a $Cnbs_1$ csoportban.

4.2.2. A perifériás endokannabinoid szint mérése terápia rezisztens depresszióban szenvedő betegek rTMS kezelés hatásával összefüggésben

A tüneti skálák átlag pontszámai mind a 2. vizitre, mind a 3. vizit idejére csökkent a kiindulási értékekhez képest (24. táblázat). Az affektív tüneteket tekintve, a BDI pontszám szignifikánsan csökkent a 2. és a 3. vizit időpontjára az elsőhöz képest ($p_{v1\text{-}v2}$=0,003; $p_{v1\text{-}v3}$=0,005), tehát a kezelés végére elért javulás a beavatkozást követő 2. héten is megmaradt. Az anhedónia esetében a 2. viziten csak trendszerű csökkenés volt érzékelhető, majd a 3. viziten már szignifikáns SHAPS pont szám csökkenés volt detektálható a kiinduláshoz képest ($p_{v1\text{-}v2}$=0,078; $p_{v1\text{-}v3}$=0,0046). A szorongást mérő BAI skála pontszámai mind a 2. (p=0,006) és a 3. vizit (p=0,001) időpontjára szignifikáns csökkenést mutatott. Az alvászavart jelző skála átlagértékei szintén szignifikáns javulást tükröztek mindkét mérési pontban ($p_{v1\text{-}v2}$=0,046; $p_{v1\text{-}3}$=0,001). A neurokognitív funkciókat mérő tesztek esetében azt találtuk, hogy a TMT-A és TMT-B feladat teljesítéséhez rövidebb időre volt szüksége a pácienseknek a kezelés végére ($p_{v1\text{-}v2}$=0,020; $p_{v1\text{-}v3}$=0,039 a TMT-A esetében és $p_{v1\text{-}v2}$=0,030; $p_{v1\text{-}v3}$=0,028 a TMT-B esetében). Ugyanakkor a SCWT-W teszt teljesítésének ideje nőtt a 4. hét végére ($p_{v1\text{-}v3}$=0,029), továbbá a SCWT-CW idő értéke szignifikáns emelkedést mutatott a 2. hét végére (p=0,006), míg a hibák száma csökkent (p_{error}=0,029). Az SCWT-W/C szignifikánsan emelkedett mindkét mérési végpontban (v_1=0,57±0,09 vs, v_2=0,65±0,18 vs. v_3=0,64±0,11; $p_{v1\text{-}v2}$=0,034 és $p_{v1\text{-}v3}$=0,008), illetve a CW/C interferencia értékek nem változtak szignifkánsan (vizit$_1$=1,41±0,27 vs. vizit$_2$=1,47±0,25 vs. vizit$_3$=1,48±0,29; $p_{v1\text{-}v2}$=0,16 és $p_{v1\text{-}v3}$=0,18). Az összehasonlítások eredményeit a 24. táblázat mutatja be.

A fenti tüneti javulás mellett az rTMS kezelést minden páciens jól tolerálta és a kezelést senki nem szakította meg.

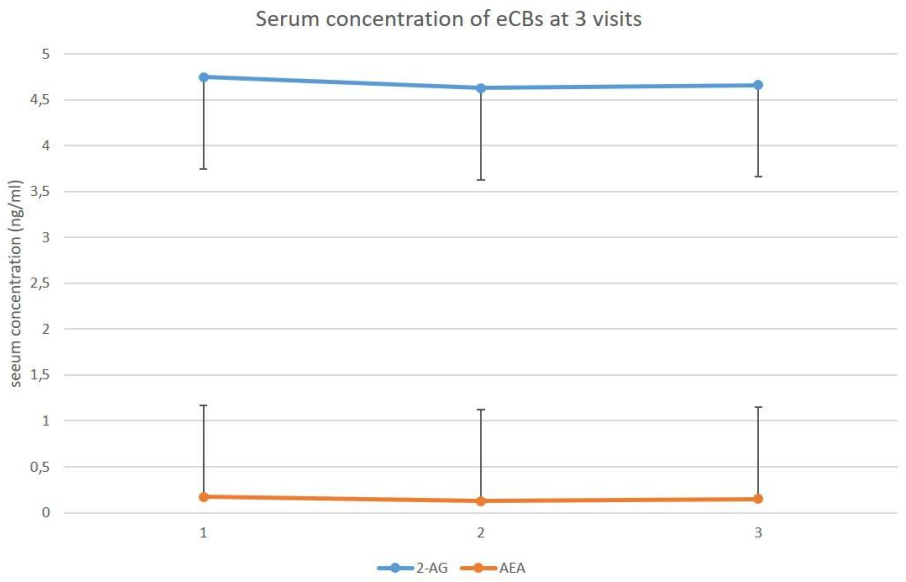
Az alkalmazott kérdőívek korrelációs próbáit is elvégeztük. A legerősebb összefüggést a BDI és a BAI között találtuk a Pearson-féle korrelációs teszt alkalmazása során (R=0,74; *p*<0,0001). A MADRS skála szintén a BDI skálával erős kapcsolatot mutatott (R=0,74; *p*<0,0001), a BAI-val azonban csak közepes szintű korrelációt találtunk (R=0,57; *p*=0,012). Ugyanakkor a MADRS és a SHAPS között korreláció nem volt igazolható (R=0,44; *p*=0,7).

24.táblázat Fenotípus skála pontszámok és eCB szérum koncentráció értékek az 1., 2. és 3. vizit időpontjában

	vizit$_1$	**vizit$_2$**	**vizit$_3$**	$p_{v1\text{-}v2}$*	$p_{v1\text{-}v3}$*
BDI	20,4±6,5	14,0±6,9	15,3±7,4	0,000006	0,003
MADRS	31,1±9,6	23,2±7,7	20,2±11,7	0,002	0,001
BAI	29,2±7,9	23,7±10,9	21,2±12,5	0,006	0,001
SHAPS	6,9±4,2	5,7±4,3	5,4±452	0,078	0,0046
ISI	14,9±6,4	12,6±6,4	10,1±5,6	0,046	0,001
TMT-A (s)	37,3±21,5	28,8±10,3	27,9±9,8	0,020	0,039
TMT-B (s)	78,8±46,6	57,0±14,0	55,6±17,5	0,030	0,028
SCWT-W$_{time}$ (s)	37,6±7,6	44,2±12,1	42,4±9,7	0,61	0,029
SCWT-C$_{time}$ (s)	65,8±9,3	68,1±11,9	66,7±11,8	0,83	0,63
SCWT-CW$_{time}$ (s)	92,9±20,2	99,5±18,5	97,9±20,9	0,006	0,066
SCWT-W$_{error}$	0,0±0,0	0,06±0,2	0,17±0,4	0,33	0,083
SCWT-C$_{error}$	0,33±0,8	0,39±0,7	0,22±0,7	0,83	0,63
SCWT-CW$_{error}$	0,39±0,7	0,28±0,6	0,06±0,2	0,60	0,029
2-AG (ng/ml)	4,86±1,43	4,57±1,2	4,95±1,9	0,33	0,80
AEA (ng/ml)	0,17±0,06	0,12±0,05	0,15±0,05	0,024	0,44

A 2-AG koncentráció átlagértéke nem változott szignifikánsan a két mérési időpontban a kiinduláshoz képest ($p_{v1\text{-}v2}$=0,3 és $p_{v1\text{-}v3}$=0,8; 16. ábra). Ugyanakkor az AEA szintje a 2. vizitre csökkent átmenetileg ($p_{v1\text{-}v2}$=0,024), majd a 3. vizit idejére visszatért az alapértékhez ($p_{v1\text{-}v3}$=0,4; 16. ábra).

16.ábra A szérum eCB koncentrációk értékei a vizit$_1$, a vizit$_2$ és a vizit$_3$ időpontjában



Az AEA esetén a szérum koncentráció szingifikáns mértékben csökkent a vizit$_2$ időpontjára a vitizit$_1$-hez képest.

A következő lépésben az eCB koncentráció változásának és a tünetek változásának korrelációját vizsgáltuk. Lineáris regressziós analízist alkalmazva azt találtuk, hogy a 2-AG szintek delta értéke trendszerű összefüggést mutatott a BDI és a BAI skálák pontszámának delta értékeivel (p_{BDI}=0,073 és p_{BAI}=0,061) az első és a második vizit közötti intervallum vizsgálata esetén. Az AEA szintek különbségei nem mutattak összefüggést a fenotípus pontszámok delta értékeivel. A részletes eredményeket a 25. és 26. táblázat valamint 17. ábra szemlélteti.

25.táblázat A lineáris regresszió eredményei a szérum 2-AG és AEA koncentrációk és a fenotípus pontszámok vizit$_1$ és vizit$_2$ időpont közötti változásainak összefüggésére vontakozóan

	unstand B	Coeff SE	Stand Coeff Beta	t	*p*-érték
BDI					
2-AG$_{v1-v2}$ (ng/ml)	-1,99	1,03	-0,47	-1,93	0,073
AEA$_{v1-v2}$ (ng/ml)	2,54	14,77	0,042	0,17	0,87
BAI					
2-AG$_{v1-v2}$ (ng/ml)	-2,83	1,39	-0,49	-2,03	0,061
AEA$_{v1-v2}$ (ng/ml)	17,58	19,9	0,21	0,88	0,39
MADRS					
2-AG$_{v1-v2}$ (ng/ml)	-1,76	2,16	-0,22	-0,82	0,42

AEA_{v1-v2} (ng/ml)	21,5	30,89	0,19	0,69	0,49
SHAPS					
$2\text{-}AG_{v1-v2}$ (ng/ml)	-0,69	0,57	-0,31	-1,20	0,25
AEA_{v1-v2} (ng/ml)	9,10	8,23	0,28	1,11	0,28
ISI					
$2\text{-}AG_{v1-v2}$ (ng/ml)	-0,65	0,95	-0,19	-0,69	0,50
AEA_{v1-v2} (ng/ml)	-2,23	13,59	-0,044	-0,16	0,87
TMT-A					
$2\text{-}AG_{v1-v2}$ (ng/ml)	-2,87	2,89	-0,26	-0,99	0,33
AEA_{v1-v2} (ng/ml)	-8,95	41,43	-0,057	-0,22	0,83
TMT-B					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	2,80	8,25	0,093	0,34	0,74
AEAv1-v2 (ng/ml)	-47,23	118,18	-0,11	-0,40	0,69
SCWT-W_{error}					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	-0,95	1,69	-0,14	-0,56	0,58
AEAv1-v2 (ng/ml)	14,41	25,94	0,14	0,56	0,58
SCWT-C_{error}					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	-0,010	0,050	-0,053	-0,19	0,85
AEAv1-v2 (ng/ml)	0,29	0,72	0,11	0,41	0,69
SCWT-CW_{error}					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	-0,16	0,18	-0,23	-0,88	0,39
AEAv1-v2 (ng/ml)	-2,16	2,60	-0,21	-0,83	0,42
SCWT-W_{time}					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	-0,010	0,050	-0,053	-0,19	0,85
AEAv1-v2 (ng/ml)	0,29	0,72	0,11	0,41	0,69
SCWT-C_{time}					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	0,44	2,01	0,056	0,22	0,83

AEAv1-v2 (ng/ml)	5,09	30,71	0,042	0,17	0,87
SCWT-CW$_{time}$					
2-AGv1-v2 (ng/ml)	4,38	3,85	0,26	1,14	0,27
AEAv1-v2 (ng/ml)	79,85	0,31	0,31	1,36	0,19

Az SCWT esetén az error a hibák számát, a time a feladathoz szükséges időt jelenti.

A kiindulási paraméterek és a kezelést követő 2. hét végén mért adatok különbségéből számolt delta értékek elemzése alapján megállapítható volt, hogy a delta 2-AG koncentráció szignifikáns összefüggést mutatott a delta BDI, BAI és SHAPS pontszámokkal (p_{BDI}=0,031; p_{BAI}=0,007 és $_{pSHAPS}$=0,047). A megmagyarázott hányad a BDI és BAI esetében meglehetősen magas volt, a szorongás pontszámhoz tartozó érték több, mint 30% volt (BDI_{AdjR2}=0,12 és BAI_{AdjR2}=0,34), Az SCWT-CW pontszám csökkenése a 3. vizit idejére szintén szignifikáns korrelációt mutatott a 2-AG koncentráció változásának mértékével (*p*=0,024 és *p*=0,024), ugyanakkor az interferencia értékek egyik eCB szintjének változásával nem állt összefüggésben (25. és 26. táblázat). Az asszociációk iránya arra utal, hogy minél magasabb értéket kellett kivonni az alapértékből (ezért negatív számok szerepelnek), annál nagyobb tüneti javulást tükröző pontszám csökkenés volt detektálható.

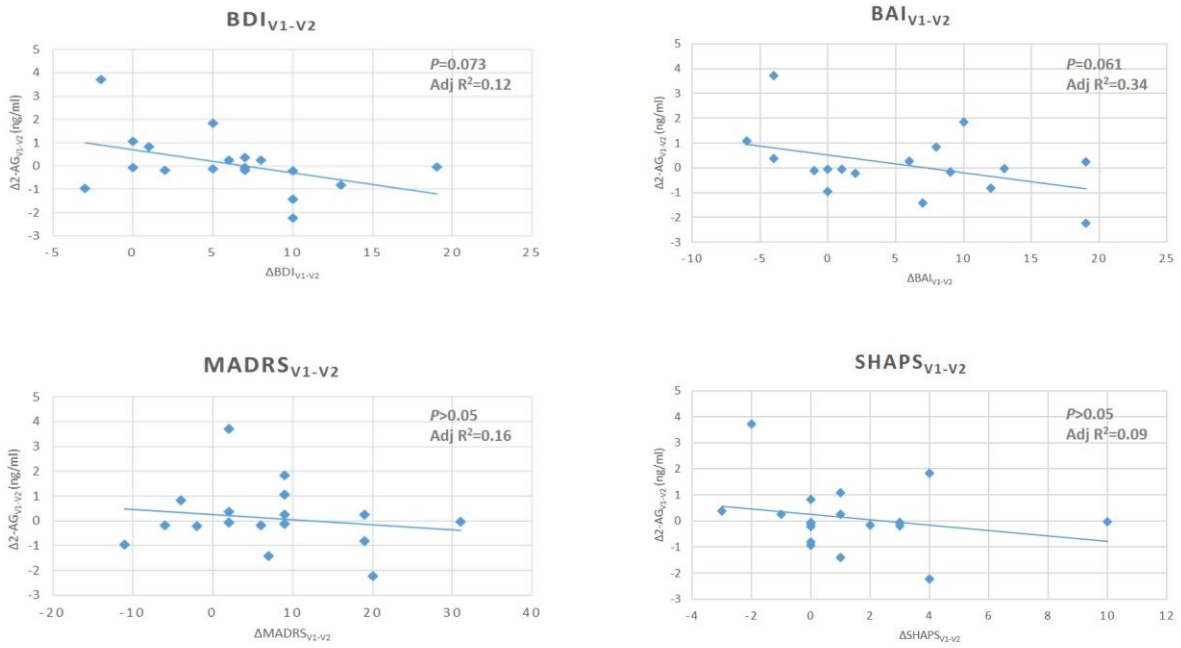
26. táblázat A lineáris regresszió eredményei a szérum 2-AG és AEA koncentrációk és a fenotípus pontszámok vizit$_1$ és vizit$_3$ időpont közötti változásainak összefüggésére vontakozóan

	unstand B	Coeff SE	Stand Beta Coeff	t	*p*-érték
BDI					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-2,09	0,88	-0,52	-2,38	0,031
AEAv1-v3 (ng/ml)	6,49	14,67	0,097	0,44	0,66
BAI					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-3,15	1,01	-0,59	-3,13	0,007
AEAv1-v3 (ng/ml)	24,66	16,77	0,28	1,47	0,16
MADRS					
2-AG $_{visit1-visit3}$	-2,47	1,65	-0,34	-1,49	0,16
AEAv1-v3 (ng/ml)	35,56	27,58	0,29	1,29	0,22
SHAPS					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-0,97	0,45	-0,49	-2,17	0,047

AEAv1-v3 (ng/ml)	2,64	7,52	0,079	0,35	0,73
ISI					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-0,78	0,77	-0,25	-1,01	0,33
AEAv1-v3 (ng/ml)	-5,54	12,96	-0,11	-0,43	0,68
TMT-A					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-2,17	2,89	-0,19	-0,75	0,47
AEAv1-v3 (ng/ml)	37,11	48,19	0,19	0,77	0,45
TMT-B					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	2,45	6,90	0,091	0,35	0,73
AEAv1-v3 (ng/ml)	34,37	115,12	0,077	0,29	0,77
SCWT-W_{error}					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	0,089	0,161	0,141	0,55	0,59
AEAv1-v3 (ng/ml)	0,150	2,69	0,014	0,056	0,96
SCWT-C_{error}					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-0,090	0,097	-0,232	-0,92	0,37
AEAv1-v3 (ng/ml)	0,49	1,63	0,075	0,29	0,77
SCWT-CW_{error}					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-5,78	2,34	-0,51	-2,47	0,024
AEAv1-v3 (ng/ml)	-17,83	40,86	-0,09	-0,44	0,67
SCWT-W_{time}					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	1,05	1,76	0,15	0,59	0,56
AEAv1-v3 (ng/ml)	32,02	29,37	0,27	1,09	0,29
SCWT-C_{time}					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	0,42	1,21	0,09	0,35	0,73
AEAv1-v3 (ng/ml)	12,05	20,22	0,15	059	0,56
SCWT-CW_{time}					
2-AGv1-v3 (ng/ml)	-0,63	0,86	-0,19	-0,73	0,47

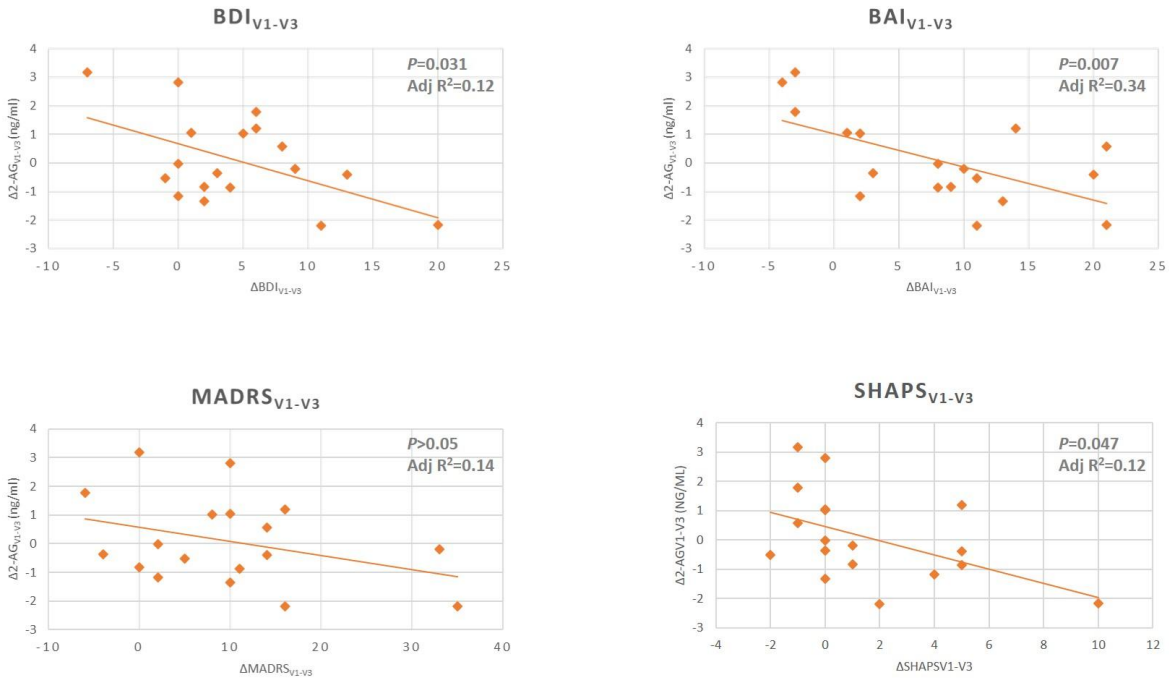
AEAv1-v3 (ng/ml)	-0,74	14,47	-0,013	-0,051	0,96

17/a ábra A szérum eCB koncentrációk és a fenotípus skála pontszámok vizit$_1$ és vizit$_2$ közötti változásainak összefüggése



Az ábrán a vizit$_1$ és vizit$_2$ közötti (V1-V2) változás mértéke (Δ érték) a különböző skála pontszámok és a szérum 2-AG koncentráció közötti összefüggést mutatja be lineáris regressziós egyenes feltünetetésével.

17/b ábra A szérum eCB koncentrációk és a fenotípus skála pontszámok vizit$_1$ és vizit$_3$ közötti változásainak összefüggése



Az ábrán a vizit$_1$ és vizit$_3$ (V1-V3) közötti változás mértéke (Δ érték) a különböző skála pontszámok és a szérum 2-AG koncentráció közötti összefüggést mutatja be lineáris regressziós egyenes feltünetetésével.

5. Megbeszélés

5.1. A CB1R promóter variánsainak hatása és a szorongásos fenotípus variancája közötti kapcsolat

Vizsgálatunkban a CB1R gén (CNR1) promóter variánsainak önálló hatása és a szorongásos fenotípus varianciája között nem találtunk szignifikáns kapcsolatot (Lazary *et al.*, 2009b). Azok alapján az experimentális adatok alapján, melyek azt igazolták, hogy CB1R expresszálódik a szerotonerg neuronokban és az eCB neuromodulációs hatása a szerotonin (5-HT) neurotranszmissziót szintén befolyásolja, megvizsgáltuk a CNR1 promóter variánsainak, valamint a szerotonin transzporter gén (SLC6A4) promóter régiójában található, széles körben vizsgált hosszúság polimorfizmus (5-HTTLPR) interakciós hatását is a szorongással összefüggésben. Eredményeink alapján elsőként igazoltuk a CNR1 és az SLC6A4 promóter variánsainak interakciós hatását a szorongásra való hajlamra (Lazary *et al.*, 2009b). Az interakció egyrészt genotípus, másrészt haplotípus szinten is érvényesült. Az 5-HTTLPR SS és a CNR1 rs218069 GG genotípusának együtt hordozása szignifikánsan magasabb szorongás pontszámmal társult, emellett az rs20180619 (mely a CNR1 konvencionális promóterében található), valamint az gén 5' régiójához tartozó 3. exonjában elhelyezkedő további 3 SNP-ből álló haplotípus az 5-HTTLPR-rel együttes hatását szintén statisztikaliag jelentősnek találtuk. Eredményeink szerint feltételezhető, hogy a legmagasabb szorongás pontszám a "GTGC" haplotípus és az SS genotípus együttes hordozás esetén a leggyakoribb. Az összefüggést funkcionális és potenciális molekuláris következmények szempontjából is elemeztük az irodalomi adatok alapján. Az említett rizikó haplotípusban található „TGC" szekvencia egy korábban Zhang és mtsai által leírt haplotípus, mely alacsonyabb CNR1 gén expresszióval társult és a haplotípus által jelölt régiót „alternatív promóter" régióként nevezték el (Zhang *et al.*, 2004). További in silico potenciáis transzkripciós faktor kötődési mintázat elemzés alapján azt találtuk, hogy az rs2180619 A alléljához 2 transzkripicós faktor (TFIID és GR) képes kötődni több, mint 90% valószínűséggel. Ezzel szemben a G allél 4 különböző TF kötődési helye (SRY, TCF-4E, LEF-1 és TCF-4). A TGC haplotípus esetén, amely tehát korábban alacsonyabb CNR1 expresszióval társult, 2 TF kötőhellyel kevesebbet tartalmaz, mint a többi haplotípus (Lazary *et al.*, 2009b).

Ami az eCB és a 5-HT rendszer kölcsönhatását igazoló adatok részleteit illeti, állatkísérletes eredmények szerint a CB1 receptorok megtalálhatók a szerotonin transzporterekkel együtt a szerotonerg neuronokon (Haring *et al.*, 2007) és a szerotonin felszabadulást a CB1 receptor modulálja egér agyban, különösképpen a prefrontalis kérekben (Nakazi *et al.*, 2000). Továbbá Darmani és mtsai (2003) azt találták, hogy a viselkedésre befolyást gyakorló dózisú CB1R antagonista (SR141716A) szer hatására emelkedik a 5-HT turnover az agyban (Darmani *et al.*, 2003). Emellett az 5-HTTLPR polimorfizmus hatása jól ismert: az S allél csökkent 5-TT aktivitással jár együtt, melynek következményeként magasabb szinaptikus 5-HT koncentráció alakul ki az L allélt

hordozókban mért koncentrációhoz képest. A CNR1 génnel kapcsolatos funkcionális adatok alapján feltételezhető, hogy a TGC haplotípushoz csökkent CNR1 expresszió tartozik, azaz gyengébb az eCB jel inhibíciós hatása, mely következményesen az 5-HT felszabadulásának fokozódásával jár együtt. Mindezek alapján egy lehetséges magyarázó modellt javasoltunk a genetikai asszociációs elemzésünk eredményeinek értelmezésére (18.ábra). Értelemszerűen a GTGC (az rs20180619 G alléljával együtt) és az 5-HTTLPR SS genotípus együtt extrém magas szinaptikus 5-HT koncentrációt eredményez, mely a legmagasabb szorongás pontszámmal társult.

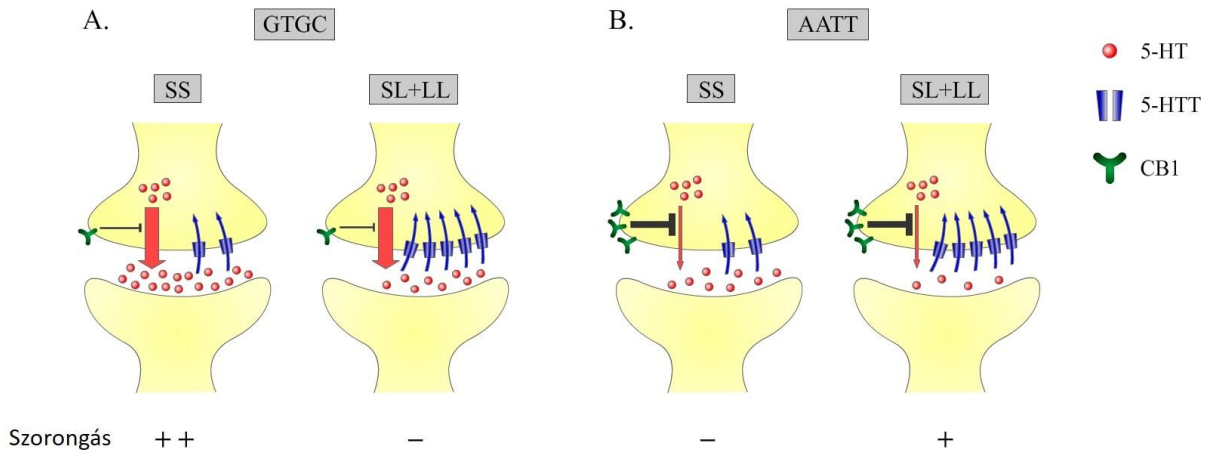
Ugyanakkor az AATT haplotípus esetén magasabb CNR1 expresszió feltételezhető tekintettel arra, hogy az alacsony expresszióval járó GTGC komplett ellentétpárja. Az L allél hordozása magasabb 5-HTTaktivitás révén a szerotonin kifejezettebb beáramlásával párosul. A magas CNR1 expresszióval társuló AATT, mely erőteljes 5-HT felszabadulás gátlással jár együtt az L allél hordozással, ami pedig a 5-HT neuronba visszavételének fokozódásával párosul, így érthető, hogy az AATT együtt az L alléllal a legalacsonyabb szinaptikus 5-HT koncentrációt eredményezheti, ami szintén magas szorongás pontszámmal mutatott asszociációt vizsgálatunkban.

Az állatkísérletekben bizonyították korábban, hogy a szinaptikus 5-HT koncentráció egyensúlya bármely irányba történő kibillenése szorongásos fenotípushoz társulhat. Parsey és mstai azt találták, hogy a magas extracelluláris 5-HT fiatal korban a szerotonerg rendszer fejlődésére meghatározó hatással van és genetikai vulnerábilitást jelent a szorongásos zavarra nézve. Más vizsgálatokban az extrém magas szinaptikus 5-HT koncentráció a stressz válasz zavarát eredményezte és magas szorongásra való hajlammal járt együtt 5-HTT gén kiütött egerekben (Carroll *et al.*, 2007; Wellman *et al.*, 2007; Kim & Li, 2015).

Ugyanakkor a csökkent szinaptikus 5-HT koncentráció szintén szorongással társul a klasszikus triptofán depléciós tesztben (Goddard *et al.*, 1995; Klaassen *et al.*, 1998). Emellett a TPH2 loss-of-function mutációja hasonlóan major depressziós zavarban gyakoribb (Zhang *et al.*, 2005).

Eredményeink arra utalnak, hogy a szorongásos fenotípust a CNR1 és az SLC6A4 promótereinek genetikai interakciója is befolyásolhatja a szinaptikus 5-HT koncentráció egyensúlyának diszregulációján keresztül. Az adataink arra utalnak, hogy a genetikailag meghatározott szinaptikus 5-HT koncentráció mindkét irányban történő szélsőséges változása a szorongás fokozódásához vezethez. Az SS genotípus a CNR1 haplotípustól függően magas és alacsony szorongásos pontszámmal egyaránt járhat, ami az 5-HTTLPR-rel kapcsolatos ellentmondásos adatokat magyarázhatja.

18.ábra Sematikus ábra a különböző szinaptikus 5-HT koncentráció és a CNR1 és a 5-HTT gén promóter különböző variánsainak teoretikus összefüggésére vonatkozóan



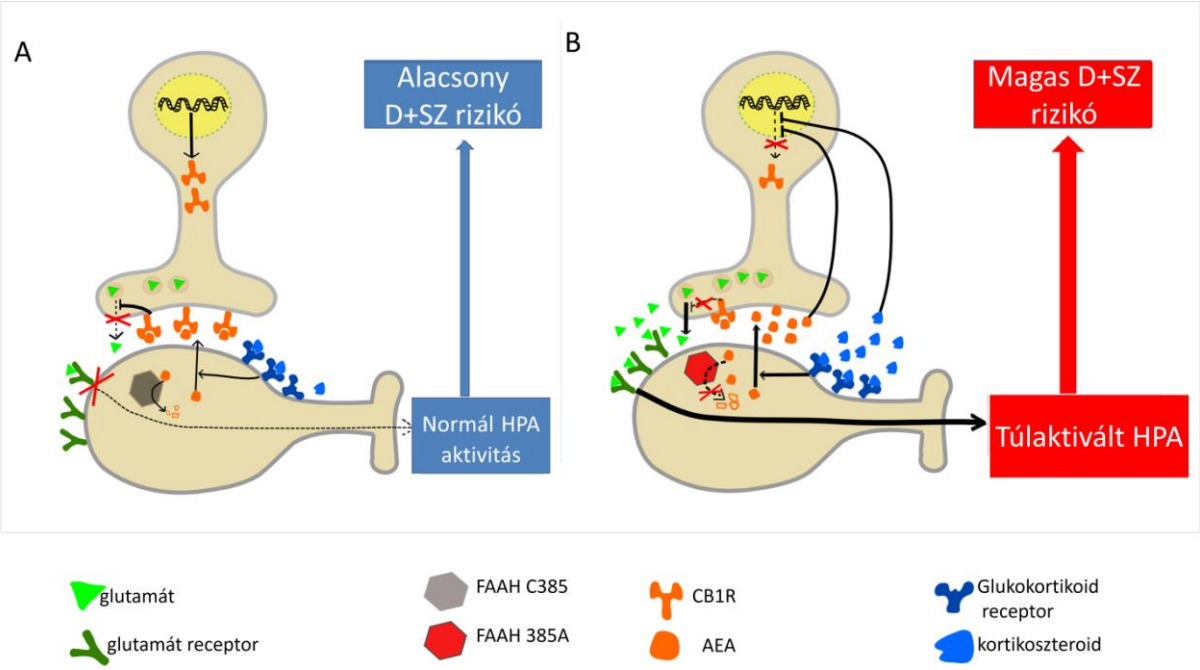
Eredményeink alapján a GTGC haplotípus és az SS genotípus által meghatározott extrém magas szinaptikus 5-HT koncentrációhoz tartozik a legmagasabb szorongás pontszám (A), ugyanakkor az AATT haplotípus és az L allél hordozása együtt a legalacsonyabb koncentrációt határozza meg, mely szintén magas szorongáspontszámmal jár együtt (B). A közepes koncentráció (GTGC+L allél és AATT+SS) átlagos pontszámot eredményez (Lazary *et al.*, 2009b; Lazary *et al.*, 2011c).

5.2. A FAAH gén és a gyermekkori trauma interakciós hatása az affektív tünetekre

Vizsgálatunk alapján elsőként írtuk le a FAAH enzim aktivitás csökkensésével járó funkcionális polimorfizmus (C385A) és a gyermekkori trauma interakciós hatását szorongás és depressziós fenotípussal összefüggésben (Lazary *et al.*, 2016b). Eredményeink szerint az A allél hordozók abban az esetben, ha az anamnézisükben több gyermekkori trauma szerepel, magasabb pontszámot érnek el a BSI-ANX, a STAI-T és a ZSDS skálákon, mint a CC hordozók. Továbbá az A allél gyakoribb előfordulása azok között, akik 48 pont feletti értéket értek el a ZSDS skálán, egyezik a Monteleone és mtsai által talált összefüggéssel (Monteleone *et al.*, 2010b). Az általuk leírt eredmény szerint a C385A A allélja szignifikánsan magasabb arányban volt jelen azokban a betegekben, akik major depresszív zavarban vagy bipoláris zavarban szenvedtek a kontroll csoporthoz képest (Monteleone et al. 2010). Ugyanakkor ez a gyakorisági különbség a többszörös tesztre való korrekció után nem bizonyult szignifikánsnak sem a Monteleone és mstai (2010) publikációban, sem a saját vizsgálatunkban, ezért ezt az összefüggést tisztázni szükséges további vizsgálatokkal. További idevonatkozó eredmény szerint az FAAH C35A A allélja rizikó allélnak bizonyult az MDD vonatkozásában a Pszichiátriai Genomikai Konzorcium meta-analízésbe, igaz itt is csak trend szintű kapcsolatot sikerült azonosítani (p=0.065).

Korábbi adatok arra utaltak, hogy az A allél csökkent FAAH aktivitással és ezáltal emelkedett anandamide (AEA) szinttel mutatott összefüggést. Számos experimentális kísérletben a FAAH akut gátlása anxiolítikus hatást eredményezett bizonyítottan az AEA szint emelkedésének közreműködésével. Humán vizsgálatokban a MDD-ban szenvedő páciensekben és öngyilkosságban életüket vesztett áldozatok agyában megnövekedett AEA szint volt mérhető (Vinod & Hungund, 2006; Hill *et al.*, 2008; Ho *et al.*, 2012). Az AEA anxiolítikus hatása a CB1R-on keresztül alakul ki, mivel a CB1R inhibitoros hatást fejt ki a stress indukálta HPA aktivitásáért felelős glutamáterg neuronokon. Ennek a mechanizmusnak a szabályozása az elérhető AEA szintjétől, valamint a CB1R számától és szenzitivitásától függ. A tartósan emelkedett AEA szint gátolja a CB1R expresszióját és a csökkent CB1R sűrűségből következően sérül az eCB inhibitoros hatása, melynek során a HPA aktivitás állandó marad, ami a szorongás kialakulására hajlamosít. Ezzel összhangban számos adat igazolta, hogy a szelektív FAAH agonsitával (URB597) ismételten kezelt patkány agyban csökkent CB1R sűrűség figyelhető meg a hippokampuszban károsodott neurogenezissel, sejt proliferációval és csökkent sejt túlélési potenciállal (Rivera *et al.*, 2015). Ezek az adatok arra utalnak, hogy a csökkent CB1R expresszió definitív agyi struktúrális változásokat okoz a neurodevelopmentális folyamat során, mely a kifejlett példány viselkedésére is hatással bír. Ezért megalapozott lehet az a feltételezés, hogy a krónikus FAAH blokkoláshoz hasonlóan az A allél hordozás a CB1R downregulációjához vezet, ami a fenntartott HPA hiperaktivitáson és annak idegrendszeri fejlődésre gyakorolt káros hatásán keresztül vezet felnőttkori szorongáshoz és depresszióhoz (19.ábra). Az állatkísérletes modellekben számos adattal igazolták, hogy a krónikus stress az eCB jelátviteli útvonal károsodása útján a CB1R downregulációját idézi elő (Wamsteeker *et al.*, 2010; McLaughlin *et al.*, 2014). A vizsgálatok azt igazolták. hogy krónikus stress hatására a megemelkedett kortikoszteroid szint gátló hatást fejt ki a CB1R expressziójára és ahogy arra korábban utaltunk, a csökkent CB1R sűrűség a HPA aktivációt fenntartó glutamáterg hatás inhibíciójának gyengüléséhez vezet. Saját vizsgálatunk szintén azt támaszthatja alá, hogy az ismételt stress (gyermekkori trauma) a CB1R downregulációjához vezethet azoknál a személyeknél, akik genetikai vulnerábilitást hordoznak a FAAH csökkent aktivitására nézve.

19.ábra A FAAH C385A HPA tengely működését meghatározó hatása és annak a szorongás és depresszió rizikóját befolyásoló hatása a C allél hordozás (A) és A allél hordozás (B) esetén.



A FAAH C385A homozigóta CC genotípus esetén az AEA koncentráció megfelelő gátlás alatt tartja a HPA aktivitást és alacsony a rizikója a depressziós (D) és szorongásos (SZ) fenotípus kialakulásának (A). Az A allél hordozása esetén a FAAH aktivitásának veleszületett alacsony szintje miatt a HPA rendszer diszregulációja következik be a CB1R downregulációja révén és a többszörös trauma következtében túlaktivált HPA rendszer miatt magas less a D és a SZ rizikója (Lazary *et al.*, 2016b)

Annak ellenére, hogy korábban már publikáltak stresszkeltő életesemények és CB1R gén interakciós hatásával kapcsolatos vizsgálat eredményeit (saját munkacsoportunkat is beleértve) (Juhasz *et al.*, 2009; Agrawal *et al.*, 2012), a FAAH génnel összefüggésben, különös tekintettel a gyermekkori traumára, az általunk közölt eredmények előtt nem szerepelt a szakirodalomban. Ennek az is a jelentősége, hogy a gyermekkorban elszenvedett traumatikus életeseménynek mélyrehatóbb következményei vannak, mint a felnőttkoriaknak tekintettel arra, hogy a még fejlődésben lévő idegrendszerre fejtik ki hatásukat. Több tanulmány megerősítette, hogy a serdülőkorban elszenvedett stresszkeltő életesemény hosszútávú hatást gyakorol a felnőttkori szorongás kialakulásához vezetve (Avital & Richter-Levin, 2005; Wamsteeker *et al.*, 2010). Éppen ezért fontos hangsúlyozni, hogy a csökkent enzimaktivitással járó FAAH variáns tartós hatással bír a központi idegrendszer fejlődésére szemben az akut, felnőttkorban alkalmazott farmakológiai FAAH blokkolással. Jelentős evidenciák támasztják alá, hogy az eCB rendszer fontos szerepet játszik a neurodevelopmentális folyamatokban, úgy mint a neurogenézisben, a glia fejlődésben és az axonális elongációban. Emellett igazolták, hogy a fötális kortól a felnőttkorig a CB1R koncentráció progresszív emelkedése jellemző, különösen a limbikus rendszer területén, amely a CB1R érzelmi szabályozásban betöltött szignifikáns szerepére utal (Fride, 2008). Mindebből következik, hogy a genetikailag csökkent FAAH aktivitás meghatározó lehet az

agy azon régiójának fejlődése szempontjából, melyek a stressz válasz szabályozásáért is felelnek. Ugyanakkor a FAAH genetikai változata önmagában nem vezet affektív vulnerábilitáshoz vizsgálataink szerint. A gyermekkori trauma szerpe ezért valószínűleg úgy értelmezhető, hogy a csökkent FAAH aktivitás az agyi fejlődés során vulnerábilis stressz válasz szabályozást eredményez, amely többszörös gyermekkori trauma esetén maladaptív választ kiváltva a személy felnőttkori szorongásos fenotípusához vezet.

Mint ahogy azt már a bevezetésben tárgyaltuk, a FAAH inhibitorok potenciális anxiolítikumként álltak farmakológiai fejlesztés alatt, azonban halállal végződő nem várt mellékhatás miatt a fejlesztések leálltak. Saját eredményeink a FAAH génnel kapcsolatban az első humán vonatkozású eredmények között szerepelt, tehát a gyógyszer fejlesztés nem támaszkodhatott kiterjedt humán genetikai eredményekre. Ugyan az állatkísérletes adatok egyértelműen azt igazolták, hogy a FAAH akut farmakológiai blokkolása anxiolítikus hatású, saját eredményeink arra utalnak, hogy emberben a genetikailag csökkent aktivitású FAAH hordozása többszörös gyermekkori trauma esetén éppen, hogy anxiogén hatást idéz elő. Ez az ellentmondónak tűnő összefüggés felveti annak lehetőségét, hogy a populáció egy részében a FAAH inhibitor anxiolítikus hatású lehet ugyan, azonban a genetikailag vulnerábilis, traumatizált személyek esetében az amúgy is csökkent aktivitású FAAH enzim hordozása mellett további FAAH inhibitor szervezetbe juttatása kiszámíthatatlan mellékhatáshoz vezethet. Bár a konkrét FAAH inhibitorral történt tragédia esetén ezt nem tudjuk bizonyítani, az eCB rendszerrel kapcsolatos humán vizsgálatok szükségessége egyértelműen bebizonyosodott.

Saját eredményeink (Lazary *et al.*, 2008; Gonda *et al.*, 2009; Lazary *et al.*, 2009b; Lazary *et al.*, 2012) alapján felvetettük a pszichés mellékhatásokat okozó gyógyszerek biztonságosabb alkalmazása céljából végezendő genetikai tesztelés szükségességét, melynek alapján a depresszogén és szuicid rizikót emelő genetikai hajlam szűrése válna lehetővé (Lazary *et al.*, 2011c). A magasabb rizikóval jellemzhető vulnerábilitás az adott gyógyszer kontraindikációját vonná maga után, melynek következményeként biztonságosan lehetne alkalmazni olyan, egyébként népbetegségek megelőzésére alkalmas hatékony szerek esetében, mint a már említett fogyasztó szerként alkalmazott rimonabant, melyet szuicid rizikót növelő hatása miatt vonták vissza. Ez a példa meghatározó jelenség volt arra nézve, hogy egy viszonylag kis elemszámú genetikailag vulnerábilis csoport miatt a teljes népesség összességében jelentős morbiditásért és mortalitásért felelős állapot kezelési lehetőségtől esik el (Lazary *et al.*, 2011c). A betegek gyógyszeres kezelésében a biztonságos alkalmazás elsőrendű feladat, ugyanakkor a hagyományos alkalmazhatósági elvetől eltérően egyre több gyógyszer esetén a mellékhatásokra való érzékenység genetikai szűrése lehetővé teszi a gyógyszer alkalmazását (pl. kumarin származékok esetében). A központi idegrendszert érintő gyóygszer mellékhatások esetén ez komplikáltabb kérdésnek tűnik és felmerülhet a gyógyszeripar motiváltságának kérdése is, azonban saját és nemzetközi adatok alapján ebben előrelépés várható (Lazary *et al.*, 2016a).

5.3. A CB2 receptor gén és gyermekkori trauma interakciós hatása az affektív fenotípusra

A CB2R gén (CNR2) és a gyermekkori trauma interakciós hatását a depressziós és a szorongásos fenotípus vonatkozásában elsőként írtuk le a szakirodalomban (Lazary *et al.*, 2019). Annak ellenére, hogy a CNR2 R63Q polimorfizmus önálló hatása a ZSDS pontszám varianciával összefüggésben nem bizonyult szignifikánsnak, a gyermekkori trauma számától függően az interakciós hatást statisztikailag jelentősnek találtuk minden fenotípus variancia tekintetében. A korábbi, FAAH génnel kapcsolatos eredményeink alapján elvégeztük a CNR2 és FAAH variánsok gén-gén interakciós vizsgálatát is és szignifikáns kapcsolatot igazoltunk a GxG hatás és az összes fenotípus variancia között, kivéve a BSI-DEP esetét. A legmagasabb fenotípus pontszám átlagot a GxGxE modellben detektáltuk és azonosítottunk egy vulnerábilis alcsoportot a mintában (4.3%) a rizikó allélok hordozása és a gyermekkori trauma előfordulása alapján. Ebben a csoportban 12%-kal magasabb ZSDS, 50%-kal magasabb BDI-DEP, 29%-kal magasabb STAI-T és 50%-kal magasabb BSI-ANX pontszám volt számolható a minta átleg értékeihez képest. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a CNR2 és FAAH gének rizikó alléljai jelentős szenzitivást okoznak a traumatikus életeseményekkel szemben és a felnőttkori affektív vulnerábilitás kialakulásához vezetnek (Lazary *et al.*, 2019).

A CB2 receptornak kiemelt szerepe van a gyulladásos folyamatok gátlásában a perifférián és a központi idegrendszerben egyaránt (Malfitano *et al.*, 2014). CB2R agonistával kezelt egerekben a gyulladás csökkenését figyelték meg, míg CB2R KO állatokban inflammációs exacerbáció lépett fel emelkedett leukocyta számmal és pro-inflammatórikus citokinek termelődésével (Turcotte *et al.*, 2016). A két fő endokannabioidnak különböző hatását írták le a CB2R-ral kapcsolatban. Egyes experimentális adatok azt igazolták, hogy a 2-AG-nak jelentős szabályozó hatása van a leukociták aktivációját érintő funkciókra, úm. kemokin felszabadulás, fibronektinhez kapcsolódás és migráció. Ugyanakkor az AEA a leukociták funkcióinak, azaz a pro-inflammatórikus citokin kiáramlásáért és a nitrát oxidáció downregulációjáért felel (Turcotte 2016). A két lipid transzmitter különböző hatásai eredményeink szempontjából azért fontosak, mert a FAAH kizárólag az AEA koncentrációjának szabályozásában vesz részt (míg a 2-AG ettől független). Az AEA mediálta CB2R funkció csökkenése a gyulladásos folyamatok felerősödéséhez és a pro-inflammatórikus citokinek emelkedéséhez vezethet, ami a depressziós állapotra jellemző (Goldsmith *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2016). Emellett a CB2R szerepét a magatartás szabályozásában szintén igazolták. Szorongáskeltő társas interakció és félelmi kondícionálás a CB2R azonnali akitvációját okozta (Robertson *et al.*, 2017), mely egyezik a CB1R stressz stimulusra adott aktivációjával. Stressz hatás esetén tehát a CB1R és a CB2R egyaránt stimulálódik és a két receptor együtt vesz részt az aktivált HPA tengely és a glukorkortikoidok által elindított stressz válasz folyamatok leállításában. Ennek alapján mind a CB1R, mind

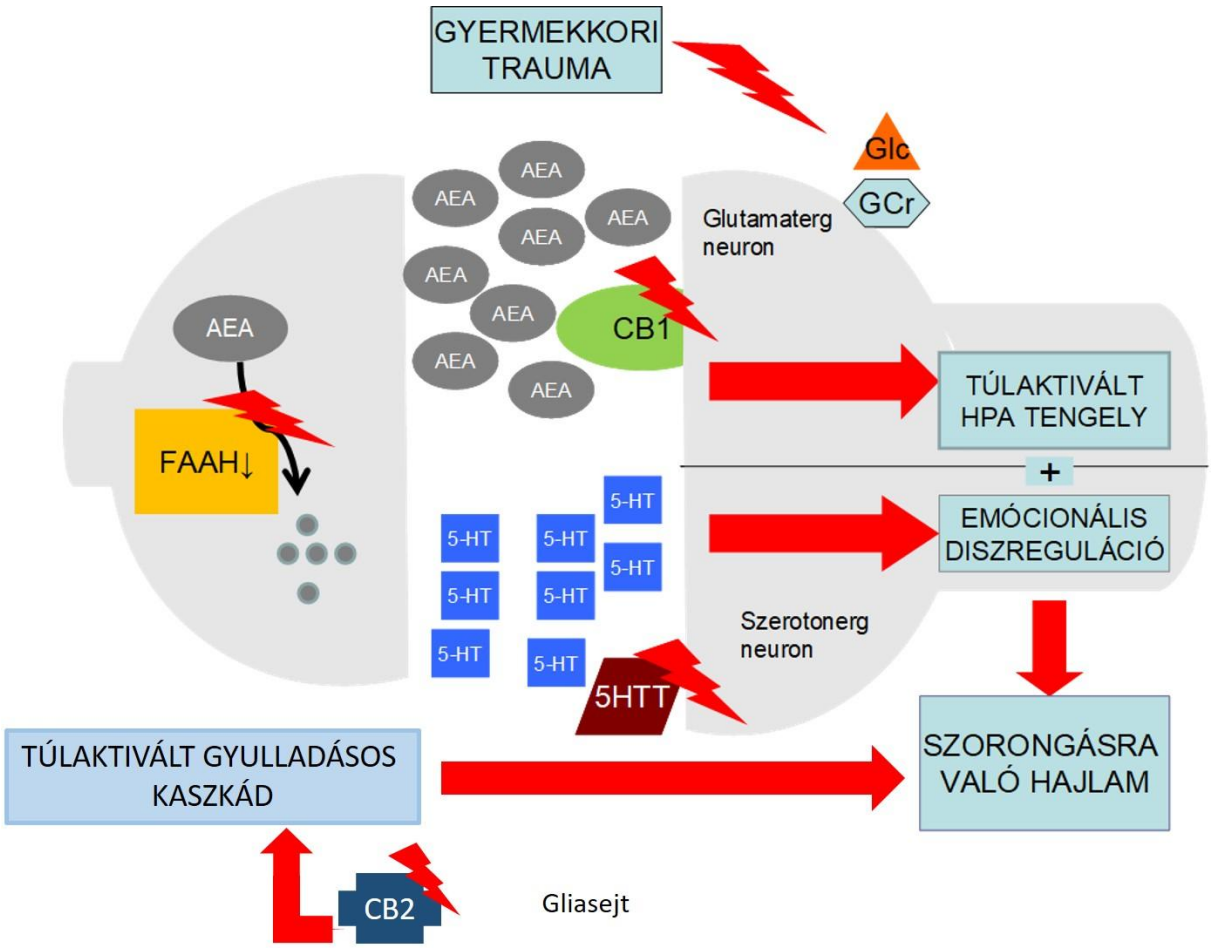
pedig a CB2R fontos szerepet játszik a stressz válasz alaphelyzetbe történő visszaállításában, ami miatt az adaptív coping mechanizmusért felelnek (Robertson *et al.*, 2017).

Az R63Q polimorfizmussal kapcsolatos eredményeink néhány pszichiátriai zavarra vonatkozó humán genetikai vizsgálat eredményével összhangban áll. Az RR genotípus szignifkánsan gyakoribb volt szkizofrénia, alkohol dependencia és depressziós zavar diagnózissal bíró betegcsoportban a kontrollcsoporthoz képest (Ishiguro *et al.*, 2010; Ishiguro *et al.*, 2018). Egy bipoláris zavarba szenvedő betegcsoportban a CNR2 gén másik polimorfizmusát vizsgálták. A Leu133Ile aminsoavcserével járó 524C>A variáns a CNR2 génben egy olyan változást okoz a receptor transzmembrán részében, amely a fehérje stabilitását befolyásolja. A ritkább allél gyakoribb volt a bipoláris zavarban szenvedő csoportban a kontroll személyekhez képest (Minocci *et al.*, 2011). Ennek a 527C>A variánsnak és az R63Q polimorfizmusnak a diszfunkcionális működése hasonló patogenetikai úton vezethet az affektív fenotípus kialakulásához. Az R63Q ugyanis egy olyan aminosav cserét okoz, ami szintén a fehérje transzmembrán részét érinti. Az R63Q funkcionális vizsgálata humán T-sejtvonalban arra utalt, hogy az RR hordozó sejtekekben alacsonyabb volt az eCB indukálta proliferáció, ami a gyulladásos folyamatok gyengébb gátlását okozta (Sipe *et al.*, 2005). A gyulladásos reakció túlaktiválódása depresszióban jól ismert és a szorongással összefüggése a hippokampális inflammációval szintén leírásra került. Ugyanakkor a FAAH C385A rizikó (A) allélja permanensen magasabb AEA koncentrációt eredményez, ami feltételezhetően következményes CB1R downregulációhoz vezet. A CB1R hatás gyengülése a HPA tengely gátlásának csökkenésével jár együtt, azaz krónikus túlaktiváció marad fenn. A legsérülékenyebb populáció a mintánkban tehát a FAAH és a CB2 receptor gének együttes patogén hatása miatt egyszerre hordoznak sérült HPA szabályozást és vulnerábilis gyulladási kaszkádot. Kim és mtsai (2015) eredményei alapján a magasabb AEA a CB2R- on keresztül direkt módon is anxiogén hatással bír (Kim & Li, 2015).

A gyermekkori trauma az egyik legkárosabb környezeti hatás, mely az agyi fejlődést befolyásolja és a felnőttkori pszichés működésre nézve meghatározó változásokat idéz elő. A neurogenézisben a HPA rendszer fejlődésében és a szinaptikus plaszticitás kialakulásában kulcsszerepet játszó eCB rendszer szenzitivását igazolták az anyai elhanyagolással szemben (Aguado *et al.*, 2005; Aguado *et al.*, 2006; Lee & Gorzalka, 2012). Experimentális vizsgálatokban azt találták, hogy a korai anyai depriváció által előidézett CB1R downreguláció a prefrontalis kortexben és a hippokampuszban megmaradt a serdülő és felnőttkorban is (Marco *et al.*, 2007; Llorente-Berzal *et al.*, 2012). További adatok arra utalnak, hogy a CB2R funkciójának a memória és tanulási folyamatokban a hippokampális szinaptikus transzmisszió, szinaptikus plaszticitás és long-term potentiation (LTP) fenntartásán keresztül szintén jelentős szerepe van, mely az ép érzelmi fejlődéshez elengedhetetlen (Garcia-Gutierrez *et al.*, 2013; Kim & Li, 2015; Stempel *et al.*, 2016). A CB2R KO egerek károsodott averzív memóriával, a CB2R overexpresszáló állatok ugyanakkor a depresszióval és a szorongással szemben védettnek bizonyultak krónikus enyhe stressz esetén (Garcia-Gutierrez *et al.*, 2010; Garcia-Gutierrez & Manzanares, 2011).

Összességében tehát a CB1R, a CB2R és a FAAH enzimet kódoló gének affektív vulnerábilitásra gyakorolt hatását igazoltuk vizsgálatainkban. A többszörös rizikó allél hordozása a gyermekkori traumával interakcióban a HPA rendszer és a gyulladásos rendszer diszregulációján keresztül súlyosabb felnőttkori fenotípust eredményez (20.ábra).

20.ábra Összefoglaló ábrázolása a FAAH, a CB1R és a CB2R gének variánsainak és a gyremekkori trauma szorongásra való hajlamra vonatkozó hatásainak (Lazary *et al.*, 2017)



Az ábrán a CB1R promóter, az 5-HTTLPR, a CB2R R63Q és a FAAH gén C385A polimorfizmusainak rizikó alléljainak hordozását, valamint a gyermekkori trauma ineterakciós hatásait mutatja be a HPA rendszer, az érzelmi szabályozás és a gyulladásos rendszer funkcióinak károsodásával és a szorongásra való hajlam kialakulásával összefüggésben.

5.4. Az eCB jelátviteli útvonal genetikai asszociációs vizsgálat eredményei

Az eCB jelátviteli útvonal genetikai elemzését elsőként végeztük az affektív fenotípus variációval összefüggésben. A CACNA1C gén és a gyermekkori trauma, valamint depresszív fenotípus összefüggését ebben az elemzésben 2 független mintában (BP és MN) sikerült kimutatni (Lazary *et al.*, 2021b). Ugyanakkor az SNP-k direkt hatása a két populációban különbözőnek bizonyult, mely arra utalhat, hogy a korai stressz hatás affektív vulnerábilitást befolyásoló hatása kifejezettebb genetikai háttérrel rendelkezik, mint az egyéb etiopatológiai útvonal. Ennek a megállapításnak a magyarázatára az is szolgálhat, hogy a gyermekkori trauma gyakrabban fordul elő olyan családokban, ahol a szülők pszichiátriai zavarban szenvednek, valamint az affektív zavarral élők gyakrabban szenvednek el gyermekkori bántalmazást (Marshall *et al.*, 2018; Lippard & Nemeroff, 2020; Pierce *et al.*, 2020), ezért valószínűsíthető, hogy az idegrendszeri fejlődést érintő genetikai vulnerábilitás gyakrabban fordul elő a gyerekkori traumát átélők leszármazottai között.

Azok a kandidáns eCB gének (CB1R, CB2R, FAAH), melyeket korábban különállóan vizsgáltunk, a top 10 szignifikancia listán nem szerepelnek. Egyetlen kivétel egy UTR 3' régióban elhelyezkedő CNR2 SNP, mely a MN minta férfi populációjában a szorongásos fenotípussal összefüggést mutatott (p=7.9x10^{-3}). Ugyanakkor ez az asszociáció a p-érték korrekciót nem élte túl, tehát további replikációs vizsgálatok szükségesek ennek az összefüggésnek az interpretációjához.

A vizsgálatban a legátütőbb eredményt a depresszív fenotípust meghatározó CACNA1C génnel és a gyermekkori traumával összefüggésben találtuk. A CACNA1C gén és az affektív zavarok (különösképpen a stresszhez társuló zavarok) kapcsolatát számos experimentális és humán teljes genom asszociációs vizsgálat (GWAS) jelentősnek értékelte (Liu *et al.*, 2011; Lotan *et al.*, 2014). Amellett, hogy a CACNA1C génre vonatkozóan több pozitív eredményt közöltek GWAS vizsgálatok beszámolóiban, néhány experimentális GxE modellezésű kísérleti eredmény is alátámasztotta a CACNA potenciális szerepét a depresszió kialakulásában. A CACNA1C a Cav1.2L-type feszültségfüggő kálcium csatorna (LTCC) kódolásáért felelős gén, mely fontos szerepet játszik a neuronális excitábilitás, a szinaptikus plaszticitás és a neurogenézis modulációjában (Catterall, 2011; Ortner & Striessnig, 2016; Zamponi, 2016). A neuronális excitábilitás a neurotranszmitter felszabadulását meghatározó kálcium influxtól függ, és az LTCC blokkolásával az eCB glutamát felszabadulására gyakorolt inhibíciós hatását fel lehet függeszteni (Tao *et al.*, 2002; Wheeler *et al.*, 2012). Az LTCC gén expressziót szabályozó funkciója abból ered, hogy a cAMP kapcsolt régióhoz kötött fehérje (CREB) foszforilációja a membrán depolarizációtól és a Ca2+/kalmodulin-dependnes protein kináz II (CaMKII) útvonaltól függ (Tao *et al.*, 2002; Wheeler *et al.*, 2012). Amint az jól ismert, a CREB a BDNF gén kálcium érzékeny régiójához kötődik be azért, hogy a gén expressziót fokozza (Wheeler *et al.*, 2012). Ez a szignalizációs útvonal az alapja a hippokampális tanulási és memória

folyamatokhoz szükséges long term potentiation (LTP) és szinaptikus plaszticitásnak (Tao *et al.*, 2002; Wheeler *et al.*, 2012). Ezért a CACNA1C gén terméke kulcsszereplőnek tekinthető az eCB és a CREB-BDNF útvonalak kapcsolatában. A CACNA1C gén szerepét az embrionális stresszel szembeni vulnerábilitás és a PFC károsodása miatti kognitív diszfunkció kialakulásában igazolták állatkísérletes vizsgálatban (Kabir *et al.*, 2017; Dedic *et al.*, 2018; Moon *et al.*, 2018; Jaric *et al.*, 2019).

Mindazonáltal a CACNA1B és a CACNA1D génnel szintén szignifikáns interakciós hatást mutattunk ki a szorongásos fenotípus vonatkozásában mindkét vizsgálati mintában. A CACNA alegységeit kódoló génekkel talált összefüggések tehát többszörösen megerősítették a CACNA közvetítő szerepét a korai stressz hatás és a felnőttkori affektív vulnerábilitás között. Saját adatainkkal a korábban csak eset-kontroll modellben igazolt összefüggést a spektrum modellre is szignifikánsnak találtuk.

Az SNP-k önálló és interakciós hatását illetően a GNG12 gén variánsai mutatták a legerősebb hatást a BSI-ANX pontszám varianciájára a BP mintában. A GNG12 funkcionális jelentőségét illetően egy érdekes tanulmány arról számol be, hogy a GNG12 génnek fontos szerepe van a mikroglia gyulladást szabályozó folyamatában (Larson *et al.*, 2010). Mint arra korábban kiértünk, a gyulladás és a szorongás kapcsolatát számos adat támasztja alá (Michopoulos *et al.*, 2017; Felger, 2018).

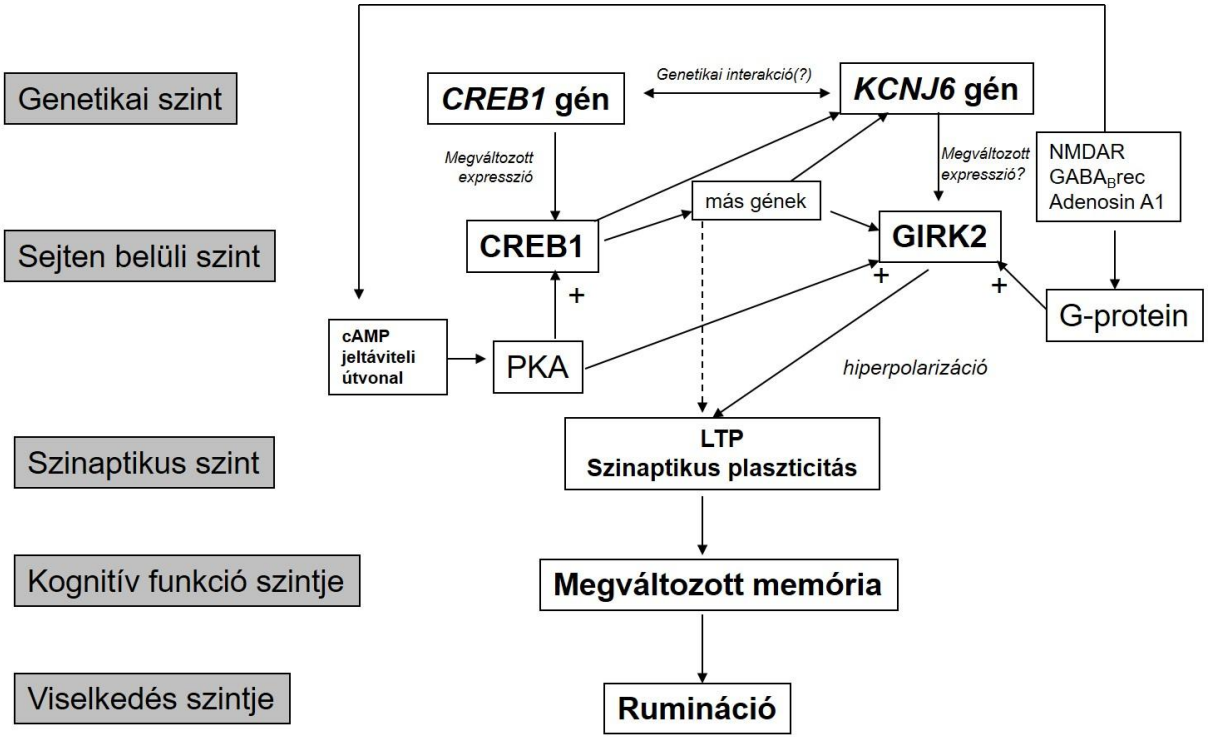
Ami a depresszív fenotípust illeti, a BP mintában a KCNJ3 gén önálló, valamint interakciós hatása bizonyult szignifikánsnak. A KCNJ3 a befelé egyenirányító kálium csatorna (inwardly rectifying K+ channel; G-protein gated inwardly rectifying K+ channel; GIRK) J csoportjába tartozó alegységét kódolja. Ezek a csatornák a GABA, az opioid, az adenozin és a szerotonin inhibitoros hatásnak közvetítésében vesznek részt és a neuronális excitábilitást, valamint a nyugalmi potenciál és neuronális tüzelés szabályozásában működnek közre. A kálium csatornák a Gβγ alegységhez direkt kötődve aktiválódnak számos G-fehérje kapcsolt receptorhoz tartozó Gi/o fehérje által. A KCNJ3 gén és a bipoláris zavar asszociációját, illetve a KCN csatorna szerepét a bipoláris zavar kezelésében kulcsfontosságú lítium hatásmechanizmusában igazolták korábban (Yamada *et al.*, 2012; Dascal & Rubinstein, 2017). Megjegyzendő, hogy a bipoláris zavar előfordulása Magyarországon kiemelkedő az európai országokhoz képest (https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/DDN-201807161?inheritRedirect=true), melynek a hátterében a KCNJ3 gén eltérő allélelosztása is állhat és a MN mintától való különbözőséget magyarázhatja.

A GIRK2 másik alegységét (KCNJ6) kódoló gén funkcionális polimorfizmusának a CREB1 gén funkcionális variánsával való interakciója és a ruminációs válaszadási stílus között szintén szignifikáns kapcsolatot találtunk egy másik vizsgálatunkban. A ruminációrа való hajlam, mint a depresszió jellegzetes gondolkodási tünete ugyanabban a 2 független európai mintában is a KCNJ6 és a CREB1 gén interakciós hatásával mutatott összefüggést (Lazary *et al.*, 2011b). Ugyanebben a vizsgálatban egy személyiségzavarban szenvedő

páciensekből álló 3. mintában összefüggést mutatott a KCNJ6 és a CREB1 gének interakciós hatása a C-típusú személyiség klaszterrel, amely szorongással, aggodalmaskodással és társas elkerüléssel jellemezhető. Az említett tünetek és a ruminációs vonás között erős kapcsolatot igazoltak klinikai és nem klinikai mintákban egyaránt (Watkins, 2009). A 3 mintában azonosított összefüggés jól illeszthető abba a teóriába, mely szerint a rumináció egy vulnerábilis vonás részeként és az affektív zavarokkal szembeni rizikó alapjaként tekinthető egy egységes molekuláris-neuronális-kognitív konstelláció alapján (21.ábra). Mivel a BP és MN minta nem klinikai eseteket reprezentál, feltételezhető, hogy a rumináció nem annyira a depresszió endofenotípusának, mint inkább a negatív emocionalitás és a genetikai vulnerábilitás közötti intermedier fenotípusnak tekinthető.

A GIRK2 és a CREB1 hatását az antidepresszívumok hatásmechanizmusában több vizsgálat is felvetette (Sulser, 2002; Kobayashi *et al.*, 2003) és mind a GIRK2, valamint a CREB1 gének variánsai GWAS kutatásokban szignifikáns kapcsolatot mutattak affektív zavarokkal összefüggésben (Zubenko *et al.*, 2002; Hamshere *et al.*, 2009).

21.ábra A ruminációra való hajlam genetikai-, sejt-, szinaptikus- és kognitív patológiai dimenzói



Az ábrán a KCNJ6 és a CREB1 gének, valamint a gének által kódolt fehérjék további, sejten belüli és szinaptikus szintű interakciójának szerepét ábrázoltuk a megváltozott memóra és a ruminációs válaszadási stíílus kialakulásában (Lazary *et al.*, 2011b).

További fontos eredmény szerint a BDNF, amely a GIRK2 és a CREB1-hez hasonlóan a szinaptikus plaszticitásban szerepet játszik, genetikai asszociációt mutatott a ruminációval (Hilt *et al.*, 2007).

A GIRK és a CREB közötti funkcionális kapcsolatra utal, hogy a GIRK által mediált hiperpolarizáció csak olyan hippokampális sejtekben valósul meg, amely képes CREB receptort expresszálni (Zhu, 2006). A kapcsolódás másik háttere lehet, hogy a cAMP dependens protein kináz foszforilálja a G-protein βγ alegységét az aktivációhoz, csak úgy, mint a CREB –et. A CREB-en keresztül tehát újabb CACNA és a BDNF szignalizáció közötti kapcsolódási pontra lehet eljutni.

Az asszociációk sorrendjét feltüntető listában gyakran megjelenik a GABRG3 gén a szorongással összefüggésben, ami könnyen értelmezhető, ha csak a leggyakrabban alkalmazott anxiolítikumra, a benzodiazepinekre gondolunk, amely a GABA receptorokon fejti ki hatását. További figyelemreméltó összefüggések a HTR2A génnel kapcsolatos eredmények a MN mintában, mely egyedül álló módon képviseli a klasszikus kandidáns gének csoportját. Ugyanakkor a HTR2A génnel kapcsolatos asszociációk p-értékei nem bizonyultak szignifikánsnak a korrekciót követően.

Összefoglalásként megállapítható, hogy a két legerősebb hatást mutató gén mindegyike ioncsatornát (egy kálcium és egy kálium csatornát) kódoló gén volt. Saját adatainkkal kiegészítést nyújtottunk a korábban relevánsak talált és replikált CACNA1C gén és affektív fenotípus közötti összefüggéssel kapcsolatban. Egyrészt spektrum jellegű fenotípus modellben is kimutattuk jelentőségét, másrészt GxE modellben is azonosítani tudtuk patogén hatását. További fontos eredményünk, hogy a GIRK genetikai variáns hatása a depressziós és szorongásos fenotípus tekintetében nem volt replikálható a két mintában, ugyanakkor a CREB1 génnel interakcióban a ruminatív válaszadási stílussal és a C-típusú személyiségzavarral összefüggésben 3 különböző mintában is kimutatható volt. Eredményeink alapján felmerül, hogy a korai traumának kitett személyek kifejezettebb genetikai sérülékenységet hordoznak a traumától megkímélt személyekhez képest. A molekuláris szinten különböző módon kifejlődött kórképek esetén felmerül a különválasztása ezeknek a zavaroknak különböző terápiás stratégia és gyógyszer megválasztásának szükségességével.

5.5. A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálatának eredményei

A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavar klinikai vizsgálatát a szakirodalomban található farmakológiai adatok meta-analízisével egészítettük ki (Makkos *et al.*, 2011a; Lazary, 2012). A klinikai vizsgálat során krónikus kannabisz használatával jellemezhető és kannabiszt nem használó szkizofréniaspektrum zavarban szenvedő betegek retrospektív adatait hasonlítottuk össze. Eredményeink szerint a két csoport szignifikáns különbséget mutatott az átlag életkor, a nemi arányok, a szuicidális

előzmények, a dohányzási szokások, a hospitalizációs idő és a farmakoterápia szempontjából (Makkos *et al.*, 2011b).

Az életkori különbséget illetően korábbi adatok arra utaltak. hogy a kannabisz használók korábban manifesztálódó pszichotikus epizódot produkálnak, mint a kannabiszt nem használók (Arendt *et al.*, 2005; Compton *et al.*, 2009). Ezzel egyezően saját vizsgálatunkban szintén fiatalabb volt az első hospitalizáció idején a $Cnbs_1$ csoport a $Cnbs_0$-hoz képest. Ugyanakkor megjegyezendő, hogy vizsgálatunk beválasztási kritériuma első hospitalizáció volt és nem első pszichotikus epizód. A korábban manifesztálódó szkizofrénia a kannabisz használók körében sokat vitatott témakör, azonban megnyugtatóan nem tisztázódott egyelőre. Egy sokat felvetett magyarázat, hogy a súlyos (genetikailag erőteljesen meghatározott) altípushoz súlyos addiktív hajlam társul éppen a dopaminerg rendszer érintettsége miatt, amely mindkét zavar kialakulásában kulcsszerepet játszik.

A nemi arányok különbözősége (azaz, hogy a férfiak gyakrabban érintettek), szintén korábbi eredményeket erősít meg. Ugyan a két nem egyformán érintett szkizofrénia esetében, de a korai megjelenés a férfiaknál gyakoribb, mint a nőknél (Leung & Chue, 2000). A szakirodalommal egyezően a saját mintánkban magasabb volt a férfiak aránya a $Cnbs_1$ csoportban (Sugranyes *et al.*, 2009). Az öngyilkossági előzmény az irodalmi előzményekkel ellentétben alacsonyabb volt a $Cnbs_1$ mintában, mint a $Cnbs_0$-ban. Természetesen a mintára jellemző fiatal életkor miatt az szuicidális kísérlet élettartam prevalencia nem összehasonlítható és az eltérés magyarázatául szolgálhat.

A szkizofrénia esetében a dohányzás öngyógyító szerepét szintén valószínűsítik hasonlóan a depressziós zavarokhoz társuló dohányzáshoz (Dome *et al.*, 2010). A szkizofrénia pszichotikus epizódját megelőző ún. prodrómális szakaszban gyakoriak a depressziós tünetek, melynek alapján összefüggés mutatható ki a dohányzás felerősödése és a pszichotikus relapsus bekövetkezése között. A dohányzás kialakulásában az anyai kötődési mintázatok szerepét igazoltuk, mely a szkizofrénia kilakulásában is kulcsszerepet játszik, valamint a dohányzáshoz társuló depressziós tünetek hátterében szintén kimutattunk GxE interakciós hatásokat (Lazary *et al.*, 2014; Csala *et al.*, 2015; Csala *et al.*, 2016; Csala *et al.*, 2017)

A gyógyszeres kezelést áttekintve azzal kapcsolatban találtunk különbséget vizsgálatunkban, hogy átlagosan alacsonyabb dózisú antipszichotikum adása volt jellemző a $Cnbs_1$ csoportban, azonban ezt korlátozottan lehet értékelni tekintettel a fiatalabb életkorra. A szakirodalomban a $Cnbs_1$ betegeknél a klozapin hatékonyságát és a jobb CB1 receptor kötődését igazolták (Drake *et al.*, 2000). Egy speciális vizsgálatban kimutatták, hogy a krónikus klozapin kezelés alatt álló patkányok agyában a nőstény állatok agyában a CB1 receptorok downregulációja volt megfigyelhető, míg a hím állatokban ez nem volt jellemző (Wiley *et al.*, 2008). Ugyan saját vizsgálatunkban a klozapin alkalmazási paraméterek között nem volt különbség, de a hasonló hatástani csoportba tartozó

olanzapin és kvetiapin dózisa szignifikánsan alacsonyabb volt a a $Cbns_1$ csoportban a $Cbns_0$ csoporthoz képest. Az aripipazol gyakoribb alkalmazása a hosszútávú kezelés beállítása során a $Cnbs_1$ csoportban szintén adekvátnak tűnik annak az eredménynek alapján, mely szerint a krónikus aripiprazol kezelés a CNR1 gén expresszióját fokozza (Cheng *et al.*, 2008). A kananbisz indukálta szkizofrénia gyógyszeres kezelésének szakirodalmi adatok elemzése arra utalt, hogy a terápiás válasz és az adherencia gyengébb, valamint az extrapiramidális tönetek iránti érzékenység kifejezetttebb a $Cnbs_1$ betegek esetében (Lazary, 2012). Saját vizsgálatunkban ezt nem tudtuk megerősíteni, de a vizgsálati módszerek és a minták heterogenitása az irodalmi adatok értékelését korlátozza.

A CGI-S és CGI-I pontszámok hasonlósága alapján megállapítható. hogy a két csoport klinikai állapota között jelentős különbség nem volt. A pozitív és negatív tünetek előfordulása, valamint az agresszív magatartás szintén hasonló volt a két csoportban. Ugyanakkor a LAI gyakoribb alkalmazása a Cnbs1 csoportban (figyelembe véve a fiatalabb életkort is), valószínűsíti a gyengébb morbustudatot és gyengébb együttműködést.

Összefoglalásul elmondható, hogy a $Cnbs_0$ és $Cnbs_1$ csoport közötti legfontosabb különbség a kannabisz használók koraibb életkorban történt hospitalizáció. Emellett a szuicidális előzmény kisebb volt, rövidebb hospitalizációs idő, alacsonyabb dózisú antipszichotikum és kevesebb dohányzás jellemezte a $Cnbs_1$ csoportba tartozó betegeket a kannabiszt nem használó betegekhez képest. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a kannabisz használata egyrészt korábbi kórházi ellátást igénylő szkizofreniform epizódot provokálhat, ugyanakkor részben megerősítheti a kannabisznak, mint öngyógyító eszköznek a szerepét. A kórállapot hosszmetszeti vizsgálata azonban árnyalhatja ezt a képet. A fiatal (adoleszcens) életkorban rendszeresen kannabiszt fogyasztó betegeknél a szkizofrénia tüneteinek korai manifesztációja a dopaminerg rendszert súlyosan érintő vulnerábilitásra utal. A három jól ismert modell közül, azaz a pszichózisra hajlamos egyén hajlamosabb a kannabisz fogyasztásra (asszociációs elmélet), vagy a kannabisz növeli a pszichózisra való hajlamot (oksági modell), vagy egy harmadik tényező okozza mindkettőt (indikátor-változó modell) az utóbbi a legvalószínűbb eredményeink és az irodalmi adatok szerint.

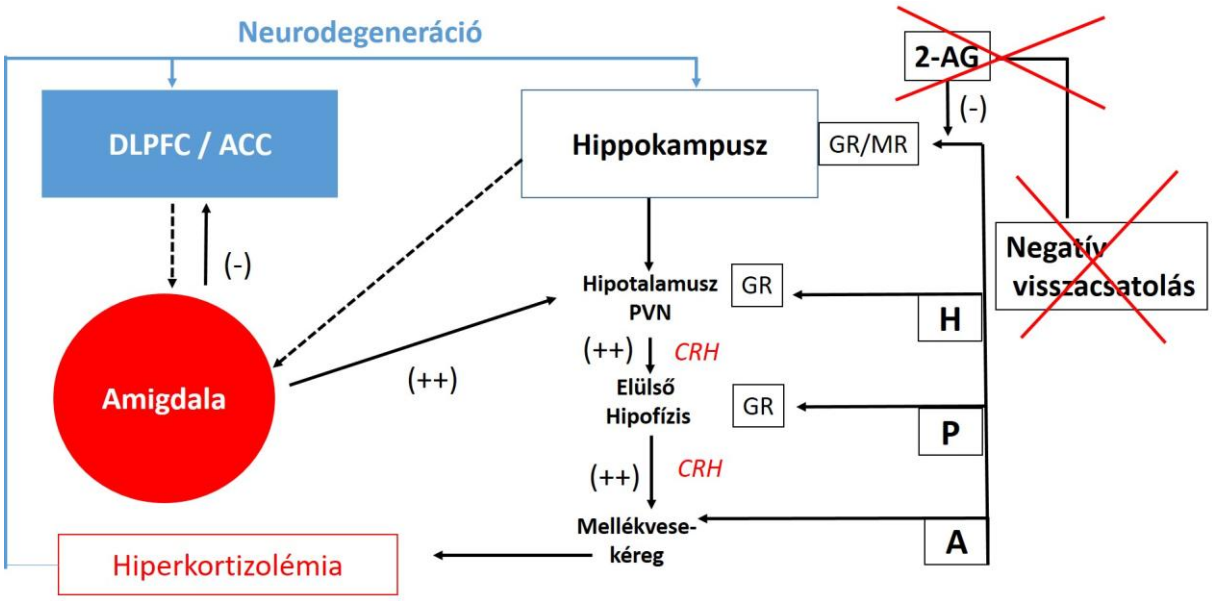
5.6. Az rTMS kezelés hatása a perifériális eCB koncentráció változására és depressziós tünetekre terápia rezisztens depresszióban

Az rTMS kezelés hatással összefüggésben elsőként írtuk le a perifériális 2-AG szintjének változását a tüneti javulással korrelációban major depresszív zavarban szenvedő betegek mintájában (Lazary *et al.*, 2021a). Annak ellenére, hogy az átlagos 2-AG koncentráció a kezelés előtt és után változatlan volt, a változás mértéke és a tüneti javulás mértéke korrelációt mutatott. A szérumban mérhető 2-AG szint változás és a depressziós valamint szorongásos tünetek javulása trendszerű kapcsolatot mutatott a kezelés után közvetlenül mért időpontban, az azt követő 2 hét elteltével pedig szignifikáns

asszociáció volt megfigyelhető a depresszió, a szorongás, az anhedónia és a SCWT-CW feladatban észlelt hiba szám csökkense által a neurokognitív tünetek vonakozásában. Az összefüggés iránya minden esetben arra utalt, hogy a 2-AG szintjének minél nagyobb emelkedése a tünetek javulásának nagyságával korrelál. Eredményeink szerint a kezelésre adott válasz foka nem a kiindulási szérum 2-AG szinttől, hanem sokkal inkább az eCB rendszer indukálhatóságától függ.

A vizsgálati adatokból jól látszik, hogy a szérum AEA szint az rTMS kezelés után közvetlenül csökkenést mutat, majd a következő 2 hét végére visszatér az eredeti szintre. Míg a 2-AG koncentráció az első két hétben változatlan marad, a 3. vizit időpontján mért adat az elsőhöz képest a tüneti javulás mértékével korrelál. A korábbi adatokból, melyek az eCB fiziológiás működésével foglalkoznak, kiderül, hogy akut stressz hatására az AEA szintje az agyban átmenetileg lecsökken, melyet a 2-AG megemelkedése követ. A folyamat az intakt stressz reakció szabályozásához elengedhetetlen, hiszen az egyébként folyamatosan felszabaduló AEA átmeneti lecsökkenése szükséges a HPA tengely aktivációjához. Ugyanakkor a következményes 2-AG emelkedés teszi lehetővé az aktivált HPA tengely nyugalomba történő visszatérését és akadályozza meg a rendszer túlaktiválódását (Hill *et al.*, 2009a). Előző tanulmányokban igazolták, hogy a HPA tengely negatív feedback szabályozásának kiiktatása a depersszió neurobiológiai alapját képezi és hogy az rTMS a HPA rendszer modulációján keresztül fejti ki a hatását a depressziós páciensekben (Baeken & De Raedt, 2011). Ezt az összefüggést saját eredményeinken keresztül úgy értelmezhetjük, hogy a depersszióban szenvedő beteg HPA rendszert szabályozó károsodott negatív feedback mechanizmus korrekciója az rTMS kezeléssel éppen az eCB rendszer indukciója révén tud érvényesülni (22.ábra). A külső célzott stimulációja az ACC-nek és a DLPFC régióknak, melyek kulcsszereplői az AEA szint csökkenésnek, az intracelluláris szignalizáción keresztül, közvetett módon a 2-AG szint emelkedéshez vezet. Ezen a mechanizmuson keresztül a HPA rendszer újratöltődése egy mesterséges és kontrollált, rövid ideig tartó beavatkozás segítségével valósulhat meg (rTMS). Az emelkedett 2-AG szint emellett a CB2R-on keresztül a gyulladásos folyamatok csökkentésén keresztül is hozzájárul a depressziós tünetek csökkenéséhez.

23.ábra A HPA tengely gátlásának gyengülése a 2-AG hatásának csökkenésekor Baeker és mtsai nyomán



A 2-AG hatásának csökkenése esetén kiesik a negatív visszacsatolás hatása mind a hippokampusz, mind a HPA rendszerre nézve, ami hiperkortizolémiához és neurodgenerációhoz vezet. Az rTMS kezelés hatására ez a folyamat megszakad és újra képes képes kifejteni gátló hatását az eCB rendszer.

Az rTMS hatását az eCB rendszerre igazolták több állatkísérletes vizsgálatban. A CB1R expressziója és sejt profileráció csökkenése volt megfigyelhető krónikus bejósolhatatlan enyhe stressz esetén Sprague Dawley patkányok gyrus dentatus agyi régiójában. A stresszelt állatok 7 napos rTMS kezelését követően a depressziós viselkedés teszteken javulást mutattak és ezzel párhuzamosan a CB1R upregulációja és a sejtproliferáció emelkedése látszódott. Ezek a pozitív (antidepresszív) összefüggések felfüggeszthetők voltak CB1R antagonista (AM251) adásával (Wang *et al.*, 2014). Egy másik vizsgálatban hasonló kísérleti körülmények között az derült ki, hogy a krónikus stresszhatásnak kitett állatokban csökkent a CB1R expresszió, valamint a 2-AG szintje és az MAGL expressziója nőtt a hippokampuszban és ezek a változások rTMS hatására korrigálódtak, illetve ehhez a depressziót modellező viselkedés csökkenése társult. Hasonlóan az előző vizsgálathoz, szintén felfüggeszthetőek voltak ezek a hatások AM251 kezeléssel (Fang & Wang, 2018). Egy nemrégiben publikált közleményben magas-frekvenciás rTMS stimulációval jelentősen javultak a depressziós tünetek és normalizálódott a hippokampalis szinaptikus proteinek expressziója. Az rTMS hatását a DAGLα vagy a CB1R blokkolásával szintén eliminálni lehetett (Xue *et al.*, 2019).

A vizsgálatunkban a neurokognitív tesztekkel mért változások szerint a TMT-A és TMT-B feladatokat mindkét követéses viziten jobban teljesítették a résztvevők, mint a kiinduláskor. Ugyanakkor az idő emelkedett, vagy változatlan volt a Stroop feladatok

teljesítésénél. A hibák száma a SCWT-CW esetében csökkent szignifikáns szinten a kezelés előtt mért hibák számához képest és ez a változás a szérum 2-AG szint változásával szintén korrelált. Az rTMS neurokognitív funkciókra gyakorolt hatásával kapcsolatban ellentmondásos adatok találhatók a szakirodalomban. A neurokognitív tünetek szignifikáns javulását állapították meg MDD-ben szenvedő betegeknél az rTMS kezeléssel összefüggésben egy meta-analízisben (Martin *et al.*, 2017). Tovar-Permodo és mtsai (2017) azt találták, hogy a terápia rezisztens depresszió tünetei jelentősen javulnak rTMS bevatkozás hatására, azonban hasonló javulást a neuropszichológiai tesztek (beleértve az SCWT-t) alapján nem lehetett kimutatni (Tovar-Perdomo *et al.*, 2017). Egy kvalitatív áttekintő tanulmányban Serafini és mtsai (2015) a kognitív tünetek rosszabbodását kimutató vizsgálatot is beemeltek az elemzésbe (Serafini *et al.*, 2015). Egy nagy jelentőségú friss magyar közleményben a theta-burst stimuláció nem befolyásolta sem a figyelmi, sem a munkamemória funkciókat MDD betegek kezelése során (Holczer *et al.*, 2021). Mindazonáltal a bemutatott neurokognitív adatokra vonatkozó eredményeket további vizsgálatokkal szükséges megerősíteni, különösképpen a nagyon változatos módszerekkel végzett SCWT esetében.

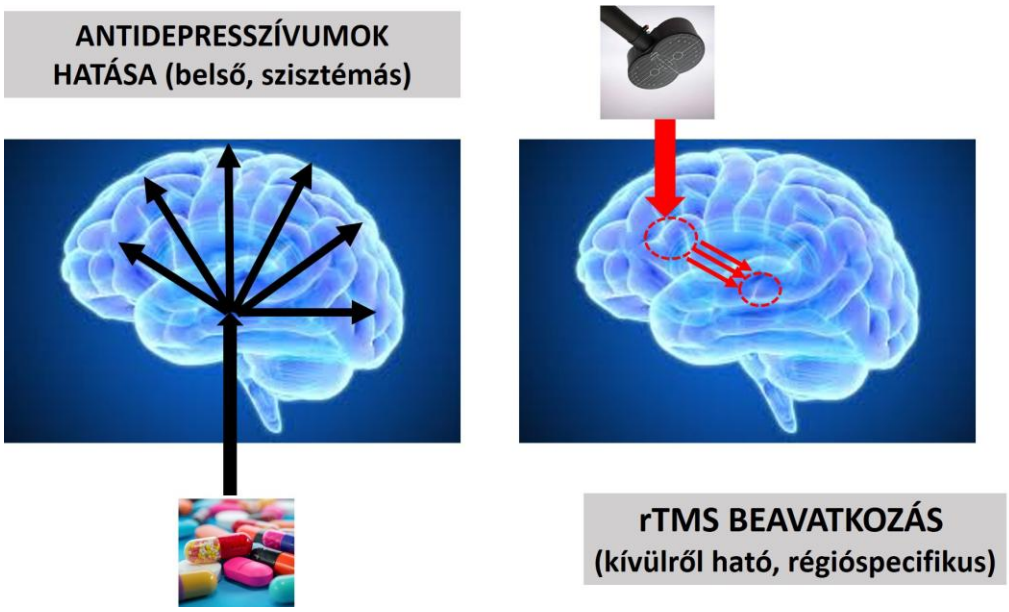
Összefoglalva, vizsgálatunkban elsőként tártuk fel a szérum 2-AG változása és a depressziós tünetek javulásának mértéke közötti korrelációt terápia rezisztens depresszióban szenvedő betegek rTMS kezelése során. Az eredményeink arra utalnak, hogy az rTMS kezelés a kortexen lokalizált területen kifejtett stimulációval az eCB rendszer indukcióján keresztül fejti ki hatását. A korábban állatkísérletben leírt kapcsolatot az eCB rendszer és az rTMS antidepresszív hatása között vizsgálatunkban humán kutatásbna is sikerült igazolni. Az eredményeink tükrében a 2-AG potenciális biomarkerként értékelhető a depresszió rTMS kezelésében és további vizsgálatok javasolhatók ilyen irányú fejlesztések megalapozásához.

5.7. A genetikai asszociációs és a klinikai vizsgálatok eredményeinek értelmezése terápiás hasznosíthatóság szempontjából

Az első jelentős pszichogenetikai eredmény, nevezetesen a szerotonin transzportert, mint a legfontosabb antidepresszívum targetmolekuláját kódoló génben található 5-HTTLPR polimorfizmussal kapcsolatos eredmény (Lesch *et al.*, 1996; Caspi *et al.*, 2003) és napjaink legjelentősebb GWAS vizsgálatok között hosszú út vezetett. Az egydileg vizsgált 5-HTTLPR önálló hatásától eljutottunk a több ezer SNP-t több ezer vizsgálati alany fenotípusának értékelése alapján azonosított kálium és a kálcium csatornák alegységeit kódoló génekig, melyet saját vizgsálatainkban is megerőstítettünk. A depresszió klasszikus kezelési elvei alapján nehezen lehet olyan, az agyban univerzálisan expresszálódó ioncsatornák terápiás hasznosíthatóságát felfedezni, melyek specifikus receptorokhoz tartozó jelátviteli útvonalak helyett az elemi idegi működéséért felelnek. Ugyanakkor éppen a vizsgálatunkban is bemutatott rTMS kezelés specialitása, hogy a kortexnek kizárólag csak meghatározott területét stimulálja célzottan és éppen a

neuronok elemi működésének befolyásolásán keresztül fejti ki hatását, szemben a szisztémásan alkalmazott gyógyszerekkel (24. ábra), mely a módszer tolerálhatóságát (gyakorlatilag nincs jelentős mellékhatás) is magyarázza. Az ioncsatornákat, valamint a jelátviteli útvonalakat tehát tudjuk szelektíven befolyásolni az rTMS módszerével és azokat a területekre hatást gyakorolni, amelyek működésében kulcsszerepet játszanak mind a szerotonerg neuronok, mind az eCB rendszer. Az rTMS hatására az ioncsatornák promt befolyásolása révén az akut változásokért felelhet, ugyanakkor hosszmetszeti tanulmányokból jól ismert, hogy az rTMS akut hatása csak antidepresszívumok egyidejű adásával tartható fenn (hasonlóan az ECT kezeléshez). Valószínűsíthető, hogy az agy lokális stimulációja a szisztémásan alkalmazott gyógyszer hatását a stimuláció által indukált területeken potencírozza, így az antidepresszívumok hatása együttesen az rTMS stimuláló hatásával előnyös kombináció. Az rTMS kezelési módszerek fejlesztése napjainkban intenzíven zajlik és a depresszív zavarok kezelésének új mérföldkövét jelentik.

24. ábra A célzottan alkalmazható stimuláció (rTMS) és a szisztémásan alkalmazott antideprresszívumok különböző módon befolyásolják az agy működését



Ugyanakkor fontos hangsúlyozni azt is, hogy a többezer elemszámú vizsgálatok esetében a fenotípus heterogenitása az eredményeket torzító hatást jelent, mint ahogy erre korábban más fenotípussal kapcsolatban is utaltunk (Lazary *et al.*, 2011a). A depresszió esetében ez különösen érzékeny téma, hiszen, ahogy azt korábban említettük, a diagnosztikai eszközeink meglehetősen korlátozottak. A depresszióra specifikus biomarkerek azonosítása és klinikai alkalmazása ezért alapveően megváltoztathatja az eddigi vizsgálatok értékelését.

A GxE interakciós vizsgálatok eredményeinek értelmezését tovább árnyalja stresszkeltő életesemények különböző típusainak szerepe, valamint a vizsgálatba bevont

személyek életkora, mely vonatkozásokat az 5-HTTLPR-rel kapcsolatban elemeztünk (Juhasz *et al.*, 2015)

Eredményeink alapján a rizikóallélokat hordozó, korai életkorban traumatizált személyek biológiailag elkülönült alcsoportot képeznek, akiknek a kezelésre adott válasz eltérő lehet, ezért célirányos pszichofarmakológiai vizsgálatuk indokolt.

6. Összefoglalás, konklúzió

Eredményeinkkel alátámasztottuk az eCB rendszer genetikai markereinek és a korai traumatikus életeseményeknek interakciós hatását az affektív vulnerábilitás kialakulásában. A CB1R gén, a FAAH és a CB2R gének szignifikáns patogén hatásai a depresszió stress elméletét, neuorgenézis elméletét, valamint a gyulladásos teóriát egyaránt összeköti és az eCB rendszer a depresszió molekuláris vulnerábilitási pontjaként fogható fel. Az eCB szignalizációhoz tartozó molekuláris kaszkád genetikai varianciája és az affektív fenotípus varianciája közötti kapcsolatot tártuk fel, melynek eredményeképpen két ioncsatorna (kálcium, LTCC és kálium, GIRK) alegységét kódoló gén szerepét erősítettük meg, továbbá a GIRK a ruminatív válaszadási stílussal és a C-típusú személyiségklaszterrel is összefüggést mutatott. Az említett ioncsatornák több, jelentős GWAS vizsgálat eredményeit erősíti meg, illetve a környezeti hatással való interakcióval egészíti ki, mely arra utal, hogy a heterogén, spektrumot lefedő fenotípusok esetén erőteljesebb hatást gyakorolnak a többféle szignalizációs útvonalban közreműködő ioncsatornák genetikai variánsai, mint a farmakológiai targeteket kódoló kandidáns gének polimorfizmusai.

Az rTMS kezelés szignifikáns hatását bizonyítottuk terápia rezisztens depresszióban szenvedő betegek részletes tüneti profil vizsgálatával. A kezelés során mért szérum endokannabioid szint változása szignfikáns összefüggést mutatott a tünetek javulásának mértékével. Eredményeinkkel alátámasztottuk az eCB rendszer szerepét az rTMS kezelés hatásmechanizmusában és adataink alapján a 2-AG-t az rTMS kezelésre adott válasz biomarkereként való vizsgálatát javasoltuk.

Saját és irodalmi eredményeink alapján a depresszió hatékonyabb kezelésének fejlesztésében 2 irány körvonalazódik. Az egyik a genetikai szűrés, melynek alapján meghatározható, hogy a beteg fenotípusa a depresszió milyen biológiai alcsoportba tartozik. Az alcsoportok részére, adott biológiai rendszerre célzottan ható gyógyszer fejlesztése jelentősen növelheti a kezelés eredményességét. A másik irány az agyi régió-specifikus neurostimuláció és a gyógyszeres kezelés kombinációjának továbbfejlesztése biomarker monitorozással. A jövőben a genetikai tesztek és biomarkerek, valamint a neurostimuláció alkalmazása áttörést hozhat a hangulatzavarok kezelésében.

7. Új megállapítások

I. Kimutattuk a CB1R gén és az 5-HTT gén promóter variánsainak szorongásra való hajlamot befolyásoló interakciós hatását.

II. Igazoltuk a FAAH gén C368A polimorfizmusa és a gyermekkori trauma gén-interakciós hatását a szorongásos fenotípus varianciával összefüggésben.

III. Mind a szorongásos, mind a depressziós fenotípusra gyakorolt jelentős gén-gén-környezet interakciós hatását igazoltuk a CB2R gén R63Q polimorfizmusa, a FAAH gén C385A polimorfizmusa és gyermekkori trauma tekintetében.

IV. Az endokannbinoid jeltáviteli útvonal genetikai elemzése alapján a KCNJ3 és a CACNA1C gének variánsainak hatását egyedi és gyermekkori traumával való interakcióban szignifikánsnak találtuk a szorongásos és depressziós fenotípusra nézve 2 független európai mintában.

V. A KCNJ6 és a CREB1 gének interakciós hatása és a ruminációs válaszadási stílus közötti összefügést 2 független európai mintában igazoltuk. Ezt az összefüggést erősítettük meg egy harmadik európai mintában, ahol a C-típusú személyiségklaszterrel szintén a KCNJ6 és CREB1 interakciós hatásával mutatott összefüggést.

VI. A kannabisz indukálta szkizofréniaspektrumzavarban szenvedő betegeknél a kannabiszt nem használó szkizofréniaspektrumzavarban szenvedő betegekhez képest koraibb hospitalizációját, a férfiak nagyobb számban való érintettségét, a hospitalizációt megelőzően ritkább szuicidális kísérletet, rövidebb hospitalizációs időt és az alkalmazott antpszichotikumok alacsonyabb dózisának alkalmazását igazoltuk.

VII. A terápiarezisztens major depresszív zavarban szenvedő betegek rTMS kezelésének hatására szignifikáns javulást igazoltunk az általános depressziós tünetek, a szorongásos tünetek, az alvászavar, az anhedónia és a neurokognitív tünetek egy részében.

VIII. A szérum 2-AG koncentráció változásának mértéke az általános depressziós, a szorongásos, az anhedónia és neurokognitív tünetek változásának mértékével korrelált az rTMS kezelés hatásának következtében.

8. Köszönetnyílvánítás

Kutatómunkám során jelentős és értékes támogatást kaptam mentoraimtól, kollégáimtól, PhD hallagtóimtól és a családomtól, melyért őszinte hálámat szeretném kifejezni.

Szeretném megköszönni a kutatói pályán való elindításomat, a kutatói pálya iránti elkötelezettségem megalapozását és támogatást egykori PhD témavezetőmnek, Prof. Dr. Bagdy Györgynek, akitől meghatározó kutatói szemléletet, munkamorált, kérlelhetetlen precizitást és a professzionális tudományos munka alapvetéseit tanulhattam többek között.

Köszönöm szakmai és emberi támogatását klinikai mentoromnak, Prof. Dr. Faludi Gábornak, akitől a klinikusi és a tudományos igényesség elválaszthatatlan egységének szemléletét sajátíthattam el. Közös munkáink nem csak a klinikumot érintik, hanem tudományos téren is támogatást nyújtott, szakmai fejlődésemhez hozzájárult.

Köszönöm továbbá bíztatását és támogatását Dr. Németh Attilának, a Nyírő Gyula Országos Pszichiátriai és Addiktológiai Intézet korábbi igazgatójának, aki főorvosi kinevezésemmel bizalmat szavazott számomra és tudományos munkásságomat messzemenően támogatta.

Köszönöm a támogatását, bíztatását jelenlegi főnökeimnek, Dr. Med.Habil. Erőss Loránd főigazgató úrnak, és Prof. Dr. Kéri Szabolcsnak.

Prof. Dr. Bereczki Dánielnek köszönöm, hogy PhD témavezetőként befogadott a Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola munkaközösségébe és mindenkor támogatást nyújtott.

Továbbá köszönettel tartozom közös munkáink során nyújtott támogatásáért Prof. Dr. Rihmer Zoltánnak, Prof. Dr. Sasvári-Székely Máriának, Prof. Dr. Prohászka Zoltánnak, Dr. Gonda Xéniának, Dr. Döme Péternek, Dr. Juhász Gabriellának, Dr. Tóth Blankának, Dr. Solymosi Norbertnek, Dr. Eszlári Nórának, Dr. Makkos Zoltánnak, Dr. Halmai Zsuzsának, Dr. Mátyus Máriának, Dr. Fent Jánosnak és azoknak a munkatársaimnak, akik a Neuropszichofarmakológiai és Neurokémiai Laboratóriumban és a Kútvölgyi Klinikai Tömb Klinikai és Kutatási Mentálhigiénés Osztályon segítették munkámat.

Külföldi kollaborációs partnereink közül köszönöm segítségét Prof. Dr. Bill Deakinnek, Prof. Dr. Klaus-Peter Leschnek, Prof. Dr. Andreas Reifnek, Prof. Dr. Ian Andrersonnak, Dr. Diana Chasenek és Dr. Carlos De Las Cuevasnak.

Köszönöm kitartó és lelkes munkáját a PhD hallgatóimnak, Dr. Csala Irénnek, Dr. Eleméry Mónikának, Dr. Kiss Szilviának és nagyrabecsült kollégámnak, egyéni fokozatszerzőmnek Dr. Pogány Lászlónak, valamint TDK hallgatóimnak.

Kollaborációs partnerintézményeinknek, úgy mint a Semmelweis Egyetemnek, a Budapesti Műszaki Egyetemnek, a Manchesteri Egyetemnek, a Würzburgi Egyetemnek, a Helsinki

Egyetemnek, az Országos Korányi Tbc- és Pulmonológiai Intézetnek, a Budapesti Állatorvosi Egyetemnek, valamint a Magyar Honvédkórháznak közreműködését szintén köszönöm.

Köszönöm az önkéntes vizsgálati alanyok kutatásaimban való részvételét, közreműködését.

Nem utolsó sorban köszönöm az MTA ösztöndíj program többes támogatását (MTA Bolyai János kutatói ösztöndíj, MTA Bolyai Plusz ösztöndíj és Kisgyermeket nevelő kutatónők ösztöndíja). Köszönöm az MTA doktori eljárás során közreműködő bírálók, bizottsági tagok, adminisztratív munkatársak munkáját.

A kutatások finanszírozását számos pályázati forrás tette lehetővé, úgy mint az EU 6. keretprogram New Molecules in Mood Disorders (NewMood project, LSHM-CT-2004-503474), az NKFIH FK OTKA 131315 pályázat, a Norvég Alap HU0125 pályázata, a Nemzeti Agykutatói Program (NAP : 2017-1.2.1-NKP-2017-00002 KTIA_13_NAPA-II/14 KTIA_NAP_13-2-2015-0001), és az EMMI Új Nemzeti Kiválósági Program Program (TAMOP-4.2.1.B-09/1/KMR-2010-0001), valamint a Sememlweis Egyetem PhD doktori program.

9. Az értekezés alapjául szolgáló publikációk listája

Lazary, J. ; Elemery, M. ; Dome, P. ; Kiss, S. ; Gonda, X. ; Tombor, L. ; Pogany, L. ; Becskereki, G. ; Toth, B.; Faludi, G. Peripheral endocannabinoid serum level in association with repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) treatment in patients with major depressive disorder SCIENTIFIC REPORTS 11 : 1 Paper: 8867 , 11 p. (2021)

Lazary, Judit ; Eszlari, Nora ; Kriko, Eszter ; Tozser, Dora ; Dome, Peter ; Deakin, J. F. William ; Juhasz, Gabriella ; Bagdy, Gyorgy Genetic analyses of the endocannabinoid pathway in association with affective phenotypic variants NEUROSCIENCE LETTERS 744 Paper: 135600 , 9 p. (2021)

Lazary, Judit ; Miezah, Daniel ; Moustafa, Ahmed A. ; Kéri, Szabolcs Peripheral biomarkers in major depressive disorders In: Moustafa, Ahmed A. (szerk.) The Nature of Depression : An Updated Review London, Egyesült Királyság / Anglia : Academic Press (2020) pp. 3-16. , 14 p.

Elemery, Monika ; Kiss, Szilvia ; Dome, Peter ; Tombor, Laszlo ; Faludi, Gabor ; Lazary, Judit Bilaterális repetitív transzkraniális mágneses stimuláció (rTMS) akut hatásának vizsgálata terápia rezisztens major depresszióban szenvedők körében NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 21 : 4 pp. 179-186. , 8 p. (2019)

Lazary, Judit ; Eszlari, Nora ; Juhasz, Gabriella ; Bagdy, Gyorgy A functional variant of CB2 receptor gene interacts with childhood trauma and FAAH gene on anxious and depressive phenotypes. JOURNAL OF AFFECTIVE DISORDERS 257 pp. 716-722. , 7 p. (2019)

Lazary, Judit Perifériás biomarkerek depressziós zavarokban: fókuszban a HPA-tengely, az inflammációs rendszer és a neurotrofikus faktorok NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 20 : 4 pp. 125-130. , 6 p. (2018)

Lazary, J ; Eszlari, N ; Juhasz, G ; Bagdy, G Az endokannabinoid rendszer genetikai asszociációs vizsgálatai szorongással összefüggésben [Genetic association analyses of the endocannabinoid system on anxious phenotype] NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 19 : 4 pp. 177-182. , 6 p. (2017)

Lazary, Judit ; Eszlari, Nora ; Juhasz, Gabriella ; Bagdy, Gyorgy Genetically reduced FAAH activity may be a risk for the development of anxiety and depression in persons with repetitive childhood trauma EUROPEAN NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY 26 : 6 pp. 1020-1028. , 9 p. (2016)

Lazary, J Psychopharmacological boundaries of schizophrenia with comorbid cannabis use disorder: a critical review. CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN 18 : 32 pp. 4890-4896. , 7 p. (2012)

Lazary, J ; Juhasz, G ; Anderson, I M ; Jacob, C P ; Nguyen, T T ; Lesch, K -P ; Reif, A ; Deakin, J F W ; Bagdy, G Epistatic interaction of CREB1 and KCNJ6 on rumination and negative emotionality EUROPEAN NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY 21 : 1 pp. 63-70. , 8 p. (2011)

Lazary, J ; Juhasz, G ; Hunyady, L ; Bagdy, G Personalized medicine can pave the way for the safe use of CB(1) receptor antagonists. TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCES 32 : 5 pp. 270-280. , 11 p. (2011)

Makkos, Z ; Fejes, L ; Inczedy-Farkas, G ; Kassai-Farkas, A ; Faludi, G ; Lazary, J Kannabiszhasználat mellett kialakuló szkizofréniaspektrumzavar klinikai jellegzetességeinek vizsgálata [Clinical characteristics of cannabis-induced schizophrenia spectrum disorder] NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 13 : 3 pp. 127-138. , 12 p. (2011)

Makkos, Z ; Fejes, L ; Inczedy-Farkas, G ; Kassai-Farkas, A ; Faludi, G ; Lazary, J Psychopharmacological comparison of schizophrenia spectrum disorder with and without cannabis dependency. PROGRESS IN NEURO-PSYCHOPHARMACOLOGY & BIOLOGICAL PSYCHIATRY 35 : 1 pp. 212-217. , 6 p. (2011)

10. Tudománymetriai táblázat

Lazáry Judit tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2021.08.06)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások[1]	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Folyóiratcikk[2]	56	---	---	---
szakcikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	28	616	779
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	2	5	7
szakcikk, magyar nyelvű	---	16	8	13
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként[3]	---	0	0	0
összefoglaló közlemény	---	9	223	260
rövid közlemény	---	1	1	1
II. Könyv	1	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	1	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	1	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyrészlet	10	---	---	---
idegen nyelvű	---	1	0	0
magyar nyelvű	---	7	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	2	0	0
IV. Konferenciaközlemény[4]	0	---	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)	---	2	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV.)	---	65	853	1060
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	67	---	853	1060
V. További tudományos művek	20	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	---	20	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	0	0	0
Oltalmak, szabadalmak	---	0	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok[6]	2	---	3	3
Összes hivatkozás[1]	---	---	856	1063
Hirsch index[8]	18	---	---	---
g index[8]	33	---	---	---

Speciális tudománymetriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma[2]	20	346
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma[2]	17	65
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2010) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	41	365
Az utolsó 10 év (2011 - 2021) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	41	365
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	151	14,21%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---	98
Jelentés, guideline	0	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő[7]	1	32

11. Irodalomjegyzék

Agrawal, A., Nelson, E.C., Littlefield, A.K., Bucholz, K.K., Degenhardt, L., Henders, A.K., Madden, P.A., Martin, N.G., Montgomery, G.W., Pergadia, M.L., Sher, K.J., Heath, A.C. & Lynskey, M.T. (2012) Cannabinoid receptor genotype moderation of the effects of childhood physical abuse on anhedonia and depression. *Archives of general psychiatry*, **69**, 732-740.

Aguado, T., Monory, K., Palazuelos, J., Stella, N., Cravatt, B., Lutz, B., Marsicano, G., Kokaia, Z., Guzman, M. & Galve-Roperh, I. (2005) The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation. *Faseb J*, **19**, 1704-1706.

Aguado, T., Palazuelos, J., Monory, K., Stella, N., Cravatt, B., Lutz, B., Marsicano, G., Kokaia, Z., Guzman, M. & Galve-Roperh, I. (2006) The endocannabinoid system promotes astroglial differentiation by acting on neural progenitor cells. *J Neurosci*, **26**, 1551-1561.

Akiskal, H.S., Mendlowicz, M.V., Jean-Louis, G., Rapaport, M.H., Kelsoe, J.R., Gillin, J.C. & Smith, T.L. (2005) TEMPS-A: validation of a short version of a self-rated instrument designed to measure variations in temperament. *Journal of affective disorders*, **85**, 45-52.

Andreasson, S., Allebeck, P., Engstrom, A. & Rydberg, U. (1987) Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet*, **2**, 1483-1486.

Arendt, M., Mortensen, P.B., Rosenberg, R., Pedersen, C.B. & Waltoft, B.L. (2008) Familial predisposition for psychiatric disorder: comparison of subjects treated for cannabis-induced psychosis and schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, **65**, 1269-1274.

Arendt, M., Rosenberg, R., Foldager, L., Perto, G. & Munk-Jorgensen, P. (2005) Cannabis-induced psychosis and subsequent schizophrenia-spectrum disorders: follow-up study of 535 incident cases. *Br J Psychiatry*, **187**, 510-515.

Arseneault, L., Cannon, M., Poulton, R., Murray, R., Caspi, A. & Moffitt, T.E. (2002) Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ (Clinical research ed*, **325**, 1212-1213.

Aspis, I., Feingold, D., Weiser, M., Rehm, J., Shoval, G. & Lev-Ran, S. (2015) Cannabis use and mental health-related quality of life among individuals with depressive disorders. *Psychiatry Res*, **230**, 341-349.

Association, A.P. (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. *Arlington: American Psychiatric Association*.

Avital, A. & Richter-Levin, G. (2005) Exposure to juvenile stress exacerbates the behavioural consequences of exposure to stress in the adult rat. *The international journal of*

neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP), **8**, 163-173.

Baeken, C. & De Raedt, R. (2011) Neurobiological mechanisms of repetitive transcranial magnetic stimulation on the underlying neurocircuitry in unipolar depression. *Dialogues in clinical neuroscience*, **13**, 139-145.

Baggio, M., Chong, A. & Simon, D. (2020) Sex, marijuana and baby booms. *Journal of health economics*, **70**, 102283.

Bahi, A., Al Mansouri, S., Al Memari, E., Al Ameri, M., Nurulain, S.M. & Ojha, S. (2014) beta-Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. *Physiology & behavior*, **135**, 119-124.

Barnes, T.R., Mutsatsa, S.H., Hutton, S.B., Watt, H.C. & Joyce, E.M. (2006) Comorbid substance use and age at onset of schizophrenia. *Br J Psychiatry*, **188**, 237-242.

Bastien, C.H., Vallieres, A. & Morin, C.M. (2001) Validation of the Insomnia Severity Index as an outcome measure for insomnia research. *Sleep medicine*, **2**, 297-307.

Bauer, M., Severus, E., Moller, H.J., Young, A.H. & Disorders, W.T.F.o.U.D. (2017) Pharmacological treatment of unipolar depressive disorders: summary of WFSBP guidelines. *International journal of psychiatry in clinical practice*, **21**, 166-176.

Beam, W., Borckardt, J.J., Reeves, S.T. & George, M.S. (2009) An efficient and accurate new method for locating the F3 position for prefrontal TMS applications. *Brain stimulation*, **2**, 50-54.

Beck, A.T., Epstein, N., Brown, G. & Steer, R.A. (1988) An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. *Journal of consulting and clinical psychology*, **56**, 893-897.

Beck, A.T., Ward, C.H., Mendelson, M., Mock, J. & Erbaugh, J. (1961) An inventory for measuring depression. *Archives of general psychiatry*, **4**, 561-571.

Belvederi Murri, M., Respino, M., Innamorati, M., Cervetti, A., Calcagno, P., Pompili, M., Lamis, D.A., Ghio, L. & Amore, M. (2015) Is good insight associated with depression among patients with schizophrenia? Systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia research*, **162**, 234-247.

Benjamini, Y.H., Y. (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, series B (Methodological)*, **57**, 289-300.

Bernstein, D.P., Ahluvalia, T., Pogge, D. & Handelsman, L. (1997) Validity of the Childhood Trauma Questionnaire in an adolescent psychiatric population. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, **36**, 340-348.

Bersani, G., Orlandi, V., Kotzalidis, G.D. & Pancheri, P. (2002) Cannabis and schizophrenia: impact on onset, course, psychopathology and outcomes. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **252**, 86-92.

Bizzarri, J.V., Rucci, P., Sbrana, A., Miniati, M., Raimondi, F., Ravani, L., Massei, G.J., Milani, F., Milianti, M., Massei, G., Gonnelli, C. & Cassano, G.B. (2009) Substance use in severe mental illness: self-medication and vulnerability factors. *Psychiatry Res*, **165**, 88-95.

Blumberger, D.M., Mulsant, B.H., Fitzgerald, P.B., Rajji, T.K., Ravindran, A.V., Young, L.T., Levinson, A.J. & Daskalakis, Z.J. (2012) A randomized double-blind sham-controlled comparison of unilateral and bilateral repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment-resistant major depression. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, **13**, 423-435.

Boydell, J., Dean, K., Dutta, R., Giouroukou, E., Fearon, P. & Murray, R. (2007) A comparison of symptoms and family history in schizophrenia with and without prior cannabis use: implications for the concept of cannabis psychosis. *Schizophrenia research*, **93**, 203-210.

Boydell, J., van Os, J., Caspi, A., Kennedy, N., Giouroukou, E., Fearon, P., Farrell, M. & Murray, R.M. (2006) Trends in cannabis use prior to first presentation with schizophrenia, in South-East London between 1965 and 1999. *Psychological medicine*, **36**, 1441-1446.

Brunoni, A.R., Sampaio-Junior, B., Moffa, A.H., Aparicio, L.V., Gordon, P., Klein, I., Rios, R.M., Razza, L.B., Loo, C., Padberg, F. & Valiengo, L. (2019) Noninvasive brain stimulation in psychiatric disorders: a primer. *Revista brasileira de psiquiatria*, **41**, 70-81.

Brusco, A., Tagliaferro, P., Saez, T. & Onaivi, E.S. (2008) Postsynaptic localization of CB2 cannabinoid receptors in the rat hippocampus. *Synapse (New York, N.Y*, **62**, 944-949.

Buhler, B., Hambrecht, M., Loffler, W., an der Heiden, W. & Hafner, H. (2002) Precipitation and determination of the onset and course of schizophrenia by substance abuse--a retrospective and prospective study of 232 population-based first illness episodes. *Schizophrenia research*, **54**, 243-251.

Calignano, A., La Rana, G., Giuffrida, A. & Piomelli, D. (1998) Control of pain initiation by endogenous cannabinoids. *Nature*, **394**, 277-281.

Carrieri, V., Madio, L. & Principe, F. (2020) Do-It-Yourself medicine? The impact of light cannabis liberalization on prescription drugs. *Journal of health economics*, **74**, 102371.

Carroll, J.C., Boyce-Rustay, J.M., Millstein, R., Yang, R., Wiedholz, L.M., Murphy, D.L. & Holmes, A. (2007) Effects of mild early life stress on abnormal emotion-related behaviors in 5-HTT knockout mice. *Behav Genet*, **37**, 214-222.

Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T.E., Taylor, A., Craig, I.W., Harrington, H., McClay, J., Mill, J., Martin, J., Braithwaite, A. & Poulton, R. (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science (New York, N.Y*, **301**, 386-389.

Catterall, W.A. (2011) Voltage-gated calcium channels. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **3**, a003947.

Chen, J., Zhou, C., Wu, B., Wang, Y., Li, Q., Wei, Y., Yang, D., Mu, J., Zhu, D., Zou, D. & Xie, P. (2013) Left versus right repetitive transcranial magnetic stimulation in treating major depression: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Psychiatry Res*, **210**, 1260-1264.

Chen, J.J., Liu, Z., Zhu, D., Li, Q., Zhang, H., Huang, H., Wei, Y., Mu, J., Yang, D. & Xie, P. (2014) Bilateral vs. unilateral repetitive transcranial magnetic stimulation in treating major depression: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Psychiatry Res*, **219**, 51-57.

Cheng, M.C., Liao, D.L., Hsiung, C.A., Chen, C.Y., Liao, Y.C. & Chen, C.H. (2008) Chronic treatment with aripiprazole induces differential gene expression in the rat frontal cortex. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, **11**, 207-216.

Chevaleyre, V., Takahashi, K.A. & Castillo, P.E. (2006) Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci*, **29**, 37-76.

Chiang, K.P., Gerber, A.L., Sipe, J.C. & Cravatt, B.F. (2004) Reduced cellular expression and activity of the P129T mutant of human fatty acid amide hydrolase: evidence for a link between defects in the endocannabinoid system and problem drug use. *Human molecular genetics*, **13**, 2113-2119.

Cloninger, C.R., Svrakic, D.M. & Przybeck, T.R. (1993) A psychobiological model of temperament and character. *Archives of general psychiatry*, **50**, 975-990.

Coleman, J.R., Euesden, J., Patel, H., Folarin, A.A., Newhouse, S. & Breen, G. (2016) Quality control, imputation and analysis of genome-wide genotyping data from the Illumina HumanCoreExome microarray. *Briefings in functional genomics*, **15**, 298-304.

Compton, M.T., Kelley, M.E., Ramsay, C.E., Pringle, M., Goulding, S.M., Esterberg, M.L., Stewart, T. & Walker, E.F. (2009) Association of pre-onset cannabis, alcohol, and tobacco use with age at onset of prodrome and age at onset of psychosis in first-episode patients. *The American journal of psychiatry*, **166**, 1251-1257.

Conzelmann, A., Reif, A., Jacob, C., Weyers, P., Lesch, K.P., Lutz, B. & Pauli, P. (2012) A polymorphism in the gene of the endocannabinoid-degrading enzyme FAAH (FAAH C385A) is associated with emotional-motivational reactivity. *Psychopharmacology*, **224**, 573-579.

Costa, P.T., Jr. & McCrae, R.R. (1997) Stability and change in personality assessment: the revised NEO Personality Inventory in the year 2000. *Journal of personality assessment*, **68**, 86-94.

Csala, I., Dome, P. & Lazary, J. (2017) [Maternal bonding style, cholinergic receptor gene polymorphisms in association with smoking-related depressive symptoms]. *Neuropsychopharmacol Hung*, **19**, 189-196.

Csala, I., Egervari, L., Dome, P., Faludi, G., Dome, B. & Lazary, J. (2015) The possible role of maternal bonding style and CHRNB2 gene polymorphisms in nicotine dependence and related depressive phenotype. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, **59**, 84-90.

Csala, I., Elemery, M., Martinovszky, F., Dome, P., Dome, B., Faludi, G., Sandor, I., Gyorffy, Z., Birkas, E. & Lazary, J. (2016) Maternal bonding styles in smokers and non-smokers: a comparative study. *Annals of general psychiatry*, **15**, 32.

D'Souza, D.C., Perry, E., MacDougall, L., Ammerman, Y., Cooper, T., Wu, Y.T., Braley, G., Gueorguieva, R. & Krystal, J.H. (2004) The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*, **29**, 1558-1572.

D'Souza, D.C., Sewell, R.A. & Ranganathan, M. (2009) Cannabis and psychosis/schizophrenia: human studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **259**, 413-431.

Darmani, N.A., Janoyan, J.J., Kumar, N. & Crim, J.L. (2003) Behaviorally active doses of the CB1 receptor antagonist SR 141716A increase brain serotonin and dopamine levels and turnover. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **75**, 777-787.

Dascal, N. & Rubinstein, M. (2017) Lithium reduces the span of G protein-activated K(+) (GIRK) channel inhibition in hippocampal neurons. *Bipolar disorders*, **19**, 568-574.

Daskalakis, Z.J., Levinson, A.J. & Fitzgerald, P.B. (2008) Repetitive transcranial magnetic stimulation for major depressive disorder: a review. *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*, **53**, 555-566.

De Marchi, N., De Petrocellis, L., Orlando, P., Daniele, F., Fezza, F. & Di Marzo, V. (2003) Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. *Lipids in health and disease*, **2**, 5.

Dedic, N., Pohlmann, M.L., Richter, J.S., Mehta, D., Czamara, D., Metzger, M.W., Dine, J., Bedenk, B.T., Hartmann, J., Wagner, K.V., Jurik, A., Almli, L.M., Lori, A., Moosmang, S., Hofmann, F., Wotjak, C.T., Rammes, G., Eder, M., Chen, A., Ressler, K.J., Wurst, W., Schmidt, M.V., Binder, E.B. & Deussing, J.M. (2018) Cross-disorder risk gene CACNA1C differentially modulates susceptibility to psychiatric disorders during development and adulthood. *Molecular psychiatry*, **23**, 533-543.

Derogatis, L.R. & Melisaratos, N. (1983) The Brief Symptom Inventory: an introductory report. *Psychological medicine*, **13**, 595-605.

Dewey, W.L. (1986) Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev*, **38**, 151-178.

Dome, P., Lazary, J., Kalapos, M.P. & Rihmer, Z. (2010) Smoking, nicotine and neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **34**, 295-342.

Drake, R.E., Xie, H., McHugo, G.J. & Green, A.I. (2000) The effects of clozapine on alcohol and drug use disorders among patients with schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, **26**, 441-449.

Dunlop, K., Hanlon, C.A. & Downar, J. (2017) Noninvasive brain stimulation treatments for addiction and major depression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1394**, 31-54.

Elemery, M., Kiss, S., Dome, P., Tombor, L., Faludi, G. & Lazary, J. (2019) [Investigation of the acute effect of bilateral repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in therapy resistant major depression patients]. *Neuropsychopharmacol Hung*, **21**, 179-186.

Elowe, J., Golay, P., Baumann, P.S., Solida-Tozzi, A. & Conus, P. (2020) Moderating role of cannabis use between insight and depression in early psychosis. *Schizophrenia research*, **215**, 61-65.

Eszlari, N., Millinghoffer, A., Petschner, P., Gonda, X., Baksa, D., Pulay, A.J., Rethelyi, J.M., Breen, G., Deakin, J.F.W., Antal, P., Bagdy, G. & Juhasz, G. (2019) Genome-wide association analysis reveals KCTD12 and miR-383-binding genes in the background of rumination. *Translational psychiatry*, **9**, 119.

Faludi, G., Dome, P. & Lazary, J. (2011) Origins and perspectives of schizophrenia research. *Neuropsychopharmacol Hung*, **13**, 185-192.

Faludi, G., Lazary, J. (2021) Transzkraniális mágneses stimuláció (TMS). *in: A pszichiátria magyar kézikönyve*, **Medicinum kiadó, Budapest**, 559-562.

Fang, G. & Wang, Y. (2018) Effects of rTMS on Hippocampal Endocannabinoids and Depressive-like Behaviors in Adolescent Rats. *Neurochemical research*, **43**, 1756-1765.

Felger, J.C. (2018) Imaging the Role of Inflammation in Mood and Anxiety-related Disorders. *Current neuropharmacology*, **16**, 533-558.

Fernandez-Espejo, E., Viveros, M.P., Nunez, L., Ellenbroek, B.A. & Rodriguez de Fonseca, F. (2009) Role of cannabis and endocannabinoids in the genesis of schizophrenia. *Psychopharmacology*, **206**, 531-549.

Fitzgerald, P.B., Benitez, J., de Castella, A., Daskalakis, Z.J., Brown, T.L. & Kulkarni, J. (2006) A randomized, controlled trial of sequential bilateral repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment-resistant depression. *The American journal of psychiatry*, **163**, 88-94.

Fitzgerald, P.B., Brown, T.L., Marston, N.A., Daskalakis, Z.J., De Castella, A. & Kulkarni, J. (2003) Transcranial magnetic stimulation in the treatment of depression: a double-blind, placebo-controlled trial. *Archives of general psychiatry*, **60**, 1002-1008.

Fitzgerald, P.B., Laird, A.R., Maller, J. & Daskalakis, Z.J. (2008) A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Human brain mapping*, **29**, 683-695.

Franklin, J.M. & Carrasco, G.A. (2013a) Cannabinoid receptor agonists upregulate and enhance serotonin 2A (5-HT(2A)) receptor activity via ERK1/2 signaling. *Synapse (New York, N.Y*, **67**, 145-159.

Franklin, J.M. & Carrasco, G.A. (2013b) G-protein receptor kinase 5 regulates the cannabinoid receptor 2-induced up-regulation of serotonin 2A receptors. *The Journal of biological chemistry*, **288**, 15712-15724.

Freeman, B., Smith, N., Curtis, C., Huckett, L., Mill, J. & Craig, I.W. (2003) DNA from buccal swabs recruited by mail: evaluation of storage effects on long-term stability and suitability for multiplex polymerase chain reaction genotyping. *Behav Genet*, **33**, 67-72.

Freund, T.F., Katona, I. & Piomelli, D. (2003) Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiological reviews*, **83**, 1017-1066.

Fride, E. (2008) Multiple roles for the endocannabinoid system during the earliest stages of life: pre- and postnatal development. *Journal of neuroendocrinology*, **20 Suppl 1**, 75-81.

Frodl, T. & O'Keane, V. (2013) How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans. *Neurobiology of disease*, **52**, 24-37.

Fusar-Poli, P., Crippa, J.A., Bhattacharyya, S., Borgwardt, S.J., Allen, P., Martin-Santos, R., Seal, M., Surguladze, S.A., O'Carrol, C., Atakan, Z., Zuardi, A.W. & McGuire, P.K. (2009) Distinct effects of {delta}9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neural activation during emotional processing. *Archives of general psychiatry*, **66**, 95-105.

Garcia-Gutierrez, M.S. & Manzanares, J. (2011) Overexpression of CB2 cannabinoid receptors decreased vulnerability to anxiety and impaired anxiolytic action of alprazolam in mice. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, **25**, 111-120.

Garcia-Gutierrez, M.S., Ortega-Alvaro, A., Busquets-Garcia, A., Perez-Ortiz, J.M., Caltana, L., Ricatti, M.J., Brusco, A., Maldonado, R. & Manzanares, J. (2013) Synaptic plasticity alterations associated with memory impairment induced by deletion of CB2 cannabinoid receptors. *Neuropharmacology*, **73**, 388-396.

Garcia-Gutierrez, M.S., Perez-Ortiz, J.M., Gutierrez-Adan, A. & Manzanares, J. (2010) Depression-resistant endophenotype in mice overexpressing cannabinoid CB(2) receptors. *British journal of pharmacology*, **160**, 1773-1784.

Giuffrida, A., Leweke, F.M., Gerth, C.W., Schreiber, D., Koethe, D., Faulhaber, J., Klosterkotter, J. & Piomelli, D. (2004) Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*, **29**, 2108-2114.

Gobbi, G., Bambico, F.R., Mangieri, R., Bortolato, M., Campolongo, P., Solinas, M., Cassano, T., Morgese, M.G., Debonnel, G., Duranti, A., Tontini, A., Tarzia, G., Mor, M., Trezza, V., Goldberg, S.R., Cuomo, V. & Piomelli, D. (2005) Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 18620-18625.

Goddard, A.W., Charney, D.S., Germine, M., Woods, S.W., Heninger, G.R., Krystal, J.H., Goodman, W.K. & Price, L.H. (1995) Effects of tryptophan depletion on responses to yohimbine in healthy human subjects. *Biol Psychiatry*, **38**, 74-85.

Gogarten, S.M., Bhangale, T., Conomos, M.P., Laurie, C.A., McHugh, C.P., Painter, I., Zheng, X., Crosslin, D.R., Levine, D., Lumley, T., Nelson, S.C., Rice, K., Shen, J., Swarnkar, R., Weir, B.S. & Laurie, C.C. (2012) GWASTools: an R/Bioconductor package for quality control and analysis of genome-wide association studies. *Bioinformatics (Oxford, England)*, **28**, 3329-3331.

Golden, C.J. (1975) A group version of the Stroop Color and Word Test. *Journal of personality assessment*, **39**, 386-388.

Goldsmith, D.R., Rapaport, M.H. & Miller, B.J. (2016) A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Molecular psychiatry*, **21**, 1696-1709.

Gonda, X., Fountoulakis, K.N., Juhasz, G., Rihmer, Z., Lazary, J., Laszik, A., Akiskal, H.S. & Bagdy, G. (2009) Association of the s allele of the 5-HTTLPR with neuroticism-related traits and temperaments in a psychiatrically healthy population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **259**, 106-113.

Gong, J.P., Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Liu, Q.R., Tagliaferro, P.A., Brusco, A. & Uhl, G.R. (2006) Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain research*, **1071**, 10-23.

Gonzalez-Pinto, A., Vega, P., Ibanez, B., Mosquera, F., Barbeito, S., Gutierrez, M., Ruiz de Azua, S., Ruiz, I. & Vieta, E. (2008) Impact of cannabis and other drugs on age at onset of psychosis. *The Journal of clinical psychiatry*, **69**, 1210-1216.

Green, B., Young, R. & Kavanagh, D. (2005) Cannabis use and misuse prevalence among people with psychosis. *Br J Psychiatry*, **187**, 306-313.

Green, E.K., Grozeva, D., Jones, I., Jones, L., Kirov, G., Caesar, S., Gordon-Smith, K., Fraser, C., Forty, L., Russell, E., Hamshere, M.L., Moskvina, V., Nikolov, I., Farmer, A., McGuffin, P., Holmans, P.A., Owen, M.J., O'Donovan, M.C. & Craddock, N. (2010) The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia. *Molecular psychiatry*, **15**, 1016-1022.

Gregg, L., Barrowclough, C. & Haddock, G. (2007) Reasons for increased substance use in psychosis. *Clinical psychology review*, **27**, 494-510.

Gunduz-Cinar, O., Hill, M.N., McEwen, B.S. & Holmes, A. (2013a) Amygdala FAAH and anandamide: mediating protection and recovery from stress. *Trends in pharmacological sciences*, **34**, 637-644.

Gunduz-Cinar, O., MacPherson, K.P., Cinar, R., Gamble-George, J., Sugden, K., Williams, B., Godlewski, G., Ramikie, T.S., Gorka, A.X., Alapafuja, S.O., Nikas, S.P., Makriyannis, A., Poulton, R., Patel, S., Hariri, A.R., Caspi, A., Moffitt, T.E., Kunos, G. & Holmes, A. (2013b) Convergent translational evidence of a role for anandamide in amygdala-mediated fear extinction, threat processing and stress-reactivity. *Molecular psychiatry*, **18**, 813-823.

Guy, W. (2000) Clinical Global Imression (CGI) Scales, Modified (eds.) In: Handbook of psychiatric measures. *American Psychiatric Association, Washington DC*, **Task force for the handbook of psychiatric measures**.

Haller, J., Barna, I., Barsvari, B., Gyimesi Pelczer, K., Yasar, S., Panlilio, L.V. & Goldberg, S. (2009) Interactions between environmental aversiveness and the anxiolytic effects of enhanced cannabinoid signaling by FAAH inhibition in rats. *Psychopharmacology*, **204**, 607-616.

Hallett, M. (2007) Transcranial magnetic stimulation: a primer. *Neuron*, **55**, 187-199.

Hamshere, M.L., Green, E.K., Jones, I.R., Jones, L., Moskvina, V., Kirov, G., Grozeva, D., Nikolov, I., Vukcevic, D., Caesar, S., Gordon-Smith, K., Fraser, C., Russell, E., Breen, G., St Clair, D., Collier, D.A., Young, A.H., Ferrier, I.N., Farmer, A., McGuffin, P., Holmans, P.A., Owen, M.J., O'Donovan, M.C. & Craddock, N. (2009) Genetic utility of broadly defined bipolar schizoaffective disorder as a diagnostic concept. *Br J Psychiatry*, **195**, 23-29.

Haring, M., Marsicano, G., Lutz, B. & Monory, K. (2007) Identification of the cannabinoid receptor type 1 in serotonergic cells of raphe nuclei in mice. *Neuroscience*, **146**, 1212-1219.

Hariri, A.R., Gorka, A., Hyde, L.W., Kimak, M., Halder, I., Ducci, F., Ferrell, R.E., Goldman, D. & Manuck, S.B. (2009) Divergent effects of genetic variation in endocannabinoid signaling on human threat- and reward-related brain function. *Biol Psychiatry*, **66**, 9-16.

Heim, C., Mletzko, T., Purselle, D., Musselman, D.L. & Nemeroff, C.B. (2008) The dexamethasone/corticotropin-releasing factor test in men with major depression: role of childhood trauma. *Biol Psychiatry*, **63**, 398-405.

Henquet, C., Murray, R., Linszen, D. & van Os, J. (2005) The environment and schizophrenia: the role of cannabis use. *Schizophrenia bulletin*, **31**, 608-612.

Hermann, H., Marsicano, G. & Lutz, B. (2002) Coexpression of the cannabinoid receptor type 1 with dopamine and serotonin receptors in distinct neuronal subpopulations of the adult mouse forebrain. *Neuroscience*, **109**, 451-460.

Heyman, E., Gamelin, F.X., Goekint, M., Piscitelli, F., Roelands, B., Leclair, E., Di Marzo, V. & Meeusen, R. (2012) Intense exercise increases circulating endocannabinoid and BDNF levels in humans--possible implications for reward and depression. *Psychoneuroendocrinology*, **37**, 844-851.

Hill, M.N., McLaughlin, R.J., Morrish, A.C., Viau, V., Floresco, S.B., Hillard, C.J. & Gorzalka, B.B. (2009a) Suppression of amygdalar endocannabinoid signaling by stress contributes to activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuropsychopharmacology*, **34**, 2733-2745.

Hill, M.N., Miller, G.E., Carrier, E.J., Gorzalka, B.B. & Hillard, C.J. (2009b) Circulating endocannabinoids and N-acyl ethanolamines are differentially regulated in major depression and following exposure to social stress. *Psychoneuroendocrinology*, **34**, 1257-1262.

Hill, M.N., Miller, G.E., Ho, W.S., Gorzalka, B.B. & Hillard, C.J. (2008) Serum endocannabinoid content is altered in females with depressive disorders: a preliminary report. *Pharmacopsychiatry*, **41**, 48-53.

Hillard, C.J. (2018) Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? *Neuropsychopharmacology*, **43**, 155-172.

Hillard, C.J., Weinlander, K.M. & Stuhr, K.L. (2012) Contributions of endocannabinoid signaling to psychiatric disorders in humans: genetic and biochemical evidence. *Neuroscience*, **204**, 207-229.

Hilt, L.M., Sander, L.C., Nolen-Hoeksema, S. & Simen, A.A. (2007) The BDNF Val66Met polymorphism predicts rumination and depression differently in young adolescent girls and their mothers. *Neuroscience letters*, **429**, 12-16.

Ho, W.S., Hill, M.N., Miller, G.E., Gorzalka, B.B. & Hillard, C.J. (2012) Serum contents of endocannabinoids are correlated with blood pressure in depressed women. *Lipids in health and disease*, **11**, 32.

Holczer, A., Nemeth, V.L., Vekony, T., Kocsis, K., Kiraly, A., Kincses, Z.T., Vecsei, L., Klivenyi, P. & Must, A. (2021) The Effects of Bilateral Theta-burst Stimulation on Executive Functions and Affective Symptoms in Major Depressive Disorder. *Neuroscience*, **461**, 130-139.

Ishiguro, H., Horiuchi, Y., Ishikawa, M., Koga, M., Imai, K., Suzuki, Y., Morikawa, M., Inada, T., Watanabe, Y., Takahashi, M., Someya, T., Ujike, H., Iwata, N., Ozaki, N., Onaivi, E.S., Kunugi, H., Sasaki, T., Itokawa, M., Arai, M., Niizato, K., Iritani, S., Naka, I., Ohashi, J., Kakita, A., Takahashi, H., Nawa, H. & Arinami, T. (2010) Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, **67**, 974-982.

Ishiguro, H., Horiuchi, Y., Tabata, K., Liu, Q.R., Arinami, T. & Onaivi, E.S. (2018) Cannabinoid CB2 Receptor Gene and Environmental Interaction in the Development of Psychiatric Disorders. *Molecules (Basel, Switzerland)*, **23**.

Janicak, P.G. & Dokucu, M.E. (2015) Transcranial magnetic stimulation for the treatment of major depression. *Neuropsychiatric disease and treatment*, **11**, 1549-1560.

Jaric, I., Rocks, D., Cham, H., Herchek, A. & Kundakovic, M. (2019) Sex and Estrous Cycle Effects on Anxiety- and Depression-Related Phenotypes in a Two-Hit Developmental Stress Model. *Frontiers in molecular neuroscience*, **12**, 74.

Juhasz, G., Gonda, X., Hullam, G., Eszlari, N., Kovacs, D., Lazary, J., Pap, D., Petschner, P., Elliott, R., Deakin, J.F., Anderson, I.M., Antal, P., Lesch, K.P. & Bagdy, G. (2015) Variability in the effect of 5-HTTLPR on depression in a large European population: the role of age, symptom profile, type and intensity of life stressors. *PloS one*, **10**, e0116316.

Juhasz, G., Lazary, J., Chase, D., Pegg, E., Downey, D., Toth, Z.G., Stones, K., Platt, H., Mekli, K., Payton, A., Anderson, I.M., Deakin, J.F. & Bagdy, G. (2009) Variations in the cannabinoid receptor 1 gene predispose to migraine. *Neuroscience letters*, **461**, 116-120.

Kabir, Z.D., Che, A., Fischer, D.K., Rice, R.C., Rizzo, B.K., Byrne, M., Glass, M.J., De Marco Garcia, N.V. & Rajadhyaksha, A.M. (2017) Rescue of impaired sociability and anxiety-like behavior in adult cacna1c-deficient mice by pharmacologically targeting eIF2alpha. *Molecular psychiatry*, **22**, 1096-1109.

Karniol, I.G., Shirakawa, I., Kasinski, N., Pfeferman, A. & Carlini, E.A. (1974) Cannabidiol interferes with the effects of delta 9 - tetrahydrocannabinol in man. *European journal of pharmacology*, **28**, 172-177.

Keller, S., Sarchiapone, M., Zarrilli, F., Videtic, A., Ferraro, A., Carli, V., Sacchetti, S., Lembo, F., Angiolillo, A., Jovanovic, N., Pisanti, F., Tomaiuolo, R., Monticelli, A., Balazic, J., Roy, A.,

Marusic, A., Cocozza, S., Fusco, A., Bruni, C.B., Castaldo, G. & Chiariotti, L. (2010) Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects. *Archives of general psychiatry*, **67**, 258-267.

Keshavan, M.S., Anderson, S. & Pettegrew, J.W. (1994) Is schizophrenia due to excessive synaptic pruning in the prefrontal cortex? The Feinberg hypothesis revisited. *Journal of psychiatric research*, **28**, 239-265.

Kim, J. & Li, Y. (2015) Chronic activation of CB2 cannabinoid receptors in the hippocampus increases excitatory synaptic transmission. *The Journal of physiology*, **593**, 871-886.

Klaassen, T., Klumperbeek, J., Deutz, N.E., van Praag, H.M. & Griez, E. (1998) Effects of tryptophan depletion on anxiety and on panic provoked by carbon dioxide challenge. *Psychiatry Res*, **77**, 167-174.

Kobayashi, T., Washiyama, K. & Ikeda, K. (2003) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K+ channels by fluoxetine (Prozac). *British journal of pharmacology*, **138**, 1119-1128.

Kollégium, S.E. (2021) A major (unipoláris) depresszív zavr: diagnosztikai és terápiás irányelvek. *Egészségügyi Közlöny*, **LXXI. évfolyam**, 965-1082.

Kosiba, J.D., Maisto, S.A. & Ditre, J.W. (2019) Patient-reported use of medical cannabis for pain, anxiety, and depression symptoms: Systematic review and meta-analysis. *Social science & medicine*, **233**, 181-192.

Kreitzer, A.C. & Regehr, W.G. (2002) Retrograde signaling by endocannabinoids. *Curr Opin Neurobiol*, **12**, 324-330.

Kristensen, K. & Cadenhead, K.S. (2007) Cannabis abuse and risk for psychosis in a prodromal sample. *Psychiatry Res*, **151**, 151-154.

Larson, K.C., Lipko, M., Dabrowski, M. & Draper, M.P. (2010) Gng12 is a novel negative regulator of LPS-induced inflammation in the microglial cell line BV-2. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]*, **59**, 15-22.

Lazary, J. (2012) Psychopharmacological boundaries of schizophrenia with comorbid cannabis use disorder: a critical review. *Current pharmaceutical design*, **18**, 4890-4896.

Lazary, J. (2018) [Highlights of peripheral biomarkers in major depressive disorder: focus on HPA-axis, inflammation and neurotrophic factors]. *Neuropsychopharmacol Hung*, **20**, 125-130.

Lazary, J., Dome, P., Csala, I., Kovacs, G., Faludi, G., Kaunisto, M. & Dome, B. (2014) Massive withdrawal symptoms and affective vulnerability are associated with variants of the CHRNA4 gene in a subgroup of smokers. *PloS one*, **9**, e87141.

Lazary, J., Dome, P. & Faludi, G. (2011a) Genetic and pharmacogenomic data on smoking: the bigger sample size, the less reliable phenotype? A critical review. *Neuropsychopharmacol Hung*, **13**, 7-13.

Lazary, J., Elemery, M., Csala, I. & Faludi, G. (2016a) [Personalized medicine in psychiatry: nightmare of the industry?]. *Neuropsychopharmacol Hung*, **18**, 137-142.

Lazary, J., Elemery, M., Dome, P., Kiss, S., Gonda, X., Tombor, L., Pogany, L., Becskereki, G., Toth, B. & Faludi, G. (2021a) Peripheral endocannabinoid serum level in association with repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) treatment in patients with major depressive disorder. *Scientific reports*, **11**, 8867.

Lazary, J., Eszlari, N., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2016b) Genetically reduced FAAH activity may be a risk for the development of anxiety and depression in persons with repetitive childhood trauma. *Eur Neuropsychopharmacol*, **26**, 1020-1028.

Lazary, J., Eszlari, N., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2017) [Genetic association analyses of the endocannabinoid system on anxious phenotype]. *Neuropsychopharmacol Hung*, **19**, 177-182.

Lazary, J., Eszlari, N., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2019) A functional variant of CB2 receptor gene interacts with childhood trauma and FAAH gene on anxious and depressive phenotypes. *Journal of affective disorders*, **257**, 716-722.

Lazary, J., Eszlari, N., Kriko, E., Tozser, D., Dome, P., Deakin, J.F.W., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2021b) Genetic analyses of the endocannabinoid pathway in association with affective phenotypic variants. *Neuroscience letters*, **744**, 135600.

Lazary, J., Gonda, X., Benko, A., Gacser, M. & Bagdy, G. (2009a) Association of depressive phenotype with affective family history is mediated by affective temperaments. *Psychiatry Res*, **168**, 145-152.

Lazary, J., Juhasz, G., Anderson, I.M., Jacob, C.P., Nguyen, T.T., Lesch, K.P., Reif, A., Deakin, J.F. & Bagdy, G. (2011b) Epistatic interaction of CREB1 and KCNJ6 on rumination and negative emotionality. *Eur Neuropsychopharmacol*, **21**, 63-70.

Lazary, J., Juhasz, G., Hunyady, L. & Bagdy, G. (2011c) Personalized medicine can pave the way for the safe use of CB(1) receptor antagonists. *Trends in pharmacological sciences*, **32**, 270-280.

Lazary, J., Lazary, A., Gonda, X., Benko, A., Molnar, E., Hunyady, L., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2009b) Promoter variants of the cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) in interaction with 5-HTTLPR affect the anxious phenotype. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **150B**, 1118-1127.

Lazary, J., Lazary, A., Gonda, X., Benko, A., Molnar, E., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2008) New Evidence for the Association of the Serotonin Transporter Gene (SLC6A4) Haplotypes, Threatening Life Events, and Depressive Phenotype. *Biol Psychiatry*.

Lazary, J., Miezah, D., Moustafa, Ahmed, A., Kéri, S. (2020) Peripheral biomarkers in major depressive disorders. *in: The Nature of Depression: an updated review*, **ed: Moustafa, Ahmed, A., Academic press, London**, 402-427.

Lazary, J., Viczena, V., Dome, P., Chase, D., Juhasz, G. & Bagdy, G. (2012) Hopelessness, a potential endophenotpye for suicidal behavior, is influenced by TPH2 gene variants. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, **36**, 155-160.

Le Foll, B., Gorelick, D.A. & Goldberg, S.R. (2009) The future of endocannabinoid-oriented clinical research after CB1 antagonists. *Psychopharmacology*, **205**, 171-174.

Ledent, C., Valverde, O., Cossu, G., Petitet, F., Aubert, J.F., Beslot, F., Bohme, G.A., Imperato, A., Pedrazzini, T., Roques, B.P., Vassart, G., Fratta, W. & Parmentier, M. (1999) Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science*, **283**, 401-404.

Lee, T.T. & Gorzalka, B.B. (2012) Timing is everything: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in modulating hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity across developmental periods. *Neuroscience*, **204**, 17-30.

Lefaucheur, J.P., Andre-Obadia, N., Antal, A., Ayache, S.S., Baeken, C., Benninger, D.H., Cantello, R.M., Cincotta, M., de Carvalho, M., De Ridder, D., Devanne, H., Di Lazzaro, V., Filipovic, S.R., Hummel, F.C., Jaaskelainen, S.K., Kimiskidis, V.K., Koch, G., Langguth, B., Nyffeler, T., Oliviero, A., Padberg, F., Poulet, E., Rossi, S., Rossini, P.M., Rothwell, J.C., Schonfeldt-Lecuona, C., Siebner, H.R., Slotema, C.W., Stagg, C.J., Valls-Sole, J., Ziemann, U., Paulus, W. & Garcia-Larrea, L. (2014) Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, **125**, 2150-2206.

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 (New York, N.Y*, **274**, 1527-1531.

Leung, A. & Chue, P. (2000) Sex differences in schizophrenia, a review of the literature. *Acta psychiatrica Scandinavica*, **401**, 3-38.

Lev-Ran, S., Le Foll, B., McKenzie, K. & Rehm, J. (2012) Cannabis use and mental health-related quality of life among individuals with anxiety disorders. *Journal of anxiety disorders*, **26**, 799-810.

Lev-Ran, S., Roerecke, M., Le Foll, B., George, T.P., McKenzie, K. & Rehm, J. (2014) The association between cannabis use and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Psychological medicine*, **44**, 797-810.

Leweke, F.M., Giuffrida, A., Wurster, U., Emrich, H.M. & Piomelli, D. (1999) Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*, **10**, 1665-1669.

Li, X., Shen, L., Hua, T. & Liu, Z.J. (2020) Structural and Functional Insights into Cannabinoid Receptors. *Trends in pharmacological sciences*, **41**, 665-677.

Li, Y. & Kim, J. (2016) CB2 Cannabinoid Receptor Knockout in Mice Impairs Contextual Long-Term Memory and Enhances Spatial Working Memory. *Neural plasticity*, **2016**, 9817089.

Lichtman, A.H. & Martin, B.R. (1991) Cannabinoid-induced antinociception is mediated by a spinal alpha 2-noradrenergic mechanism. *Brain Res*, **559**, 309-314.

Lippard, E.T.C. & Nemeroff, C.B. (2020) The Devastating Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect: Increased Disease Vulnerability and Poor Treatment Response in Mood Disorders. *The American journal of psychiatry*, **177**, 20-36.

Liu, Y., Blackwood, D.H., Caesar, S., de Geus, E.J., Farmer, A., Ferreira, M.A., Ferrier, I.N., Fraser, C., Gordon-Smith, K., Green, E.K., Grozeva, D., Gurling, H.M., Hamshere, M.L., Heutink, P., Holmans, P.A., Hoogendijk, W.J., Hottenga, J.J., Jones, L., Jones, I.R., Kirov, G., Lin, D., McGuffin, P., Moskvina, V., Nolen, W.A., Perlis, R.H., Posthuma, D., Scolnick, E.M., Smit, A.B., Smit, J.H., Smoller, J.W., St Clair, D., van Dyck, R., Verhage, M., Willemsen, G., Young, A.H., Zandbelt, T., Boomsma, D.I., Craddock, N., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., Penninx, B.W., Purcell, S., Sklar, P., Sullivan, P.F. & Wellcome Trust Case-Control, C. (2011) Meta-analysis of genome-wide association data of bipolar disorder and major depressive disorder. *Molecular psychiatry*, **16**, 2-4.

Liu, Y., Yieh, L., Yang, T., Drinkenburg, W., Peeters, P., Steckler, T., Narayan, V.A., Wittenberg, G. & Ye, J. (2016) Metabolomic biosignature differentiates melancholic depressive patients from healthy controls. *BMC genomics*, **17**, 669.

Llorente-Berzal, A., Mela, V., Borcel, E., Valero, M., Lopez-Gallardo, M., Viveros, M.P. & Marco, E.M. (2012) Neurobehavioral and metabolic long-term consequences of neonatal maternal deprivation stress and adolescent olanzapine treatment in male and female rats. *Neuropharmacology*, **62**, 1332-1341.

Loo, C.K. & Mitchell, P.B. (2005) A review of the efficacy of transcranial magnetic stimulation (TMS) treatment for depression, and current and future strategies to optimize efficacy. *Journal of affective disorders*, **88**, 255-267.

Lotan, A., Fenckova, M., Bralten, J., Alttoa, A., Dixson, L., Williams, R.W. & van der Voet, M. (2014) Neuroinformatic analyses of common and distinct genetic components associated with major neuropsychiatric disorders. *Frontiers in neuroscience*, **8**, 331.

Mackie, K. (2005) Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handbook of experimental pharmacology*, 299-325.

Makkos, Z., Fejes, L., Inczedy-Farkas, G., Kassai-Farkas, A., Faludi, G. & Lazary, J. (2011a) [Clinical characteristics of cannabis-induced schizophrenia spectrum disorder]. *Neuropsychopharmacol Hung*, **13**, 127-138.

Makkos, Z., Fejes, L., Inczedy-Farkas, G., Kassai-Farkas, A., Faludi, G. & Lazary, J. (2011b) Psychopharmacological comparison of schizophrenia spectrum disorder with and without cannabis dependency. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, **35**, 212-217.

Malfitano, A.M., Basu, S., Maresz, K., Bifulco, M. & Dittel, B.N. (2014) What we know and do not know about the cannabinoid receptor 2 (CB2). *Seminars in immunology*, **26**, 369-379.

Mallet, C., Dubray, C. & Duale, C. (2016) FAAH inhibitors in the limelight, but regrettably. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, **54**, 498-501.

Marco, E.M., Adriani, W., Canese, R., Podo, F., Viveros, M.P. & Laviola, G. (2007) Enhancement of endocannabinoid signalling during adolescence: Modulation of impulsivity and long-term consequences on metabolic brain parameters in early maternally deprived rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **86**, 334-345.

Marshall, M., Shannon, C., Meenagh, C., Mc Corry, N. & Mulholland, C. (2018) The association between childhood trauma, parental bonding and depressive symptoms and interpersonal functioning in depression and bipolar disorder. *Irish journal of psychological medicine*, **35**, 23-32.

Marsicano, G. & Lutz, B. (2006) Neuromodulatory functions of the endocannabinoid system. *J Endocrinol Invest*, **29**, 27-46.

Martin, D.M., McClintock, S.M., Forster, J.J., Lo, T.Y. & Loo, C.K. (2017) Cognitive enhancing effects of rTMS administered to the prefrontal cortex in patients with depression: A systematic review and meta-analysis of individual task effects. *Depression and anxiety*, **34**, 1029-1039.

Martin, M., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado, R. & Valverde, O. (2000) Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB1 knockout mice. *Eur J Neurosci*, **12**, 4038-4046.

Martin, M., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado, R. & Valverde, O. (2002) Involvement of CB1 cannabinoid receptors in emotional behaviour. *Psychopharmacology*, **159**, 379-387.

Mato, S., Aso, E., Castro, E., Martin, M., Valverde, O., Maldonado, R. & Pazos, A. (2007) CB1 knockout mice display impaired functionality of 5-HT1A and 5-HT2A/C receptors. *Journal of neurochemistry*, **103**, 2111-2120.

McGowan, P.O., Sasaki, A., D'Alessio, A.C., Dymov, S., Labonte, B., Szyf, M., Turecki, G. & Meaney, M.J. (2009) Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nature neuroscience*, **12**, 342-348.

McLaughlin, R.J., Hill, M.N. & Gorzalka, B.B. (2014) A critical role for prefrontocortical endocannabinoid signaling in the regulation of stress and emotional behavior. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **42**, 116-131.

Messeguer, X., Escudero, R., Farre, D., Nunez, O., Martinez, J. & Alba, M.M. (2002) PROMO: detection of known transcription regulatory elements using species-tailored searches. *Bioinformatics (Oxford, England)*, **18**, 333-334.

Meye, F.J., Trezza, V., Vanderschuren, L.J., Ramakers, G.M. & Adan, R.A. (2013) Neutral antagonism at the cannabinoid 1 receptor: a safer treatment for obesity. *Molecular psychiatry*, **18**, 1294-1301.

Meyer, J.D., Crombie, K.M., Cook, D.B., Hillard, C.J. & Koltyn, K.F. (2019) Serum Endocannabinoid and Mood Changes after Exercise in Major Depressive Disorder. *Medicine and science in sports and exercise*, **51**, 1909-1917.

Michopoulos, V., Powers, A., Gillespie, C.F., Ressler, K.J. & Jovanovic, T. (2017) Inflammation in Fear- and Anxiety-Based Disorders: PTSD, GAD, and Beyond. *Neuropsychopharmacology*, **42**, 254-270.

Milev, R.V., Giacobbe, P., Kennedy, S.H., Blumberger, D.M., Daskalakis, Z.J., Downar, J., Modirrousta, M., Patry, S., Vila-Rodriguez, F., Lam, R.W., MacQueen, G.M., Parikh, S.V., Ravindran, A.V. & Group, C.D.W. (2016) Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) 2016 Clinical Guidelines for the Management of Adults with Major Depressive Disorder: Section 4. Neurostimulation Treatments. *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*, **61**, 561-575.

Miller, P., Lawrie, S.M., Hodges, A., Clafferty, R., Cosway, R. & Johnstone, E.C. (2001) Genetic liability, illicit drug use, life stress and psychotic symptoms: preliminary findings from the Edinburgh study of people at high risk for schizophrenia. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, **36**, 338-342.

Minocci, D., Massei, J., Martino, A., Milianti, M., Piz, L., Di Bello, D., Sbrana, A., Martinotti, E., Rossi, A.M. & Nieri, P. (2011) Genetic association between bipolar disorder and 524A>C (Leu133Ile)

polymorphism of CNR2 gene, encoding for CB2 cannabinoid receptor. *Journal of affective disorders*, **134**, 427-430.

Misdrahi, D., Denard, S., Swendsen, J., Jaussent, I. & Courtet, P. (2014) Depression in schizophrenia: the influence of the different dimensions of insight. *Psychiatry Res*, **216**, 12-16.

Moller, H.J., Bitter, I., Bobes, J., Fountoulakis, K., Hoschl, C., Kasper, S. & European Psychiatric, A. (2012) Position statement of the European Psychiatric Association (EPA) on the value of antidepressants in the treatment of unipolar depression. *Eur Psychiatry*, **27**, 114-128.

Monteleone, P., Milano, W., Petrella, C., Canestrelli, B. & Maj, M. (2010a) Endocannabinoid Pro129Thr FAAH functional polymorphism but not 1359G/A CNR1 polymorphism is associated with antipsychotic-induced weight gain. *Journal of clinical psychopharmacology*, **30**, 441-445.

Monteleone, P., Serritella, C., Scognamiglio, P. & Maj, M. (2010b) Enhanced ghrelin secretion in the cephalic phase of food ingestion in women with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, **35**, 284-288.

Montgomery, S.A. & Asberg, M. (1979) A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry*, **134**, 382-389.

Moon, A.L., Haan, N., Wilkinson, L.S., Thomas, K.L. & Hall, J. (2018) CACNA1C: Association With Psychiatric Disorders, Behavior, and Neurogenesis. *Schizophrenia bulletin*, **44**, 958-965.

Moore, T.H., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T.R., Jones, P.B., Burke, M. & Lewis, G. (2007) Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. *Lancet*, **370**, 319-328.

Morena, M., Patel, S., Bains, J.S. & Hill, M.N. (2016) Neurobiological Interactions Between Stress and the Endocannabinoid System. *Neuropsychopharmacology*, **41**, 80-102.

Morvai, S., Nagy, A., Kovacs, A., More, C.E., Berecz, R. & Frecska, E. (2016) Unanswered Questions in the Transcranial Magnetic Stimulation Treatment of Patients with Depression. *Ideggyogyaszati szemle*, **69**, 4-11.

Nakazi, M., Bauer, U., Nickel, T., Kathmann, M. & Schlicker, E. (2000) Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB1 receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, **361**, 19-24.

Nemeroff, C.B. (2007) Prevalence and management of treatment-resistant depression. *The Journal of clinical psychiatry*, **68 Suppl 8**, 17-25.

Németh, A.D.P.D.G.R.Z. (2021) A 2000 és 2019 közötti időszakban Magyarországon elkövetett befejezett öngyilkosságok statisztikai elemzése. *Orvosi hetilap*, **in press**.

Newsom, R.J., Osterlund, C., Masini, C.V., Day, H.E., Spencer, R.L. & Campeau, S. (2012) Cannabinoid receptor type 1 antagonism significantly modulates basal and loud noise induced neural and hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses in male Sprague-Dawley rats. *Neuroscience*, **204**, 64-73.

Nolen-Hoeksema, S. (1991) Responses to depression and their effects on the duration of depressive episodes. *Journal of abnormal psychology*, **100**, 569-582.

O'Reardon, J.P., Solvason, H.B., Janicak, P.G., Sampson, S., Isenberg, K.E., Nahas, Z., McDonald, W.M., Avery, D., Fitzgerald, P.B., Loo, C., Demitrack, M.A., George, M.S. & Sackeim, H.A. (2007) Efficacy and safety of transcranial magnetic stimulation in the acute treatment of major depression: a multisite randomized controlled trial. *Biol Psychiatry*, **62**, 1208-1216.

Ohno-Shosaku, T., Maejima, T. & Kano, M. (2001) Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron*, **29**, 729-738.

Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Gong, J.P., Patel, S., Meozzi, P.A., Myers, L., Perchuk, A., Mora, Z., Tagliaferro, P.A., Gardner, E., Brusco, A., Akinshola, B.E., Hope, B., Lujilde, J., Inada, T., Iwasaki, S., Macharia, D., Teasenfitz, L., Arinami, T. & Uhl, G.R. (2008a) Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PloS one*, **3**, e1640.

Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Gong, J.P., Patel, S., Meozzi, P.A., Myers, L., Perchuk, A., Mora, Z., Tagliaferro, P.A., Gardner, E., Brusco, A., Akinshola, B.E., Liu, Q.R., Chirwa, S.S., Hope, B., Lujilde, J., Inada, T., Iwasaki, S., Macharia, D., Teasenfitz, L., Arinami, T. & Uhl, G.R. (2008b) Functional expression of brain neuronal CB2 cannabinoid receptors are involved in the effects of drugs of abuse and in depression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1139**, 434-449.

Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Gong, J.P., Patel, S., Perchuk, A., Meozzi, P.A., Myers, L., Mora, Z., Tagliaferro, P., Gardner, E., Brusco, A., Akinshola, B.E., Liu, Q.R., Hope, B., Iwasaki, S., Arinami, T., Teasenfitz, L. & Uhl, G.R. (2006) Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1074**, 514-536.

Ortner, N.J. & Striessnig, J. (2016) L-type calcium channels as drug targets in CNS disorders. *Channels*, **10**, 7-13.

Partington, J.L.R. (1949) Partington's Pathway Test. *Psychological Service Center Journal*, **1**, 11-20.

Patel, S., Cravatt, B.F. & Hillard, C.J. (2005) Synergistic interactions between cannabinoids and environmental stress in the activation of the central amygdala. *Neuropsychopharmacology*, **30**, 497-507.

Perera, T., George, M.S., Grammer, G., Janicak, P.G., Pascual-Leone, A. & Wirecki, T.S. (2016) The Clinical TMS Society Consensus Review and Treatment Recommendations for TMS Therapy for Major Depressive Disorder. *Brain stimulation*, **9**, 336-346.

Pertwee, R.G. (2005) Inverse agonism and neutral antagonism at cannabinoid CB1 receptors. *Life sciences*, **76**, 1307-1324.

Pierce, M., Hope, H.F., Kolade, A., Gellatly, J., Osam, C.S., Perchard, R., Kosidou, K., Dalman, C., Morgan, V., Di Prinzio, P. & Abel, K.M. (2020) Effects of parental mental illness on children's physical health: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry*, **217**, 354-363.

Piomelli, D. (2003) The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature reviews*, **4**, 873-884.

Rehm, J., Elton-Marshall, T., Sornpaisarn, B. & Manthey, J. (2019) Medical marijuana. What can we learn from the experiences in Canada, Germany and Thailand? *The International journal on drug policy*, **74**, 47-51.

Rihmer, Z. (2007) Suicide risk in mood disorders. *Current opinion in psychiatry*, **20**, 17-22.

Rihmer, Z., Gonda, X., Rihmer, A. & Dome, P. (2016) [Antidepressant-resistant depression and the bipolar spectrum -- diagnostic and therapeutic considerations]. *Psychiatria Hungarica : A Magyar Pszichiatriai Tarsasag tudomanyos folyoirata*, **31**, 157-168.

Rivera, P., Bindila, L., Pastor, A., Perez-Martin, M., Pavon, F.J., Serrano, A., de la Torre, R., Lutz, B., Rodriguez de Fonseca, F. & Suarez, J. (2015) Pharmacological blockade of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) alters neural proliferation, apoptosis and gliosis in the rat hippocampus, hypothalamus and striatum in a negative energy context. *Frontiers in cellular neuroscience*, **9**, 98.

Robbe, D., Alonso, G., Duchamp, F., Bockaert, J. & Manzoni, O.J. (2001) Localization and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *J Neurosci*, **21**, 109-116.

Robertson, J.M., Achua, J.K., Smith, J.P., Prince, M.A., Staton, C.D., Ronan, P.J., Summers, T.R. & Summers, C.H. (2017) Anxious behavior induces elevated hippocampal Cb2 receptor gene expression. *Neuroscience*, **352**, 273-284.

Rossini, P.M., Barker, A.T., Berardelli, A., Caramia, M.D., Caruso, G., Cracco, R.Q., Dimitrijevic, M.R., Hallett, M., Katayama, Y., Lucking, C.H. & et al. (1994) Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine

clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, **91**, 79-92.

Sabia, J.J., Swigert, J. & Young, T. (2017) The Effect of Medical Marijuana Laws on Body Weight. *Health economics*, **26**, 6-34.

Sarvet, A.L., Wall, M.M., Keyes, K.M., Olfson, M., Cerda, M. & Hasin, D.S. (2018) Self-medication of mood and anxiety disorders with marijuana: Higher in states with medical marijuana laws. *Drug and alcohol dependence*, **186**, 10-15.

Serafini, G., Pompili, M., Belvederi Murri, M., Respino, M., Ghio, L., Girardi, P., Fitzgerald, P.B. & Amore, M. (2015) The effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cognitive performance in treatment-resistant depression. A systematic review. *Neuropsychobiology*, **71**, 125-139.

Silberman, E.K. & Weingartner, H. (1986) Hemispheric lateralization of functions related to emotion. *Brain and cognition*, **5**, 322-353.

Sipe, J.C., Arbour, N., Gerber, A. & Beutler, E. (2005) Reduced endocannabinoid immune modulation by a common cannabinoid 2 (CB2) receptor gene polymorphism: possible risk for autoimmune disorders. *Journal of leukocyte biology*, **78**, 231-238.

Sipe, J.C., Chiang, K., Gerber, A.L., Beutler, E. & Cravatt, B.F. (2002) A missense mutation in human fatty acid amide hydrolase associated with problem drug use. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 8394-8399.

Snaith, R.P., Hamilton, M., Morley, S., Humayan, A., Hargreaves, D. & Trigwell, P. (1995) A scale for the assessment of hedonic tone the Snaith-Hamilton Pleasure Scale. *Br J Psychiatry*, **167**, 99-103.

Soyka, M., Albus, M., Immler, B., Kathmann, N. & Hippius, H. (2001) Psychopathology in dual diagnosis and non-addicted schizophrenics--are there differences? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **251**, 232-238.

Spechler, P.A., Stewart, J.L., Kuplicki, R., Tulsa, I. & Paulus, M.P. (2020) Attenuated reward activations associated with cannabis use in anxious/depressed individuals. *Translational psychiatry*, **10**, 189.

Spielberger, C.D. (1970) Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. *Consulting Psycgologist Press*.

Stempel, A.V., Stumpf, A., Zhang, H.Y., Ozdogan, T., Pannasch, U., Theis, A.K., Otte, D.M., Wojtalla, A., Racz, I., Ponomarenko, A., Xi, Z.X., Zimmer, A. & Schmitz, D. (2016) Cannabinoid Type 2 Receptors Mediate a Cell Type-Specific Plasticity in the Hippocampus. *Neuron*, **90**, 795-809.

Sugranyes, G., Flamarique, I., Parellada, E., Baeza, I., Goti, J., Fernandez-Egea, E. & Bernardo, M. (2009) Cannabis use and age of diagnosis of schizophrenia. *Eur Psychiatry*, **24**, 282-286.

Sulser, F. (2002) The role of CREB and other transcription factors in the pharmacotherapy and etiology of depression. *Annals of medicine*, **34**, 348-356.

Szadoczky, E., Papp, Z., Vitrai, J. & Furedi, J. (2000) [Prevalence of mood and anxiety disorders in the Hungarian adult population]. *Orvosi hetilap*, **141**, 17-22.

Tao, X., West, A.E., Chen, W.G., Corfas, G. & Greenberg, M.E. (2002) A calcium-responsive transcription factor, CaRF, that regulates neuronal activity-dependent expression of BDNF. *Neuron*, **33**, 383-395.

Tovar-Perdomo, S., McGirr, A., Van den Eynde, F., Rodrigues Dos Santos, N. & Berlim, M.T. (2017) High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation treatment for major depression: Dissociated effects on psychopathology and neurocognition. *Journal of affective disorders*, **217**, 112-117.

Troyer, A.K., Leach, L. & Strauss, E. (2006) Aging and response inhibition: Normative data for the Victoria Stroop Test. *Neuropsychology, development, and cognition. Section B, Aging, neuropsychology and cognition*, **13**, 20-35.

Turcotte, C., Blanchet, M.R., Laviolette, M. & Flamand, N. (2016) The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. *Cell Mol Life Sci*, **73**, 4449-4470.

Turna, J., Simpson, W., Patterson, B., Lucas, P. & Van Ameringen, M. (2019) Cannabis use behaviors and prevalence of anxiety and depressive symptoms in a cohort of Canadian medicinal cannabis users. *Journal of psychiatric research*, **111**, 134-139.

Tzavara, E.T., Davis, R.J., Perry, K.W., Li, X., Salhoff, C., Bymaster, F.P., Witkin, J.M. & Nomikos, G.G. (2003) The CB1 receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions. *British journal of pharmacology*, **138**, 544-553.

van Os, J., Bak, M., Hanssen, M., Bijl, R.V., de Graaf, R. & Verdoux, H. (2002) Cannabis use and psychosis: a longitudinal population-based study. *American journal of epidemiology*, **156**, 319-327.

Veen, N.D., Selten, J.P., van der Tweel, I., Feller, W.G., Hoek, H.W. & Kahn, R.S. (2004) Cannabis use and age at onset of schizophrenia. *The American journal of psychiatry*, **161**, 501-506.

Vilaplana, M., Richard-Devantoy, S., Turecki, G., Jaafari, N. & Jollant, F. (2015) Insight into mental disorders and suicidal behavior: a qualitative and quantitative multimodal investigation. *The Journal of clinical psychiatry*, **76**, 303-318.

Vinod, K.Y. & Hungund, B.L. (2006) Role of the endocannabinoid system in depression and suicide. *Trends in pharmacological sciences*, **27**, 539-545.

Walsh, Z., Gonzalez, R., Crosby, K., M, S.T., Carroll, C. & Bonn-Miller, M.O. (2017) Medical cannabis and mental health: A guided systematic review. *Clinical psychology review*, **51**, 15-29.

Wamsteeker, J.I., Kuzmiski, J.B. & Bains, J.S. (2010) Repeated stress impairs endocannabinoid signaling in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Neurosci*, **30**, 11188-11196.

Wang, H.N., Wang, L., Zhang, R.G., Chen, Y.C., Liu, L., Gao, F., Nie, H., Hou, W.G., Peng, Z.W. & Tan, Q. (2014) Anti-depressive mechanism of repetitive transcranial magnetic stimulation in rat: the role of the endocannabinoid system. *Journal of psychiatric research*, **51**, 79-87.

Wang, M., Hill, M.N., Zhang, L., Gorzalka, B.B., Hillard, C.J. & Alger, B.E. (2012) Acute restraint stress enhances hippocampal endocannabinoid function via glucocorticoid receptor activation. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, **26**, 56-70.

Watkins, E.R. (2009) Depressive Rumination and Co-Morbidity: Evidence for Brooding as a Transdiagnostic Process. *J Ration Emot Cogn Behav Ther*, **27**, 160-175.

Wellman, C.L., Izquierdo, A., Garrett, J.E., Martin, K.P., Carroll, J., Millstein, R., Lesch, K.P., Murphy, D.L. & Holmes, A. (2007) Impaired stress-coping and fear extinction and abnormal corticolimbic morphology in serotonin transporter knock-out mice. *J Neurosci*, **27**, 684-691.

Wen, H., Hockenberry, J.M. & Cummings, J.R. (2015) The effect of medical marijuana laws on adolescent and adult use of marijuana, alcohol, and other substances. *Journal of health economics*, **42**, 64-80.

Wheeler, D.G., Groth, R.D., Ma, H., Barrett, C.F., Owen, S.F., Safa, P. & Tsien, R.W. (2012) Ca(V)1 and Ca(V)2 channels engage distinct modes of Ca(2+) signaling to control CREB-dependent gene expression. *Cell*, **149**, 1112-1124.

Whiting, P.F., Wolff, R.F., Deshpande, S., Di Nisio, M., Duffy, S., Hernandez, A.V., Keurentjes, J.C., Lang, S., Misso, K., Ryder, S., Schmidlkofer, S., Westwood, M. & Kleijnen, J. (2015) Cannabinoids for Medical Use: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*, **313**, 2456-2473.

Wiley, J.L., Kendler, S.H., Burston, J.J., Howard, D.R., Selley, D.E. & Sim-Selley, L.J. (2008) Antipsychotic-induced alterations in CB1 receptor-mediated G-protein signaling and in vivo pharmacology in rats. *Neuropharmacology*, **55**, 1183-1190.

Wilson, R.I. & Nicoll, R.A. (2001) Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature*, **410**, 588-592.

Woods, S.W. (2003) Chlorpromazine equivalent doses for the newer atypical antipsychotics. *The Journal of clinical psychiatry*, **64**, 663-667.

Wycoff, A.M., Metrik, J. & Trull, T.J. (2018) Affect and cannabis use in daily life: a review and recommendations for future research. *Drug and alcohol dependence*, **191**, 223-233.

Xue, S.S., Xue, F., Ma, Q.R., Wang, S.Q., Wang, Y., Tan, Q.R., Wang, H.N., Zhou, C.H. & Peng, Z.W. (2019) Repetitive high-frequency transcranial magnetic stimulation reverses depressive-like behaviors and protein expression at hippocampal synapses in chronic unpredictable stress-treated rats by enhancing endocannabinoid signaling. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, **184**, 172738.

Yamada, K., Iwayama, Y., Toyota, T., Ohnishi, T., Ohba, H., Maekawa, M. & Yoshikawa, T. (2012) Association study of the KCNJ3 gene as a susceptibility candidate for schizophrenia in the Chinese population. *Human genetics*, **131**, 443-451.

Zamponi, G.W. (2016) Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nature reviews. Drug discovery*, **15**, 19-34.

Zhang, P.W., Ishiguro, H., Ohtsuki, T., Hess, J., Carillo, F., Walther, D., Onaivi, E.S., Arinami, T. & Uhl, G.R. (2004) Human cannabinoid receptor 1: 5' exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. *Molecular psychiatry*, **9**, 916-931.

Zhang, X., Gainetdinov, R.R., Beaulieu, J.M., Sotnikova, T.D., Burch, L.H., Williams, R.B., Schwartz, D.A., Krishnan, K.R. & Caron, M.G. (2005) Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron*, **45**, 11-16.

Zhu, P.J. (2006) Endocannabinoid signaling and synaptic plasticity in the brain. *Critical reviews in neurobiology*, **18**, 113-124.

Zuardi, A.W., Shirakawa, I., Finkelfarb, E. & Karniol, I.G. (1982) Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta 9-THC in normal subjects. *Psychopharmacology*, **76**, 245-250.

Zubenko, G.S., Hughes, H.B., 3rd, Maher, B.S., Stiffler, J.S., Zubenko, W.N. & Marazita, M.L. (2002) Genetic linkage of region containing the CREB1 gene to depressive disorders in women from families with recurrent, early-onset, major depression. *American journal of medical genetics*, **114**, 980-987.

Zung, W.W. (1965) A Self-Rating Depression Scale. *Archives of general psychiatry*, **12**, 63-70.