

Válaszok Dr. Molnár Mária Judit opponensi véleményére

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Dr. Molnár Mária Judit Professzorasszonynak, hogy vállalta doktori dolgozatom bírálatát, köszönöm, hogy javasolta az MTA Doktora cím odaítélését.

Sajnos nem tér ki honfitársunkra, Festetics Imre grófra, aki elsőként használta a genetika szót...
Gróf Festetics Imre a XIX. század elején a családi birtokon juhtenyésztéssel foglalkozott. Tudatosan megfigyelte és Gregor Mendelt megelőzve dokumentálta az öröklődés, valamint a beltenyésztés alapvető szabályszerűségeit. Nevéhez fűződik a „genetika” kifejezés, és ő fogalmazta meg elsőként a mutáció alapelvét is, ezeket a változatokat a „természet játékaik”-nak nevezte.

Hasonlóan hiányoltam Victor McKusick nevének az említését...

Victor McKusick az „orvosi genetika atyja”, 1921-ben született Maine államban, és 86 éves korában halt meg Marylandban. Első alkalommal 1966-ban jelent meg *Mendelian Inheritance in Man* című munkája, amely az ismert gének és öröklődő rendellenességek első rendszerezett gyűjteménye volt. Az adatbázis 1987-től a National Library of Medicine és a Johns Hopkins University együttműködésének eredményeként az Interneten is elérhetővé vált. Az OMIM azóta is mind a klinikai genetika, mind az alap kutatás nélkülözhetetlen információforrása.

Érdeemes lett volna ebben a fejezetben a molekuláris genetikai nevezéktan fejlődését is bemutatni...

A genetikai variációk nevezéktana a lehető legátláthatóbb, illetve informatikai eszközökkel is leghatékonyabban kezelhető rendszer kialakítása céljából folyamatosan fejlődik. Ezek az információk a Human Genome Variation Society (HGVS), illetve a Human Genome Organisation (HUGO) honlapján – <http://varnomen.hgvs.org/> – megtalálhatók, közlemény formájában legutoljára 2016-ban jelentek meg a *Human Mutation* folyóirat hasábjain [Dunnen 2016]. Noha nagyon elterjedt, és emiatt még időről időre ma is felbukkan, az összefoglaló a „mutáció” és a „polimorfizmus” fogalmak megszüntetését javasolja. Ennek oka, hogy a megnevezések eltérő definíciója vált elterjedté. Bár hivatalosan az 1%-ot elérő, illetve meghaladó gyakoriságú variációkat neveztük polimorfizmusnak, a ritkébbakat pedig mutációnak, sok esetben mégis ehelyett a „mutáció” szóval a betegséget okozó variációkat illették, míg a „polimorfizmus” a betegséget (közvetlenül) nem okozó változatokat jelentette. Jelenleg ezért általánosságban a „változás”, illetve „variáció” megnevezéseket alkalmazzuk. A genetikai variációkat lehetőség szerint DNS-szinten kell leírni, és a különböző típusok megnevezésére a „szubsztitúció”, „deléció”, „duplikáció”, „inzerció”, „inverzió”, „deléció–inzerció”, „ismétlődő szekvenciák” és „komplex variációk” fogalmak használatosak a hagyományos „SNP”, „pontmutáció”, „VNTR”, „mikroszatellita”, „STR” stb. megnevezések helyett.

Ebben az alfejezetben említésre kerülnek a dopaminerg rendszerek is, azonban ezek bemutatása hiányos...

A dopamin a központi idegrendszer egyik fő neurotranszmittere, mely különböző útvonalak révén több eltérő funkció megvalósulásáért felel.

A mezolimbikus rendszerhez a középagy ventrális tegmentális területében lévő neuronok tartoznak, melyek a dopaminerg jelet a nucleus accumbens felé közvetítik. Ez az útvonal az öröm, a jutalom megélésében játszik szerepet, ami hozzájárul az adott cselekvés, viselkedés megerősítéséhez. A meзокortikális pálya kiindulópontja szintén a ventrális tegmentális terület, ahonnan a szignál ebben az esetben a prefrontális kéreg felé jut el. Ezen rendszer hibás működése – a prefrontális kéreg funkciójából adódóan – a koncentráció, valamint a döntéshozatal zavarát

eredményezheti. A nigrostrialis rendszer alapvető szerepet játszik a mozgások kivitelezésében. Ez a pálya a substantia nigra felől a nucleus caudatus és a putamen (striatum) felé vezet. Károsodásának következtében mozgászavarok (pl. görcsök, remegés) jönnek létre, ez áll pl. a Parkinson-betegség hátterében, és hasonló mellékhatásokat okoznak az első generációs (típusos) antipszichotikumok is, melyek hatásukat főként a D2-es dopaminreceptorok gátlása révén fejtik ki. A tuberoinfundibuláris rendszerben a dopaminerg jel a hypothalamus-ból a nucleus arcuatus-tól és a nucleus periventricularis-tól az agyalapi mirigyhez jut el, és fontos szerepet játszik a tejelválasztás szabályozásában.

A ventrális tegmentális területen lévő dopaminerg magokat A10-es, a substantia nigrában találhatóakat A9-es sejtcsoportnak nevezik. Az A8-as neuronok a középagy retrorubrális területén helyezkednek el. Az A11-es, A12-es, A13-as, A14-es és A15-ös magok a köztiagyban vannak. Találhatók dopaminerg sejtek emellett a bulbus olfactorius-ban is, ez az A16-os sejtcsoport. Az A11-es neuronok szerepet játszanak a szenzomotoros integrációban és a fájdalom érzékelésében, működészavaruk összefüggésben áll a nyugtalan láb szindrómával és a migrénnel. A zona incertában található az A13-as dopaminerg sejtek, melyek fontos szerepet játszanak a nocicepcióban, azaz a káros külső hatások érzékelésében.

A Módszertan bemutatásában hiányoltam az egyes kohortok részletesebb bemutatását...

A kutyák és farkasok *DRD4*, *TH*, *DBH* és *DAT* géneiben lévő ismétlődési variációk vizsgálata során 101 tervueren, 105 groenandael, 50 malinois és 239 németjuhász kutyából, valamint 22 európai szürke farkasból származó mintát elemeztünk.

A *DRD4* 27 bp-os delécióját 955 személy, 561 (58,7%) nő és 394 férfi (41,3%) genomjában elemeztük, átlagos életkoruk $31,6 \pm 11,4$ év volt.

A *C4A* és *C4B* génszám meghatározására alkalmas eljárás kidolgozásához ugyanezen csoportból választottunk ki véletlenszerűen 65 mintát.

A *GSK3B* génszám vizsgálata során 170 major depresszióban szenvedő beteg – 126 (74,1%) nő, 44 (25,9%) férfi, életkor: $49,0 \pm 11,9$ év –, 106 bipoláris hangulatzavarral diagnosztizált páciens – 74 (69,8%) nő, 32 (30,2%) férfi, életkor: $45,2 \pm 11,7$ év – és 321 pszichiátriai kórtörténettel nem rendelkező személy mintáját – 216 (67,3%) nő, 105 (32,7%) férfi, életkor: $25,3 \pm 8,3$ év – elemeztük. A betegek a Semmelweis Egyetem Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinikáján álltak kezelés alatt. A betegek beválasztása során a diagnózist két, független szakorvos állapította meg a DSM-IV kritériumai alapján. Azok a páciensek, akik egyéb neurológiai kórképben szenvedtek, vagy a DSM-IV alapján más pszichiátriai rendellenesség is megállapítható volt, nem kerültek be a tanulmányba.

Az agresszió és a monoaminerg neurotranszmitter rendszer egyes géneiben lévő kiválasztott genetikai variációk összefüggését célzó elemzésben 887 személy vett részt. Közülük 481 (54,2%) nő, 406 (45,8%) férfi volt $23,2 \pm 7,55$ átlagéletkorral. Kizárásra kerültek azok a személyek, akik – önbevallás alapján – korábban vagy aktuálisan pszichiátriai rendellenességben szenvedtek, vagy pszichiátriai kezelést kaptak. Az agresszió és a *WFS1* variánsai közötti asszociáció elemzés 801 személy adatait dolgozta föl, 784 személy mindkét tanulmányban részt vett. A vizsgált személyek közül 431 (53,8%) nő, 370 (46,2%) férfi volt $21,3 \pm 3,3$ átlagos életkorral, és hasonlóan csak olyan fiatal felnőtteket vontunk be az elemzésbe, akiknek anamnézisében pszichiátriai megbetegedés, illetve kezelés nem szerepelt. Ugyanezen minták genotipizálási eredménye alapján határoztuk meg a *WFS1* variánsok közötti LD mértékét.

Az 1-es (T1DM), illetve 2-es típusú cukorbetegség (T2DM) és a *WFS1* gén egy pontos nukleotid variációi közötti asszociáció elemzés során a betegek diagnosztizálása (és kezelése), a beválogatás, illetve a mintagyűjtés az akkori II., valamint III. számú Belgyógyászati Klinikán történt, munkacsoportunk tagjai ebben közvetlenül nem vettek részt. A cukorbetegség diagnózisát az éhgyomri vércukorértékek, valamint az orális glükózterhelés teszt (OGTT) alapján állították fel

a WHO útmutatása alapján. Nem vonták be a vizsgálatba azokat a személyeket, akik kórtörténetében daganat, autoimmun, illetve a cukorbetegségen kívül egyéb anyagcserebetegség szerepelt. A kontroll csoportot alkotó személyek önkéntes alapon vettek részt a kutatásban. A vizsgálati csoportok legfőbb adatait az alábbi táblázatok foglalják össze:

1-es típusú cukorbetegség elemzése:

Csoport	N	Életkor (év)	Nő	Férfi
T1DM	407	32,5 ± 10,7	211 (51,8%)	196 (48,2%)
kontroll	817	37,1 ± 8,9	425 (52,0%)	392 (48,0%)

2-es típusú cukorbetegség elemzése:

Csoport	N	Életkor (év)	Nő	Férfi
T2DM	380	58,0 ± 13,6	195 (51,3%)	185 (48,7%)
kontroll	892	39,1 ± 9,0	450 (50,4%)	442 (49,6%)

A T2DM csoportba tartozó betegek átlagos testtömegindexe $29,56 \pm 5,67$, Hb_{A1C} értéke $8,01 \pm 1,85$ volt.

Az impulzivitás és a SNAP-25 variánsai közötti kapcsolatot célzó munkánkban 901 személy – 495 (54,9%) nő és 406 (45,1%) férfi – vett részt. Átlagos életkoruk $21,3 \pm 3,3$ év volt, s hasonlóan az előző elemzésekhez csak olyan személyeket vizsgáltunk, akik pszichiátriai rendellenességben nem szenvedtek, illetve pszichiátriai kezelésben nem részesültek.

A DRD4 27 bp-os delécióját 955 személy, 561 (58,7%) nő és 394 férfi (41,3%) genomjában elemeztük, átlagos életkoruk $31,6 \pm 11,4$ év volt.

A Kitekintés című fejezet helyett érdemes lett volna egy olyan összefoglaló fejezetet írni, amelyben a jelölt összefoglalja tételesen, hogy tudományos tevékenységeinek mely eredményei kiemelkedőek a területen. Az új eredmények összefoglalása ugyan a Tézis füzetben fellelhető, de érdemes lett volna a disszertációban is feltüntetni azokat.

A Kitekintés fejezettel céltom az volt, hogy megpróbáljam közelebb hozni, összekötni a mindennapi klinikai orvostudományt a mi munkánkkal, ami részben módszertani jellegű alapkutatás. Az új eredmények tételes felsorolását a Tézis füzetben gondoltam szükségesnek, ugyanakkor egyetérték abban, hogy mintegy összefoglalásként ez a dolgozatban is helyet kaphatott volna.

Az ultravékony gél elektroforézis alkalmazásának vannak-e hátrányai? Ha vannak kérem sorolja fel azokat.

Az ultravékony elektroforézis legfőbb hátránya, hogy csak analitikai célra alkalmazható. Az üvegkazettát, ami a gélt tartalmazza, nem lehet szétszedni, hanem abból a gélt egy pumpával kell kimosni, aminek során a gél károsodik, így abból DNS-fragmentumot visszanyerni nem lehet úgy, ahogy a hagyományos agaróz gélelektroforézis esetén egy darab a gélből kivágható, vagy kapilláris-elektroforézis során automatizált módon frakció gyűjthető. Emellett megemlíthető még, hogy a gél két összetevőből: agarózból és lineáris poliakrilamidból áll, ami a költséget valamelyest megnövelheti, ugyanakkor a gél térfogata kisebb, mint a hagyományos rendszerben, ráadásul egy gél – 4–6 óra leforgása alatt – többször is felhasználható, ami ezt a költségnövekedést kompenzálhatja. Végezetül a valós idejű, lézeres detektáláshoz nélkülözhetetlen a megfelelő eszköz, ami összességében bonyolultabb, mint egy egyszerű agaróz gél „lefényképezéséhez” szükséges berendezés.

A T1DM genetikai predictiós faktorok közül melyek a legerősebbek? Mi most, 2023-ban az aktuális álláspont a T1DM-t meghatározó genetikai és környezeti faktorokról?

Az 1-es típusú cukorbetegség (T1DM) komplex kórkép, kialakulásában számos örökletes és környezeti tényező játszik szerepet. A genetikai faktorok közül első helyen a HLA II. osztály

elemeinek génjei említhetők. Olyan, meglehetősen variábilis, szorosan kapcsolt, nagy kiterjedésű blokkokat alkotó régiók tartoznak ebbe a rendszerbe, melyek az antigénprezentáló sejteken – B-limfociták, makrofágok, monociták, endotheliális sejtek, dendritikus sejtek, Langerhans-sejtek – fejeződnek ki. A DRB1*04:01 és DRB1*04:05 haplotípusok jelenléte igen magas rizikót jelent, emellett a T1DM kialakulásának kockázatát fokozza a DRB1*04:01-DQA1*03-DQB1*03:02 haplotípuskombináció is. A DRB1*04:01-DQA1*03-DQB1*03:01 semleges, míg a DRB1*04:03 védő hatású. A genomban jelen lévő variánsokra jellemző rizikó értékek közelítőleg összeadódva alakítják ki az egyénre jellemző hajlamot, de egyes esetekben ettől eltérő kölcsönhatás is megfigyelhető: a DR3-DQ2 és DR4-DQ8 haplotípusok kombinációja magasabb rizikót eredményez, mint bármelyik változat homozigóta formában. A magas rizikót képviselő haplotípusok többségében szigetsejt ellenes autoantitestek képződésével állnak összefüggésben. A betegség rizikójához a HLA I. osztály rendszerének génjei is hozzájárulnak: HLA-A*24, B*18 és B*39 az autoantitestek megjelenése után gyorsítja a betegség progresszióját, ha egy adott HLA-II. haplotípussal kombinációban van jelen. Ez a hatás a citotoxikus CD8⁺ sejtek β -sejt pusztító hatásának befolyásolásán alapul [Ilonen 2019].

Az örökletes tényezők között emellett további, kb. 60, a HLA-rendszertől független lókuszt azonosítottak. Legerősebb hatása az inzulin, valamint egy limfocitában kifejeződő protein tirozin foszfatáz (*PTPN22*) génjében lévő variánsoknak van, de többek között szerepet játszanak az *IL2RA* (IL-2 receptor A alegység); a *CTLA4* (citotoxikus T-limfocita asszociált protein 4), az *IFIH1* (interferon termelésben szerepet játszó dsRNS-receptor) gének polimorfizmusai is. A cukorbetegség valamennyi fajtájának kialakulása összefügg a β -sejtekben létrejövő ER-stresszsel, emiatt a rizikófaktorok között a *WFS1*, az *IRE1* és a *PERK* variánsai is megjelennek a szakirodalomban (Morikawa, Int J Mol Sci. 2022).

A környezeti tényezők azonosítása szintén kihívást jelent, jelentőségüket ugyanakkor egyértelműen alátámasztja az a megfigyelés, hogy a T1DM incidenciája a XX. század közepétől a XXI. század elejéig gyors emelkedést mutatott alacsony(abb) genetikai rizikójú személyek körében is. A betegség jelentkezése évszakfüggő (nyáron a legalacsonyabb), ami összecseng a hideg hónapok gyakoribb vírusfertőzéseivel. Az autoimmun folyamatokra való hajlam már újszülött korban vagy még születés előtt jelentősen mértékben kialakul, ezzel összhangban áll az a megfigyelés, hogy védettebbek T1DM ellen azok, akik a tél közepén születtek. Az enterovírus fertőzés β -sejt károsodáshoz vezet, emellett a vírus ellen termelt antitestek autoimmunitást okozhatnak csakúgy, mint a rotavírus VP7 peptidje ellen termelt antitestek. A kórkép kialakulásában szerepet tulajdonítanak az emésztőrendszer mikrobiótának is. A rövid szénláncú szerves savakat (butirátt) termelő baktériumok alacsony száma, valamint a *Bacteroides* Gram-negatív baktériumok által termelt lipopoliszacharid jellemző a betegek körében, a mikrobióta korai életkorban történő befolyásolása akár a T1DM megelőzésének egyik eszközeként is felvetődik. A környezeti tényezők között az étrend is említhető: az ω -3, illetve többszörösen telítetlen zsírsavak védő hatásúak, az alacsony D-vitamin szint, illetve a glutén tartalmú ételek 9 hónapos korban későbbi bevezetése fokozza a T1DM rizikóját (Ilonen, Nat Rev Endocrinol. 2019).

Kapcsolatot találtak az 1-es típusú cukorbetegség és több miRNS között is. A miR-21 a kasz-pázok működésének befolyásolása révén szerepet játszik a β -sejtek apoptózisában, a megemelkedett mennyiségű miR-29 rontja a glükóz által indukált inzulin szekréció hatékonyságát. Emellett kimutattak olyan összefüggéseket is, melyek során egy miRNS az immunrendszer működésének befolyásolása révén járul hozzá a betegség rizikójához. A miR-23, a miR-98 és a miR-590 fokozza az autoreaktív CD8⁺ T-sejtek termelését, a miR-15, a miR-26 és miR-31 részt vesz a T-sejt funkció szabályozásában, szintjük T1DM-megelőző állapotban magasabb [Margaritis 2021].

Az agresszivitás hátterében milyen epigenetikai hatások ismertek, melyek akár instabil családi háttérből, kisgyermekkorai neurotizáló eseményekből, vagy egyéb környezeti hatásokból származnak.

Az *NR3C1* gén egy magi glukokortikoid receptort kódol, ami a hipotalamusz–hipofízis–melékvese tengely szabályozása révén gátolja a kortizoltermelést. A kortizol alacsony szintje összefügg az antiszociális viselkedéssel, illetve a gyermek- és kamaszkori externalizáló magatartásproblémákkal (düh, agresszió) valamint az alacsony önkontrollal. Kedvezőtlen családi háttér (a szülők alacsony iskolai végzettsége, rossz életkörülmények, szülői pszichiátriai zavarok, bűnözés, házassági viszály, egyszülős család, nem kívánt terhesség, szociális támogatás hiánya) esetén megfigyelték az *NR3C1* hipometilációját, ami a receptorműködés fokozódása révén a kortizoltermelés gátlását eredményezi [Palumbo 2018, Heinrich 2015, Laucht 1997]. Stressz hatására változik a receptorral kapcsolatban álló Hsp90 hősokkfehérjét kódoló *FKBP5* gén metilációja is, ami szintén hatással van a kortizolszintre, és így összefüggést mutat az agresszióval [Mbiydenyuy 2022].

Régóta ismert, hogy az oxitocin kulcsszerepet játszik a szociális kötődés és interakciók szabályozásában, saját tanulmányunk is összefüggést mutatott az oxitocin receptor (*OXTR*) gén variánsai és eltérő szociális jellemzőkkel rendelkező kutya fajták között [Bence 2017]. Az epigenetikai szabályozás ebben a rendszerben is hozzájárul a környezeti hatásokra adott válaszfolyamatokhoz. Gyermekkorukban rendszeresen bántalmazott, depresszióban, illetve szorongásban szenvedő felnőtteknél fokozott *OXTR*-metilációt figyeltek meg, valamint hasonló változást írtak le olyan újszülöttek esetén, akik édesanyja kábítószerfüggő volt, bűncselekményeket követett el, vagy valamilyen pszichiátriai betegségben szenvedett a terhesség alatt.

A szerotonin összefügg számos pszichiátriai rendellenességgel, illetve az agresszív, antiszociális viselkedéssel, szintjét alapvetően a szerotonin transzporter és a lebontáséért felelős monoaminoxidáz-A határozza meg. A szerotonin jelátvitel csökkenése az agresszív viselkedészavar rizikófaktora, 5–10 éves gyerekek körében, akiket a társaik zaklattak, a nyálban a szerotonin transzporter gén hipermetilációja figyelhető meg. A fehérvérsejtekben hasonló epigenetikai módosulást írtak le olyan nők körében, akiket a szüleik fizikailag, illetve szexuálisan bántalmaztak. Korai stresszorok összességében a szerotonin transzporter gátlását okozzák, ami nem csak csökkent szerotonin jelátvitelt, hanem más strukturális (pl. a corpus callosumot érintő) és funkcionális (pl. amygdala eltérő működése) változásokat is eredményez a központi idegrendszer korai fejlődése során [Mbiydenyuy 2022, Palumbo 2018]

Kimutatták, hogy a szociális izoláció agressziót okoz. Négy hétig izoláltan tartott egerekben a PPAR- α -metilációfokozódása, és ennek megfelelően csökkent kifejeződése volt megfigyelhető [Matrisciano 2021]. Agresszió gyakran jelentkezik figyelemhiányos hiperaktivitással (ADHD) küzdő betegek körében is, akikben az *APOB* és az *LPAR5* lizofoszfatidsav receptor gén hipermetilációja volt kimutatható [Klein 2021].

Milyen stádiumban vannak jelenleg a polygén rizikó faktor kutatások a jelölt által vizsgált személyiségvonások, betegségek területén?

Az elmúlt évtizedben hihetetlen ütemben gyarapodott tudásunk a komplex jellegek hátterében álló genetikai (és környezeti) tényezők terén, ami mára olyan szintet ért el, hogy ezek az ismeretek már nem csak az alap kutatásban hasznosak, hanem küszöbön áll klinikai alkalmazásuk is. A komplex kórképek kialakításához számos örökletes tényező járul hozzá, ezek együttes hatása a PRS (vagy PGS: polygenic risk score, más források alapján GRS: genetic risk score) értékkel adható meg. Ennek kiszámítására ma még több eljárást alkalmaznak: egyik gyakori megközelítési mód összegezi minden egyes rizikót jelentő variáns esetén a jelenlévő rizikóallélok esélyhányadossal korrigált számát, más eljárások a variánsok közötti LD alapján kiválasztott lókusztokat vesznek figyelembe. Bár a betegségek PRS-értékének ismerete nagy lehetőségeket kínál,

ma még limitációkkal is számolni kell [Lewis 2020]. Egyik legfőbb korlát, hogy csaknem minden adat európai származású populációk vizsgálatán alapul: az így meghatározott PRS más régiókban, de esetenként még bizonyos európai népcsoportok esetén is csupán korlátozottan alkalmazható [Privé 2022]. Tekintetbe kell venni emellett, hogy a gyors fejlődés ellenére is a betegségek háttérében álló genetikai variációk teljes listáját még nem ismerjük. Nem hagyható figyelmen kívül továbbá, hogy a komplex jellegek kialakulásában a környezeti faktorok szintén döntő jelentőségűek. Irreleváns például az alkohol- vagy kábítószerfüggőség magas genetikai rizikója azon személyekben, akik ezeket nem fogyasztják. Az iszkémiás szívbetegségre vonatkozó magas PRS érték ismerete motiválhat egészséges életmódra, illetve a magas genetikai rizikó ismerete általában indokolhat rendszeres szűrővizsgálatot, ami azonban az ál-pozitív vizsgálati eredmények gyakoribbá válásával, és az egyén számára fokozott stresszel járhat [Lewis 2020].

A limitációk ellenére hatalmas mennyiségű ígéretes adat birtokában vagyunk már, melyek online adatbázisban (pgscatalog.org) érhetők el, ahol megtalálhatjuk az alapadatokat és releváns tudományos közlemények mellett az adott PRS meghatározásának módját, valamint prediktív értékét is.

A PRS meghatározása elsőként iszkémiás szívbetegre, T2DM-re, emlő- és prosztatákra, valamint Alzheimer-betegségekre volt lehetséges. Emlőrák esetén a PRS-skála felső 1%-ba eső nőknek 4× nagyobb, az alsó 1%-ba esőknek pedig 6× kisebb a kockázata emlőrákra (az átlagos PRS-sel rendelkezőkhöz képest). A UK Biobank mintái alapján néhány betegség (iszkémiás szívbetegség, pitvarfibrilláció, gyulladásos bélbetegség) esetén az egyének 1,5–8%-ának van legalább 3×-os esélye a kórkép kialakulására PRS érték alapján. Meghatározható a BMI PRS értéke is: a PRS-skála felső 10%-ba esőknek 2,6 kg / m²-rel magasabb a BMI-je, mint azoknak, akik átlagos a PRS-sel rendelkeznek. A major depresszió heritabilitása csupán 37%: a rendelkezés PRS értéke a háttérben álló (örökletes és genetikai) faktorok csupán kis hányadát tudja figyelembe venni, így a klinikumban nem alkalmazható. Valamivel hatékonyabb a szkizofrénia PRS-e, ami a kórkép predikciójára nem, de egy pszichotikus epizód jelentkezése esetén a differenciáldiagnosztikában alkalmazhatónak tűnik [Lewis 2020].

Többféle – eltérő számú polimorfizmuson alapuló – PRS található a szakirodalomban a T1DM-re és T2DM-re vonatkozóan, ami a T1DM újszülöttkori szűrésére, valamint felnőttkorban a két betegségtípus elkülönítésére is használható [Sharp 2019, Shoaib 2023].

Meghatározható a PRS emellett ADHD-ra is, ami összefüggést mutat a rendellenességgel kapcsolatban álló endofenotípusokkal, ugyanakkor nem bizonyult alkalmasnak a betegség követésére [Lahey 2022, Sato 2023].

A WFS1 rs1046320 polimorfizmus kapcsolatban áll a diabetes mellitus 2 típus kockázatának növekedésével, a depresszióval és az Alzheimer-kórral. Az rs1046322 polimorfizmus kapcsolatban lehet a schizophreniával, a bipoláris zavarral, a depresszióval és a gyermekkori agresszióval. Az rs9457 polimorfizmus kapcsolatba hozható a szkizofréniával és a depresszióval. Hogyan értelmezhető az sejtbioológiai szinten, hogy nagyon különböző neurodegeneratív, neurodevelopmentalis és endocrinológiai kórképek ugyanazon gén gyakori variánsaival hozhatóak összefüggésbe?

Az asszociáció elemzésekkel kapcsolatban kezdetektől fogva felmerül, hogy hogyan vezethető le az összefüggés molekuláris szinten az adott kandidáns gén, illetve génvariáns és a vizsgált fenotípus között. A kérdés azért is jelentős, mert az asszociáció a vizsgált kromoszóma régióban jelen lévő magas LD-érték miatt olyan lókuszokkal is kimutatható lehet, amely tényleges molekuláris biológiai, oki kapcsolatban nem áll az adott jelleggel.

A WFS1 gén variánsainak szerteágazó következménye összefüggésben áll azzal, hogy az általa kódolt fehérje, a wolframin alapvető sejtbioológiai funkcióval rendelkezik. Az endoplazmás re-

tikulum transzmembrán fehérjéjeként szerepet játszik az intracelluláris Ca^{2+} -koncentráció szabályozásában [Osman 2003], ami az ER-stresszel és az apoptózissal (is) összefügg. A gén funkcióvesztő mutációi állnak a DIDMOAD- vagy Wolfram-szindróma hátterében. A betegség klinikai manifesztációját tekintve heterogén, a diagnózis minimális feltétele a fiatalkorban jelentkező cukorbetegség és az opticus atrófia. Gyakori emellett a siketség és a diabetes insipidus. A betegeknél változó gyakorisággal további tünetek: neurológiai rendellenességek, nisztagmus, mentális retardáció, húgyúti atónia, perifériás és autonóm (kardiovaszkuláris és gasztrointesztinális) neuropátia, pszichiátriai zavarok: depresszió, verbális, illetve fizikai agresszió fordulhat elő. Mindez azzal magyarázható, hogy a fehérje funkciója testszerte hiányzik, így minden – egészséges körülmények között wolframint kifejező – szövetben működészavart okoz. A gén 29 missense variánsának elemzése során kiderült, hogy a funkcióromlás mértékét befolyásolja az, hogy az aminosavcsere a fehérje mely szakaszán történik, ugyanakkor nem függ össze azzal, hogy milyen pszichiátriai rendellenesség – szkizofrénia, major depresszió, bipoláris depresszió, agresszió, öngyilkosság – áll asszociációban az adott lókusszal [Munshani 2021].

A kérdés még nehezebb az rs1046320, rs1046322 és rs9457 variánsok esetén amiatt, hogy ezek a gén 3' UTR-ében helyezkednek el, így jelenlegi tudásunk szerint molekuláris biológiai hatásuk csak a képződő wolframmin fehérje mennyiségének megváltoztatása lehet (a miRNS-kötődés hatékonyságának befolyásolása révén). Fontos szem előtt tartani azt is, hogy különösen az rs1046320 és az rs9457 variánsok allél-gyakoriság értéke különböző populációkban rendkívül eltérő (rs1046320G: 0,15–0,70; rs9457G: 0,07–0,56), ami önmagában is hatással lehet az asszociáció elemzések eredményére. Hasonlóan a Wolfram-szindrómához, a pszichiátriai zavarokkal és cukorbetegséggel való asszociáció hátterében az állhat, hogy a gén a központi idegrendszerben és a hasnyálmirigy β -sejtjeiben magas expressziót mutat, így megváltozott mennyisége ezekben a sejtekben okoz leginkább funkciózavart. Az Alzheimer-betegség összefüggésben áll a wolframinnal. A Ca^{2+} -egyensúly felborulása, az ER-stressz és a zavart autofágia jellemző a kórképre, a wolframint kifejező idegsejtek különösen érzékenyek a tau-fehérje akkumulációjára, és Alzheimer-betegek agyában post mortem csökkent mennyiségű wolframmin fehérje van jelen [Chen 2023]. A szkizofrénia és a hangulatzavarok gyakran társulnak egymással [Upthegrove 2017], amihez hozzájárulhat az is, hogy kialakulásukban részben átfedő molekuláris folyamatok vesznek részt különösen olyan esetben, amikor ez a hatás egy örökletes tényező, ami már a központi idegrendszer fejlődése során kezdettől fogva jelen van.

Van-e különbség az egyes országokban készült SNAP-25 gén variációk és egyes betegségek közötti asszociációk vizsgálatának eredményei között? Azaz, vannak-e olyan variánsok, melyek csak bizonyos népcsoportokban mutattak asszociációt egyes betegségekkel?

Gyakori jelenség, hogy az egyes genetikai variánsok allélfrekvenciája jelentős eltérést mutat különböző populációkban, vagy akár nem is polimorfak egyes földrajzi területeken. A táblázat az általunk vizsgált 4 SNAP-25 variáns allélgyakoriságát mutatja a gnomAD¹ és az NCBI dbSNP² adatbázisok alapján. Ebben az esetben is látható, hogy még a leghomogénebb rs3746544 variáns esetén is több mint 10% eltérés mutatkozik az európai és ázsiai allélgyakoriság értékek között, az rs6077690 lókusz esetén pedig az is eltérő, hogy melyik a ritka allél az egyes populációkban.

Populáció	rs6077690 T	rs6039769 C	rs3746544 T	rs1051312 C
Európai (finn) ¹	0,565	0,712	0,673	0,313
Európai (nem finn) ¹	0,560	0,683	0,640	0,249
Afrikai ²	0,345	0,921	0,722	0,090
Afrikai amerikai ²	0,344	0,919	0,721	0,092
Ázsiai ²	0,500	0,790	0,778	0,016
Kelet-ázsiai ²	0,500	0,806	0,768	0,000
Latin-amerikai ¹	0,725	0,817	0,724	0,173

Emiatt szükségszerűen figyelembe kell venni, hogy azok az asszociációk, melyek valamely populációban kimutathatók, nagy valószínűséggel nem érvényesek a világ más területein élők körében. Ez egy igen fontos korlát a (korábban említett) PRS esetén is. A komplex jellegek genetikai rizikóját kifejező értéket csaknem minden esetben európai populáción végzett tanulmányok eredményei alapján határozták meg, így ez más populációkban, illetve más származású személyek esetén nem alkalmazható.

Egyes tanulmányok a jelölt megfigyeléshez hasonlóan arra utalnak, hogy a WFS1 gén szerepet játszhat az agresszív viselkedés kialakulásában, azonban más tanulmányok nem találtak összefüggést a WFS1 gén és az agresszió között. Hasonló a helyzet a HTR2A gén variáció és az agresszív viselkedés összefüggéseit taglaló irodalmi adatokat illetően is. Ezek az ellentmondások miből eredhetnek? Melyik gén, a WFS1 vagy a HTR2A asszociációja az erősebb az agresszióval?

Nem ritkaság, hogy ellentmondásos megfigyelésekre jutó asszociációvizsgálatok találhatók a szakirodalomban. Ennek hátterében számos tényező állhat, melyek akár álnegatív, akár álpozitív eredményekre vezethetnek. Ahogy az előző kérdések kapcsán már szó esett róla, különböző populációkban igen eltérő lehet az egyes genetikai variánsok allélgyakoriság értéke, ami önmagában ellentmondó eredményekhez vezethet. Lényeges szempont továbbá a vizsgálatba bevont résztvevők száma: a komplex jellegek hátterében álló kis hatású variánsok kimutatása csak megfelelően nagy populáció elemzése esetén lehetséges. További különbség és így eltérő eredmények forrása lehet, hogy a különböző kutatócsoportok eltérő eljárásokat alkalmazhatnak a fenotípus (vagy akár a genotípus) meghatározására. Az eredmények áttekintését az asszociáció elemzések irodalmában az is megnehezítette, hogy idővel lehetetlenné vált negatív eredményeket közölni, így sok esetben nehéz eldönteni, hogy egy adott variáns és jelleg között nincs összefüggés, vagy azt még nem vizsgálták. A szerotonin rendszer, illetve az alacsony központi idegrendszeri szerotonin szint és az agresszió összefüggése régóta ismert [da Cunha-Bang 2021], emiatt nem meglepő, hogy több kutatócsoport elemezte a *HTR2A* gén variánsait az agresszió genetikai rizikófaktoraként. A wolframín és az agresszió közötti kapcsolat molekuláris szinten nehezebben vezethető le, asszociációjuk elemzését valószínűleg emiatt is kevesebb tanulmány tűzte ki célul, összefüggésüket azonban alátámasztja, hogy a DIDMOAD-szindróma gyakran társul agresszióval. Mindezek miatt a szakirodalomban több közlemény található, mely a *HTR2A* gén variánsai és az agresszió kapcsolatát írja le.

Az agresszió genetikai hátterét genom szintű asszociációvizsgálatokkal (GWAS) is elemezték. Három tanulmány közel 20 000 gyermek [Pappa 2016], több mint 1000 ADHD-s felnőtt [Brevik 2016], valamint több mint 87 000 (1,5–18 éves) gyerek [Ip 2021] bevonásával kereste az agresszió genetikai hátterét. A három vizsgálatban eltérő gének variánsai mutattak összefüggést a vizsgált fenotípussal. A listák élén egy heparánszulfát-kötő fehérjét, egy lncRNS-t és egy sejtadhéziós fehérjét kódoló gén egy-egy variánsa állt. A 98 legerősebb asszociációt mutató SNP közül egy sem volt a *HTR1A*, illetve a *WFS1* génben.

Végezetül még egyszer köszönöm Dr. Molnár Mária Judit Professzorasszonynak, hogy javasolta az MTA Doktora cím odaítélését.

Budapest, 2023. július 2.


Dr. Rónai Zsolt

Irodalom

- Bence M, Marx P, Szantai E, Kubinyi E, Ronai Z, Banlaki Z. Lessons from the canine Oxt gene: populations, variants and functional aspects. *Genes Brain Behav.* 2017 Apr;16(4):427-438.
- Brevik EJ, van Donkelaar MM, Weber H, et al. Genome-wide analyses of aggressiveness in attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2016 Jul;171(5):733-47.
- Chen S, Acosta D, Fu H. New unexpected role for Wolfram Syndrome protein WFS1: a novel therapeutic target for Alzheimer's disease? *Neural Regen Res.* 2023 Jul;18(7):1501-1502.
- da Cunha-Bang S, Knudsen GM. The Modulatory Role of Serotonin on Human Impulsive Aggression. *Biol Psychiatry.* 2021 Oct 1;90(7):447-457.
- den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, Roux AF, Smith T, Antonarakis SE, Taschner PE. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat.* 2016 Jun;37(6):564-9.
- Heinrich A, Buchmann AF, Zohsel K, Dukal H, Frank J, Treutlein J, Nieratschker V, Witt SH, Brandeis D, Schmidt MH, Esser G, Banaschewski T, Laucht M, Rietschel M. Alterations of Glucocorticoid Receptor Gene Methylation in Externalizing Disorders During Childhood and Adolescence. *Behav Genet.* 2015 Sep;45(5):529-36.
- Ilonen J, Lempainen J, Veijola R. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 Nov;15(11):635-650.
- Ip HF, van der Laan CM, Krapohl EML, et al. Genetic association study of childhood aggression across raters, instruments, and age. *Transl Psychiatry.* 2021 Jul 30;11(1):413.
- Klein M, Fernández-Castillo N. Editorial: In Search of Mechanisms: Genes, Brains, and Environment in Aggressive Behavior. *Front Psychiatry.* 2021 Mar 8;12:643747.
- Lahey BB, Tong L, Pierce B, Hedeker D, Berman MG, Cardenas-Iniguez C, Moore TM, Applegate B, Tiemeier H, Kaczkurkin AN. Associations of polygenic risk for attention-deficit/hyperactivity disorder with general and specific dimensions of childhood psychological problems and facets of impulsivity. *J Psychiatr Res.* 2022 Aug;152:187-193.
- Laucht M, Esser G, Schmidt MH. Developmental outcome of infants born with biological and psychosocial risks. *J Child Psychol Psychiatry.* 1997 Oct;38(7):843-53.
- Lewis CM, Vassos E. Polygenic risk scores: from research tools to clinical instruments. *Genome Med.* 2020 May 18;12(1):44.
- Matrisciano F, Pinna G. PPAR- α Hypermethylation in the Hippocampus of Mice Exposed to Social Isolation Stress Is Associated with Enhanced Neuroinflammation and Aggressive Behavior. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 1;22(19):10678.
- Mbiydenyuy NE, Hemmings SMJ, Qulu L. Prenatal maternal stress and offspring aggressive behavior: Intergenerational and transgenerational inheritance. *Front Behav Neurosci.* 2022 Sep 23;16:977416.
- Morikawa S, Urano F. The Role of ER Stress in Diabetes: Exploring Pathological Mechanisms Using Wolfram Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 23;24(1):230.
- Munshani S, Ibrahim EY, Domenicano I, Ehrlich BE. The Impact of Mutations in Wolframin on Psychiatric Disorders. *Front Pediatr.* 2021 Oct 21;9:718132.
- Osman AA, Saito M, Makepeace C, Permutt MA, Schlesinger P, Mueckler M. Wolframin expression induces novel ion channel activity in endoplasmic reticulum membranes and increases intracellular calcium. *J Biol Chem.* 2003 Dec 26;278(52):52755-62.

- Palumbo S, Mariotti V, Iofrida C, Pellegrini S. Genes and Aggressive Behavior: Epigenetic Mechanisms Underlying Individual Susceptibility to Aversive Environments. *Front Behav Neurosci.* 2018 Jun 13;12:117.
- Pappa I, St Pourcain B, Benke K, Cavadino A, et al. A genome-wide approach to children's aggressive behavior: The EAGLE consortium. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2016 Jul;171(5):562-72.
- Privé F, Aschard H, Carmi S, Folkersen L, Hoggart C, O'Reilly PF, Vilhjálmsón BJ. Portability of 245 polygenic scores when derived from the UK Biobank and applied to 9 ancestry groups from the same cohort. *Am J Hum Genet.* 2022 Jan 6;109(1):12-23.
- Sato JR, Biazoli CE, Bueno APA, Caye A, Pan PM, Santoro M, Honorato-Mauer J, Salum GA, Hoexter MQ, Bressan RA, Jackowski AP, Miguel EC, Belangero S, Rohde LA. Polygenic risk score for attention-deficit/hyperactivity disorder and brain functional networks segregation in a community-based sample. *Genes Brain Behav.* 2023 Apr;22(2):e12838.
- Sharp SA, Rich SS, Wood AR, Jones SE, Beaumont RN, Harrison JW, Schneider DA, Locke JM, Tyrrell J, Weedon MN, Hagopian WA, Oram RA. Development and Standardization of an Improved Type 1 Diabetes Genetic Risk Score for Use in Newborn Screening and Incident Diagnosis. *Diabetes Care.* 2019 Feb;42(2):200-207.
- Shoaib M, Ye Q, IglayReger H, Tan MH, Boehnke M, Burant CF, Soleimanpour SA, Gagliano Taliun SA. Evaluation of polygenic risk scores to differentiate between type 1 and type 2 diabetes. *Genet Epidemiol.* 2023 Jun;47(4):303-313.
- Uptegrove R, Marwaha S, Birchwood M. Depression and Schizophrenia: Cause, Consequence, or Trans-diagnostic Issue? *Schizophr Bull.* 2017 Mar 1;43(2):240-244.