

A triptofán-hidroxiláz 2 gén polimorfizmusainak pszichogenetikai és molekuláris biológiai vizsgálata

Jelen pályázat pszichogenetikai része a figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (ADHD: Attention Deficit Hyperactivity Disorder), a Tourette-szindróma (TS) és a kényszerbetegség (OCD: Obsessive Compulsive Disorder) összehasonlító genetikai asszociáció vizsgálatait célozta. A pályázat címébe azért került csupán a triptofán-hidroxiláz 2 gén (TPH2) vizsgálata, mert az újonnan leírt szerotonerg gén promoter régióját, illetve az ott található polimorfizmus funkcionális jellemzését is terveztük.

A Vadaskert Kórház és Szakambulancia pszichiátereivel való előzetes kollaboráció során összegyűjtött ADHD és TS betegcsoport egy újabb kórképpel, kényszerbetegséggel diagnosztizált csoporttal egészült ki e pályázat kapcsán. E három gyermekpszichiátriai zavar azért került kiválasztásra, mert gyakran fordulnak elő együtt, egy spektrumot alkotva (ADHD-TS-OCD). Család- és ikervizsgálatok megfigyelései alapján a genetikai faktorok szerepe igen meghatározó ezekben a neuropszichiátriai zavarokban (0,7-0,9 örökölhetőség) (Faraone és mtsai, 2005; Grados és mtsai, 2003; Pauls, 2003). Azonban az egyes genetikai faktoroknak a hatása egyenként kicsi ezekben a poligénes öröklődésű kórképekben, és továbbra is széles körű kutatás folyik a specifikus genetikai rizikó faktorok azonosítására. Elemzéseinkben megpróbáltunk közös genetikai rizikó faktorokat is fellelni a három pszichiátriai zavar átfedettsége miatt.

Mindhárom kórképben az agyi gátló thalamocorticalis körök funkciózavara figyelhető meg az adott szituációban való helytelen viselkedések és/vagy gondolatok gátlásának képtelensége során. Az ADHD hiperaktív, impulzív tünetei, a TS akaratlan mozgásai és hangadásai (motoros és vokális ticek), illetve az OCD kényszer gondolatai és cselekvései feltehetően a bazális ganglionok illetve azok kapcsolatainak éretlensége miatt lépnek fel. Agyi képzőanyagokkal kapott eredmények a prefrontális kéreg és a bazális ganglionok érintettségét írták le mindhárom kórképben (Sheppard és mtsai, 1999). Ezeken az agyterületeken végződnek többek közt az agytörzs magjaiból induló monoamin neurotranszmitter rendszerek, melyek moduláló hatással bírnak a fő jelátviteli folyamatokra. Az ADHD fő kandidáns génjei a dopamin rendszerből (Gizer és mtsai, 2009), a TS és OCD kandidáns génjei pedig a szerotonin rendszerből kerülnek ki (Grisham és mtsai, 2008; O'Rourke és mtsai, 2009) az akutális neurobiológiai hipotézisek alapján, melyek leginkább az alkalmazott gyógyszerek hatásmechanizmusaira épülnek, így genetikai vizsgálataink nagyrészt a dopamin és a szerotonin rendszerek génjeire irányult. Újabb kandidáns géneket a szakirodalomban megjelenő cikkek alapján választunk folyamatosan, hiszen a pszichogenetikai kutatások nagy sebességgel zajlanak és az első teljes genom analízisek is megjelentek az elmúlt években (Cichon és mtsai, 2009).

Az elvégzett munka összevetése a szerződésben rögzített feladatokkal

1. pont: minta-gyűjtés

Gyermekpszichiátriai zavarral diagnosztizált gyermekektől való DNS-mintagyűjtésre és genetikai analízisre az etikai engedélyt 2007. december 28-án kaptuk meg. Az előzetesen összegyűjtött ADHD és TS csoport sikeresen kiegészült a tervezett OCD csoporttal (tervezett 100 fő helyett 106 fő), illetve néhány újonnan diagnosztizált beteget sikerült bevonnunk a kutatásba, így összesen 419 betegről áll rendelkezésünkre genetikai és pszichiátriai diagnózis adat.

2. pont: TPH2 polimorfizmusok genotipizálása

A TPH2 gén egy pontos nukleotid polimorfizmusainak (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) meghatározására egy modern, egy-lépéses, valós idejű (real time) PCR alapú technikát vezettünk be. Az újonnan beállított real time PCR (RT-PCR) módszereket 100-100 mintán ellenőriztük a hagyományos PCR-technikákkal: a TPH2_exon7 A/G SNP (rs7305115) esetében allél-specifikus amplifikációt, a TPH2_exon9 A/T SNP-nél (rs4290270) PCR-RFLP-módszert, a TPH2_promoter -703 G/T SNP-nél (rs4570625) mindkét klasszikus módszert használtuk. A kontroll csoport egyik része 121 család mintáját tartalmazta, így a családon belüli genotípus adatok elemzésével is ellenőrizhettük a módszerek pontosságát.

3. pont: újabb monaminerg genetikai polimorfizmusok vizsgálata

Az eredetileg tervezett dopaminerg (dopamin D4 receptor, katekol-O-metil-transzferáz, dopamin transzporter) és szerotonerg (TPH2, szerotonin transzporter, monoamin-oxidáz-A) kandidáns polimorfizmusok listáját kibővítettük az ADHD genetikai szakirodalmában felmerülő noradrenalin transzporter (NET: norepinephrine transporter) gén polimorfizmusaival (rs2242446, rs5569, rs719426, rs28386840). Így a korábbi genetikai adatbázist kibővítve információnk adódik a dopamin, a noradrenalin és a szerotonin neurotranszmisszió sebesség-meghatározó lépését (a neurotransmitter visszavételét) végző fehérjék genetikai variánsaira.

Az OCD és a szerotonin transzporter (SLC6A4) gén asszociáció vizsgálatáról megjelent eredmények alapján (Wendland és mtsai, 2008) a tervezett két hosszúság-polimorfizmus (5HTTLPR, STin2) mellett négy SNP-t (az ismétlődő régió belül elhelyezkedő rs25531 A/G és rs25532 C/T SNP, valamint az 1. intronban található rs2020933 A/T és rs16965628 C/G SNP) is meghatároztunk az SLC6A4 génben. Mivel e pályázat pszichogenetikai része a szerotonerg kandidáns gének kiterjesztését célozta meg az összegyűjtött gyermekpszichiátriai minták elemzése során, irodalmi adatok alapján érdekesnek tűnő funkcionális szerotonerg polimorfizmusokat választottunk a szerotonin autoreceptorok génjeinek köréből (HTR1A rs6295 és HTR1B rs13212041). Ilyen módon az összehasonlító genetikai elemzéseket

elvégezhetjük a szerotonin neurotranszmisszió fő komponenseivel (TPH2: szintézis, szerotonin transzporter: visszavétel, MAOA: lebontás, HTR1A és HTR1B: neurotranszmisszió frekvenciája és amplitúdója). Az új kandidáns polimorfizmusokat már csak az egy-lépéses RT-PCR-típusú módszerrel határoztuk meg.

4. pont: adatbázisok létrehozása

A genetikai eset-kontroll elemzésekhez a magyar átlagpopulációt reprezentáló kontroll csoportot (600 független személy mintáit) használtunk. Az összehasonlító genetikai asszociáció vizsgálatainkban a beteg csoport 195 ADHD, 118 TS és 106 OCD fődiagnózisú személyből állt. A fődiagnózisokat a DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) IV szerint, a kísérő kórképeket (szorongás, tanulási és viselkedési zavar) a MINI-kid (Mini-International Neuropsychiatric Interview, child version) segítségével állapítottuk meg. A klinikai csoporton belül a figyelemhiány/hiperaktivitás, tic és kényszer tünetek jelenléte-hiánya szerint végeztük az elemzést.

Részletesebb fenotípusos jellemzés a klinikai csoport egy részében áll csak rendelkezésünkre, dimenzionális elemzést tesznek lehetővé a tünete súlyossági skálák: ADHD Rating Scale (ADHD-RS), Yale Global Tic Severity Scale (YGTSS) és a Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale (YBOCS) kérdőívek a megfelelő beteg alcsoportokban. A gyermekviselkedési kérdőív (Child Behavior Checklist, CBCL) szülői változata közel kétszáz gyermekről, a gyermek temperamentum kérdőív (Junior Temperament and Character Inventory, JTCI) pedig 145 gyermekről fog rendelkezésünkre állni. Sajnos ezen papírfarmátumú kérdőíveknek az elektromos adatbázisba való felvitele elhúzódott ebben az évben, így csak előzetes számolásokat tettek lehetővé a részleges adatok. Ez év végére teljesen lezárul az adatbevitel és elvégezzük a végső elemzéseket.

5. pont: TPH2 gén promoter régiójának vizsgálata

Elkészítettük a TPH2 promoter deléciós sorozatot a promoter nélküli pGL3-Basic vektorban (kétféle változatban a transzkripció és a transláció kezdőpontjától). A szekvenálással ellenőrzött TPH2-pGL3 plazmidok expressziós aktivitását luciferáz riporter gén mérésével végeztük SKNF-I humán neuroblastoma sejtvonal és HEK-293 humán embrionális vese sejtvonal tranziens transzfektálása során.

A pályázat legfontosabb eredményei

A mintagyűjtés és adatbázis készítés éveiben a jelenlegi szakirodalom feldolgozását végeztük, melynek során két hazai és egy nemzetközi összefoglaló cikket írtunk (publikáció 1-3), ezeket természetesen itt nem részletezem.

A publikált illetve közlésre elküldött farmakogenetikai cikkek anyagát (publikáció 4-6) csak röviden mutatom be. Kicsit részletesebben térek ki az egyelőre konferencia-absztrakt formájában publikált, jelenleg kézirat formájában feldolgozott eredményekre (publikáció 7-10).

1. Farmakogenetikai eredmények

Gyógyszerhatékonysággal kapcsolatban felmerülő új kandidáns géneket vizsgáltuk először, mivel az ADHD minták előzetesen lezárt pályázatból már rendelkezésünkre álltak, illetve mert egy gyógyszerész végzettségű PhD-diákkal tudtam az első években együtt dolgozni.

A leggyakrabban alkalmazott gyógyszer ADHD farmakoterápiájában a metilfenidát (Ritalin), azonban ez a gyógyszer az esetek 65-70%-ban bizonyul csak hatékonynak (Findling 2008), ezért egyre nagyobb erőfeszítés irányul olyan biológiai markerek azonosítására, melyekkel a terápia megkezdése előtt meg lehetne becsülni a gyógyszer-hatékonyságot. ADHD-ban a farmakogenetikai vizsgálatok eddig nagyrészt a dopamin transzporter génjére (SLC6A3) irányultak, mivel a metilfenidát (MPH) e transzporter hatékony gátlószere, azonban az eredmények igen ellentmondóak (Stein és McGough 2008). Saját vizsgálatunk során az SLC6A3 polimorfizmussal nem, azonban a dopamin bontó katekol-O-metil-transzferáz enzim génjének polimorfizmusával (COMT Val158Met) szignifikáns asszociációt kaptunk MPH-hatékonysággal kapcsolatban (Kereszturi és mtsai, 2008). A COMT enzim aktivitását tartják meghatározónak a dopamin neurotranszmisszió lecsengésében a prefrontális kéregben (PFC), mivel a dopamin transzporter sűrűsége ezen az agyterületen alacsony (Tunbridge és mtsai, 2006). Azonban a dopamin visszavételét a noradrenalin transzporter is hatékonyan végzi (Mundorf és mtsai, 2001), amely nagyobb sűrűségben található a PFC-ben mint a dopamin transzporter (Robbins és Arnsten 2009). Mivel a metilfenidát a NET-t is gátolja (Han and Gu 2006), ezért érdemesnek tartottuk megnézni e kandidáns gén polimorfizmusait a MPH-hatékonysági vizsgálatunkban, remélve, hogy újabb PFC-szintű szabályozási pontra lelünk. Három SNP-t választottunk ki a NET gén (SLC6A2) különböző haploblockokba tömörülő génvariánsai közül (rs2242446, rs5569, rs719426), ezen kívül a start kodontól 3 kilobázis távolságban lévő promoter polimorfizmust (-3081A/T, rs28386840) is vizsgáltuk, mivel egy funkcionális vizsgálat a T-allélra alacsonyabb transzkripció aktivitást mutatott (Kim és mtsai, 2006). A 90 metilfenidátra jól reagáló és 32 nem-reagáló gyermek körében végzett elemzés a -3081A/T SNP-nél mutatott szignifikáns hatást: A nem megfelelően reagálók körében az AA genotípus gyakoribb volt (67% vs 48%, $\chi^2 = 6,094$, $df = 2$, $p = 0,047$), ezen kívül a T-alléllal rendelkező csoport szignifikáns javulást mutatott a hiperaktivitás-impulzivitás tünet-skálán ($p=0,041$), míg a figyelemhiányos skálán ez a hatás nem volt megfigyelhető ($p=0,187$). Ugyan ez az eredmény nem marad szignifikáns a statisztikai korrekció után, mégis figyelem-felkeltő jelentőségű, mivel a NET génjét még elég kevesen vizsgálták MPH-hatékonysággal kapcsolatban. Eredményeink egybecsengenek egy

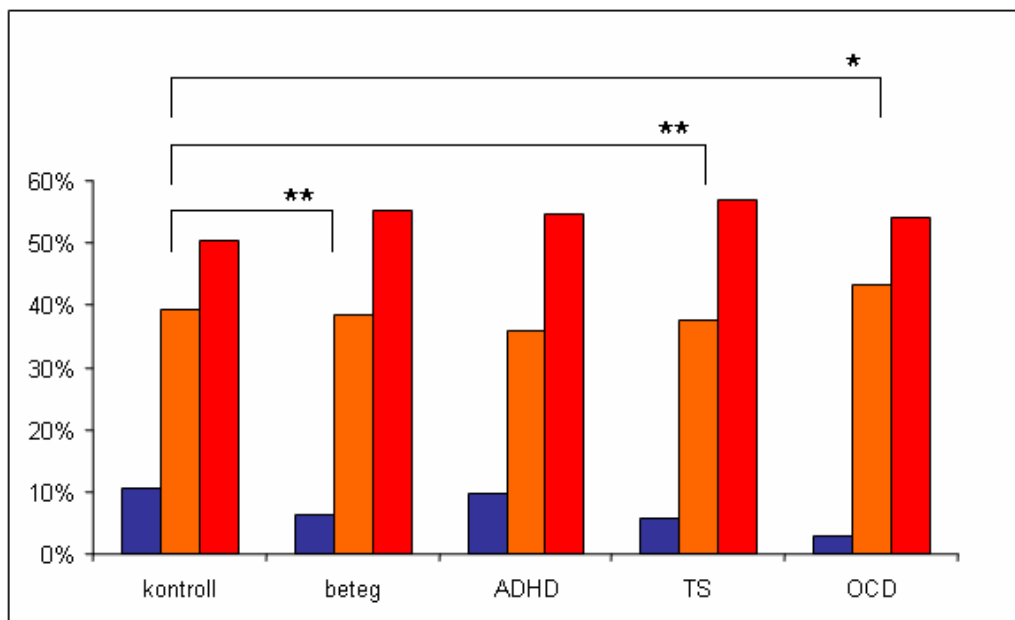
kínai ADHD csoporton kapott eredményekkel, ahol szintén csak a hiperaktivitás-impulzivitás skálán észleltek genetikai hatást a rs5569 polimorfizmus vizsgálatánál (Yang és mtsai, 2004).

Az ADHD farmakogenetikai elemzésünket kibővítettük a gyógyszer bontó enzim, a karboxilészteráz 1 (CES1) génjének funkcionális polimorfizmusával, amely egy aminosav-csere során (Gly143Glu) csökkent enzim-aktivitást eredményez (Zhu és mtsai, 2008). Ugyan nem találtunk fő hatást a CES1 Gly143Glu polimorfizmusra a MPH-hatásosságnál sem a csoportos felosztásnál, sem a dimenzionális elemzésnél, a gyógyszer-adagokat elemezve különbséget figyeltünk meg a ritka Glu-variánst hordozóknál. A metilfenidátra reagáló csoporton belül a csökkent lebontó enzim aktivitású variánst hordozók átlagosan kevesebb gyógyszer igényeltek a tüneteik csökkentésére ($0,410 \pm 0,127$ vs $0,572 \pm 0,153$ mg/kg, $t(1,88) = 2,33$, $p = 0,022$).

2. Dopamin transzporter 10-es allél mint közös genetikai rizikó faktor

Első genetikai asszociáció elemzésünk során a teljes betegcsoport (N = 419) allél- és genotípus-eloszlásait hasonlítottuk össze a kontroll magyar populáció (N = 600) adataival. Másod sorban fődiagnózisok szerint végeztük a genetikai elemzéseket.

Közös genetikai rizikó faktorként jelent meg az SLC6A3 gén 3' nem-kódoló régiójában található 40 bp ismétlődési polimorfizmusa. A beteg csoportban a 10/10 genotípus, illetve a 10-es allél nagyobb százalékban fordult elő a kontroll csoport adataihoz képest (genotípus: $\chi^2 = 6,271$, $df = 2$, $p = 0,043$, allél: $\chi^2 = 5,169$, $df = 1$, $p = 0,023$).



1. ábra: A dopamin transzporter ismétlődési polimorfizmusának genotípus eloszlásai a beteg csoportokban. Kék oszlopok 9/9, sárga oszlopok 9/10, piros oszlopok a 10/10 genotípus csoportot jelölik. Szignifikáns ($p < 0,05$) különbségek két csillaggal, tendencia jellegű eltérés ($p < 0,1$) egy csillaggal van jelölve.

A fődiagnózis szerinti felbontásokban szintén megfigyelhető volt mindhárom csoportban a 10/10 genotípus magasabb aránya (ADHD 55%, TS 57%, OCD 54% vs. kontroll 50%), azonban a genotípus- és allél-gyakoriság eltérései már csak tendencia szerűek voltak ($p < 0,1$), feltehetően a harmadára, negyedére csökkent elemszám miatt (1. ábra).

Ez a megfigyelés a thalamocorticalis gátló körök bazális ganglionok szintjén való dopaminerg neurotranszmisszió funkciózavarára hívja fel a figyelmet, hiszen a dopamin transzporter sűrűsége itt a legnagyobb az agyban (Robbins és Arnsten 2009), alátámasztva e három gyermekpszichiátriai kórkép közös neurobiológiai és genetikai hátterét. A genetikai eredményünk ezen kívül az ADHD körében végzett meta-analízisek eredményeit támasztja alá, ahol is a 10/10 genotípust találták kis, de szignifikáns hatású (1,12-1,13 kockázati arányú) rizikó faktornak (Faraone és mtsai, 2005; Gizer és mtsai, 2009). TS és OCD genetikai asszociáció vizsgálatai e polimorfizmus tekintetében még elég ellentmondásosak (Grisham és mtsai, 2008; O'Rourke és mtsai, 2009). A polimorfizmus funkcionális jellegéről is ellentmondásos eredmények láttak napvilágot mind riporter gén rendszerekben (Fuke és mtsai, 2001; Mill és mtsai, 2005; Miller és Madras 2002) mind posztmortem agyi génexpressziós vizsgálatoknál (Mill és mtsai, 2002; Wonodi és mtsai, 2009). A transzporter sűrűségét mérő *in vivo* SPECT vizsgálatok egybehangzóbb eredménnyel szolgáltak: két független, nagy elemszámú ($N = 96$ és $N = 79$) csoportban a 9-es alléllal rendelkezőknél (9/9 és 9/10 genotípus) nagyobb transzporter sűrűséget találtak a striatumban, mint a 10/10 genotípus csoportban (van de Giessen és mtsai, 2009; van Dyck és mtsai, 2005). Mindezek alapján feltételezhetünk egy alulműködő dopamin transzportert, amely nem megfelelő viselkedési gátlást eredményez e neuropszichiátriai zavarok hátterében. Feltehetően a korcsoporti átlaghoz képest lassabb ütemben való fejlődés vezet ezekhez a zavarokhoz, hiszen az ADHD tünetei nagy mértékben, TS és OCD tünetei kissé kevésbé, de csökken(het)nek az életkor előrehaladtával (a gyerek úgymond „kinövi” e zavarokat). A gátlás (inhibíció) képessége párhuzamosan fejlődik az agyi körök kialakulásával, a PFC-be jövő asszociációs pályák, valamint az onnan kiinduló beidegződések kiépülésével. Normális fejlődés során a gyermek egyre jobban képes az irreleváns információk kiszűrésére, a fontos információk hatékony feldolgozására és fenntartására, valamint a nem odaillő válasz-reakciók elnyomására

3. Kényszertünetek vizsgálata

Jelen pályázat keretén belül az OCD fődiagnózisú betegekre koncentráltunk. Ugyan ez a betegcsoport a legkisebb vizsgálatainkban, egy-két érdekes megfigyelést tehattünk már e csoport bevonásával. Genetikai asszociáció elemzéseinket a leggyakoribb fő tünetek (figyelemhiány/hiperaktivitás, tic, kényszergondolatok) alapján is elvégeztük a klinikai csoporton belül.

Kényszergondolatok jelenléte/hiánya alapján felosztva a klinikai csoportot specifikus rizikó faktorként a TPH2 gén 9. exonjában található rs4290270 polimorfizmusának A-allélja

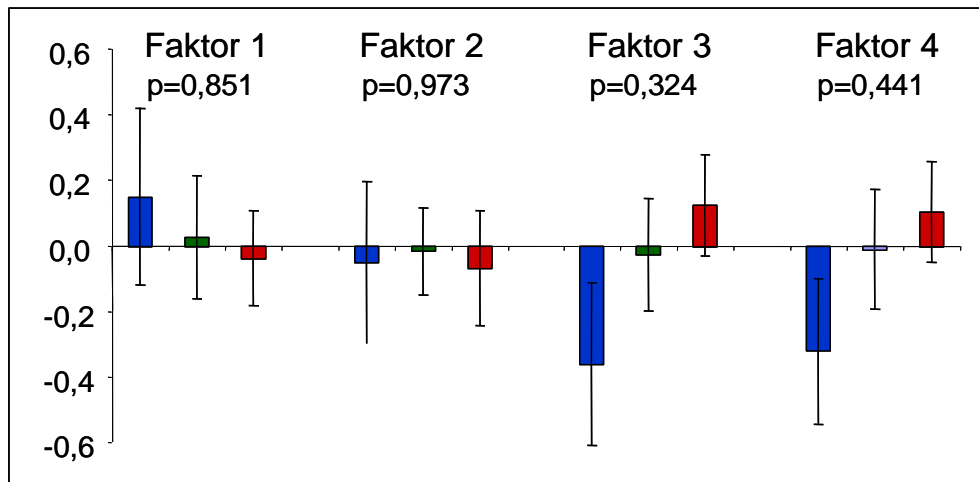
szerepelt ($\chi^2 = 4,505$, $df = 1$, $p = 0,034$). Amikor a tic és kényszer tünetek átfedését/szétválását tanulmányoztuk, a szerotonin transzporter promoter régiójában található 5HTTLPR nevezetű ismétlődési polimorfizmusnál láttunk a szakirodalom adataival (Walitza és mtsai, 2010) összecsengő eredményt: a teljes OCD csoportban nem, viszont a tic zavar nélküli OCD-sek körében magasabb volt az LL genotípus ($\chi^2 = 6,521$, $df = 2$, $p = 0,038$). Ez a hosszú (L = long) allél nagyobb transzkripció aktivitású és így elméletileg hatékonyabb szerotonin visszavételt tesz lehetővé a szinaptikus résből (Lesch és mtsai, 1996). Érdekes módon hangulatzavarokkal a másik, rövid (S = short) allélt hozzák összefüggésbe (Lasky-Su és mtsai, 2005).

Mivel a kényszeres tünetek nagyon heterogének, egyre több kutató ajánlja a specifikus tünetek (mint például tisztogatási vagy felhalmozási kényszerek) genetikai vizsgálatát. A Y-BOCS kérdései erre alkalmasak is lehetnek előzetes faktor-analízis után. A kérdőív 14 speciális tünet kategóriája alapján elvégzett főkomponens analízis saját vizsgálatunkban (N = 89) négy faktort eredményezett (a táblázatban a kényszergondolatok „G” rövidítéssel, a kényszercselekvések „CS” rövidítéssel szerepelnek, csak a 0,3-nál nagyobb faktorsúlyokat tüntettük fel).

	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4
G_testi	0,766			
G_agresszív	0,683	0,374		
G_vallásos	0,645			
G_felhalmozási	0,641			
CS_ellenőrző	0,541	0,332	0,407	
G_mágikus	0,463	0,451		
CS_rendezéses		0,809		
CS_gyűjtögetésés		0,650		
CS_megszámolásos		0,628		0,574
CS_mágikus	0,435	0,624		
CS_ismétléses		0,523		
CS_tisztálkodási			0,865	
G_kontaminációs	0,384		0,743	
G_szexuális				0,885

Az első „obszesszív” faktor nagyrészt kényszergondolatokból állt (agresszív, vallásos, testi és felhalmozási kényszergondolatok és ellenőrző kényszercselekvés). A második „kompulzív” faktort kényszercselekvések (rendezés, számolás, ismétlés, gyűjtögetés és mágikus viselkedés) alkották. Harmadik faktorként a kontaminációs kényszergondolatok és a tisztasági

kényszercselekvések jelentek meg. Negyedik faktorban különültek el a szexuális kényszergondolatok. E négy faktor együttesen a teljes variancia 623%-áért felelős. Tünet típusok alapján való csoportosítást már több tanulmány is felállított OCD-s felnőtteknél, de gyermekkori OCD-ben egyelőre kevés ilyen tanulmány jelent meg (az eddigi négy tanulmány a fent említett 4 faktorhoz hasonló faktorstruktúrát írt le) (Bloch és mtsai, 2008). A genetikai analízisünk ennél az esetszámnál azonban nem eredményezett szignifikáns asszociációt (2. ábra).

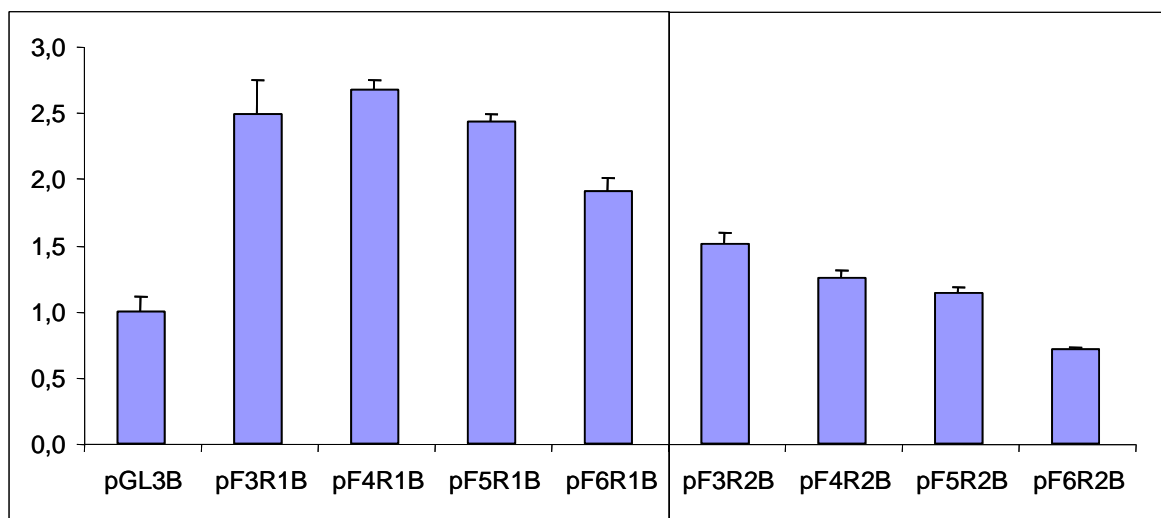


2. ábra: A Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale kérdőív faktorainak és a szerotonin transzporter 5HTTLPR polimorfizmusának genetikai asszociáció elemzése. Kék oszlopok az SS, zöld oszlopok az SL, piros oszlopok az LL genotípus csoportok átlag faktor értékeit jelölik (az átlag szórásával).

4. TPH2 gén promoter régiójának vizsgálata

Elkészítettük a TPH2 promoter deléciós sorozatot a promoter nélküli pGL3-Basic vektorban (kétféle változatban a transzkripció és a transláció kezdőpontjától). A szekvenálással ellenőrzött TPH2-pGL3 plazmidok expressziós aktivitását SKNF-I neuroblastoma sejtvonal tranziens transzfektálásával vizsgáltuk. A TPH2-pGL3 plazmidok relatív transzkripció értékét a pGL3-Basic aktivitására normalizálva számoltuk (3. ábra). Transzfekciós kísérleteink során az SV-40 erős promoterral rendelkező pGL3-Control plazmidot is használtuk, hogy feltérképezzük a TPH2 promoter relatív erősségét. Azt tapasztaltuk, hogy az általunk beklónozott TPH2 szekvencia gyenge promoterként működik (pGL3-Controlhoz képest közel tizednyi aktivitású). Mivel a pályázat első évében megjelent egy nemzetközi cikk a TPH2 gén promoter régiójának részletes elemzéséről (Chen és mtsai, 2008), a promoter karakterizálást önmagában leközölni így már nem volt esélyünk. Ezért a további funkcionális elemzések elvégzéséig megvártuk, hogy melyik TPH2 polimorfizmusra kapunk pozitív eredményt a genetikai asszociáció elemzésünk során, mert a kandidáns polimorfizmusok molekuláris biológiai jellemzése és a genetikai asszociáció vizsgálatok eredménye

kölcsönösen erősítik egymás hatását nemzetközi újságban való publikációnál. Ugyan jelen pályázat gyermekpszichiátriai csoportjában való elemzések nem mutattak a TPH2 promotor polimorfizmus esetleges szerepére, a genetikai laborunkban párhuzamosan futó kollaborációs projektek előzetes eredményei reménykeltőek a TPH2 -703 G/T SNP (rs4570625) tekintetében. Mivel e polimorfizmus funkcionális vizsgálatának eredményei kissé ellentmondóak (Chen és mtsai, 2008; Scheuch és mtsai, 2007), eredményeink publikálása során fel tudjuk majd használni az elkészített TPH2 riporter gén rendszert. A TPH2 -703 génvariánsok vizsgálatára a pF4R1B illetve a pF4R1B elnevezésű plazmidot fogjuk használni, mely a TPH2 promotor szekvenciáját -1314-től illetve -1032-től a transzlációs start helyig (-1-ig) tartalmazza.



3. ábra: A triptofán-hidroxiláz 2 gén 5' deléció sorozatának génexpressziós aktivitása.

Az y-tengelyen a relatív luciferáz aktivitás van feltüntetve egy reprezentatív transzfekciós kísérlet (n = 3 parallel mérés) során. A transzkripció start hely a -141-es pozícióban van, -1 a transzláció kezdőpontját jelenti. TPH2 szekvenciák: F3R1: -1314-től -1-ig, F4R1: -1032-től -1-ig, F5R1: -768-től -1-ig, F6R1: -441-től -1-ig, F3R2: -1314-től -141-ig, F4R2: -1032-től -141-ig, F5R2: -768-től -141-ig.

- Bloch MH, Landeros-Weisenberger A, Rosario MC, Pittenger C, Leckman JF. 2008. Meta-analysis of the symptom structure of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry* 165(12):1532-42.
- Chen GL, Vallender EJ, Miller GM. 2008. Functional characterization of the human TPH2 5' regulatory region: untranslated region and polymorphisms modulate gene expression in vitro. *Hum Genet* 122(6):645-57.
- Cichon S, Craddock N, Daly M, Faraone SV, Gejman PV, Kelsoe J, Lehner T, Levinson DF, Moran A, Sklar P és mtsai,. 2009. Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *Am J Psychiatry* 166(5):540-56.
- Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, Sklar P. 2005. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 57(11):1313-23.
- Findling RL. 2008. Evolution of the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder in children: a review. *Clin Ther* 30(5):942-57.
- Fuke S, Suo S, Takahashi N, Koike H, Sasagawa N, Ishiura S. 2001. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J* 1(2):152-6.
- Gizer IR, Ficks C, Waldman ID. 2009. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet* 126(1):51-90.
- Grados MA, Walkup J, Walford S. 2003. Genetics of obsessive-compulsive disorders: new findings and challenges. *Brain Dev* 25 Suppl 1:S55-61.
- Grisham JR, Anderson TM, Sachdev PS. 2008. Genetic and environmental influences on obsessive-compulsive disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 258(2):107-16.
- Han DD, Gu HH. 2006. Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC Pharmacol* 6:6.
- Kereszturi E, Tarnok Z, Bognar E, Lakatos K, Farkas L, Gadoros J, Sasvari-Szekely M, Nemoda Z. 2008. Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism is associated with methylphenidate response in ADHD children. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B(8):1431-5.
- Kim CH, Hahn MK, Joung Y, Anderson SL, Steele AH, Mazei-Robinson MS, Gizer I, Teicher MH, Cohen BM, Robertson D és mtsai,. 2006. A polymorphism in the norepinephrine transporter gene alters promoter activity and is associated with attention-deficit hyperactivity disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(50):19164-9.
- Lasky-Su JA, Faraone SV, Glatt SJ, Tsuang MT. 2005. Meta-analysis of the association between two polymorphisms in the serotonin transporter gene and affective disorders. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 133B(1):110-5.
- Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL. 1996. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274(5292):1527-31.
- Mill J, Asherson P, Browes C, D'Souza U, Craig I. 2002. Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *Am J Med Genet* 114(8):975-9.
- Mill J, Asherson P, Craig I, D'Souza UM. 2005. Transient expression analysis of allelic variants of a VNTR in the dopamine transporter gene (DAT1). *BMC Genet* 6:3.

- Miller GM, Madras BK. 2002. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry* 7(1):44-55.
- Mundorf ML, Joseph JD, Austin CM, Caron MG, Wightman RM. 2001. Catecholamine release and uptake in the mouse prefrontal cortex. *J Neurochem* 79(1):130-42.
- O'Rourke JA, Scharf JM, Yu D, Pauls DL. 2009. The genetics of Tourette syndrome: a review. *J Psychosom Res* 67(6):533-45.
- Pauls DL. 2003. An update on the genetics of Gilles de la Tourette syndrome. *J Psychosom Res* 55(1):7-12.
- Robbins TW, Arnsten AF. 2009. The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annu Rev Neurosci* 32:267-87.
- Scheuch K, Lautenschlager M, Grohmann M, Stahlberg S, Kirchheiner J, Zill P, Heinz A, Walther DJ, Priller J. 2007. Characterization of a functional promoter polymorphism of the human tryptophan hydroxylase 2 gene in serotonergic raphe neurons. *Biol Psychiatry* 62(11):1288-94.
- Sheppard DM, Bradshaw JL, Purcell R, Pantelis C. 1999. Tourette's and comorbid syndromes: obsessive compulsive and attention deficit hyperactivity disorder. A common etiology? *Clin Psychol Rev* 19(5):531-52.
- Stein MA, McGough JJ. 2008. The pharmacogenomic era: promise for personalizing attention deficit hyperactivity disorder therapy. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 17(2):475-90, xi-xii.
- Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR. 2006. Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry* 60(2):141-51.
- van de Giessen EM, de Win MM, Tanck MW, van den Brink W, Baas F, Booij J. 2009. Striatal dopamine transporter availability associated with polymorphisms in the dopamine transporter gene SLC6A3. *J Nucl Med* 50(1):45-52.
- van Dyck CH, Malison RT, Jacobsen LK, Seibyl JP, Staley JK, Laruelle M, Baldwin RM, Innis RB, Gelernter J. 2005. Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *J Nucl Med* 46(5):745-51.
- Walitza S, Wendland JR, Gruenblatt E, Warnke A, Sontag TA, Tucha O, Lange KW. Genetics of early-onset obsessive-compulsive disorder. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 19(3):227-35.
- Wendland JR, Moya PR, Kruse MR, Ren-Patterson RF, Jensen CL, Timpano KR, Murphy DL. 2008. A novel, putative gain-of-function haplotype at SLC6A4 associates with obsessive-compulsive disorder. *Hum Mol Genet* 17(5):717-23.
- Wonodi I, Hong LE, Stine OC, Mitchell BD, Elliott A, Roberts RC, Conley RR, McMahon RP, Thaker GK. 2009. Dopamine transporter polymorphism modulates oculomotor function and DAT1 mRNA expression in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 150B(2):282-9.
- Yang L, Wang YF, Li J, Faraone SV. 2004. Association of norepinephrine transporter gene with methylphenidate response. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43(9):1154-8.
- Zhu HJ, Patrick KS, Yuan HJ, Wang JS, Donovan JL, DeVane CL, Malcolm R, Johnson JA, Youngblood GL, Sweet DH és mtsai. 2008. Two CES1 gene mutations lead to dysfunctional carboxylesterase 1 activity in man: clinical significance and molecular basis. *Am J Hum Genet* 82(6):1241-8.