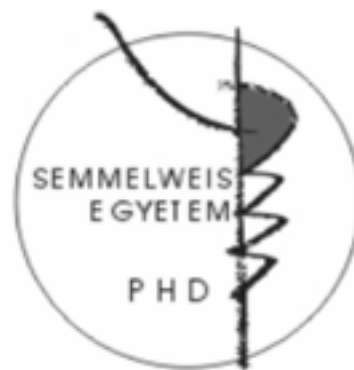


# A DIABETES ÉS A KOMORBID DEPRESSZIÓ GENETIKAI VONATKOZÁSAI

Doktori tézisek

**Dr. Nagy Géza**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Prof. Dr. Somogyi Anikó DsC egyetemi tanár,

Hivatalos bírálók: Dr. Szalai Csaba, DsC tudományos főmunkatárs  
Dr. Farkas Klára PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Gerő László DsC egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Prechl József PhD tud. főmunkatárs  
Dr. Reismann Péter PhD

Budapest  
2011

*A molekuláris genetikai munka a Semmelweis Egyetem Orvosi  
Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézetében készült  
Prof. Dr. Sasvári-Székely Mária laboratóriumában*

## I. Bevezetés

A diabetes mellitus a 20. század végére, 21. század elejére olyan elterjedtté vált, hogy ma már népbetegségnek számít. A cukorbetegségben szenvedők számát 2000-ben 171 millió főre becsülték a 20 éven felüliek körében, és ez 2030-ra becslések szerint 366 millióra fog növekedni. Magyarországon nincs központi regiszter, ami pontosan nyilvántartaná a cukorbetegeket, de az ismert cukorbetegek száma a népesség mintegy 5-5,5%-át teszi ki. Figyelemre méltó az is, hogy a szűrővizsgálatok általános tapasztalata szerint minden ismert cukorbetegre egy fel nem ismert diabetesben szenvedő esik. Így Magyarországon körülbelül egymillió főre tehető azok száma, akik diagnosztizált, vagy fel nem ismert diabetesben szenvednek [1].

A diabetes mellitus mellett, hogy népbetegség, előkelő helyet foglal el az úgynevezett civilizációs betegségek sorában. Civilizációs betegségeknek hívjuk azokat a kórokat, amelyek a társadalmak fejlődésével, a környezet szennyeződésének növekedésével, az életmód és a szociális viszonyok változásával jönnek létre. A cukorbetegség ismeretlen volt a korábban a civilizációtól elzárt közösségekben egészen addig, amíg a „fehér ember” hatása meg nem jelent a környezetükben. Mára a nyugati civilizáció közvetítette „jólét” eredményeként igen nagy a 2-es típusú cukorbetegség gyakorisága körükben is.

A XX-XXI. század fordulójának egyik, népegészségügyi szempontból legfontosabb lelki betegsége a depresszió, mely 340

millió embert érint világszerte. Nagy biztonsággal becsülhető hogy, a betegség jelentős terhet fog róni a társadalomra, hiszen az Egészségügyi Világszervezet (WHO) előrejelzése szerint 2020-ra a depresszió lesz a második leggyakoribb, munkaképesség-csökkenésért felelős megbetegedés [2] (leggyakoribbnak a szív és érrendszeri betegségeket jelzik).

A Hungarostudy szerint, amely egy Magyarországon 2002-ben végzett országos reprezentatív felmérés volt [3], enyhe depressziós tünetekről a megkérdezettek 27,3%-a számolt be. Közepesen súlyos vagy súlyos, tehát klinikai kezelést igénylő depressziós tüneteket a megkérdezettek 12,9%-nál találtak. A súlyos, mindenképpen mielőbbi kezelést igénylők aránya pedig 7,3% volt.

A depresszió nem egy múló hangulatingadozás, melyet lehangoló események, túlhajszoltság váltanak ki, hanem egy súlyos klinikai tünetmintázat, olyan súlyos pszichológiai zavar, amely elhúzódó természetű lelki gyötrelmekkel jár, a hónapok-évek multával egyre rosszabbá válhat, és a klinikai értelemben depressziós ember súlyos esetben a legegyszerűbb dolgok kivitelezésére is képtelenné válik, s tehetetlenségében megpróbál véget vetni életének. A depressziósok egy része képes fenntartani korábbi életvitelét, ám a betegség jelentősen csökkenti hatékonyságukat, és megfosztja őket örömeiktől.

Az elmúlt évek epidemiológiai vizsgálatainak összesítése alapján a diabeteses populációban, a depresszió átlagos prevalenciája 20%. A depresszió körülbelül két-háromszor gyakoribb diabetesesekben, mint a kor és nem szerint illesztett egészséges populációban [4].

Közös vonása e két népbetegségnek, hogy elsősorban a robbanásszerűen felgyorsuló társadalmi hatások révén létrejött káros környezeti tényezők, és a megváltozott környezethez nem megfelelően adaptálódott gének elégtelen működése vezet a betegség kialakulásához. A diabetesre és a depresszióra hajlamosító környezeti tényezőkről, és a háttérükben rejlő biológiai mechanizmusról sok mindent felfedtek az elmúlt évek vizsgálatai, mégis egyik betegség kóroktana sem tekinthető tisztázottnak a mai napig. Talán ennek is köszönhető, hogy kezelésükre ugyan van lehetőség, de a ma ismert terápiás lehetőségek a betegeket nem gyógyítják meg véglegesen, a gyógyszeres kezeléseknek szerteágazó mellékhatásai vannak, és sok esetben a megfelelő kezelés ellenére sem sikerül e betegségek szövődményeit megelőzni.

Napjaink vizsgálatai, melyek e kórképek genetikai rizikófaktorainak megismerését tűzik ki célul, egyrészt hozzásegíthetnek a betegség korai szűréséhez, másrészt a genetikai rizikófaktoraiknak megismerése a két betegség ez idáig tisztázatlan pathogenezisének megismerését is elősegítheti, és a jövőben olyan farmakológia célpontokat tárhat fel, melyek új, hatékonyabb kezelési módok kifejlesztéséhez segíthetnek hozzá.

## **II. Célkitűzések**

A bemutatásra kerülő munka fő célkitűzése a diabetes mellitus és a komorbid depresszió genetikai háttértényezőinek vizsgálata a pathomechanizmus jobb megértése céljából.

A munka első részében **eset-kontroll asszociációs vizsgálatokat kívántunk végezni diabeteszes betegek és kontroll személyek genetikai polimorfizmusainak vizsgálatával.** Kandidáns génvizsgálatainkban olyan variánsok analízisét tűztük ki célul, melyeket eddig a szakirodalomban még nem, vagy csak más szubpopuláción vizsgáltak.

1. Célul tűztük ki a **Kv1.3 (KCNA3)** gén promóter régiójában, a -1645-ös pozícióban elhelyezkedő SNP (rs2821557) vizsgálatát a következő okok miatt: (1) KCNA3 génkiütött egerek vizsgálata valószínűsítette, hogy ennek az ioncsatornának szerepe lehet az elhízás, illetve az inzulin rezisztencia kialakulásában; (2) előzetesen egészséges populációt vizsgálva kimutatták, hogy gén T-1645C polimorfizmusa összefüggésben áll az inzulin rezisztenciával és a csökkent glukóz toleranciával. Diabeteszes betegeken azonban munkánk megkezdésekor nem történt még ilyen jellegű vizsgálat.
2. Célul tűztük ki a HIF-1 fehérje  $\alpha$  alegység gén (**HIF-1 $\alpha$** ) 12-es exonjában található, aminosavcserét (Pro582Ser) okozó SNP (rs11549465) eset-kontroll analízisét, mivel japán populációban előzetesen kimutatták ennek az SNP-nek és a 2TDM előfordulásának szignifikáns összefüggését, azonban kaukázusi populációra nem voltak még adatok.

Munkánk második fázisában **hangulatkérdőívek segítségével kívántuk felmérni a komorbid depresszió előfordulását betegcsoportunkban.** A nemzetközileg elfogadott, magyar fordításban is fellelhető és validált kérdőívek közül a Hospital Anxiety

and Depression Scale (**HADS**) önkitöltő kérdőívet kívántuk felhasználni, mivel szakirodalmi adatok alapján jól elkülöníti az enyhe/közepes/erős súlyosságú eseteket.

Genetikai vizsgálatainkhoz **2 szerotonerg** (szerononin transzporter promoter polimorfizmusa (5HTTLPR) és a triptofán hidroxiláz 2 (TPH2 promóter -703GT SNP-je, rs4570625 SNP), és **két nem-szerotonerg** (BDNF (brain-derived neurotrophic factor) Val66Met polimorfizmusa, rs6265; és a P2RX7 purinerg ioncsatorna Gln460Arg aminósav cserét okozó SNP-je, rs2230912) **kandidáns polimorfizmust választottunk ki**, melyeket korábban már összefüggésbe hoztak a major és/vagy a bipoláris depresszió előfordulásával.

#### **Kérdésfeltevéseink a következők voltak:**

- (1) Kimutatható-e a diabetes csoportban is **genetikai hatás a komorbid depresszió vonatkozásában?**
- (2) Kimutatható-e „**gén x környezet**” kölcsönhatás a depresszióval **összefüggő genetikai faktor („gén”)** és a betegek anyagcsere állapota (belső „**környezet**”) között?

### **III. Módszerek**

#### **Kísérleti személyek, mintavétel**

Vizsgálatunkban 370 2TDM, 50 1TDM valamint 274 kontroll személy adatait dolgoztuk fel. A betegek a Semmelweis Egyetem II. számú Belklinika járóbeteg ambulanciáján és fekvőbeteg részlegén gondozott egyénekből kerültek ki. A betegeket részletesen tájékoztattuk a vizsgálat céljáról, és a vizsgálathoz való hozzájárulásukat aláírásukkal rögzítettük, majd vattapálcával szájnyalkahártya mintát vettünk. A vizsgálatok szakmai-etikai engedélyét az ETT-TUKEB adta meg.

#### **Genotípus meghatározás**

Az 5-HTTLPR rövid (s) és hosszú (l) variánsok (14 és 16 ismétlődés, rendszerünkben 469 és 512 bp fragmentumok) meghatározása az amplifikációt követően multikapilláris elektroforetikus készülékkel történt. Az SNP-k meghatározása TaqMan próbákkal, valós idejű PCR-el történt. A módszert minden esetben PCR-RFLP-vel validáltuk.

#### **Hangulatmérő kérdőív**

A depresszió kvantitatív mérése céljából a Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) önkitöltő kérdőívet használtuk fel.

#### **Genetikai asszociáció vizsgálat**

Az eset és a kontroll csoportokban a Hardy-Weinberg egyensúly fennállását  $\chi^2$ -próbával ellenőriztük. A statisztikai elemzésekhez az SPSS statisztikai program csomagot használtuk fel.



## **IV. Eredmények**

**1. A Kv1.3 (KCNA3) gén -1645CT polimorfizmusát vizsgálva nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a kontroll és a betegcsoportok között sem az allél, sem a genotípus gyakoriságban** Tudomásunk szerint ez az egyetlen közölt vizsgálat a szakirodalomban, mely a KCNA3 T-1645C polimorfizmusának gyakoriságát vizsgálja diabeteses betegek körében.

**2. A HIF-1 $\alpha$  gén eset-kontroll vizsgálata során szignifikáns összefüggést találtunk a CC genotípus és a 2-es típusú diabetes előfordulása között.** Ezzel egybehangzóan a ritka T allél védő hatásúnak tűnik a betegség kialakulásával szemben. **Ezek az eredmények elsőként erősítik meg az előzetes japán vizsgálatot kaukázusi populációban.**

**3. Kimutattuk, hogy a HIF-1 $\alpha$  gén vizsgált polimorfizmusa nemcsak a 2-es, de az 1-es típusú diabetes előfordulásával is szignifikáns asszociációt mutat, a T allél jelenléte itt is védő hatású.** Ez az eredmény nemcsak egy újabb példája az 1TDM és a 2TDM közös genetikai rizikófaktorának, de elméletileg is fontos lehet a hipoxia indukált faktor diabetesben betöltött szerepének megértésében. Elképzelhető ugyanis, hogy a ritka génvariáns a hasnyálmirigy kialakulása során fennálló hipoxiás körülmények között fejt ki védő hatását target génjeinek kifejezettebb aktiválása révén.

**4. A depresszió nem szerotonerg génjeit vizsgálva szignifikáns genetikai hatást kaptunk a P2RX7 vizsgált polimorfizmusa és a**

**HADS kérdőívvel mért depressziós szint között** cukorbetegek körében. Ugyanakkor nem kaptunk szignifikáns interakciót a genetikai hatás és a beteg anyagcsere állapota között. A BDNF vonatkozásában nem találtunk sem szignifikáns genetikai hatást, sem interakciót.

5. A depresszió szerotonerg kandidáns génjei közül a TPH2 esetében a szignifikáns genetikai hatás mellett szignifikáns interakciót kaptunk a mért polimorfizmus és a betegek anyagcsere állapota között a depresszió mértékének vonatkozásában. A T allél jelenléte csak a jó szénhidrát anyagcseréjű betegekben csökkentette HADS hangulati kérdőívvel mért pontértékeket. A szerotonin transzporter 5HTTLPR polimorfizmusa esetében nem kaptunk hasonló jellegű változásokat.

**Tudomásunk szerint ez az első, közölt gén x környezet interakció vizsgálat a szakirodalomban a cukorbetegek hangulati állapota, genetikai markerei és szénhidrát anyagcsere állapota között.**

## **V. Következtetések**

A diabetes és a depresszió egyaránt korunk népbetegségei. Mindkét betegséget multifaktoriális betegségnek tartják, azaz a robbanásszerűen felgyorsuló társadalmi hatások révén létrejött káros környezeti tényezők és a megváltozott környezethez nem megfelelően adaptálódott gének elégtelen működése eredőjeként jönnek létre. Az

elmúlt évek epidemiológiai vizsgálatai fényt derítettek arra is, hogy a diabeteses betegekben az átlagpopulációhoz képest kétszer olyan gyakori a depresszió. A diabetesre és a depresszióra hajlamosító környezeti tényezőkről, és háttérükben rejlő biológiai mechanizmusról sok mindent felfedtek az elmúlt évek vizsgálatai, mégis egyik betegség kóroktana és a két betegség komorbiditásának oka sem tekinthető tisztázottnak a mai napig.

Jelen munkánkban a diabetes mellitus és a komorbid depresszió feltételezett genetikai háttértényezőit vizsgáltuk a két betegség pathomechanizmusának jobb megértése céljából.

A munka első részében eset-kontroll asszociációs vizsgálatokat kívántunk végezni diabeteses betegek és kontroll személyek genetikai polimorfizmusainak vizsgálatával. Kandidáns génvizsgálatainkban olyan gének analízisét tűztük ki célul, melyeket eddig a szakirodalomban még nem, vagy csak más szubpopuláción vizsgáltak.

A Kv1.3 (KCNA3) gén promóter régiójában elhelyezkedő, a -1645-ös pozíciójú SNP (rs2821557) előfordulásában nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a kontroll és a betegcsoportok között sem az allél, sem a genotípus gyakoriságban. Tudomásunk szerint ez az egyetlen közölt vizsgálat a szakirodalomban, mely a KCNA3 T-1645C polimorfizmusának gyakoriságát vizsgálja diabeteses betegek körében.

A HIF-1 fehérje  $\alpha$  alegységét kódoló gén (HIF-1 $\alpha$ ) 12-es exonjában található, aminosavcserét (Pro582Ser) okozó SNP (rs11549465) eset-kontroll analízise során szignifikáns összefüggést találtunk a CC genotípus és a 2-es típusú diabetes előfordulása között. Ezzel

egybehangzóan a ritka T allél védő hatásának tűnik a betegség kialakulásával szemben. Ezek az eredmények elsőként erősítik meg az előzetes japán vizsgálatot kaukázusi populációban.

Kimutattuk, hogy a HIF-1  $\alpha$  gén vizsgált polimorfizmusa nemcsak a 2-es, de az 1-es típusú diabetes előfordulásával is szignifikáns asszociációt mutat, a T allél jelenléte itt is védő hatású. Ez az eredmény nemcsak egy újabb példája az 1TDM és a 2TDM közös genetikai rizikófaktorának, de elméletileg is fontos lehet a hypoxia indukált faktor diabetesben betöltött szerepének megértésében. Elképzelhető ugyanis, hogy a ritka génvariáns a hasnyálmirigy kialakulása során fennálló hypoxiás körülmények között fejti ki védő hatását célgénjeinek kifejezettebb aktiválása révén. Munkánk második fázisában hangulatkérdőívek segítségével kívántuk felmérni a komorbid depresszió előfordulását diabeteses betegcsoportunkban.

Genetikai vizsgálatainkhoz 2 szerotonerg (5HTTLPR és TPH2) és két nem-szerotonerg (BDNF és P2RX7) kandidáns gént választottunk ki, melyeket korábban már összefüggésbe hoztak a major és/vagy a bipoláris depresszió előfordulásával. A depresszió nem szerotonerg génjeit vizsgálva szignifikáns genetikai hatást kaptunk a P2RX7 vizsgált polimorfizmusa és a HADS kérdőívvel mért depressziós szint között cukorbeteg körében. Ugyanakkor nem kaptunk szignifikáns interakciót a genetikai hatás és a beteg anyagcsere állapota között. A BDNF vonatkozásában nem találtunk sem szignifikáns genetikai hatást, sem interakciót.

A depresszió szerotonerg kandidáns génjei közül a TPH2 esetében a szignifikáns genetikai hatás mellett szignifikáns interakciót

kaptunk a mért polimorfizmus és a betegek anyagcsereállapota között a depresszió mértékének vonatkozásában. A T allél jelenléte csak a jó szénhidrát-anyagcserejű betegekben csökkentette HADS hangulati kérdőívvel mért pontértékeket. A szerotonin-transzporter 5HTTLPR polimorfizmusa esetében nem kaptunk hasonló jellegű változásokat. Tudomásunk szerint ez az első, közölt gén környezet interakció vizsgálat a szakirodalomban a cukorbeteg hangulati állapota, genetikai markerei és szénhidrát-anyagcsereállapota között.

## **VI. Közlemények**

### **A tézisek alapjául szolgáló közlemények:**

#### Angol nyelvű publikációk:

1. Nagy G, Ronai Z, Somogyi A, Sasvari-Szekely M, Rahman AO, Mate A, Varga T, Nemoda Z: P2RX7Gln460Arg polymorphism associated with depression among diabetic patients. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 32 (8), 1884-1888, 2008, IF: 2.638
2. Nagy G, Kovacs-Nagy R, Kereszturi E, Somogyi A, Szekely A, Nemeth N, Hosszufalusi N, Panczel P, Ronai Z, Sasvari-Szekely M. Association of hypoxia inducible factor-1 alpha gene polymorphism with both type 1 and type 2 diabetes in a Caucasian (Hungarian) sample. BMC Med Genet. 10(1):79, 2009. IF: 2.762

#### Magyar nyelvű publikációk:

1. Dr. Nagy Géza, Dr. Rosta Klára, Dr. Ruzicska Éva, Dr. Somogyi Anikó, Dr. Sasvári-Székely Mária: Újabb eredmények a 2-es típusú diabetes mellitus genetikai tényezőiről. Magyar Belorvosi Archivum 2007 62. 115-122.
2. Dr. Nagy Géza, Dr. Nagy Réka, Dr. Székely Anna, Dr. Sasvári-Székely Mária, Dr. Somogyi Anikó: A KCNA3 gén T1645C polimorfizmusának vizsgálata diabetesben. Magyar Belorvosi Archivum 2008; 61. 129-133.

## **A dolgozat témájához szorosan nem kapcsolódó közlemények:**

### Angol nyelvű publikációk:

1. Anikó Somogyi, Klára Rosta, Péter Pusztai, Zsolt Tulassay Géza Nagy: Antioxidant measurements. Physiological Measurements 2007 28 (2007) R41-R55. IF:1.47
2. Somogyi A, Ruzicska E, Varga T, Rácz K, Nagy G.: Development of silent gastric carcinoid in a type 1 diabetic patient with primer hypothyreosis. Orv Hetil. 2007 Sep 2;148(35):1667-71 (Markusovszky Díj)

### Magyar nyelvű publikációk:

1. Dr. Somogyi Anikó, dr. Nagy Géza: Zsíranyagcsere zavarok, diagnózis és terápia. Medicus Anonymus 2005/6 29-36.
2. Somogyi Anikó dr., Herold Magdolna, Kocsis Ibolya dr., Nagy Géza dr., Somfai Gábor dr., Studinger Péter dr.: Az E-vitamin-pótlás hatása fiatal férfiak és nők lipoproteinjének vitamintartalmára. Orvosi Hetilap 2005 35. szám, 1813-1818.
3. Somogyi Anikó dr., Nagy Géza dr., Rosta Klára dr., Pusztai Péter dr.: Insulinkezelés 2-es típusú diabetes mellitusban Granum 2006. 2. szám, 39-42.
4. Somogyi Anikó dr. Nagy Géza dr. Rosta Klára dr.:Az oxidatív stressz szerepe a diabétesz microvascularis szövődményeinek kialakulásában. Diabetologia Hungarica 2006. március 27-32.