

A szezonális és a szezonális affektív zavar hazai előfordulása, jellemzői és összefüggései a szerotonin-2A és kannabinoid-1 receptor génekkel

Doktori tézisek

Molnár Eszter

Semmelweis Egyetem
Magatartástudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Bagdy György egyetemi tanár, az MTA tagja
Hivatalos bírálók: Dr. Szádóczky Erika, Ph.D., az MTA tagja
Dr. Rónai Zsolt, egyetemi adjunktus Ph.D.
Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Túry Ferenc egyetemi tanár, az MTA tagja
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Bódizs Róbert egyetemi adjunktus, Ph.D.
Dr. Mirnic Zsuzsanna egyetemi adjunktus,
Ph.D.

Budapest
2013

1 Bevezetés

A szezonális affektív zavar (seasonal affective disorder, SAD) az ismétlődő depressziós rendellenességek csoportjába tartozik, ahol az epizódok bizonyos évszakokban jelennek meg, a tünetek kialakulása két időszakhoz köthető, az őszi-téli és tavaszi-nyári hónapokhoz. Szezonális alatt az évszakok váltakozására mutatott, az egész populációban mérhető egyéni vulnerabilitást értjük, ami hangulati és pszichovegetatív tünetek (az étvágy, a súly, az energia, a társas aktivitás és az alvás mennyiség) fluktuációjának formájában jelentkezik. A SAD a szezonális spektrumának szélsősége, az évszakok váltakozására való érzékenység extrém megjelenése. A SAD és szezonális gyakoriságának, az epizódok jellemzőinek mérésére azonban hazai vizsgálatok nem születtek, validált mérőeszközök sem álltak rendelkezésre.

A szezonális és a szezonális affektív zavar kialakulásának genetikai hátterét kereső kutatások a szerotonin transzporter gén (SLC6A4) leíródását szabályozó (promóter) régiójában található 5-HTTLPR hosszúság polimorfizmusának S (rövid) allélját vizsgálták legtöbbször. Az eredmények azonban nem igazolták egyértelműen az S allél szerepét a szezonális és SAD kialakulásában. További kutatások a szerotonin-2A receptor gént vizsgálták, a promóter régiójában található rs6311 (-1439 A/G) polimorfizmus (SNP) segítségével. Az A allélhordozás – mely a gén leíródásában az aktívabb variánsnak bizonyult – egyes vizsgálatokban gyakoribb volt a szezonális és/vagy SAD-ben szenvedők körében, míg

mások ezt nem támasztották alá. A kannabinoid-1 receptor génjének (CNR1) kapcsolatát eddig nem vizsgálták ezen fenotípusok háttérében, azonban nem szezonális depresszió és szorongás kialakulásában feltételezik a receptor génjének szerepét.

2 Célkitűzések

Kutatásunk fő célkitűzései voltak a szezonális és szezonális affektív zavar előfordulásának felmérése (1. vizsgálat), valamint örökletes faktorainak, közöttük konkrét génpolimorfizmusok szerepének vizsgálata (2. vizsgálat) a magyar átlag populáción. Elemeztük a szerotonin transzporter gén, a szerotonin-2A receptor gén és a kannabinoid-1 receptor gén polimorfizmusainak hatását az érintett fenotípusokra.

1. vizsgálat:

- milyen a Seasonal Pattern Assessment Questionnaire (SPAQ) és a Seasonal Health Questionnaire (SHQ) szezonális affektív zavart mérő eszközök validitása (érvényessége) és reliabilitása (megbízhatósága) magyar átlagmintán?
- milyenek a SAD és a szezonális affektív zavar előfordulási arányai a magyar átlagpopulációban?
- hogyan függ össze a nemmel és az életkorral a szezonális affektív zavar és a SAD?
- hogyan jellemezhetjük a SAD alatt lezajló depressziós epizódok átlagos hosszát és lefutását?

- A szezonálisban és SAD-ben érintett populációra milyen pszichiátriai zavarok komorbiditása jellemző?
- A szezonálisban és SAD-ben érintett populációra milyen családi pszichiátriai zavarok komorbiditása jellemző?
- milyen mértékben és milyen prediktív erővel határozzák meg a személyiség független változói, úgymint az affektív temperamentumok és a személyiségvonások a szezonális és SAD kialakulását?

2. vizsgálat:

- van-e összefüggés a szezonális, a szezonális affektív zavar és a szerotonin transzporter gén polimorfizmusa között (asszociációs vizsgálatok)?
- van-e összefüggés a szezonális, a szezonális affektív zavar és a szerotonin-2A receptor gén polimorfizmusai között (asszociációs és haplotípus vizsgálatok)?
- összefügg-e a kannabinoid-1 receptor gén a szezonális és a szezonális affektív zavar (asszociációs és haplotípus elemzés)?
- Mutatnak-e interakciós hatást az 5-HTTLPR, az 5HTR2A és a CNR1 gén polimorfizmusok a szezonálisra való érzékenységben (GxG modell)?

3 Módszerek

Kutatásunkba 18-60 év közötti önkéntes, magyar, kaukázusi alanyokat vontunk be. A teszteket a 2005. szeptembertől 2007 májusáig terjedő időszakban gyűjtöttük.

Az első vizsgálatba 923 főt (641 nő, 282 férfi; átlag életkoruk 31.27 ± 10.65 év) vontunk be. Nem minden résztvevő adott genetikai mintát, így a második vizsgálatban az elemszám a szolgáltatott mintának és a genotipizálás sikerességének függvényében alakult. A különböző elemzések 640-700 fős mintán zajlottak.

Kérdőívek

A validálásra szánt Seasonal Pattern Assessment Questionnaire (SPAQ), első része egy 6 tételből álló, 4 fokú skálán differenciálja a tünetek évszakokkal történő ingadozását, az így kapott pontszám a globális szezonális pontszám (Global Seasonality Score, GSS), míg további két kérdés a tünetek súlyosságát méri.

A Seasonal Health Questionnaire (SHQ) egy szűrő teszt beépített ellenőrző pontokkal, összesen 6 részből áll, aki végig töltve megfelel az összes kritériumnak, azt a teszt szezonális affektív zavarral szenvedőnek tekinti. Az A, B és C rész a depressziót és annak gyakoriságát méri, a D és E rész a szezonális mintázatot vizsgálja, míg az F a rapid ciklusokat szűri.

Minden résztvevő kitöltötte továbbá a háttér kérdőívet, a Zung-féle Önértékelő Depresszió Skálát (Zung-ÖDS), Spielberger-féle Állapot- és Vonás Szorongás Kérdőívet (State Trait Anxiety Inventory, STAI-S és STAI-T), a Rövid tünetleltárt (Brief Symptom Inventory, BFI) a TEMPS-A-t (Temperament Evaluation of the Memphis, Pisa, Paris and San Diego-Autoquestionnaire) és egy rövidített Big-5 személyiség tesztet (Big-5 Inventory BFI-44).

Genotipizálás

A vizsgálathoz a genetikai mintát szájnnyálkahártyából vettük, amiből a Manchesteri Egyetem partner laboratóriuma izolálta a genomiális DNS-t. Az 5HTTLPR polimorfizmust a polimeráz láncreakción alapuló Taqman módszer alkalmazásával genotipizáltuk. A további kiválasztott egypontos nukleotid polimorfizmusok (SNP) genotipizálása (szerotonin-2A receptor gén esetében rs731779, rs985934, rs6311, míg a CNR1 esetében rs2180619, rs806379, rs1535255, rs2023239, rs806369, rs1049353, rs4707436, rs12720071, rs806368, rs806366, rs7766029) Sequenom® MassARRAY technológia segítségével történt. A post-PCR alapú single base primer extenziós iPLEXTM assay elvégzése után a reakció termékeit egy 384-lyukú SpectroChip-re (Sequenom Inc.) dipendáltuk, melyet a Compact Mass Spectrometer by MassARRAY Workstation 3.3 szoftver (Sequenom Inc., San Diego, CA, USA) segítségével feldolgoztunk és értékeltünk.

Statisztikai módszerek

A tesztek (SHQ, SPAQ) a nyelvi adaptálás után homogenitás vizsgálatnak vetettük alá (Cronbach- α), majd az itemek validitását, item-tól korrelációját elemeztük. A GSS skálát vizsgáltuk eloszlás, csúcsosságát (Kurtosis) és ferdeségét (skewness) tekintetében. Elemeztük az SHQ és a SPAQ konvergencia validitását Pearson-féle korreláció számításával a Zung-ÖDS, BFI és STAI tesztek segítségével. A tesztek által mért szezonaritást és SAD csoportokat elemeztük nem, kor, a komorbid pszichiátriai zavarok és családi pszichiátriai zavarok tekintetében χ^2 -próba, Fisher egzakt teszt, lineáris regresszió, kétmintás-t próba és ANOVA segítségével. A

személyiség független változónak prediktív erejét a szezonális és szezonális affektív zavar kialakulására lineáris regresszió stepwise módszerével vizsgáltuk. Az SHQ esetében bináris logisztikus regresszió, stepwise módszerét alkalmaztuk. A számolásokat Statistica Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) és az SPSS (IBM SPSS Inc., Chicago, USA) programok segítségével végeztük el.

Haploview 4.1 software alkalmazásával számoltuk a Hardy-Weinberg egyensúlyt és az SNP-k közti kapcsoltsági viszonyt. Az allél és genotípus frekvenciákat, a fenotípusokkal való asszociációs elemzéseket az R program SNPassoc szoftvercsomagjával számoltuk (elérhető: <http://cran.r-project.org>). Az asszociációs elemzések során, az SPAQ esetében generalizált lineáris modellt (GLM), míg az SHQ esetében logisztikus regressziót használtunk. Az SPAQ-GSS skálát folytonos, az SHQ teszt eredményét dichotóm (SAD jelenléte – SHQ1, ill. hiánya – SHQ0) változóként alkalmaztuk a modellekben és nemre, valamint életkorra korrigáltuk azokat. Haplotípus elemzésekhez a HaploStat score tesztjét használtuk. A gén-gén interakciós vizsgálatokat log-likelihood ratio tesztel (LRT) elemeztük szintén SNPassoc programcsomag segítségével. Majd az eredményt GLM analízissel validáltuk az SPSS software alkalmazásával.

4 Eredmények

1. vizsgálat eredményei

Az SPAQ-GSS skála belső konzisztenciája megfelelő (Cronbach- $\alpha=0.830$, item-totál korrelációi $r>0.5$). A GSS skála eloszlás tekintetében

közelít a normál eloszláshoz (skewness=0.216±0.92 SD; Kurtosis=0.527±0.185 SD). A SPAQ skálán a populáció 71.83%-nak nincs szezonalitása, 22.75%-ka enyhe, míg 5.42%-ka erős szezonális tünetingadozással rendelkezik. A populáció átlagpontszáma a GSS skálán 7.87±4.12, míg a nemek között szignifikáns eltérést mértünk (Átlag_{férfi}=6.46±3.96; Átlag_{nő}=8.20±4.08; F=0.047; p< 0.001). A GSS skála az életkorral nagyon enyhén negatívan korrelál (r= -0.140; p<0.01), míg a teljes teszt enyhe pozitívítást mutatott (r= 0.103; p<0.01).

Az SHQ skála A és B részének Cronbach- α értéke 0.911 (N=923), míg az item-totál korreláció r>0.45 volt. A teszt alapján az őszi-téli típusú szezonális affektív zavar prevalenciája 3.36%, míg a tavaszi-nyári típusúé 1.73%. Egy szezonális depressziós epizód 4.28±2.48 hónapig tart, és az őszi-téli típusú SAD-esek körében bifázisos jellegű epizódlefutást mért a teszt, jellemzően decemberi tünettjavulással, majd januári visszaeséssel. Háromszor annyi nő, mint férfi érintett a zavarban (74.47% vs. 25.53%), míg a tünetek az életkorral súlyosbodnak. Konvergencia validitás szempontjából mindegyik teszt gyenge-közepes (SPAQ: r=0.265-0.405, SHQ: r=0.400-0.550) mértékben korrelált a Zung-ÖDS, a STAI és a BSI pontszámokkal.

Mind a SPAQ, mind az SHQ által szűrt populáció komorbiditást mutatott depresszióval, öngyilkossági kísérlettel, szorongásos zavarokkal és táplálkozási zavarokkal, míg a bipoláris zavar csak a SPAQ-kal volt komorbid. A családban előforduló pszichiátriai zavarok közül mindkét teszt a depresszióval és a táplálkozási zavarokkal, míg a SPAQ ezeken felül az

öngyilkossági kísérletekkel és a szorongásos zavarokkal mutatott további családi halmozódást.

A Ciklotím és Szorongó temperamentumok, a STAI-T és a Neuroticizmus skáláknak volt szignifikáns prediktív hatása a magas GSS pontszám bejósolásában ($\text{Adj}R^2=0.163$; $F_{4,918} = 45.974$, $p<0.001$). A depressziós állapotok (Wald=15.57, OR=5.520, $p<0.001$), a Ciklotím temperamentum (Wald=4.02, OR=1.08; $p=0.045$), az életkor (Wald=14.12, OR=1.053, $p<0.001$) és a GSS (Wald=12.07, OR=1.146, $p=0.001$) skálák jósolták be az SHQ (Nagelkerke $R^2=0.272$).

2. vizsgálat eredményei

A szerotonin transzporter gén polimorfizmus 5HTTLPR alléljai nem mutattak szignifikáns összefüggést sem a GSS, sem pedig az SHQ skálákkal.

A szerotonin-2A receptor génen vizsgált polimorfizmusok asszociációs vizsgálata során az rs731779 GG homozigóta genotípus hordozás recesszív genetikai modellben szignifikánsan magasabb GSS pontszámot eredményezett (Átlag_{TT-GT}= 7.87±0.17 vs. Átlag_{GG}=9.68; $p=0.0184$). Az SHQ skálán, a GG homozigóta genotípust hordozók hatszor nagyobb eséllyel lettek nyári vagy téli típusú szezonális depressziósok, mint a GT vagy TT genotípus hordozók (OR=6.47, CI=1.94-21.57). Csak a téli depressziót vizsgálva a GG homozigóta genotípus még magasabb, majdnem kilencszeres esélyt jelentett a betegség manifesztálódására (OR=8.7 CI=2.53-29.74). Az rs985934 és rs6311 nem mutatott szignifikáns

összefüggést sem a GSS, sem pedig az SHQ skálán, egyik genetikai modellben sem.

Az 5HTR2A gén haplotípus elemzése során két haplotípus mutatott szignifikáns egyéni hatást, a 'GCC' (hap-score= 2.049, $p=0.04$) és a 'TCC' (hap-score= -2.389, $p=0.013$). A 'CC' allélok mellett az rs731779 polimorfizmus G alléljának hordozása magasabb, míg a T allél jelenléte alacsony GSS pontszámot eredményezett.

A CNR1 gén polimorfizmusai nem mutattak szignifikáns eltérést sem a GSS, sem az SHQ skálán az asszociációs és haplotípus analízisek során.

Az 5HTR2A gén rs6311 SNP-nek és a CNR1 gén SNP-inek genetikai interakciós vizsgálata a GSS skálán szignifikáns eltérést mutatott. Az rs6311 TT genotípus hordozás szignifikáns pontszámbeli különbséget eredményezett három CNR1 SNP, az rs7766029 TT genotípus ($F_{2;126}=7.898$; $p<0.01$), az rs4707436 AA genotípus ($F_{2;126}=7.002$; $p=0.001$) és az rs1049353 AA genotípus ($F_{2;126}=7.039$; $p=0.001$) hordozás esetén.

Az rs6311 polimorfizmus TT genotípus hordozása alapján szűrt mintán ($N=129$ fő) a CNR1 gén SNP-ivel újra elvégeztük a haplotípus analízist. A CNR1 első haploblokkja (rs806369, rs1049353, rs4707436, rs12720071, rs806368, rs806366 and rs7766029) esetében két haplotípus, a 'TGGATCT' protektív (hap-score= -2.578, $p=0.01$), míg a 'CAAATTC' hajlamosító haplotípusnak bizonyult a szezonálisra nézve (hap-score=3.579, $p<0.001$). A második haploblokk esetében (rs2180619, rs806379, rs1535255 és rs2023239) egy, a 'GTGC' haplotípus hordozás bizonyult hajlamosító, tehát magas GSS pontszámot eredményező öröklött genetikai kombinációnak (hap-score=3.089, $p=0.003$).

5 Következtetések

Legfontosabb eredményeink voltak.

1. Mind az SPAQ, mind az SHQ tesztek pszichometriai mutatói magyar mintán megfelelőnek bizonyultak. Érvényes és megbízható eredménnyel mérik a szezonalitást és a szezonális affektív zavart.
2. A SAD magyar mintán végzett élettartam prevalencia mérései megfeleltek az azonos földrajzi területeken mért értékekkel (a populáció körülbelül 4-6%-át érinti), kivéve, hogy a hazai mintán a tavaszi-nyári (1.73%) depresszió előfordulása földrajzi szélességünkhöz képest magasabb, adataink inkább a mediterrán övezetben találtakhoz voltak hasonlatosak (~2%).
3. A két kérdőív bár hasonló mértékben szűri a populációt, eltérő koncepció alapján differenciálnak. Az SHQ a depresszió hangulati komponense mentén, míg a SPAQ a pszichovegetatív tünetek alapján kategorizál.
4. Mind a szezonalitás, mind a szezonális affektív zavar a nőket nagyobb számban és erősebb tünetingadozással érinti. A korrallal csökken a tünetek súlyossága, de a szubjektív megítélésük erősödik.
5. Hazánkban az október-november és januári hónapok a legérintettebbek, a vizsgált populációban jellegzetes bifázisos epizódlefutást találtunk, ami a tünetek decemberi konszolidálódásában mutatkozik.
6. A vizsgált populációban mind a szezonalitás, mind a SAD komorbiditást mutatott a depresszióval, bipoláris zavarokkal,

öngyilkossági kísérlettel, szorongásos zavarokkal és a táplálkozási zavarokkal.

7. Hazai mintán vizsgálva, az erős szezonalitással rendelkezők családi anamnézisben gyakoribb volt a depresszió, az öngyilkossági kísérlet, a szorongásos zavarok és a táplálkozási zavarok. A SAD csoportban a depresszió és a táplálkozási zavarok fordultak elő nagyobb számban.
8. Mind a szezonalitás, mind pedig a szezonális depresszió esetében erős hajlamot találtunk az affektív labilitásra. A szezonalitás esetében ez a ciklotím temperamentum, a szorongás, a neuroticizmus, a depresszió fizikai-vegetatív tüneteire való hajlamban mutatkozott meg leginkább. Vizsgálataink erősítették a szezonalitás, mint önálló konstruktum létjogosultságát.
9. Vizsgálataink alapján a szerotonin transzporter gén polimorfizmus 5HTTLPR nem játszik közvetlen szerepet sem a szezonalitás, sem pedig a SAD fenotípusok kialakulásában.
10. A szerotonin-2A receptorgén (5HTR2A) polimorfizmusok közül az rs731779 GG genotípushordozás hajlamosít mind a szezonalitás, mind a SAD kialakulására. Az összefüggés még erősebbnek bizonyult a téli depressziósok esetében, ami tovább erősíti a nyári és téli depresszió biológiai hátterének különbözőségét.
11. Az 5HTR2A gén polimorfizmusainak vizsgálatával mind a szezonalitásra hajlamosító, mind protektív haplotípusokat azonosítottunk. Ezen SNP-k kapcsolata nem csak a SAD-del, hanem

a normál populációban mérhető szezonalitással, erősíti a vizsgált fenotípusok spektrum koncepcióját.

12. A kannabinoid-1 receptor gén (CNR1) polimorfizmusai az asszociációs és haplotípus vizsgálatok alapján nem mutatnak direkt összefüggést sem a szezonális affektív zavarral.
13. Az 5HTTLPR allélhordozás és a vizsgált CNR1 mutációk allélvariánsainak hordozása a géninterakciós vizsgálatokban nem befolyásolta a szezonális affektív zavarra való érzékenységet.
14. Az 5HTR2A és a CNR1 interakciója szignifikánsan befolyásolja a szezonális affektív zavar fenotípusát. Az általunk vizsgált genetikai variánsok befolyásolhatják a CB1 és az 5-HT_{2A} receptorok számát és/vagy a receptor fehérjék szerkezetét, ami hatással lehet a szinaptikus szerotonin transzmisszióra. Az elemzett genotípusok és haplotípusok meghatározóak lehetnek a szezonális affektív zavar kialakulásának hátterében. Ezen vizsgálataink további eredményekkel támasztják alá a szezonális affektív zavar biológiai/genetikai meghatározottságát.

6 Saját publikációk jegyzéke

6.1 Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

- 1 Molnar E, Lazary J, Benko A, Gonda X, Pap D, Mekli K, Juhasz G, Kovacs G, Kurimay T, Rihmer Z, Bagdy G
Seasonality and winter-type seasonal depression are associated with the rs731779 polymorphism of the serotonin-2A receptor gene.
EUROPEAN NEUROPSYCHOPHARMACOLOGY 20:(9) pp. 655-662. (2010)

IF: 4.201

- 2 Molnar E, Gonda X, Rihmer Z, Bagdy G
A szezonális depresszió etiopatológiája és terápiás lehetőségei.
NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 12:(4) pp. 483-494.
(2010)
- 3 Molnar E, Gonda X, Rihmer Z, Bagdy G
[Diagnostic characteristics epidemiology and pathophysiology of seasonal affective disorder.]
PSYCHIATRIA HUNGARICA 25:(5) pp. 407-416. (2010)
- Lazary J, Lazary A, Gonda X, Benko A, Molnar E, Hunyady L, Juhasz G, Bagdy G
- 4 **Promoter variants of the cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) in interaction with 5-HTTLPR affect the anxious phenotype.**
AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART B-
NEUROPSYCHIATRIC GENETICS 150B:(8) pp. 1118-1127. (2009)
IF: 3.481
- 5 Lazary J, Lazary A, Gonda X, Benko A, Molnar E, Juhasz G, Bagdy G
New evidence for the association of the serotonin transporter gene (SLC6A4) haplotypes, threatening life events, and depressive phenotype.
BIOLOGICAL PSYCHIATRY 64:(6) pp. 498-504. (2008)
IF: 8.672

6.2 Független közlemények

1. Gonda X, Fountoulakis KN, Csukly G, Dome P, Sarchiapone M, Laszik A, Bedi K, Juhasz G, Siamouli M, Rudisch T, Molnar E, Pap D, Bagdy G, Rihmer Z
Star-crossed? The association of the 5-HTTLPR s allele with season of birth in a healthy female population, and possible consequences for temperament, depression and suicide.
JOURNAL OF AFFECTIVE DISORDERS 143:(1-3) pp. 75-83. (2012)
IF: 3.517*
2. Dorottya Pap, Xenia Gonda, Eszter Molnar, Judit Lazary, Anita Benko, Darragh Downey, Emma Thomas, Diana Chase, Zoltan G Toth, Krisztina

Mekli, Hazel Platt, Antony Payton, Rebecca Elliott, Ian M Anderson, J F William Deakin, Gyorgy Bagdy, Gabriella Juhasz

Genetic Variants in the Catechol-o-Methyltransferase Gene Are Associated With Impulsivity and Executive Function: Relevance for Major Depression

AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART B-
NEUROPSYCHIATRIC GENETICS 159B:(8) pp. 928-940. (2012)
IF: 3.705*

3. Gonda X, Fountoulakis K N, Csukly G, Bagdy G, Pap D, Molnár E, Laszik A, Lazary J, Sarosi A, Faludi G, Sasvari-Szekely M, Szekely A, Rihmer Z

Interaction of 5-HTTLPR genotype and unipolar major depression in the emergence of aggressive/hostile traits

JOURNAL OF AFFECTIVE DISORDERS 132:(3) pp. 432-437. (2011)
IF: 3.517

4. Benko A, Lazary J, Molnar E, Gonda X, Tothfalusi L, Pap D, Mirnics Z, Kurimay T, Chase D, Juhasz G, Anderson IM, Deakin JFW, Bagdy G

Significant Association Between the C(-1019)G Functional Polymorphism of the HTR1A Gene and Impulsivity

AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART B-
NEUROPSYCHIATRIC GENETICS 153B:(2) pp. 592-599. (2010)
IF: 4.156