

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Biológia Doktori Iskola

Eltérő életkori sajátságokat mutató neurológiai kórképek genetikai vizsgálata

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Török Nóra

Témavezetők

Dr. Vécsei László MD., Ph.D., DSc., tanszékvezető egyetemi tanár

Dr. Klivényi Péter MD., Ph.D., DSc., egyetemi tanár

Magyar Tudományos Akadémia
Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Neurológiai Klinika,
MTA-SZTE Idegtudományi Kutatócsoport



Szeged
2019

1. Bevezetés és célkitűzések

1.1 Parkinson-kór és a kinurenin rendszer ismertetése

A Parkinson-kór (PD) bármely életkorban előfordulhat, akár igen fiatal felnőtt korban is, azonban az ismeretlen eredetű ("idiopátiás") PD az idős, 60 év feletti populáció betegsége. Férfiaknál valamivel gyakoribb a megjelenése. Magyarországon a becslések alapján 16-20.000 beteg él.

Az általunk PD-ban vizsgált kinurenin rendszer az emberi agyban a triptofán lebomlási útvonala. A triptofán nagy része ide kerülve hasznosul, míg kisebb része a szerotonin-rendszerbe jut, vagy az új fehérjék építőköveiként kerül felhasználásra (Schwarcz 1993). Az enzimatikus útvonal végén nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD) és a NAD foszfát keletkezik.

A szakirodalmi adatok már korábban felvetették a PD és a megváltozott, zavart mutató kinurenin és szerotonin útvonalak kapcsolatát. Ilyen bizonyíték például, hogy az alacsony szerotonin (5-HT), KYN, és kinurénsav koncentrációkat mértek a frontális cortex, putamen és substantia nigra pars compacta régiókban a PD-os betegek mintáiban összevetve egészséges kontrollokéhoz képest (Ogawa et al. 1992), míg a 3-HK szintje pedig emelkedettebb volt a beteg csoportban (Ogawa et al. 1992). Két Parkinson állatmodellben is kimutattak eltéréseket az enzimatikus útvonalban (Knyihar-Csillik et al. 2004; Luchowski et al. 2002; Knyihar-Csillik et al. 2006). Korábban nem készítették tanulmányt a PD és a kinurenin útvonal enzimeinek polimorfizmusai közötti kapcsolatáról, így ez a téma új megvilágításban vizsgálja a kórkép és a kaszkád útvonal esetleges kapcsolatát, ezért csoportunk azt a célt tűzte ki, hogy a kaszkád egyik kulcsenzimének, a kinurenin-3-monooxigenáznak (KMO) az egy nukleotid polimorfizmusait (SNP) vizsgálja a betegség kialakulása és a betegségkezdetre kifejtett hatása szempontjából.

1.2 Amiotrófiás laterálszklerózis és a D vitamin kapcsolata

Az amiotrófiás laterálszklerózis (ALS) szintén bármely életkorban előfordulhat (fiatalabb korban megjelenő betegségnél döntő szerepe van a genetikai érintettségnek), azonban a szórványos esetek leginkább 40 és 60 éves kor között jelennek meg. A betegség előfordulása 5.40/100.000 fő, ami Magyarországra vetítve (10 milliós népességét alapul véve) 540 új eset megjelenését jelenti évente.

A D-vitamin a bőrben napfény hatására prohormonjából szintetizálódik. A D-vitamin aktív formája az 1α -25-(OH) $_2$ D, ami a nukleáris receptorához (VDR) kötődik és így modulálja az általa befolyásolt gének transzkripcióját, illetve hatással van az ásványi anyag homeosztázisra. A D-vitamin regulálja a szérum kalcium szintjét, mely kihathat különböző

immunfunkciókra (Basit 2013). Az ALS estében a motoros neuronok sebezhetőségének egyik feltételezett oka, hogy a kalcium kötő fehérjék szintje (parvalbumin és calbindin-D28K) alacsonyabb, így kiemelten fontos szerepe van a kalcium homeosztázis szabályzásának a kórkép kapcsán. A D-vitamin felelős többek között a neutrópikus faktorok és az indukálható nitrogén-oxid szintáz bioszintéziséért, valamint emeli a glutation szintet. Ezek mindegyike pedig szerepet játszik az ALS és más neurológiai betegségek pathomechanizmusában. A D vitaminról általánosságban elmondható, hogy csökkentheti a gyulladásos folyamatokat, ami jelentős szerepet játszik a neurodegenerációban, azáltal, hogy modulálja az antigén prezentációt és hatással van a T sejt proliferációra és fenotípusra.

Az általunk vizsgált VDR gén a D3 vitamin nukleáris hormon receptorát kódolja. A VDR gén és egyes neurológiai kórképek kapcsolatáról számos szakirodalmi adat áll rendelkezésre (Torok et al. 2013; Chen et al. 2017; Abdollah Zadeh et al. 2017; Bettencourt et al. 2017; Laczmanski et al. 2015), azonban az ALS-el összefüggésben limitált az adatok mennyisége (Kamel et al. 2003). Ezért csoportunk a VDR gén négy polimorfizmusának vizsgálatát tűzte ki célul. Célunk az allélok szerepének a vizsgálata volt a betegség kialakulás és betegségkezdés tekintetében.

1.3 Szklerózis multiplex és a CCR5 lókus

A szklerózis multiplex (SM) a világon körülbelül 2.5 millió embert érint. A kórkép egyre súlyosbodó (progrediáló) betegség, mely a fiatal felnőtt populáció leggyakoribb idegrendszeri bántalma. A nők érintettsége magasabb, hajlamosabbak a betegség kialakulására. Jellemzően az első tünetek a 20. és az 50. életév között jelennek meg. Magyarországon körülbelül 7-8000-re tehető a betegek száma.

Széleskörben ismert, hogy az SM-re jellemző központi idegrendszeri gyulladás velejárója a mielinhüvely elvesztése, az axonális károsodás és a gliózis, melyek együttesen okozzák a progresszív neurológiai működés zavart. A kemokinek (kemoatraktáns citokinek) és a kemokin receptorok kulcsszerepet játszanak a gyulladásos folyamatokban, mivel irányítják az immunsejtek vándorlását, így többek között a T-sejtek vér-agy gáton történő átjutását is, ami feltételezhetően az első lépések egyike az SM kialakulása felé (Matsui 2013; Jatczak-Pawlik et al. 2016).

A kemokin receptor V (CCR5) esetében mind a humán SM minták vizsgálata, mind pedig a kísérletes autoimmun encefalomyelitisben (SM állatmodellje) kapott adatok az mutatták, hogy a receptor kifejeződése a gyulladást mutató agyi régiókban megemelkedik (Baranzini et al. 2000; Simpson et al. 2000; Zang et al. 2000). A CCR5 gén esetében a legjobban tanulmányozott polimorfizmus a gén 32 bp-os deléciója, mely egy kereltolódás (frame shift)

mutációt hoz létre az 1. exonban. A deléción szerepe az SM kialakulásában kérdéses maradt a sok ellentmondó eredmény miatt, ezért csoportunk ennek vizsgálatát tűzte ki céljává nagy mintaszámú, eddigiekben nem vizsgált populáción.

2. Anyagok és módszerek

2.1 Biobank: vérmintagyűjtés és tárolás

A Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Neurológiai Klinikáján létrehoztunk egy biobankot. A vérmintákat négy mélyfagyasztó hűtőben $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A későbbiekben a biobank megkapta a helyi Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat és a Szegedi Tudományegyetem Szentgyörgyi Albert Klinikai Központ Regionális Humán Orvosbiológiai Kutatásetikai Bizottság engedélyeit is.

A minták gyűjtését, katalógizálását és tárolását a 2008. évi XXI. törvény alapján (amely a humán genetikai adatok védelméről, a humán genetikai vizsgálatok és kutatások, valamint a biobankok működésének szabályairól rendelkezik) kezdtük el.

A minták gyűjtését a klinikán megforduló és a mintaadásba írásban beleegyező páciensek (SM, PD, Huntington-kór, epilepszia, sztrók, ALS és migrén betegek) és az ő egészséges, nem vérrokon (férj-feleség) hozzátartozóik bevonásával kezdtük meg.

Később helyi, országos és nemzetközi együttműködések keretében további minták gyűjtését is megszerveztük.

2.2 Beteg és kontroll minták a három genetikai elemzésben

A vizsgálati protokolljainkat az Orvostudományi Tanács, Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta a PD, az ALS (470663/2013 / EKV (556/2013)) és az SM vizsgálatokban (No.35764 / 2012 / EKV (566 / PI12)), továbbá a protokollok összhangban vannak a Helsinkii nyilatkozattal.

A három vizsgálat kapcsán a beteg és a kontroll minták adatait három táblázatban tüntettem fel (1-3. táblázat). Mindhárom esetben, nemből és korban egyeztetett beteg és kontroll csoportokkal dolgoztunk.

Csoportok (N)	Férfi	Nő	Átlag életkor (SD)	Medián	Min	Max	Betegségkezdet (SD)
Parkinson betegek (105)	48	57	66.42 ± 9.236	68	34	84	58.81 ± 10.970
Kontrollok (131)	60	71	65.21 ± 8.072	63	53	87	-

1. táblázat. A szociodemográfiai adatok összegzése a Parkinson-kór és a kinurenin rendszer kapcsolatát tanulmányozó munkában. N: elemszám, SD: standard deviáció

Csoportok (N)	Férfi	Nő	Átlag életkor (SD)	Medián	Min	Max	Betegségkezdet (SD)	Betegségkezdet mediánja
ALS betegek (75)	28	47	60.3±11.0	61	33	86	58.9±11.8	60
Kontrollok (97)	36	61	60.1±11.3	62	33	84	-	-

2. táblázat. Az ALS vizsgálat szociodemográfiai adatainak összegzése. N: elemszám, SD: standard deviáció

Csoportok (N)	Férfi (%)	Nő (%)	Átlag életkor (SD)	EDSS pontszámok (SD)	Betegségkezdet (SD)
SM betegek (428)	106 (24.8)	322 (75.2)	43.74±11.97	2.54±1.92	32.17±9.80
Kontrollok (831)	204 (24.6)	626 (75.4)	44.34±13.20	-	-

3. táblázat. A szklerózis multiplex vizsgálat szociodemográfiai adatai. N: elemszám, SD: standard deviáció, EDSS: rokkantság mérőszáma (Extended Disability Status Scale)

2.3 DNS izolálás

A klinikán megjelenő PD-os, ALS és SM betegektől és egészséges, nem vérrokon hozzátartozóiktól írásos beleegyezésük után perifériás vérvétel során nyertünk mintákat a vizsgálatainkhoz. A genomi DNS izolálásához ezt a mintát használtuk. Az örökítő anyagot a vérszövetben található fehérvérsejtekből izoláltuk a Miller-féle metodika alapján (Miller, Dykes, and Polesky 1988). A kitisztított genomi DNS ezután -20 és -80 °C fokon került tárolásra további felhasználásig a Neurológiai Klinika biobankjában.

2.4 Genotipizálás

A PD-ban a KMO gén négy polimorfizmusának, valamint a SM esetében vizsgált CCR5 gén 32bp-os deléciójának a genotipizálását Taqman próbás polimeráz láncreakciós módszerrel végeztük el. Az allélok elkülönítésére használt fluoreszcensen jelölt Taqman próbákat és az alkalmazott primereket a Nucleotest Bio Kft (Budapest, Magyarország) szolgáltatta. A genotipizáláshoz specifikus master mixet alkalmaztunk. A kísérleti munkát a BioRad CFX96 C1000 valós idejű PCR gép alkalmazásával végeztük el, az adatok elemzését pedig a géphez való BioRad szoftver segítségével értékeltük ki.

Az ALS vizsgálat esetében az allélok elkülönítését restrikciós fragment hossz polimorfizmus vizsgálattal végeztük, melynél a PCR reakciót követő enzimatis emésztéshez alkalmazott enzimeket a Thermo Scientific Baltic (Vilnius, Litvánia) szállította.

2.5 Statisztika

Az adatok értékeléséhez az SPSS szoftver 20. verzióját használtuk. Chi-négyzet tesztet alkalmaztunk a genotípusok és az allélok megoszlásának a vizsgálatára, a *t*-próbát pedig az átlagok összevetésére két csoport között mindhárom analízis során.

A VDR és az ALS kockázat közötti kapcsolat vizsgálatára az esélyhányados (OR) és a 95% -os konfidencia intervallum (CI) került kiszámításra. Szignifikáns értéknek a $P < 0,05$ értéket tekintettük.

Az SM kísérletekben varianciaanalízist akkor alkalmaztunk, ha több mint két csoport átlagát kellett figyelembe venni, míg a kétirányú varianciaanalízist, ha több mint két csoportosítási kritérium volt.

A vizsgálatainkban szereplő beteg és a kontroll csoportok között a megfigyelt genotípus-frekvenciák összhangban voltak a Hardy-Weinberg egyensúllyal (HWE).

3 Eredmények

3.1 Parkinson-kór vizsgálat

Az általunk vizsgált négy KMO polimorfizmus (rs2050518, rs6661244, rs2275163, rs1053230) nem hozható összefüggésbe a PD-ral, illetve nem befolyásolták a betegség kialakulásának kezdetét sem.

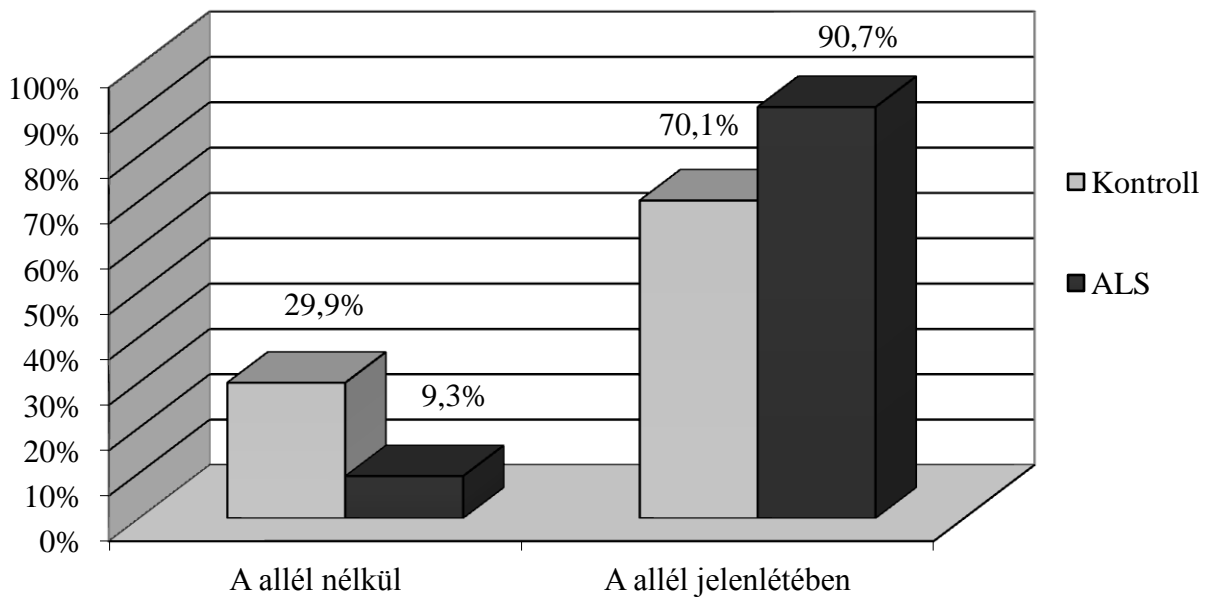
3.2 Amiotrófiás laterálszklerózis vizsgálat

A vizsgált négy SNP estében (BsmI, TaqI, FokI és ApaI) az ApaI esetében mutattunk ki szignifikáns összefüggést a kórképpel kapcsolatban. Az ApaI genotípus megoszlása a beteg és a kontroll csoport között ($\chi^2=11.09$; $P=0.004$). Az A allélt tartalmazó genotípusok frekvenciája (AA+AC) vs CC szignifikánsan magasabb volt az ALS betegek között, mint a kontroll csoportban ($\chi^2=10.807$, $df=1$, $P=0.001$, OR:4.143 és 95% CI=1.699–10.100) (4. táblázat, 1. ábra). Továbbá az A allél szignifikánsan mérhetően összefüggésbe hozható az ALS beteg csoporttal ($\chi^2=5.352$, $df=1$, $P=0.021$). A vizsgált polimorfizmusok egyike sem befolyásolta a betegségkezdetet és a nemi megoszlást a beteg csoportban.

4. táblázat. Az ALS vizsgálat eredményeinek összegzése.

rs7975232 (ApaI)	AA (%)	AC (%)	CC (%)	p	A (%)	C (%)	p
ALS beteg	25 (33.3%)	43 (57.3%)	7 (9.3%)	0.004	93 (62%)	57 (38%)	0.021
Kontroll	28 (28.9%)	40 (41.2%)	29 (29.9%)		96 (49.5%)	98 (50.5%)	
Betegségkezdet ≤60 év	10 (26.3%)	23 (60.5%)	5 (13.2%)	0.289			
Betegségkezdet >60 év	15 (41%)	20 (54%)	2 (5%)				
Férfi	12 (42.9%)	13 (46.4%)	3 (10.7%)	0.327			
Nő	13 (27.7%)	30 (63.8%)	4 (8.5%)				

Az ApaI A allél megoszlása az ALS és a kontroll csoportban



1. ábra. Az ApaI A allél megoszlása az ALS és a kontroll csoportban.

3.3 Szklerózis multiplex vizsgálat

A 428 SM betegből 352 volt vad típusú, 71 heterozigóta és 5 homozigóta $\Delta 32$ deléciót hordozott. Így a $\Delta 32$ allél frekvenciája 9.46% volt. A kontroll személyek közt 670 vad típust, 146 heterozigótát és 12 homozigóta deléciós genotípust azonosítottunk. A minor allél frekvencia a csoportban 10.26% volt. Nem találtunk szignifikáns eltérést az SM beteg és a kontroll csoport között sem a genotípus megoszlásban (OR=1.092, 95% CI=0.807-1.478, $p=0.568$ wt/wt vs wt/ $\Delta 32$, $\Delta 32/\Delta 32$) sem az allél frekvenciákban (OR=0.914, 95% CI=0.692-1.207, $p=0.525$), sem az allélmegoszlásban ($p=0.817$). Ezek után megvizsgáltuk nemi bontásban is a genotípust és az allélfrekvenciát, de szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. Majd a betegcsoportban megnéztük, hogy a genotípusmegoszlás és a betegekre jellemző SM kórfarmák között van-e összefüggés, de ebben a vizsgálatban sem kaptunk szignifikáns eltérést ($p=0.440$). Ezek után azt szerettük volna tisztázni, hogy a genotípus vagy az allélek befolyásolják-e a betegség súlyosságát jelző EDSS értéket vagy a betegségkezdetet. Nem befolyásolta az rs333 polimorfizmus az EDSS pontszámokat ($F=0.282$; $p=0.755$), vagy a betegségkezdetet ($F=0.416$; $p=0.660$). Sem a deléciós, sem a vad típusú allél nem befolyásolta

az EDSS értékét (wt allél: $F=0.032$, $p=0.858$; $\Delta 32$ allél: $F=0.564$; $p=0.453$), vagy a betegségkezdetet (wt allél: $F=0.010$, $p=0.921$; $\Delta 32$ allél: $F=0.821$, $p=0.365$).

Mivel az SM kialakulásában nem csak a genetikai hajlam, hanem a környezeti faktorok is kritikus hatással vannak ezért, az általunk gyűjtött alkoholfogyasztási és dohányzási szokásokkal és a testtömeg-index-szel (BMI) adatok is felhasználtuk a következő vizsgálatban. Azt vizsgáltuk, hogy ezek a környezeti faktorok és a vad valamint a deléciós allél együttesen fejt-e ki hatást az EDSS értékre vagy a betegségkezdetre. A vizsgálatunkban egyik kombináció sem bizonyult szignifikánsnak a beteg csoportban az EDSS-re és a betegségkezdetre vonatkozóan. Eredményeink azt mutatják, hogy nincs összefüggés a CCR5 $\Delta 32$ allél és az SM hajlam között a csongrád megyei és az észak-bácskai populációban.

Utolsó vizsgálatunkban pedig arra kerestük a választ, hogy az általunk vizsgált környezeti faktorok önmagukban befolyásolják-e a betegségkezdetet, vagy a betegség súlyosságát. Elsőként az alkohol hatását elemeztük az EDSS és a betegségkezdet vonatkozásában. Nem kaptunk szignifikáns eltérést az EDSS tekintetében, azonban az alkohalnál szignifikáns negatív hatást mértünk a betegségkezdet tekintetében ($P=0.019$). Tehát az SM hajlamot hordozó személyeknél az alkoholfogyasztás korábban előidézheti a betegség kialakulását (5. táblázat). Ezután a dohányzási szokások összevetése következett a súlyossággal és a betegségkezdettel. Ebben a vizsgálatban nem kaptunk szignifikáns értéket ($P=0.721$, $P=0.229$). Végezetül pedig a BMI adatokat elemeztük, hogy befolyásolják-e az EDSS vagy a betegségkezdet értékeket (6. táblázat). Ennél a vizsgálatnál szignifikáns eltérést kaptunk a betegségkezdetre vonatkozóan ($p=0.007$). A táblázatból kitűnik, hogy a BMI érték növekedésével (soványtól az elhízott kategória felé) kitolódik a betegségkezdet.

5. táblázat. Az alkohol hatása az EDSS értékre és betegségkezdetre.

Alkohol	EDSS (N)	p	Betegségkezdet (N)	p
nem	2.584±1.948 (391)	0.125	32.49±9.667 (391)	0.019
igen	2.069±1.604 (36)		28.50±10.676 (36)	

6. táblázat. A testtömeg-index hatása az EDSS értékre és betegségkezdetre.

BMI	EDSS (N)	p	Betegségkezdet (N)	p
sovány	2.460±1.936 (25)	0.686	28.48±7.875 (25)	0.007
normál testsúly	2.541±1.975 (233)		31.46±10.359 (233)	
túlsúlyos	2.669±2.004 (118)		32.97±8.899 (118)	
elhízott	2.280±1.464 (50)		35.70±8.945 (50)	

4 Összefoglalás

Jelen tézis tárgya három neurológiai kórkép genetikai vizsgálata. A munka tárgyát a PD, az ALS és a SM betegségekben végzett kísérleti eredményeink adják.

A munkafolyamat első lépéseként csoportunk egy biobankot alakított ki a szegedi Neurológiai Klinikán annak, minden tárgyi és engedélyi feltételét biztosítva, hogy ez által megkezdhesse a vérminták gyűjtését és tárolását.

Az idős populációt érintő krónikus, progresszív PD vizsgálatába ily módon 105 beteg és 131 kontroll személy került bevonásra. A kutatás célja a kórkép és a kinurenin rendszer kapcsolatának vizsgálata volt. Vizsgálatunkba négy KMO gén SNP polimorfizmust vontunk be az rs2050518-at, az rs6661244-et, az rs2275163-at és az rs1053230-at. A DNS kinyerését a fehérvérsejtekből a Miller-féle izolálással, míg a genotipizálást Taqman próbás polimeráz láncreakciós módszerrel végeztük el. Az adatok értékeléséhez Chi-négyzet tesztet, és t-próbát alkalmaztunk az SPSS szoftverben. Az így megfigyelt genotípus-frekvenciák összhangban voltak a Hardy-Weinberg egyensúllyal a PD és a kontroll csoportban. Eredményeink alapján az általunk vizsgált négy KMO polimorfizmus közül egyik sem hozható összefüggésbe a PD-ral, illetve nem befolyásolták a betegség kialakulásának kezdetét sem. Így a genetikai kapcsolat a PD és a kinurenin rendszer között még továbbra sem igazolt. A vizsgált SNP-k nagy valószínűséggel nincsenek hatással a KMO gén funkciójára, nem részei a regulátor fehérjék kötőhelyeinek, melyek relevánsak a PD tekintetében.

Az ALS egy olyan végzetes neurológiai kórkép, mely 40-50 éves kor körül kezdődik és az akaratlagosan mozgatható izmokat beidegző agyi és gerincvelői mozgató idegsejtek pusztulásával jár. Korábbi vizsgálatok ezen neuronok sebezhetőségének egyik feltételezett

okaként az alacsony kalcium kötő fehérjék szintjét mutatták ki. A kalcium kötő fehérjék szintjét pedig meg lehet emelni D-vitamin pótlással. Egy tíz évvel ezelőtti tanulmány felvetette, hogy a 25-hidroxi D-vitamin szintje alacsonyabb a betegek estében. Egy pár éves tanulmányban pedig a D-vitamin pótlása, képes volt kismértékű lassulást eredményezni a betegség progressziójában az ALSFRS-R score-alapján egy 9 hónapos vizsgálati periódusban. Nemrégiben számoltak be arról is, hogy a krónikus D-vitamin kezelés fokozza a VDR gén mRNS szintjét patkány agykérgi idegsejtekben glutamát által okozott neurotoxicitáskor. Csoportunk ezért célul tűzte ki, hogy a VDR gén polimorfizmusait tanulmányozza ALS-ben. Az általunk vizsgált VDR gén a D3 vitamin nukleáris hormon receptorát kódolja. Vizsgálatunkba 75 sporadikus ALS beteg és 97 egészséges kontroll személy vérmintáját sikerült összegyűjteni. A vizsgált SNP-k a következők voltak: az rs1544410 (BsmI), az rs7975232 (ApaI), az rs731236 (TaqI) és az rs2228570 (FokI). A genomi DNS izolálását a Miller-féle kisozási módszerrel végeztük. Az allélok elkülönítésére restriktív fragment hossz polimorfizmus technikát alkalmaztunk. A statisztikai vizsgálat során Chi-négyzet tesztet és t-próbát alkalmaztunk. A gén és a betegség kockázata közötti kapcsolat vizsgálatára az esélyhányados és a 95% -os konfidencia intervallum került kiszámításra. A kapott genotípus-frekvenciák a kontroll és a beteg csoportban összhangban voltak a Hardy-Weinberg egyensúllyal. Tanulmányunk során szignifikáns eltérést találtunk a genotípus megoszlásban a beteg és a kontroll csoport között az rs7975232 (ApaI) SNP esetében. Mely azt jelentette, hogy az A allélt tartalmazó genotípusok frekvenciája (AA+AC) vs CC szignifikánsan magasabb volt az ALS betegek között, mint a kontroll csoportban. Továbbá az A allél szignifikáns mértékben összefüggésbe hozható volt az ALS beteg csoporttal. A vizsgált két allél azonban nem volt hatással a betegségkezdetre vagy a nemi megoszlásra az ALS csoportban. Ez a munka az első genetikai bizonyíték, mely felveti, hogy a VDR gén szerepet játszhat a kórképben. Kamel és munkatársai korábban vizsgálták a VDR gén BsmI SNP-jét, de ez nem volt összefüggésben a kórképpel. Tanulmányunkban igazoltuk ezt a megfigyelést, mert nem találtunk szignifikáns kapcsolatot a BsmI SNP-vel. Nem találtunk továbbá szignifikáns különbséget a FokI vagy a TaqI SNP estében az ALS-kontroll csoport vizsgálatakor. Továbbá a vizsgált négy polimorfizmus egyike sem befolyásolta a betegségkezdetet.

Az SM a fiatal, felnőtt populációt érintő, autoimmun, központi idegrendszert károsító, gyulladáshoz vezető neurológiai kórkép. A kemokinek (kemoatraktáns citokinek) és a kemokin receptorok kulcsszerepet játszanak a gyulladáshoz vezető folyamatokban, mivel irányítják az immunsejtek vándorlását, így többek között a T-sejtek vér-agy gáton történő átjutását is, ami

feltételezhetően az első lépés a kórkép kialakulása felé. Vizsgálati adatok bizonyítják, hogy a CCR5 kemokin receptor upregulálódott a gyulladást mutató agyi régiókban, melyek humán betegektől származtak, illetve ugyan ezt tapasztalták a betegség állatmodelljében, a kísérletes autoimmun encefalomyelitiszben is. A CCR5 gén leginkább tanulmányozott mutációja egy $\Delta 32$ bp deléció, melynek vizsgálata ellentmondó eredményeket mutat SM kapcsán. Vizsgálatunkba a 428 relapszáló-remittáló vagy secunder progresszív kórformát mutató beteg mellett 831 kontrollt vontunk be. A DNS izolálás után (Miller-féle kisózás) Taqman próbás allél elkülönítéssel terveztük meg a vizsgálatot. A statisztikai elemzésnél Chi-négyzet tesztet alkalmaztunk a genotípusok és az allélok eloszlásának összehasonlítására, a t-próbát pedig két csoport átlagának összevetésére. A varianciaanalízist akkor alkalmaztuk, ha több mint két csoport átlagát kellett figyelembe venni, míg a kétirányú varianciaanalízist, ha több mint két csoportosítási kritérium volt. A megfigyelt genotípus-frekvenciák összhangban voltak a Hardy-Weinberg egyensúllyal mind az SM, mind a kontroll csoportban. Nem találtunk szignifikáns eltérést az SM beteg és a kontroll csoport között sem a genotípus megoszlásban sem az allél frekvenciákban. Nem befolyásolta az rs333 polimorfizmus az EDSS pontszámokat, vagy a betegségkezdetet. Sem a deléció, sem a vad típusú allél nem befolyásolta az EDSS értékét, vagy a betegségkezdetet. A vad és a deléció allél együttes vizsgálata a dohányzással, alkoholfogyasztással és a testtömeg-index-szel (BMI) kombinálva egyik kombinációban sem bizonyult szignifikánsnak a beteg csoportban az EDSS-re és a betegségkezdetre vonatkozóan. Eredményeink azt mutatják, hogy nincs összefüggés a CCR5 $\Delta 32$ allél és az SM hajlam között a csongrád megyei és az észak-bácskai populációban. Eredményeinket megerősíti egy nemrégiben megjelent metaanalízis is, mely más vizsgálatok adatait összegezte és új statisztikai vizsgálattal a legtöbb beteg és kontroll minta adatait elemezte újra. Az alkoholfogyasztási és dohányzási szokások valamint a testtömeg-index vizsgálata az SM esetében két esetben eredményezett szignifikáns eredményt. Az alkoholfogyasztás szignifikáns mértékben korábbi betegségkezdettel volt összefüggésbe hozható, míg a magas testtömeg-index protektív hatást mutatott a betegségkezdet tekintetében.

Publikációs lista

MTMT azonosító: 10028826

Kumulatív hatástényező (IF): 34,203

Összes hivatkozások száma: 67

Hirsch index: 5

Tézis tárgyához kapcsolódó publikációk:

- I. **Török N**, Török R, Klivényi P, Engelhardt J, Vécsei L.
Investigation of vitamin D receptor polymorphisms in amyotrophic lateral sclerosis.
Acta Neurol Scand. 133(4):302-8 (2016)
IF: 3,087
- II. **Török N**, Török R, Szolnoki Z, Somogyvári F, Klivényi P, Vécsei L.
The Genetic Link between Parkinson's Disease and the Kynurenine Pathway Is Still Missing.
Parkinsons Dis. 2015:474135 (2015)
IF: 1,722
- III. **Török N**, Molnár K, Füvesi J, Karácsony M, Zsiros V, Fejes-Szabó A, Fiatal S, Ádány R, Somogyvári F, Stojiljković O, Vécsei L, Bencsik K.
Chemokine receptor V Δ 32 deletion in multiple sclerosis patients in Csongrád County in Hungary and the North-Bácska region in Serbia.
Hum Immunol. 76(1):59-64 (2015)
IF: 2,127

A tézis tárgyához közvetlenül nem kapcsolódó publikációk:

- I. Török R, Zádori D, **Török N**, Csility É, Vécsei L, Klivényi P.
An assessment of the frequency of mutations in the GBA and VPS35 genes in Hungarian patients with sporadic Parkinson's disease.
Neurosci Lett. 610:135-8 (2016)
IF: 2,18
- II. Török R, **Török N**, Szalardy L, Plangar I, Szolnoki Z, Somogyvári F, Vécsei L, Klivényi P.
Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and Parkinson's disease in Hungarians.
Neurosci Lett. 551:70-4 (2013)
IF: 2,055
- III. Horváth A, Sántha P, Horváth V, **Török N**, Nagy I, Jancsó G, Vágvölgyi C, Somogyvári F.
Rapid genotyping of genetically modified laboratory animals from whole blood samples without DNA preparation.
Acta Biol Hung. 64(2):262-5 (2013)
IF: 0,504

- IV. Tripolszki K, Csányi B, Nagy D, Ratti A, Tiloca C, Silani V, Kereszty É, **Török N**, Vécsei L, Engelhardt JI, Klivényi P, Nagy N, Széll M.
Genetic analysis of the SOD1 and C9ORF72 genes in Hungarian patients with amyotrophic lateral sclerosis.
Neurobiol Aging. 53:195.e1-195.e5 (2017)
IF:4,454
- V. Tripolszki K, Török D, Goudenège D, Farkas K, Sulák A, **Török N**, Engelhardt JI, Klivényi P, Procaccio V, Nagy N, Széll M
High-throughput sequencing revealed a novel SETX mutation in a Hungarian patient with amyotrophic lateral sclerosis.
Brain Behav. 15;7(4):e00669 (2017)
IF:2,219
- VI. Márki S, Göblös A, Szlávicz E, **Török N**, Balicza P, Bereznai B, Takáts A, Engelhardt J, Klivényi P, Vécsei L, Molnár MJ, Nagy N, Széll M.
The rs13388259 Intergenic Polymorphism in the Genomic Context of the BCYRN1 Gene Is Associated with Parkinson's Disease in the Hungarian Population
Parkinsons Dis. 9351598 (2018)
IF:2,117

Review publikációk:

- I. **Török N**, Majláth Z, Fülöp F, Toldi J, Vécsei L.
Brain Aging and Disorders of the Central Nervous System: Kynurenines and Drug Metabolism.
Curr Drug Metab. 17(5):412-29 (2016)
IF: 2,659
- II. **Török N**, Majláth Z, Szalárdy L, Vécsei L.
Investigational α -synuclein aggregation inhibitors: hope for Parkinson's disease.
Expert Opin Investig Drugs. (11):1281-1294 (2016)
IF: 4.03
- III. Majláth Z, **Török N**, Toldi J, Vécsei L.
Promising therapeutic agents for the treatment of Parkinson's disease.
Expert Opin Biol Ther. 16(6):787-99 (2016)
IF: 3,684
- IV. Majláth Z, **Török N**, Toldi J, Vécsei L.
Memantine and Kynurenic Acid: Current Neuropharmacological Aspects.
Curr Neuropharmacol. 14(2):200-9 (2016)
IF: 3,365