

**FARMAKOGENETIKAILAG RELEVÁNS GÉNEK GENETIKAI
VARIABILITÁSA ÉS INTERETNIKAI KÜLÖNBSÉGEI ÁTLAG
MAGYAR ÉS ROMA POPULÁCIÓS MINTÁKBAN**

PhD értekezés tézisei

Sipeky Csilla, M.Sc.

PTE ÁOK Orvosi Genetikai Intézet

Témavezető: Prof. Dr. Melegh Béla



Pécs

2010

1. BEVEZETÉS

A farmakogenetikailag releváns gének genetikai variabilitása a változó gyógyszerválasz egyik legfontosabb oka. A gyógyszerhatásban tapasztalható etnikai különbségek jól ismertek, az optimális gyógyszerdózis változó az adott populáció eredetétől függően. Magyarország populációja nagyrészt magyarokból áll, de számos etnikai kisebbség szintén megtalálható itt, melyek közül a romák képviselik magukat a legnagyobb számban. Jól tudott, hogy roma közösségek a világ számos pontján élnek, de genetikai profiljuk kevésbé vizsgált. A romák eltérő eredetük miatt különböznek azoktól a populációktól, amelyek között élnek. Számos evidencia bizonyítja, hogy a romák Indiából származnak, így a kaukázusi eredetű populációktól eltérő genetikai struktúrával rendelkeznek. Történelmi tények alapján a magyarok az Urál-hegység keleti oldaláról származnak, így az ősi magyarok eredete szintén különbözik az európaiaktól. Ebből kifolyólag a magyarok és a romák szomszédos európai populációktól való eltérő eredete fontos tényező a megfelelő gyógyszeres kezelés megválasztásában.

A citokróm P450 rendszernek kulcsszerepe van a gyógyszer metabolizmusban. A citokróm P450 (CYP) 2C9 [MIM 601130] gén az egyik legfontosabb humán gyógyszer metabolizáló enzimet határozza meg, genetikai polimorfizmusai hozzájárulnak számos gyógyszer metabolizmusának egyéni és populációk közötti változásához. A CYP2C9*1 a vad típusú allél, és emellett két fontos egy nukleotidos polimorfizmus van, a CYP2C9*2 (C430T, exon 3), mely a funkcionálisan jelentős Arg144Cys szubsztitúciót határozza meg, és a CYP2C9*3 (A1075C, exon 7), mely pedig egy másik fontos szubsztitúcióért, az Ile359Leu, felelős. Mindkét variáns csökkent aktivitású enzimet kódol. A CYP2C9 polimorfizmusok a warfarin dózis fontos meghatározói. A human citokróm P450 CYP2C9 gén allél variánsainak frekvenciái az egyes etnikai csoportok között eltérőek.

A VKORC1 [MIM 608547] a K-vitamin ciklus kulcs enzime és a kumarinok molekuláris célpontja. A VKORC1 gén genetikai variánsai nagymértékben befolyásolhatják a kumarinokra adott egyéni választ. A VKORC1 gén fő természetes haplotípusait a G-1639A, G9041A és a C6009T polimorfizmusok kombinációi határozzák meg. Ezzel a módszerrel elkülöníthető a VKORC1*1 ősi haplotípus, valamint három további fő haplotípus, a VKORC1*2, *3 és a *4. Rieder és munkatársai a fent említett haplotípusokat alacsony-dózisú (A) és magas-dózisú (B) haplotípus csoportokba sorolták. Az átlagos fenntartó warfarin dózis szignifikánsan különbözik a haplotípus csoport kombinációk között. Az A és B VKORC1 haplotípus csoportok a dózis variancia átlagosan 25%-át határozzák meg, míg a VKORC1 genotípus az egyéni kumarin dózis 25-40%-áért felelős.

A P-glikoprotein (P-gp) energiafüggő gyógyszer transzport pumpaként működik és a ráksejtek gyógyszerekkel szembeni rezisztenciájáért felelős. A P-gp fontos szerepet játszik számos gyógyszer biológiai elérhetőségében, beleértve a warfarint is. A P-gp a human multidrug rezisztencia 1 (MDR1/ABCB1) gén [MIM 171050] terméke. Az MDR1 polimorfizmusai közül számos kutató fókuszált a C3435T (rs1045642, Ile1145Ile, exon 26) variánsra. Későbbi tanulmányok igazolták, hogy a C3435T SNP mellett számos más polimorfizmusnak is komoly jelentősége van, mint például a C1236T (rs1128503, Gly412Gly, exon 12) és a G2677A/T (rs2032582, Ala893Thr/Ser, exon 21). A C3435T, C1236T, G2677A/T polimorfizmusok eloszlását szignifikánsan befolyásolja a különböző populációk eredete. A három fontos exonikus polimorfizmus felhasználásával felállítottuk a roma és a magyar populációk haplotípus mintázatát. Összegzésképpen elmondhatjuk, hogy az ABC transzporter különböző eredetű populációk közötti genetikai variabilitásának ismerete egy releváns farmakogenetikai faktor, melyet a változó gyógyszer válasz megértésében hasznosíthatunk.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Annak ellenére, hogy a CYP2C9, VKORC1 és az MDR1 gének polimorfizmus vizsgálata számos populációban jól dokumentált, a magyar és roma populációban hiányoznak az erre vonatkozó vizsgálatok. Ennek értelmében a munka fő célkitűzései a következők:

- A klinikailag fontos gyógyszer metabolizáló enzimet kódoló CYP2C9 gén allél és genotípus frekvenciájának meghatározása egészséges magyar és roma populációkban.
- Karakterizálni a jelentős gyógyszer célpontot meghatározó VKORC1 gén allél és genotípus frekvenciáját egészséges magyar és roma populációs mintákban.
- Meghatározni és leírni a gyógyszertranszportert kódoló MDR1 gén legfontosabb SNP-jeinek allél és genotípus frekvenciáját egészséges magyar és roma populációkban.
- Megalkotni a VKORC1 és az MDR1 gének haplotípus mintázatát egészséges magyar és roma populációkban.
- A CYP2C9, VKORC1 és MDR1 gének allél és haplotípus frekvenciájának összehasonlítása egészséges magyar és roma populációkban az irodalomban elérhető más, elsősorban kaukázusi és indiai, populációkkal.
- Hasznos információval szolgálni a magyar és a roma populációk eredetére vonatkozóan.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A vizsgálatunk során átlag roma és magyar emberek DNS mintáit használtuk. A személyes interjúk során a magyarok nem sorolták magukat egyik kisebbségi csoporthoz sem, míg a romák egyértelműen nyilatkoztak a roma populációhoz való tartozásukról. A CYP2C9 gén vizsgálata során 535 magyar és 465 roma mintát használtunk, míg a VKORC1 tanulmányban 510 magyar és 451 roma DNS-t vizsgáltunk. Az MDR1 gén analízise során 503 magyar és 465 roma mintát használtunk.

A genomikus DNS-t EDTA-val alvadástólított vérminta perifériás leukocitáiból izoláltuk. A vizsgált gének polimorfizmusainak meghatározása PCR-RFLP módszerrel történt.

A CYP2C9*2 (Arg144Cys) polimorfizmust a következő forward és reverse primerek segítségével detektáltuk 5'-GGGAGGATGGAAAACAGAGACTT-3' és 5'-GGTCAGTGATATGGAGTAG GGTCA-3'. A PCR terméket 1U Cfr13I (AsuI) restrikciós enzimmel emésztettük. A CYP2C9*3 (Ile359Leu) polimorfizmus genotipizálása a Sullivan-Klose és munkatársai által leírt módszer segítségével történt.

A VKORC1 c.-1639 G/A polimorfizmus (rs9923231) meghatározására a következő primereket használtuk: 5'-ATCCCTCTGGGAAGTCAAGC-3', és 5'-CACCTTCAACCTCTCCATCC-3'. A 9041G/A (rs7294) SNP tesztelése az 5'-TTTAGAGACCCTTCCCAGCA-3' és az 5'-AGCTCCAGAGAAGGCAACAC-3' oligonukleotidok segítségével történt. A C6009T (rs17708472) target szekvenciájának felsokszorozására az 5'-AGGCGTTAGCATAATGACGG-3' és az 5'-GGGTGGAACCAGGTTAGGAC-3' primereket alkalmaztuk. A VKORC1 3673 G/A SNP amplikonját a BcnI endonukleáz segítségével hasítottuk. Az SsiI restrikciós endonukleáz használtuk a VKORC1 G9041A variáns PCR termékének emésztésére, és az FspBI enzimet a C6009T polimorfizmuséhoz.

Az MDR1 C1236T (rs1128503) polimorfizmus meghatározásához a következő primereket használtuk: 5'-AGCTATTCGAAGAGTGGGCA-3', és 5'-GTCTAGCTCGCATGGGTCAT-3'. A G2677T/A (Ala893Thr/Ser) (rs2032582) SNP detektálása két pár primer segítségével történt: 5'-GGTTCAGGCTTGCTGT AAT-3' (1) forward, 5'-TTTAGTTTACTCACCTTCCCTG-3' (1) reverse, és 5'-CAGCATTCTGAAGTCATGGAA-3' (2) forward, 5'-GTCCAAGAAGTGGCTTT GCT-3' (2) reverse. A C3435T (rs1045642) target szekvenciájának amplifikációjához az 5'-GATGTCTTGTGGGAGAGGGA-3' és az 5'-GCATGTATGTTGGCCTCCTT-3' primereket használtuk. A C1236T, G2677T/A (1), G2677T/A (2) és a C3435T SNP-k target szekvenciájának felsokszorozása után 10 µl PCR terméket emésztettünk a BsuRI, HpyCH4V, RsaI és MboI restrikciós enzimekkel. A vizsgált minták PCR termékeinek hozzávetőleg 10%-át random módon szekvenálásnak vetettük alá, hogy ellenőrizzük a PCR-RFLP módszerrel kapott eredményeket. Ehhez ABI PRISM 3100 AVANT Genetic Analyser-t használtunk.

Statisztikai elemzéseink elkészítéséhez chi-négyzet próbát használtunk (nem parametrikus teszt diszkrét változók kezeléséhez), hogy összehasonlítsuk a két vizsgált populációban kapott eredményeinket. A $p < 0.05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A statisztikai elemzéseket Windows Excel és SPSS 11.5 szoftverek segítségével (SPSS Inc., Chicago, IL) készítettük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. CYP2C9 gén

A CYP2C9*1, *2, *3 allélok és a *1/*1, *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3, *3/*3 genotípusok eloszlását a magyar és a roma populációkban az 1. táblázat mutatja. A vad típusú allél mellett a CYP2C9*2 variáns allél volt a leggyakoribb allél a magyar populációban, míg a roma populációban a CYP2C9*3 volt jelen nagyobb arányban. Ezen felül szignifikáns különbséget találtunk (1.8-szoros növekedés) a CYP2C9*3 prevalenciájában a roma populációban a magyar mintákhoz képest, melynek terápiás konzekvenciái vannak ($p < 0.001$). Továbbá, a *1/*3 genotípus frekvenciája jelentősen nagyobb volt a roma csoportban, mint a magyarokban (0.219 vs. 0.139, $p < 0.001$). Érdekes módon, a *1/*1 genotípus a magyar populációban sokkal gyakoribb volt, mint a roma mintákban ($p < 0.005$). A CYP2C9 gén polimorfizmusainak eloszlását tekintve megállapíthatjuk, hogy a vad típusú allélra homozigóta egyének előfordulása (genotípusa alapján extenzív metabolizáló, EM) magasabb volt a magyarokban ($p < 0.005$), míg a két variáns allélt hordozók (genotípusa alapján gyengén metabolizáló, PM) nagyobb arányban fordulnak elő a roma populációban ($p < 0.03$).

4.2. VKORC1 gén

A VKORC1 polimorfizmusok allél és genotípus frekvenciáit a roma és a magyar mintákban a 2. táblázat foglalja össze.

A G-1639A polimorfizmus esetében szignifikáns különbségeket találtunk a homozigóta GG és AA genotípusok prevalenciájában, valamint a GA+AA hordozók és a minor allél frekvenciájában a roma és a magyar minták között ($p < 0.001$). A G9041A SNP esetében ugyanilyen különbségeket figyelhetünk meg, de míg a G-1639A polimorfizmus esetén a ritka allél frekvenciája a romákban alacsonyabb, addig a G9041A SNP esetén a ritka allél frekvenciája a magasabb romákban. Ezzel ellentétben a C6009T SNP genotípus és allél eloszlása nem különbözik a romák és a magyarok között (2. táblázat).

A magyar populációs mintákban (3. táblázat) a VKORC1 haplotípusok a következő sorrendben találhatóak *2 (39%), *3 (37%), *4 (21%) és *1 (3%), míg a roma populációs mintákban *3 (46%), *2 (30%), *4 (19%), és *1 (5%). A statisztikai elemzés szignifikáns különbséget igazolt a VKORC1*2 és a VKORC1*3 haplotípusok prevalenciájában a roma és a magyar populációk között ($p < 0.005$).

Meghatároztuk az egyes személyek VKORC1 genotípusát a vizsgált populációkban (4. táblázat). Az ősi VKORC1 *1/*1 genotípus megtalálható mind a roma, mind a magyar mintákban. Ez az ősi allél más, variáns allélokkal együtt is megtalálható volt (*1/*2, *1/*3, *1/*4), de a *1/*4 hiányzik a magyar populációban. Összehasonlítva a romákat a magyarokkal szignifikáns különbséget találtunk a *1/*4, *2/*2, *2/*4 és a *3/*3 genotípusok prevalenciájában ($p < 0.04$).

4.3. MDR1 gén

A vizsgált MDR1 polimorfizmusok allél és genotípus frekvenciáit a roma és a magyar populációban az 5. táblázat mutatja be.

Az MDR1 C1236T polimorfizmust illetően szignifikáns különbséget találtunk a CC (20.7 vs. 33.2%) és a TT (30.8 vs. 21.9%) genotípusok, a CT+TT (79.4 vs. 66.8%) hordozók és a T allél frekvencia prevalenciájában a roma és a magyar csoport között ($p < 0.002$). A 1236C (0.557) volt a leggyakrabban identifikált allél a magyar populációban, míg a romákban a 1236T (0.551) allél. Ezzel szemben nincs szignifikáns különbség a G2677T/A polimorfizmus

vonatkozásában a roma és a magyar populációk között. Mindemellett a két variáns allélt (TA) hordozó egyének kétszer gyakrabban fordulnak elő a roma populációban, mint a magyarokban (1.3 vs. 0.6%). A 2677A allél frekvenciája majdnem kétszer magasabb volt a roma, mint a magyar csoportban, de a különbség nem érte el a statisztikai szignifikancia határát (0.020 vs. 0.011, $p=0.078$). Az MDR1 gén 26. exonjában (C3435T) a T allél magasabb frekvenciája volt detektálható a magyarokban a romákhoz képest (0.527 vs. 0.482, $p<0.05$).

Az MDR1 gén haplotípus frekvenciáit összehasonlítottuk a két vizsgált populáció között (6. táblázat).

Az MDR1 gén 12 lehetséges haplotípussal rendelkezik, és ezek frekvenciája statisztikailag szignifikánsan különbözött a roma és a magyar populációk között. A roma mintákban mind a 12 lehetséges haplotípust azonosítottuk, míg a magyarokban csak 11-t. A 1236T/2677A/3435C haplotípus nem volt detektálható a magyar mintákban. A két leggyakoribb haplotípus mind a roma mind a magyar populációban a TTT (36.0 vs. 37.5%) és a CGC (35.3 vs. 41.4%) voltak. A TTT, CGC, TGC, TTC, CGT haplotípusok nagy arányban voltak megtalálhatók a roma populációban (6.02-36.0%), míg a magyarokban a TTT, CGC és a CGT voltak a leggyakrabban identifikált haplotípusok. A statisztikai elemzés szignifikáns különbséget mutatott a CGC, TGC, TTC, CGT és a CTT haplotípusok prevalenciájában az átlag roma és magyar populációk között ($p<0.009$). A 1236T/2677G/3435C haplotípus előfordulása négyszer magasabb volt a romákban, mint a magyarokban. Mindemellett a 1236T/2677T/3435C haplotípus jelenléte háromszor magasabb volt a romákban, mint a magyarokban. Ezzel szemben a 1236C/2677T/3435T haplotípus frekvenciája kétszer magasabb volt a magyarokban, mint a romákban.

A vizsgált populációk MDR1 haplotípus mintázatát összehasonlítottuk más populációkéval (6. táblázat). A kaukázusi csoportra vonatkozóan két irodalmi forrást idézünk, mert a kettő nagyban különbözött egymástól. Ha a roma populációt a cseh populációhoz és a kaukázusihoz hasonlítottuk szignifikáns különbséget találtunk a TTT, CGC, TGC, TTC, CGT, TGT, CTT, TAT, CAC haplotípusok előfordulásában ($p<0.05$) (6. táblázat). Mindemellett a roma populáció nagymértékben hasonlított az indiai populációhoz, és különbséget csak a TTT, CGC, TTC és a CTT haplotípusokban találtunk ($p<0.02$). A magyar populáció haplotípus struktúrája szintén különbözött a kaukázusi és a cseh populációkétól. Szignifikáns különbséget találtunk a TTT, CGC, CGT, TGT, CTT, TAT és a CAC haplotípusokban ($p<0.03$). Egy korábbi magyar akut lymphoblastikus leukémiás betegcsoportban elvégzett tanulmányban, összhangban a mi eredményeinkkel, a domináló haplotípusok a TTT és a CGC voltak.

1. táblázat: A CYP2C9 gén allél és genotípus frekvenciái és prediktált fenotípusa átlag magyar és roma populációs mintákban; eredményeink összehasonlítása az indiai és kaukázusi populációk adataival.

CYP2C9	Jelen tanulmány		Idézett adatok	
	Magyar n=535	Roma n=465	Indiai (Adithan 2003) n=135	Olasz Kaukázusi (Scordo 2004) n=360
Allél frekvencia				
*1	0.787	0.727 ^{a,b}	0.907	0.778
*2	0.125	0.118 ^b	0.026	0.125
*3	0.088	0.155 ^{a,b,c}	0.067	0.097
Genotípus frekvencia				
*1/*1	0.620	0.533 ^{a,b,c}	0.823	0.619
*1/*2	0.195	0.168 ^b	0.044	0.172
*1/*3	0.139	0.219 ^{a,b,c}	0.127	0.145
*2/*2	0.021	0.011	ND	0.028
*2/*3	0.015	0.047 ^{a,b}	0.007	0.022
*3/*3	0.011	0.022	ND	0.014
Fenotípus frekvencia				
wt/wt (EM)	0.620	0.533 ^{a,b,c}	0.823	0.619
wt/mut (IM)	0.334	0.387 ^{b,c}	0.171	0.317
mut/mut (PM)	0.047	0.080 ^{a,b}	0.007	0.064

^ap<0.03, ha a roma populációt a magyarral hasonlítjuk össze

^bp<0.04, ha a roma populációt az indiaival hasonlítjuk össze

^cp<0.04, ha a roma populációt a kaukázusival hasonlítjuk össze

Nem találtunk szignifikáns különbséget a magyar és a kaukázusi populáció között a CYP2C9 gén vonatkozásában.

n, a vizsgált populáció nagysága

2. táblázat: VKORC1 haplotípus meghatározó SNP-k a roma és a magyar populációkban; eredményeinket összehasonlítottuk az indiai és a kaukázusi populációk azonos adataival.

VKORC1 polimorfizmusok	Genotípus	Jelen tanulmány		Idézett adatok	
		Roma n=451 (%)	Magyar n=510 (%)	Indiai (Lee 2006) n=43 (%)	Kaukázusi (NCBI) n=22/n=23/n=21 (%)
G-1639A	GG	214 (47.5)	180 (35.3) ^a	36 (83.8) ^b	7 (31.8)
	GA	206 (45.7)	262 (51.4)	4 (9.50) ^b	11 (50.0)
	AA	31 (6.87)	68 (13.3) ^a	3 (6.80)	4 (18.2) ^c
	GA+AA	237 (52.6)	330 (64.7) ^a	7 (16.3) ^b	15 (68.2)
	A allél frekvencia	0.297 (29.7)	0.390 (39.0) ^a	0.116 (11.6) ^b	0.432 (43.2)
G9041A	GG	132 (29.3)	206 (40.4) ^a	4 (8.10) ^b	10 (43.5)
	GA	220 (48.8)	233 (45.7)	8 (18.9) ^b	11 (47.8)
	AA	99 (22.0)	71 (13.9) ^a	31 (73.0) ^b	2 (8.7)
	GA+AA	319 (70.8)	304 (59.6) ^a	39 (91.9) ^b	13 (56.5)
	A allél frekvencia	0.463 (46.3)	0.368 (36.8) ^a	0.814 (81.4) ^b	0.326 (32.6)
C6009T	CC	293 (65.0)	319 (62.5)	38 (87.8) ^b	13 (61.9)
	CT	144 (31.9)	170 (33.3)	5 (12.2) ^b	7 (33.3)
	TT	14 (3.10)	21 (4.12)	0 (0.00)	1 (4.80)
	CT+TT	158 (35.0)	191 (37.4)	5 (12.2) ^b	8 (38.1)
	T allél frekvencia	0.191 (19.1)	0.208 (20.8)	0.058 (5.8) ^b	0.214 (21.4)

www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=9923231

www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=7294

www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=17708472

^aMagyar populációt a romával összehasonlítva; $p < 0.001$

^bIndiai populációt a romával összehasonlítva; $p < 0.01$

^cKaukázusi populációt a romával összehasonlítva; $p < 0.05$

3. táblázat: A VKORC1 gén haplotípus eloszlása különböző eredetű populációkban.

Haplotípus kód	Magyar (n=510)	Roma (n=451)	Európai (Geisen 2005) GER (n=200)	Olasz (Spreafico 2008) (n=220)	Izraeli (Loebstein 2007) (n=99)†	Kínai (Perlegen) CHN (n=24)	Afrikai (Perlegen) AFR (n=23)	Különböző eredetű amerikaiak (Rieder 2005)			
								Európai (n=186)†	Európai (n=119)†	Azsiai (n=120)†	Afrikai (n=96)†
VKORC1*1	0.03 (35)	0.05 (44)	<0.001	0.03 (15)	0.01	<0.001	0.31 (14)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
VKORC1*2	0.39 (400) ^a	0.30 (269)	0.42 (168)	0.43 (189)	0.41	0.95 (46)	0.14 (6)	0.36 (131)	0.38 (89)	0.89 (213)	0.13 (26)
VKORC1*3	0.37 (373) ^a	0.46 (417)	0.38 (152)	0.36 (158)	0.37	0.04 (2)	0.43 (20)	0.43 (160)	0.35 (83)	0.10 (25)	0.43 (82)
VKORC1*4	0.21 (212)	0.19 (172)	0.20 (80)	0.18 (78)	0.18	<0.01	0.12 (6)	0.21 (77)	0.24 (56)	<0.01 (2)	0.06 (11)

Kínai (www.perlegen.com)

Afrikai (www.perlegen.com)

^aMagyar populációt a romával összehasonlítva; p<0.005

†Más haplotípusokat is találtak alacsony arányban.

Ha a haplotípus <0.001, akkor ez nem volt megtalálható, de a jelenléte nem zárható ki (Geisen definíciója, 2005).

4. táblázat: VKORC1 gén genotípus eloszlása és a prediktált warfarin dózis a roma, magyar és az olasz kaukázusi populációkban.

VKORC1 genotípus	Prediktált dózis	Genotípus frekvencia (%)		
		Roma n=451 (%) (egészséges)	Magyar n=510 (%) (egészséges)	Olasz (Spreeficio 2008) n=220 (%) (antikoagulált)
*1/*1	Ősi [†]	1 (0.22)	1 (0.20)	0 (0.00)
*1/*2	Ősi/Alacsony [†]	14 (3.10)	18 (3.53)	3 (1.4)
*1/*3	Ősi/Magas [†]	18 (3.99)	15 (2.94)	8 (3.6)
*1/*4	Ősi/Magas [†]	10 (2.22)	0 (0.00) ^a	4 (1.8) ^c
*2/*2	Alacsony	31 (6.87)	69 (13.6) ^a	48 (21.8) ^{b,c}
*2/*3	Közepes	130 (28.8)	146 (28.6)	60 (27.3)
*2/*4	Közepes	63 (14.0)	98 (19.2) ^a	30 (13.6)
*3/*3	Magas	99 (22.0)	70 (13.8) ^a	29 (13.2) ^b
*3/*4	Magas	71 (15.7)	72 (14.1)	32 (14.5)
*4/*4	Magas	14 (3.10)	21 (4.12)	6 (2.7)

[†]Ezen genotípusok funkcionális jelentősége még nem ismert.

^aHa a magyar populációt a romával hasonlítjuk össze; p<0.04

^bHa az olasz populációt a romával hasonlítjuk össze; p<0.01

^cHa az olasz populációt a magyarral hasonlítjuk össze; p<0.01

5. táblázat: Az MDR1 gén allél és genotípus frekvenciái az egészséges magyar és roma populációs mintákban; adatainkat összehasonlítottuk az indiai és a kaukázusi populációk adataival.

MDR1 SNP	Genotípus és allél	Jelen tanulmány		Idézett adatok	
		Roma n=465 (%)	Magyar n=503 (%)	Indiai (Lakhan 2009) n=96,n=101,n=97 (%)	Német Kaukázusi (Cascorbi 2001) n=461 (%)
C1236T	CC	96 (20.7) ^{a,c}	167 (33.2)	15 (15.6)	158 (34.4)
	CT	226 (48.6)	226 (44.9)	45 (46.9)	227 (49.2)
	TT	143 (30.8) ^{a,c}	110 (21.9) ^d	36 (37.5)	76 (16.4)
	Hordozó	369 (79.4) ^{a,c}	336 (66.8)	81 (84.4)	303 (65.6)
	T allél frekvencia	0.551 ^{a,c}	0.443	0.609	0.410
G2677T/ A	GG	125 (26.9) ^b	154 (30.6)	14 (13.9)	143 (30.9)
	GT	228 (49.0)	235 (46.7)	48 (47.5)	227 (49.2)
	TT	94 (20.2)	103 (20.5)	26 (25.7)	74 (16.1)
	GA	11 (2.37)	8 (1.59)	4 (4.00)	9 (2.00)
	TA	6 (1.30) ^b	3 (0.60)	9 (8.90)	8 (1.80)
	AA	1 (0.22)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	Hordozó	340 (73.1) ^b	349 (69.4)	87 (86.1)	318 (69.1)
	T allél frekvencia	0.454 ^b	0.441	0.540	0.416
A allél frekvencia	0.020 ^b	0.011	0.064	0.019	
C3435T	CC	124 (26.7) ^c	112 (22.3)	24 (24.7)	96 (20.8)
	CT	234 (50.3)	252 (50.1)	40 (41.2)	233 (50.5)
	TT	107 (23.0) ^b	139 (27.6)	33 (34.0)	132 (28.6)
	Hordozó	341 (73.3) ^c	391 (77.7)	73 (75.2)	365 (79.1)
	T allél frekvencia	0.482 ^{a,c}	0.527	0.546	0.539

^ap<0.04, ha a roma populációt a magyarral hasonlítjuk össze

^bp<0.02, ha a roma populációt az indiaival hasonlítjuk össze

^cp<0.03, ha a roma populációt a kaukázusival hasonlítjuk össze

^dp<0.03, ha a magyar populációt a kaukázusival hasonlítjuk össze

6. táblázat: Az MDR1 gén C1236T, G2677T/A és C3435T polimorfizmusából számolt haplotípus frekvencia az átlag roma és magyar populációkban.

Haplotípusok száma	Haplotípus	Haplotípus frekvencia n (%)				
		Roma n=465	Magyar n=503	Cseh (Bandur 2008) n=533	Kaukázusi (Kroetz 2003) n=247	Indiai (Dél) (epilepszia) (Vahab 2009) n=129
1	TTT	335 (36.0) ^{b,c,d}	377 (37.5) ^f	419 (39.3)	101 (41.0)	33 (25.2)
2	CGC	328 (35.3) ^{a,c,d}	416 (41.4) ^{e,f}	398 (37.3)	91 (37.0)	18 (13.6)
3	TGC	68 (7.31) ^{a,b,c}	17 (1.68)	30 (2.80)	3 (1.00)	14 (11.0)
4	TTC	62 (6.67) ^{a,b,c,d}	21 (2.08)	13 (1.20)	6 (2.50)	8 (6.20)
5	CGT	56 (6.02) ^{a,b}	91 (9.04) ^f	103 (9.70)	29 (12.0)	13 (9.90)
6	TGT	37 (3.98) ^{b,c}	27 (2.68) ^f	22 (2.10)	1 (0.50)	9 (7.10)
7	CTC	15 (1.61)	17 (1.68)	27 (2.50)	4 (1.50)	5 (4.20)
8	CTT	10 (1.08) ^{a,b,d}	29 (2.88) ^f	32 (3.00)	3 (1.00)	29 (22.8)
9	TAT	7 (0.75) ^{b,c}	4 (0.39) ^e	ND	ND	ND
10	CAC	6 (0.65) ^b	4 (0.39) ^e	17 (1.60)	6 (2.50)	ND
11	CAT	3 (0.32)	3 (0.29)	5 (0.50)	3 (1.00)	ND
12	TAC	3 (0.32)	ND	ND	ND	ND

ND, nem detektált

^ap<0.009, ha a roma populációt a magyarral hasonlítjuk össze

^bp<0.04, ha a roma populációt a cseh populációval hasonlítjuk össze

^cp<0.05, ha a roma populációt a kaukázusival hasonlítjuk össze

^dp<0.02, ha a roma populációt az indiaival hasonlítjuk össze

^ep<0.03, ha a magyar populációt a cseh populációval hasonlítjuk össze

^fp<0.02, ha a magyar populációt a kaukázusival hasonlítjuk össze

5. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a CYP2C9*3 allél szignifikánsan nagyobb arányban fordul elő a roma populációban, mint a magyar mintákban. A *3 polimorfizmusra homozigóta mutáns egyének úgy a magyar, mint a roma populációban nagyobb arányban található meg a publikált irodalmi adatokhoz viszonyítva. Az extenzív metabolizálók aránya magasabb a magyarok körében, míg a gyengén metabolizálók gyakrabban fordulnak elő a roma populációban.

2. Szignifikáns különbséget találtunk a VKORC1 G-1639A polimorfizmus, és a VKORC1*2 és VKORC1*3 haplotípusok esetében a roma és a magyar minták között. Ezzel szemben nincs jelentős különbség a VKORC1 SNP-k és a VKORC1*2, *3, *4 haplotípusok eloszlásában a magyar és a kaukázusi populációk között. A -1639AA variáns kivételével szignifikáns különbséget találtunk az összes VKORC1 polimorfizmus tekintetében a roma és az indiai populáció között, és a VKORC1*1 és VKORC1*2 haplotípus frekvenciákat illetően a roma és az európai populáció között.

3. A roma és a magyar minták között szignifikáns különbséget mutattunk ki az MDR1 C1236T polimorfizmus esetén, míg nem volt különbség a G2677T/A SNP-t illetően, valamint a 3435T allél frekvenciája nagyobb volt a magyarokban. Különbséget találtunk a CGC, TGC, TTC, CGT és a CTT haplotípusok prevalenciájában az átlag magyar és roma populáció között, és a CGC, TGC, TTC, CGT, TGT, CTT, TAT, CAC haplotípusok tekintetében a roma és a kaukázusi populáció között. Ha a roma mintákat az indiaival hasonlítottuk össze, csak a TTT, CGC, TTC és a CTT haplotípusokban találtunk különbséget. A magyar populáció haplotípus struktúrája a TTT, CGC, CGT, TGT, CTT, TAT és a CAC haplotípusokban különbözik a kaukázusiakétól.

4. Kimutattuk, hogy a CYP2C9, VKORC1 és a MDR1 gének genetikai profilja az átlag magyar populációban relatívan hasonlít a kaukázusi populáció profiljára. Ezzel ellentétben a roma populáció különbözik a magyartól, a legtöbb kaukázusitól és az indiaitól a vizsgált farmakogenetikailag fontos gének incidenciájában.

6. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Maasz A, Takacs I, Beres J, Fodor L, Szabo M, Melegh B. Genetic variability and haplotype profile of MDR1 (ABCB1) gene in Roma and Hungarian population samples with a review of the literature. Drug Metabolism and Pharmacokinetics (2010). Accepted. **IF: 2.544**

Sipeky C, Keri Gy, Kiss A, Kopper L, Matolcsy A, Timar J, Molnar MJ, Nagy L, Nemeth Gy, Petak I, Rasko I, Falus A, Melegh B. Population Pharmacogenomics and Personalized Medicine Research in Hungary: Achievements and Lessons Learned. Current Pharmacogenomics & Personalized Medicine 2010 Sep; 8(3):194-201. Expert Review.

Sipeky C, Lakner L, Szabo M, Takacs I, Tamasi V, Polgar N, Falus A, Melegh B. Interethnic differences of CYP2C9 alleles in healthy Hungarian and Roma population samples: relationship to worldwide allelic frequencies. Blood Cells Mol Dis. 2009 Nov-Dec;43(3):239-42. **IF: 2.901**

Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Polgar N, Lakner L, Szabo M, Takacs I, Melegh B. Vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) haplotypes in average Hungarian and in Roma population samples. Pharmacogenomics. 2009 Jun;10(6):1025-32. **IF: 3.893**

Sipeky C, Melegh B. Haplogroup analysis of vitamin-K epoxide reductase (VKORC1) gene: novel element in the optimization of anticoagulant therapy. Orv Hetil. 2008 Sep 28;149(39):1839-44. Hungarian.

Csatlakozó közlemények

Polgár N, Járomi L, Csöngői V, Maász A, **Sipeky C**, Sáfrány E, Szabó M, Melegh B. Triglyceride level modifying functional variants of GALTN2 and MLXIPL in patients with ischaemic stroke. Eur J Neurol. 2010 Aug;17(8):1033-9. **IF: 2.510**

Csöngői V, Járomi L, Sáfrány E, **Sipeky C**, Magyarai L, Faragó B, Bene J, Polgár N, Lakner L, Sarlós P, Varga M, Melegh B. Interaction of the major inflammatory bowel disease susceptibility alleles in Crohn's disease patients. World J Gastroenterol. 2010 Jan 14;16(2):176-83. **IF: 2.092**

Járomi L, Csöngői V, Polgár N, Szolnoki Z, Maász A, Horvatovich K, Faragó B, **Sipeky C**, Sáfrány E, Magyarai L, Kisfali P, Mohás M, Janicsek I, Lakner L, Melegh B. Functional variants of glucokinase regulatory protein and apolipoprotein A5 genes in ischemic stroke. J Mol Neurosci. 2010 May;41(1):121-8. **IF: 2.720**

Safrany E, Hobor R, Jakab L, Tarr T, Csongei V, Jaromi L, **Sipeky C**, Valasek A, Zeher M, Fust G, Czirjak L, Melegh B. Interleukin-23 receptor gene variants in Hungarian systemic lupus erythematosus patients. Inflamm Res. 2010 Feb;59(2):159-64. **IF: 1.586**

Lakner L, Csöngői V, Magyarai L, Varga M, Miheller P, Sarlós P, Orosz P, Bári Z, Takács I, Járomi L, Sáfrány E, **Sipeky C**, Bene J, Tulassay Z, Döbrönte Z, Melegh B. Possible role of

selected IGR and SLC22A4/SLC22A5 loci in development of inflammatory bowel diseases. Orv Hetil. 2009 Jul 19;150(29):1375-80. Hungarian.

Sáfrány E, Pazár B, Csöngéi V, Járomi L, Polgár N, **Sipeky C**, Horváth IF, Zeher M, Poór G, Melegh B. Variants of the IL23R gene are associated with ankylosing spondylitis but not with Sjögren syndrome in Hungarian population samples. Scand J Immunol. 2009 Jul;70(1):68-74.

IF: 1.928

Farago B, Magyarai L, Safrany E, Csongei V, Jaromi L, Horvatovich K, **Sipeky C**, Maasz A, Radics J, Gyetvai A, Szekanecz Z, Czirják L, Melegh B. Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. Ann Rheum Dis. 2008 Feb;67(2):248-50.

IF: 7.188

Maasz A, Kisfali P, Jaromi L, Horvatovich K, Szolnoki Z, Csongei V, Safrany E, **Sipeky C**, Hadarits F, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke. Circ J. 2008 Jul;72(7):1065-70. **IF: 2.135**

Maasz A, Horvatovich K, Mohas M, Marko L, Wittman I, Kisfali P, Csongei V, Farago B, Jaromi L, Magyarai L, Safrany E, **Sipeky C**, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. Pathology & Oncology Research. (2007) Vol 13, No 3, 243-247. **IF: 1.241**

Magyarai L, Bene J, Talian G, Farago B, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, **Sipeky C**, Lakner L, Varga M, Melegh B. Prevalence of SLC22A4 1672T and SLC22A5 -207C combination defined TC haplotype in Hungarian ulcerative colitis patients. Pathology & Oncology Research. (2007) No 1, Vol 13, 53-56. **IF: 1.241**

Safrany E, Csongei V, Jaromi L, Maasz A, Magyarai L, **Sipeky C**, Melegh B. Mitochondrial DNA and its mutations: new advances in a new field. Orvosi Hetilap (2007) Vol 148, Number 21/May, 971-978. Review. Hungarian.

Összegzés:

A disszertáció alapjául szolgáló elsőszerzős közlemények impakt faktora: 9.338

Publikált közlemények impakt faktora: 31.979

Idézhető absztraktok impakt faktora: 67.931