

**TAMOXIFEN TERÁPIÁT BEFOLYÁSOLÓ GÉNEK INTERETNIKAI  
KÜLÖNBSÉGEI MAGYAR ÉS ROMA POPULÁCIÓS MINTÁKBAN**

PhD értekezés tézisei

**Dr. Wéber Ágnes**

PTE KK Orvosi Genetikai Intézet

Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

**Témavezető: Prof. Dr. Melegh Béla**



**Pécs, 2020**

## 1. Bevezetés

A szervezetünkbe kerülő tápanyagokhoz hasonlóan a gyógyszerek és más xenobiotikumok is biotranszformáció útján eliminálódnak, melynek hatékonysága és sebessége egyéni eltéréseket mutat. Ez a variabilitás egy mindennapos, komplex probléma a klinikai gyakorlatban, mely 20-95%-ban az egyéni genetikai profillal magyarázható. Az interindividuális különbségek hátterében álló genetikai variánsok vizsgálata, amelyek a szervezet gyógyszerekre adott reakcióját módosíthatják, a terápiás hatás és a mellékhatások tekintetében, a farmakogenetika tárgyát képezik. A gyógyszermetabolizmus folyamatában részt vevő gének együttes hatásával a farmakogenomika foglalkozik. A személyreszabott orvoslásban az egyéni DNS profil feltárása a cél farmakogenetikai módszerekkel, valamint az eredmények alapján a különféle gyógyszerek alkalmazásakor várható egyéni reakciók predikciója. Farmakogenetikai teszt ma már számos olyan variáns vizsgálata kapcsán rendelkezésünkre áll a rutin klinikai gyakorlatban, amely genetikai variánsok jelenléte esetén súlyos, nem kívánt mellékhatások kialakulásával kell számolnunk. Ezen variánsok hatása mindaddig észrevétlen marad, amíg az érintett egyén a kérdéses hatóanyaggal egy gyógyszeres kezelés során nem találkozik. Ezek a genetikai polimorfizmusok olyan enzimek, transzport fehérjék vagy receptorok génjeiben is megtalálhatóak, amelyek több gyógyszer metabolizmusában is szerepet játszanak. A máj mikroszómális monooxygenáz enzimek közül farmakogenetikai szempontból a legfontosabbak a fázis I reakciókat katalizáló citokróm P450 (CYP) enzimek. A citokróm P450 enzimcsalád génjeiben előforduló egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP-k) azért kiemelkedő jelentőségűek, mert ezek az enzimek meghatározó szerepet játszanak a klinikumban alkalmazott gyógyszerek jelentős hányadának metabolikus átalakulásában. Régóta ismert tény, hogy egyes betegségek előfordulása a különböző rasszokhoz, etnikumokhoz tartozó csoportokban jelentősen eltérő frekvenciát mutat. Számos korábbi tanulmány számol be arról, hogy a genetikai variánsok szerepe a betegségekre való hajlam és a gyógyszerekre adott válasz meghatározásában maga után vonja annak igényét is, hogy az egyes variánsok gyakoriságát a különböző populációkra vonatkozóan is megállapítsuk. Az emlőrák a leggyakoribb daganatos megbetegedés a nőknél világszerte. Évente mintegy 1,4 millió eset fordul elő. Az onkológiai kezelések között a szelektív ösztrogén receptor modulátorként ható tamoxifen képviselte elsőként a célzott terápiát a személyre szabott orvoslás előfutáraként. A citokróm P450 enzimrendszer tagjai közül a tamoxifen fontos szubsztrátja a CYP2D6, CYP2B6 és CYP2C19 enzimeknek egyaránt.

## 2. Célkitűzések

Munkám fő célkitűzése a tamoxifen terápiát befolyásoló citokróm P450 enzimcsalád három génjében előforduló öt, farmakogenetikai szempontból fontos variáns genetikai vizsgálata roma és magyar populációban annak tanulmányozása céljából, hogy mutatkoznak-e olyan jelentős genetikai különbségek a két népcsoport között, melyek a tamoxifen kezelésre adott terápiás választ befolyásolhatják.

- Vizsgálataink célja volt egyrészt a *CYP2D6* gén rs1065852 és rs3892097 variánsok előfordulási gyakoriságának megállapítása roma és a magyar populációs mintákban.
- További célunk a *CYP2D6* gén vizsgált polimorfizmusai által meghatározott fenotípusok eloszlásainak meghatározása volt roma és magyar populációban.
- Vizsgálni kívántuk továbbá a *CYP2B6* gén csökkent expressziójáért felelős rs3745274 variáns allélfrekvenciáját a rendelkezésre álló roma és magyar etnikumból származó mintákban.
- Célunk volt továbbá a *CYP2C19* gén két variánsának (rs4244285 és rs4986893) és az általuk meghatározott allélok (*CYP2C19*\*2, *CYP2C19*\*3) gyakoriságának a vizsgálata.
- Célul tűztük ki a kapott *CYP2C19* genotípus adatok alapján a várható fenotípusok eloszlásának a meghatározását a roma és magyar populációkban.
- Célunk volt végezetül, hogy a *CYP2D6*, *CYP2B6* és *CYP2C19* gének vizsgált polimorfizmusai kapott allélfrekvencia értékeket összehasonlítsuk más, a szakirodalomban leírt adatokkal, különös tekintettel az indiai és a kaukázusi populációkra.

### 3. Anyagok és módszerek

#### Vizsgált populációk

Vizsgálatainkat tekintve magyarországi magyar és roma személyek DNS mintájával dolgoztunk. Valamennyi minta a Pécsi Tudományegyetem központi biobankjából származott, amely a Páneurópai nemzetközi biobankhálózat (BBMRI) része. A vizsgálatainkban résztvevő egészséges személyek előzetes tájékoztatást követően valamennyien beleegyezésüket adták a vizsgálatok elvégzéséhez. A minták gyűjtésében és tárolásában az 1975-ben Orvosvilágszövetség Helsinkai deklarációjában megfogalmazott etikai alapelvek voltak irányadók, a biobank fenntartásában és vezetésében az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (ETT-TUKEB) által jóváhagyott elveket követtük.

Kutatásunk összesen 3 citokróm P450 gén (*CYP2C19*, *CYP2B6*, *CYP2D6*) 5 funkcionálisan jelentős polimorfizmusának vizsgálatára terjedt ki.

A *CYP2B6* gén c.516G>T (rs3745274; p.Gln172His) és a *CYP2D6* gén c.100C>T (rs1065852; p.Pro34Ser) és c.1846G>A (rs3892097) polimorfizmusokat illetően 426 roma (151 férfi, 275 nő; átlag életkor 43,3±10 év) és 431 magyar személy (248 férfi, 183 nő; átlag életkor 37,6±13 év) DNS mintája került genotipizálásra. A *CYP2C19* gén *CYP2C19\*2* (rs4244285; c.681G>A; p.Pro227Pro) és *CYP2C19\*3* (rs4986893; c.636G>A; p.Trp212Ter) variánsai kapcsán 370 magyar (176 férfi; 194 nő, átlag életkor 50±19 év) és 500 roma (178 férfi; 322 nő, átlag életkor 39±16 év) DNS mintáját vizsgáltuk.

#### Molekuláris biológiai módszerek

A DNS-izolálást EDTA-val alvadásgátolt vérmintákból végeztük rutin kisózásos technika segítségével. Az extrahált genom DNS vizsgálni kívánt szakaszát első lépésben polimeráz lánreakcióval (PCR) amplifikáltuk. A PCR reakció 50 µl-es végtérfogatban történt. A PCR-t minden esetben saját tervezésű, szekvencia-specifikus oligonukleotidokkal - forward és reverse primerrel – végeztük. A keletkezett PCR termékek detektálása gélelektroforézissel (2%-os agaróz gélben), etídium-bromidos festéssel és UV megvilágítással történt.

A *CYP2C19* rs4244285 (c.681G>A; *CYP2C19\*2*) és rs4986893 (c.636G>A; *CYP2C19\*3*) polimorfizmusok genotípusainak meghatározásához restriktions fragmenthossz polimorfizmus (RFLP) módszert használtunk. Az emésztést követően a PCR termékeket agaróz

gélelektroforézissel választottuk szét. A genotípusok elkülönítése 3%-os agaróz gélben etídium-bromid festéssel, UV megvilágítással történt DNS létra mellett.

A *CYP2B6* c.516G>T, *CYP2D6* c.100C>T és c.1846G>A polimorfizmusokat real-time polimeráz láncreakció (RT-PCR) módszerrel vizsgáltuk. Minden esetben TaqMan Drug Metabolism Genotyping RT-PCR Assayt alkalmaztunk a használati utasítás szerint. Az általunk tervezett PCR-RFLP és RT-PCR módszerek specificitására, és eredményeink confirmálására mintáinkon random módon végeztünk Sanger-féle bidirekcionális szekvenálást.

### **Statisztikai elemzés**

A két populációban vizsgált genetikai variánsok allélfrekvenciái között fennálló összefüggések feltárására  $\chi^2$ -tesztet alkalmaztunk SPSS 20.0 programcsalád felhasználásával, a szignifikancia szintet  $p < 0,05$ -nél állapítottuk meg.

## 4. Eredmények

### A CYP2D6 gén

A vizsgált *CYP2D6* allélok gyakorisága és genotípus aránya Hardy-Weinberg egyensúlyt mutatott mindkét népcsoportban. Az elemzett *CYP2D6* gén variánsainak frekvencia adatait az **1. és 2. táblázat** tartalmazza.

A roma és magyar csoportok adatait összehasonlítva fény derült arra, hogy a roma populációs mintákban mindkét *CYP2D6* variáns vizsgálatok szignifikánsan magasabb variáns allél frekvenciát találtunk a magyarokhoz képest. A *CYP2D6* 100T minor allél frekvencia 26,6% volt a romák esetében, míg 20,5% a magyar mintákban ( $p=0,003$ ). Hasonló eredményt kaptunk, amikor a két népcsoportot a *CYP2D6* c.1864G>A polimorfizmus szempontjából hasonlítottuk össze. Nagyobb gyakorisággal volt jelen a variáns 1864A allél a roma mintákban, a magyar mintákhoz képest (22,5% vs. 18,1%,  $p=0,022$ ). A *CYP2D6* polimorfizmusokat illetően ugyancsak szignifikánsan nagyobb ( $p=0,017$ ) prevalenciát állapítottunk meg a c.100C>T variáns TT homozigóta genotípusára vonatkozóan a roma populációban, mint a magyarok esetében (10,8%, illetve 6,3%). Ezzel szemben a c.1846G>A polimorfizmus AA homozigóta genotípusának aránya alacsonyabb volt a roma mintákban, mint a magyar populációban (4,2% vs. 5,3%,  $p=0,446$ ).

A *CYP2D6* genotípusokat és ezzel összefüggésben a várható fenotípusokat a **3. táblázat** foglalja össze. A roma népcsoport tagjaiban a következő *CYP2D6* genotípusokat azonosítottuk a zárójelben feltüntetett előfordulási gyakorisággal: \*1/\*1 (55,4%), \*1/\*4 (2,1%), \*1/\*10 (3,1%), \*4/\*10 (38,7%), \*10/\*10 (0,7%). A \*4/\*4 genotípus viszont nem volt kimutatható. A magyar minták genotípusai: \*1/\*1 (62,6%), \*1/\*4 (1,6%), \*1/\*10 (5,1%), \*4/\*10 (28,3%), \*10/\*10 (1,4%) és \*4/\*4 (0,9%).

**1. táblázat** *A CYP2D6 c.100C>T polimorfizmus genotípus és minor allél frekvenciája*

<b>CYP2D6 c.100C&gt;T</b>	<b>Roma minták n=426 (%)</b>	<b>Magyar minták n=431 (%)</b>
<b>CC</b>	245 (57,5)	281 (65,2)
<b>CT</b>	135 (31,7)	123 (28,5)
<b>TT</b>	46 (10,8)*	27 (6,3)
<b>T allél frekvencia</b>	26,6 %*	20,5%

\*p<0.05 vs magyar populáció

**2. táblázat** *A CYP2D6 c.1846G>A polimorfizmu genotípus és minor allél frekvenciája*

<b>CYP2D6 c.1846G&gt;A</b>	<b>Roma minták n=426 (%)</b>	<b>Magyar minták n=431 (%)</b>
<b>GG</b>	252 (59,2)	298 (69,1)
<b>GA</b>	156 (36,6)	110 (25,5)
<b>AA</b>	18 (4,2)	23 (5,3)
<b>A allél frekvencia</b>	22,5%*	18,1%

\*p<0.05 vs magyar populáció

**3. táblázat** *A CYP2D6 genotípusok és a várható fenotípusok frekvenciája*

<b>Fenotípusok</b>	<b>Genotípusok</b>	<b>Genotípus frekvencia</b>	
		<b>Roma minták n=426 (%)</b>	<b>Magyar minták n=431 (%)</b>
EM	*1/*1	236 (55,4)	270 (62,6)
	*1/*10	13 (3,1)	22 (5,1)
IM	*10/*10	3 (0,7)	6 (1,4)
	*1/*4	9 (2,1)	7 (1,6)
	*4/*10	165 (38,7)	122 (28,3)
PM	*4/*4	-	4 (0,9)

EM, extenzív metabolizáló; IM, intermedier metabolizáló; PM, gyengén metabolizáló

## CYP2B6 gén

A vizsgált *CYP2B6* allélok frekvenciája és genotípus aránya Hardy-Weinberg egyensúlyt mutatott mind a magyar, mind a roma népcsoportban. Az elemzett citokróm P450 gén variánsának frekvencia adatait a **4. táblázat** tartalmazza.

A *CYP2B6* c.516G>T variánst illetően a T allél frekvenciája szignifikánsan nagyobbak bizonyult a roma mintákban, mint a magyar populációs mintákban (33,6%, illetve 21,4%,  $p<0.001$ ). A minor allélt homozigóta formában hordozók genotípus frekvenciája szignifikánsan magasabb volt a roma résztvevők esetében (9,9%) összevetve a magyarok adataival (5,6%) ( $p=0,018$ ).

**4. táblázat** A *CYP2B6* vizsgált polimorfizmusának genotípus- és minor allél frekvenciája.

<b><i>CYP2B6</i> c.516G&gt;T</b>	<b>Roma minták n=426 (%)</b>	<b>Magyar minták n=431 (%)</b>
<b>GG</b>	182 (42,7)	271 (62,9)
<b>GT</b>	202 (47,4)	136 (31,6)
<b>TT</b>	42 (9,9)*	24 (5,6)
<b>T allél frekvencia</b>	33,6 %*	21,4 %

\* $p<0,05$  vs magyar populáció



## CYP2C19 gén

A roma és magyar populációban kapott *CYP2C19* c.681G>A polimorfizmus genotípus- és allélfrekvencia értékek eloszlását az **5. táblázat** tartalmazza. Mind az allél és mind a genotípus frekvencia adatok Hardy-Weinberg egyensúlyt mutattak a roma és a magyar populációban egyaránt. Az általunk vizsgált roma és magyar populációban senki sem hordozta a *CYP2C19* c.636G>A SNP-t (*CYP2C19*\*3 allélt).

**5. táblázat** A *CYP2C19*\*2 polimorfizmus genotípus- és allélfrekvencia eloszlásainak összehasonlítása egészséges magyar és roma populációs mintákban

CYP2C19 polimorfizmus	Genotípus	Roma n=500 (%)	Magyar n=370 (%)	p
<i>CYP2C19</i> *2 (c.681G>A) (Pro227Pro)	GG	318 (63,6)	281 (75,9)	<0,001
	GA	159 (31,8)	85 (23,0)	0,004
	AA	23 (4,6)	4 (1,1)	0,003
	GA+AA	182 (36,4)	89 (24,1)	<0,001
	A allélfrekvencia	20,5	12,6	<0,001

Összehasonlítva a roma és magyar populációt szignifikáns különbséget találtunk a *CYP2C19* 681 variáns genotípus frekvenciáiban: a GG genotípus előfordulása 63,6% volt a roma és 75,9% a magyar populációban, a GA genotípus 31,8%-ban fordult elő a roma és 23,0 %-ban a magyar populációban, a homozigóta mutáns AA genotípus 4,6%-ban volt jelen a roma és 1,1%-ban a magyar populációban, a GA+AA genotípusok együttes előfordulása 36,4% volt a roma és 24,1 % a magyar mintákban. További szignifikáns eltérést észleltünk a variáns 681A allél frekvenciájában a roma és magyar populáció között (20,5% vs. 12,5%,  $p<0,004$ ).

Ezt követően összehasonlítottuk a *CYP2C19* allél-, genotípus- és a várható fenotípus frekvenciákat az általunk vizsgált két populációban és a kapott adatokat összehasonlítottuk az irodalomban közzétett egyéb etnikai népcsoportok adataival (**8. Táblázat**). Meglepő különbségeket találtunk a roma és magyar populációkban a *CYP2C19*\*1 és *CYP2C19*\*2 allélok eloszlásában. Míg a roma populációban a *CYP2C19*\*1 allél előfordulása 79,5 % volt, addig a magyar populációban 87,4%, ezzel szemben a *CYP2C19*\*2 allél előfordulása a roma populációban 20,5% a magyar populációban 12,6% értéket mutatott  $p<0,001$  szignifikancia szint mellett.

A leggyakrabban előforduló *CYP2C19* genotípus a magyar és a roma populációban egyaránt a vad típusú \*1/\*1 volt, ami várhatóan az EM fenotípust határozza meg. Ezen genotípus előfordulása 63,6 % volt a roma és 75,9 % a magyar populációban ( $p < 0,001$ ). Az IM fenotípust meghatározó \*1/\*2 genotípus frekvenciája szignifikánsabban magasabb volt a roma populációban (31,8%) a magyar populációhoz viszonyítva (23,0%). A PM fenotípust meghatározó \*2/\*2 genotípus előfordulása 4,6% a roma és 1,1% a magyar populációs mintákban. A \*1/\*3, \*2/\*3 és a \*3/\*3 genotípusok nem fordultak elő az általunk vizsgált roma és magyar minták egyikében sem.

Vizsgálataink egyik fontos felismerése, hogy a genotípus adatoknak megfelelően a várható PM fenotípus előfordulása a roma populációban négyszer gyakoribb volt, mint a magyar populációban. Továbbá a várható IM fenotípus is szignifikánsan gyakrabban fordult elő a roma mintákban a magyarokhoz viszonyítva.

## 5. Eredmények megbeszélése és következtetések

### CYP2B6 és CYP2D6 gén

Számos gyógyszer a citokróm P450 enzimeken keresztül metabolizálódik. Az etnikai hovatartozás, a genetikai és környezeti faktorok egyaránt hozzájárulnak a gyógyszer metabolizmusban és a terápiára adott válaszban megfigyelt egyénekenkénti variabilitáshoz. Az enzimszisztéma két tagjának génjei, a *CYP2B6* és *CYP2D6* alléljai jelentősen különböző eloszlást mutatnak az egyes etnikumok között.

A különböző populációk genotípus profilja meghatározó az igényelt gyógyszer dózis szempontjából. A *CYP2B6* és *CYP2D6* gének polimorfizmusainak jelenléte klinikai jelentőséggel bír azon személyekben, akik szűk terápiás indexű gyógyszereket szednek, mint pl. a ciklofoszfamid vagy a tamoxifen.

A *CYP2B6* génben található c.516G>T variáns a felelős egy splicing defektusért, amely csökkent *CYP2B6* expressziót okoz, ezáltal a ciklofoszfamid nagyobb clearance-éhez és rövidebb fél-életidejéhez vezet. A vizsgált roma és magyar minták között szignifikáns különbséget találtam az *516T* allél gyakorisága és a TT homozigóta genotípus tekintetében. A *CYP2B6* gén c.516G>T variánsának előfordulása sokkal gyakoribb a roma csoportban, mint a magyarok között, így közöttük nagyobb a valószínűsége az eltérő splicingnak, a csökkent enzim aktivitásnak és a mellékhatások kialakulásának a gyengébb *CYP2B6*-mediálta gyógyszer metabolizmus következtében. A roma populáción belül a homozigóta *CYP2B6 516TT* genotípus frekvenciája 9,9%-nak bizonyult. Más népcsoportok adatai közül a kenyai populációé áll ehhez a legközelebb (10,1%), ami alacsonyabb, mint az afrikai és amerikai származásúaké, azonban háromszorosa a kelet-ázsiai népcsoportokénak (3,5%). A magyar minták elemzésével nyert *CYP2B6 516T* allél frekvencia (21,4%) a más európai populációkban (német, spanyol, svájci és brit) ismert prevalenciához képest alacsonyabb. A roma népcsoportban ez a prevalencia alacsonyabb az Indiában élő népességhez viszonyítva (7. Táblázat).

**6. táblázat** *A roma és magyar CYP2D6 \*4 és \*10 allélfrekvencia adatok összehasonlítása korábban publikált adatokkal*

Populáció	n	CYP2D6	
		*4 (%)	*10 (%)
<b>Roma</b>	426	22,5	26,6
<b>Magyar</b>	431	18,1	20,5
<b>Tamil</b>	106	6,6	20,3
<b>Tamil</b>	30	6,7	35,0
<b>Maláj Indiai</b>	86	8,0	15,0
<b>Maláj</b>	107	2,8	49,5
<b>Szingaléz</b>	30	21,7	40,0
<b>Dél-Indiai</b>	447	7,3	10,2
<b>Amerikai indián</b>	187	20,8	1,34
<b>Indiai</b>	125	10,0	26,8
<b>Észak-Indiai</b>	300	15,8	NV
<b>Dán</b>	228	21,9	NV
<b>Norvég</b>	151	20,5	NV
<b>Svéd</b>	254	18,5	NV
<b>Német</b>	323	18,6	NV
<b>Holland</b>	765	18,4	NV
<b>Orosz</b>	290	18,2	4,2
<b>Kaukázusi</b>	454	18,8	2,8
<b>Kaukázusi</b>	142	18,2	19,6

NV, nem vizsgált

**7. táblázat** *A roma és magyar minták CYP2B6 516T allél frekvenciái összehasonlítva más populációk adataival*

<b>Populáció</b>	<b>n</b>	<b>c.516G&gt;T (%)</b>
Roma	426	33,6
Magyar	431	21,4
Török	172	28,0
Német	215	28,0
Spanyol	180	23,0
Svájci	141	24,8
Brit	135	28,1
Dél-Indiai	72	44,0
Közép-Amerikai	181	25,0

A tamoxifen kezelésben részesülők számára a *CYP2D6* genotipizálás és az alapján a várható metabolizáló fenotípus megállapítása klinikailag nagy jelentőségű.

A *CYP2D6* gén két vizsgált variánsának eltérő prevalenciája a különböző populációk eltérő származásával magyarázható. Ázsiai populációkban a *CYP2D6\*4* allél előfordulásának valószínűsége sokkal kisebb, ellenben a *CYP2D6\*10*-é sokkal nagyobb. A kaukázusiak körében ezzel szemben a *\*4* allélt meghatározó variáns az egyik leggyakoribb. A roma és magyar populációkban kimutatott *CYP2D6\*4* és *\*10* allél frekvencia adatok más népcsoportok hasonló adataival történt összehasonlítását a **6. Táblázatban** mutatom be. Mint a táblázatból kitűnik, a *\*4* és *\*10* allélok gyakorisága a roma csoportban jóval magasabb, mint a déli és maláj indián populációkban. A *\*4* allél frekvenciája enyhén emelkedett a romáknál a szingaléz és az amerikai indián népcsoportokhoz képest. Ezzel szemben a vizsgált magyar mintákban kapott eredmények megfelelnek a más tanulmányokban közölt európai és kaukázusi népesség adataival, különösen a *\*4* allél tekintetében. A *\*10* allélt nem minden korábbi tanulmány vizsgálta.

Mint azt már korábban publikált tanulmányok is leírták, a kaukázusi populációkban megfigyelt fenotípus csoportok gyakorisága a következő: ~70% EM, ~20% IM, és 8% PM. A vizsgálataimban szereplő magyar (kaukázusi) mintáknál kapott fenotípus eloszlás: 67,7% EM,

31,3% IM, 0,9% PM. Ezzel szemben a roma minták eredménye 58,5% EM, illetve 41,5% IM. A PM fenotípus (\*4/\*4 genotípus) a vizsgált csoportban nem volt jelen.

Mindezekből az a következtetés vonható le, hogy a vizsgált genetikai variánsok gyakorisága a roma csoportban eltérő a magyar, a kaukázusi és az indiai populációkhoz képest. Elsőként ebben a vizsgálatban határoztuk meg a *CYP2B6* és *CYP2D6* fő variánsai alapján az allél, a genotípus és a fenotípus frekvenciák eloszlását a roma és a magyar populációkban. A kapott eredmények a különböző etnikai csoportok közötti különbségeket egyértelműen alátámasztják. Összefoglalva megállapítható, hogy a roma származásúak kockázata a csökkent *CYP2B6* és *CYP2D6* protein expresszióra a májban és a csökkent enzim aktivitásra jóval nagyobb a magyarokhoz képest, aminek a hátterében a csökkent vagy hiányzó enzim aktivitással társuló variánsok gyakoribb előfordulása áll. Eredményeink arra utalnak, hogy a genetikai és etnikai tényezőket figyelembe kell venni olyan súlyos betegségek kezelése előtt, mint a HIV vagy a rák. Következésképpen a heterozigóta és homozigóta genotípusok meghatározása hasznos információt nyújthat a klinikai gyakorlatban a hatástalan terápia, a nem kívánt mellékhatások és a toxicitás elkerülésének szempontjából, különös tekintettel a szűk terápiás indexű gyógyszerek csoportjára.

### **CYP2C19 gén**

A *CYP2C19* gyógyszer metabolizáló enzim számos klinikailag fontos gyógyszer aktiválásáért és detoxifikálásáért felelős. A *CYP2C19* különböző alléljainak frekvenciájában mutatkozó inter-etnikai különbségek, mely allélok a normál, közepes és lassú metabolizáló klinikai fenotípust határozzák meg (EM, IM, PM), igen fontosak klinikai szempontból, mivel a különböző csoportokba tartozó betegek esetében eltérő gyógyszerdózis alkalmazására van szükség ahhoz, hogy a legjobb terápiás választ, illetve a legkisebb mellékhatást érjük el. Ezért aztán kutatásaink során megvizsgáltuk a *CYP2C19* metabolizáló enzim major funkcióvesztéssel járó alléljainak az előfordulását egészséges roma és magyar populációban.

A *CYP2C19*\*2 allélfrekvencia legmagasabb értékeit a kelet-ázsiai (23,0-45,5%) és az indiai (29,7-41,7%) populációban találták, míg a legalacsonyabb frekvenciák az európai (9,1-18,8%) és a nyugat-ázsiai (12,0-15,0%) populációkban fordulnak elő. Fontos azonban megemlíteni, hogy az a tény, hogy a *CYP2C19*\*2 variáns a különböző etnikai csoportokban

hasonlóan relatíve nagy frekvenciával fordul elő, arra utal, hogy ez a mutáció meglehetősen régi, kialakulása a negroid, mongoloid és kaukázoid rasszok szétválása előtti időkre tehető.

A *CYP2C19*\*3 variáns a különböző populációkban eltérő gyakorisággal fordul elő. Növekvő sorrendben a frekvencia adatok a következők: európai populációban 0,0-0,9%, észak-amerikai populációban (0,0-0,2%), nyugat ázsiai (0,0-0,1%), indiai (0,0-2,2%), afrikai (0,0-3,0%) és a kelet ázsiai populációban 1,0-14,0%. Ezzel szemben a *CYP2C19*\*3 allél nagyon alacsony frekvenciája vagy teljes hiánya a különböző kaukázusi populációban és relatíve magas előfordulása (25%) a mongoloid rassz csoportban arra utal, hogy ez a mutáció nemrég alakult ki a kaukázusi és a mongoloid rassz csoportok differenciálódását követően.

A különböző tanulmányok a *CYP2C19* PM fenotípus előfordulását 0-25,6%-ban írták le a különböző populációkban. A PM fenotípus legmagasabb incidenciával a kelet-ázsiai (5,60-24,0%) és az indiai (9,8-20,2%) populációban fordult elő. Ezzel szemben a PM átlagban sokkal alacsonyabb frekvenciával fordul elő az észak-amerikaiakban (1,3-9,0%), afrikaiakban (0,0-5,3%), európaiakban (0,7-4,3%) és a nyugat-ázsiaiakban (0,7-3,1%) (lásd **8. Táblázat**).

Összehasonlítva a roma és magyar populációt, a roma populációban a *CYP2C19*\*2 variáns frekvenciája szignifikánsan magasabb, az IM fenotípus előfordulása magasabb és figyelemre méltó a PM fenotípus négyszeres emelkedése. Mindezek arra utalnak, hogy a romák körében emelkedett a kockázata annak, hogy káros mellékhatás alakuljon ki *CYP2C19* szubsztráttal történő kezelés esetében.

A gyakran megfigyelt *CYP2C19* allél variánsok, genotípusok és a várható EM, IM és PM fenotípusok előfordulása a roma populációban összhangban van az észak-indiai populációban megfigyelt értékekkel, kivéve a klinikailag releváns *CYP2C19*\*2 allélt, ugyanis ezen allél frekvenciája szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott a roma populációban. A *CYP2C19* gén genotípus és a hozzá tartozó fenotípus eloszlása a roma populációban egy átmeneti értéket mutat az India különböző részeiről származó populációk és a kaukázusi populáció értékei között.

Érdekes módon az európai kaukázusi populációkban a *CYP2C19*\*2 allél frekvencia értéke egy enyhe csökkenést mutat északról dél felé haladva. Ebben a perspektívában a magyar populáció a gradiens közepére helyezhető. Az egyedi etnikai eredete ellenére a vizsgált magyar populációban a *CYP2C19*\*2 és *CYP2C19*\*3 allélok frekvenciája hasonló a többi kaukázusi populáció allélfrekvencia értékeihez.

Összefoglalásként elmondható, hogy az irodalomban elsőként mi végeztük el a klinikailag fontos *CYP2C19* gén funkcióvesztéssel járó alléljainak az analízisét egészséges roma populációban. Vizsgálataink során azt találtuk, hogy a roma populáció szignifikánsan

különbözik a magyar és a kaukázusi populációtól, azonban összehasonlítva az Indiából származó populációs mintákkal nem találtunk különbséget, kivéve a *CYP2C19*\*2 allélt. Ezzel szemben a mai magyar emberek nem különböznek szignifikánsan az egyéb európai kaukázusi populációktól a gyakori *CYP2C19* variáns előfordulásának tekintetében. Eredményeink arra utalnak, hogy a roma emberek fokozott veszélynek vannak kitéve a *CYP2C19* szubsztrát metabolikus és gyógyszerválasz variabilitása tekintetében összehasonlítva a magyar populációval. Tekintettel arra, hogy a *CYP2C19* variánsok, melyek meghatározzák a terápiás kezelés hatékonyságát, a jelen kutatási adataink tovább hangsúlyozzák olyan terápiás stratégiák szükségességét, melyek figyelembe veszik a farmakogenomikai faktorokat és azok populációs-specifikus tulajdonságait, hogy ez által fokozza a klinikai eredményességet és csökkentse a káros hatásokat.



**8. táblázat** A CYP2C19 gén allél-, genotípus- és várható fenotípus frekvenciáinak összehasonlítása a különböző etnikai csoportokban

Populáció	n	CYP2C19											
		Allélok			Genotípusok					Várható fenotípus			
		*1	*2	*3	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3	EM	IM	PM
Magyar roma	500	79,5*	20,5*	0,0	63,6*	31,8*	0,0	4,6*	0,0	0,0	63,6*	31,8*	4,6*
Magyar	370	87,4	12,6	0,0	75,9	23,0	0,0	1,1	0,0	0,0	75,9	23,0	1,1
Magyar	112	82,6	16,5	0,9	-	-	-	-	-	-	67,0	31,2	1,8
Európa													
Holland	765	86,5	13,3	0,2	-	-	-	-	-	-	74,8	22,4	2,8
Svéd	83	85,0	14,0	0,1	71,0	27,0	1,0	1,0	0,0	0,0	71,0	28,0	1,0
Dán	239	84,0	16,0	0,0	71,5	24,7	0,0	3,8	0,0	0,0	71,5	24,7	3,8
Feröeri	310	81,8	18,8	0	66,2	31,2	0	3,2	0,0	0,0	66,2	31,2	3,2
Belga	121	90,9	9,1	0,0	83,5	14,9	0,0	1,6	0,0	0,0	83,5	14,9	1,6
Német	140	85,0	15,0	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Orosz	290	88,3	11,4	0,3	78,7	19,0	0,3	1,7	0,3	0,0	78,7	19,3	2,0
Horvát	200	85,0	15,0	0,0	73,0	24,0	0,0	3,0	0,0	0,0	73,0	24,0	3,0
Olasz	360	88,9	11,1	0,0	79,4	18,9	0,0	1,7	0,0	0,0	79,4	18,9	1,7
Görög	283	86,9	13,1	0,0	75,9	21,9	0,0	2,2	0,0	0,0	75,9	21,9	2,2
Portugál	153	87,0	13,0	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
India													
Árja (észak)	121	70,3	29,7	0,0	47,9	44,6	0,0	7,4	0,0	0,0	47,9	44,6	7,4
Tamil (dél)	112	59,8	37,9	2,2	29,5	58,0	2,7	8,0	1,8	0,0	29,5	60,7	9,8
Tamil (dél)	292	-	-	-	34,9	44,2	0,7	19,5	0,7	0,0	34,9	44,9	20,2
Andhra pradesh (dél)	115	67,0	33,0	0,0	46,0	42,0	0,0	12,0	0,0	0,0	46,0	42,0	12,0
Dravida (dél)	220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32,2	52,8	15,0
Kerala (dél)	118	68,0	31,0	1,0	47,0	42,0	1,0	9,0	1,0	0,0	47,0	43,0	10,0
Karnataka (dél)	108	60,0	39,0	1,0	39,0	43,0	0,0	17,0	1,0	0,0	39,0	43,0	18,0
Maharashtrian (nyugat)	139	57,1	41,7	1,2	33,8	45,3	1,4	18,7	0,7	0,0	33,8	46,7	19,4
Gujrati és Marwadi (nyugat)	164	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89,6	0,0	10,4
Afrika													
Tanzániai (Bantu)	251	81,0	18,0	1,0	66,0	30,0	1,0	3,0	0,0	0,0	66,0	31,0	3,0
Egyiptomi	247	88,8	11,0	0,2	78,6	20,2	0,4	0,8	0,0	0,0	78,6	20,6	0,8
Etióp	114	85,0	14,0	3,0	75,0	19,0	1,0	3,0	3,0	0,0	75,0	20,0	5,2

Populáció	n	CYP2C19											Várható fenotípus		
		Allélok			Genotípusok							EM	IM	PM	
		*1	*2	*3	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3					
Zimbabwei (Shona)	168	87,0	13,0	0,0	77,0	19,0	0,0	4,0	0,0	0,0	77,0	19,0	4,0		
Venda	152	78,3	21,7	0,0	61,8	32,9	0,0	5,3	0,0	0,0	61,8	32,9	5,3		
Benini	111	87,0	13,0	0,0	73,9	26,1	0,0	0,0	0,0	0,0	73,9	26,1	0,0		
Kelet Ázsia															
Japán	53	67,0	23,0	10,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Japán	217	61,8	27,4	10,8	-	-	-	-	-	-	-	-	15,2		
Japán	186	59,0	29,0	12,0	-	-	-	-	-	-	-	-	18,8		
Kínai Han	101	55,9	36,6	7,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Kínai Bai	202	69,0	26,0	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	13,4		
Kínai	121	50,0	45,5	4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	24,0		
Kínai Dai	193	66,3	30,3	3,4	-	-	-	-	-	-	-	-	9,3		
Mongol kínai	280	72,0	24,0	4,0	51,0	35,0	6,0	6,0	1,0	1,0	51,0	41,0	8,0		
Tajvani kínai	118	63,0	32,0	5,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Malajziai kínai	68	59,0	31,0	10,0	36,8	38,2	5,9	5,9	11,8	1,5	36,8	44,1	19,2		
Maláj	142	66,0	28,0	6,0	42,0	40,0	6,0	6,0	6,3	1,0	42,0	46,0	13,4		
Maláj	54	72,0	23,0	5,0	50,0	37,0	7,4	3,7	1,9	0,0	50,0	44,4	4,6		
Malajziai indiai	20	63,0	38,0	0,0	35,0	55,0	0,0	10,0	0,0	0,0	35,0	55,0	10,0		
Tajvani	179	62,6	32,4	5,0	36,5	44,9	6,7	8,4	3,4	0,0	36,5	51,6	11,8		
Filippino	52	54,0	39,0	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	23,0		
Koreai	103	67,5	20,9	11,7	-	-	-	-	-	-	-	-	11,7		
Burmai	127	66,0	30,0	4,0	44,1	39,4	5,5	9,4	1,6	0,0	44,1	44,9	11,0		
Burmai thai	774	68,0	29,0	3,0	44,5	42,6	3,7	6,7	2,1	0,4	44,5	46,3	9,2		
Burmai karen	131	71,0	28,0	1,0	51,1	39,7	0,8	7,6	0,8	0,0	51,1	40,5	8,4		
Vietnámi	90	62,0	24,0	14,0	-	-	-	-	-	-	-	-	20,0		
Nyugat Ázsia															
Török	404	87,0	12,0	0,4	76,0	22,3	0,74	0,9	0,0	0,0	76,0	23,0	1,0		
Izraeli zsidó	140	84,0	15,0	1,0	70,7	26,4	1,4	2,0	0,0	0,0	70,7	27,8	2,0		
Szauz-arábiai	97	85,0	15,0	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0		
Íráni	147	86,0	13,0	1,0	74,1	25,2	0,6	0,0	0,6	0,0	74,1	2,52	0,68		
Íráni	200	86,0	14,0	0,0	75,0	22,0	0,0	3,0	0,0	0,0	75,0	22,0	3,0		
Észak Amerika															
Kanadai bennszülött indian	115	80,9	19,1	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	7,0		
Kanadai eszkimó	152	88,0	12,0	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Afro-amerikai	517	81,0	19,0	0,0	66,0	30,0	0,0	3,0	0,1	0,0	66,0	30,0	3,1		
Afro-amerikai	76	80,9	19,1	0,0	48,0	27,0	0,0	1,0	0,0	0,0	48,0		1,3		
Afro-amerikai	100	84,0	16,0	0,0	70,0	28,0	0,0	2,0	0,0	0,0	70,0	28,0	2,0		
Afro-amerikai	108	75,0	25,0	0,0	61,0	40,0	0,0	7,0	0,0	0,0	61,0	40,0	6,5		

## 6. Eredmények összefoglalása

1. Mindkét *CYP2D6* variánst vizsgálva szignifikánsan emelkedett variáns allélfrekvenciát találtunk a roma populációs mintákban a magyarokhoz képest, míg a homozigóta variáns genotípus csak a c.100C>T polimorfizmus esetén volt szignifikánsan emelkedett a roma csoportban.
2. A *CYP2D6* genotípusok alapján a várható leggyakoribb fenotípus mindkét csoportban az extenzív metabolizáló fenotípus volt. A gyengén metabolizáló fenotípust meghatározó *CYP2D6* \*4/\*4 genotípus a roma populációban nem volt detektálható. Az intermedier metabolizáló fenotípust meghatározó leggyakoribb genotípus mindkét vizsgált populációban a *CYP2D6* \*4/\*10 volt.
3. A *CYP2B6* gén c.516G>T polimorfizmusának vizsgálata során kiderült, hogy a roma csoportban mind a homozigóta variáns TT genotípus, mind pedig az 516T SNP gyakorisága szignifikánsan magasabb a romákban, mint a magyar populációból származó mintákban.
4. A *CYP2C19*\*3 allél sem a roma, sem a magyar mintákban nem volt kimutatható. A *CYP2C19*\*2 polimorfizmus tekintetében a variáns allél hordozása és a homozigóta variáns genotípus gyakorisága is a roma mintákban volt szignifikánsan magasabb, mint a magyarokban.
5. A *CYP2C19*\*2 variáns által definiált intermedier fenotípust meghatározó \*1/\*2 genotípus és a gyengén metabolizáló fenotípust eredményező \*2/\*2 genotípus szintén romákban volt szignifikánsan magasabb.
6. A kapott *CYP2D6* variánsok gyakorisága roma populációban az indiai értékekhez közelít, magyar mintákban pedig a kaukázusi populációkhoz. *CYP2B6* tekintetében a roma minták eredményei a kaukázusi értékekhez közelítenek, magyar minták értékei viszont alacsonyabbnak bizonyultak más kaukázusi populációhoz képest. A *CYP2C19*\*2 és \*3 allélok frekvenciája magyar populációban hasonló a többi kaukázusi populáció allélfrekvencia értékeihez, a roma populációs érték a kaukázusi és az indiai értékek között helyezkedik el.

## **7. Köszönetnyilvánítás**

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla Professor Úrnak, aki lehetővé tette, hogy doktori disszertációm alapjául szolgáló munkámat a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Orvosi Genetikai Intézetében a Multidisziplináris Orvostudományok keretén belül „Humán molekuláris genetika” témában végezhessem. Köszönetemet fejezem ki Dr. Szalai Renátának, Dr. Berenténé Dr. Bene Juditnak és Dr. Czakó Mártának a szakmai és tudományos segítségért. Köszönettel tartozom továbbá az Orvosi Genetikai Intézet minden asszisztensnőjének, akik szakmai tapasztalatukkal és munkájukkal segítették vizsgálataim kivitelezését. Szeretném megköszönni azoknak a kollégáknak az együttműködését, akik a minták gyűjtésével járultak hozzá, hogy dolgozatom elkészülhessen.

## ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Weber A, Szalai R, Sipeky C, Magyarai L, Melegh M, Jaromi L, Matyas P, Duga B, Kovessi E, Hadzsiev K, Melegh B.

**Increased prevalence of functional minor allele variants of drug metabolizing CYP2B6 and CYP2D6 genes in Roma population samples.**

*Pharmacol Rep.* 2015;67(3):460-4.

**IF: 2,251**

Sipeky C, Weber A, Szabo M, Melegh BI, Janicsek I, Tarlos G, Szabo I, Sumegi K, Melegh B.

**High prevalence of CYP2C19\*2 allele in Roma samples: study on Roma and Hungarian population samples with review of the literature.**

*Mol Biol Rep.* 2013;40(8):4727-35.

**IF: 1,958**

## EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

Safrany E, Szabo M, Szell M, Kemeny L, Sumegi K, Melegh BI, Magyarai L, Matyas P, Figler M, Weber A, Tulassay Z, Melegh B.

**Difference of interleukin-23 receptor gene haplotype variants in ulcerative colitis compared to Crohn's disease and psoriasis.**

*Inflamm Res.* 2013;62(2):195-200.

**IF: 2,143**

Sipeky C, Weber A, Melegh BI, Matyas P, Janicsek I, Szalai R, Szabo I, Varnai R, Tarlos G, Ganczer A, Melegh B.

**Interethnic variability of CYP4F2 (V433M) in admixed population of Roma and Hungarians.**

*Environ Toxicol Pharmacol.* 2015;40(1):280-3.

**IF: 2,187**

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: **4,209**

Egyéb közlemények összesített impakt faktora: **4,33**

Összesített impakt faktor: **8,539**