

**Farmakogenetikai jelentőséggel bíró gének nem kódoló régióinak  
variánsai magyar és roma populációban**

**PhD értekezés tézisei**

**Dr. Várszegi Dalma**

**Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ**

**Orvosi Genetikai Intézet**

**Témavezető: Prof. Dr. Melegh Béla**

**Pécs, 2014**

## 1. BEVEZETÉS

Az egyre szaporodó genomszekvenciák, azaz a különböző fajok genetikai információinak leírása hasznos adatokat szolgáltat a géneket nem kódoló szakaszok evolúciós jelentőségének, szerepének megértésében. Amikor egy-egy humángenetikai háttérű betegségért, elváltozásért felelős mutációt keresnek a kutatók, akkor főként a génekre és azok közvetlen szabályozó-elemeire helyezik a hangsúlyt. Az utóbbi időszak eredményei szerint azonban a géneket nem kódoló régiók szerepe is igen fontos a betegségek kialakításában: az ilyen régiókban bekövetkező mutációk ugyanúgy okozhatnak genetikai rendellenességeket, hajlamosíthatnak vagy éppen védőek lehetnek egy adott betegségre nézve.

### 1.1. Az *IL23R* gén genetikája

Az interleukinok számos sejt fejlődésében és aktivációjában vesznek részt. A sejtek érésében, differenciálódásában, és egyes sejtek által kiváltott effektor folyamatok kialakulásában játszanak döntő szerepet. Az interleukin elnevezés a leukociták közötti speciális kapcsolat fenntartásában játszott szerepükre utal.

Az interleukin 12 családba tartozó interleukin-23 (IL23) a kisméretű glikoproteidek közé tartozik, szerepe az immunsejtek közötti kommunikációban, a celluláris immunválasz során kialakuló folyamatok szabályozásában jelentős. A molekulát 2000-ben azonosították, felépítése heterodimer, alegységeit diszulfid hidak rögzítik. Az egyik domén egy p40 szolubilis receptor alegység, amely az IL12-vel közös, a másik domén egy p19-es alegységet foglal magába, amely az IL23-ra specifikusan jellemző, önállóan biológiai hatással nem bír.

Az IL23 a szervezetben rendkívül szerteágazó feladatokkal bír, aktiválja a makrofágokat és autokrin módon a dendritikus sejteket is. Krónikus gyulladás során megjelenő IL23 kiváltja a naiv CD4+ sejtek differenciációját, mely során kialakuló T-helper sejtek gyulladásos folyamatokban résztvevő citokineket termelnek (számos interleukin, TNF $\alpha$ ). A megjelenő T17 helper sejtek interleukin 17-et (IL17) termelnek, melyek fokozzák a gyulladásos válaszreakció kialakulását. A megjelenő proinflammatorikus citokinek számos autoimmun kórkép kialakulásának hátterében állhatnak.

Az IL23 kötődik az interleukin-23 receptor komplexhez (IL23R), amelynek tagjai az IL23R és IL-12R $\beta$ 1. A humán *IL23R* gén az 1. kromoszóma rövid karjára lokalizálódik (1p31.3). Az *IL23R* gén 11 exonból áll, azonban alternatív splicing útján legalább hat féle izoforma képződhet (IL-23R1-6), leggyakoribb a hetedik és/vagy a tizedik exon deléciója.

Duerr és mtsai szoros kapcsolatot fedeztek fel a Crohn-betegség (CD) és az IL23R gén polimorfizmusai, továbbá az IL23R gén és a szomszédságában levő IL12R $\beta$ 1 gén közötti intergenikus szakasz polimorfizmusai között. A szerzők összesen tíz eltérést közöltek, melyek erősen szignifikáns kapcsolatot mutattak CD-vel. Öt polimorfizmus a 3' UTR régióban megtalálható rs10889677, az intronikus rs1004819, rs2201841 és az intergenikus rs11209032 és rs1495965 kockázati tényezőt jelentett a betegség kialakulására nézve. Míg néhány másik védő hatásának bizonyult, mint a citoplazmatikus doménben található rs11209026, az intronikus rs7517847, rs10489629, rs11465804 és rs1343151 mutációk.

Nem sokkal később számos autoimmun betegséggel is összefüggésbe hozták ezeket az eltéréseket. Ezek közül a legtöbbet vizsgált kórképek, a psoriasis (PS), a Sjögren szindróma (SS), a spondilitis ankylopoetika (SPA), valamint a szisztémás lupus erythematosus (SLE).

## 1.2. *IL28B* és *IL10R* gének genetikája

Az interleukin-28B (IL28B) az interleukin 10 citokin család tagja. A molekula a perifériális vér mononukleáris sejtjei, dendritikus sejtek és hepatociták által expresszálódik vírusfertőzés hatására vagy a kettős szálú RNS stimulációja által. Az IL28B ezután aktiválja a JAK-STAT szignál transzdukciós útvonalat, hatást gyakorolva az antivirális aktivitásra. Az IL28B az interleukin-28B receptoron (IL28BR) fejt ki hatását, mely bizonyos sejtípusok felszínén limitált mennyiségben expresszálódik. Maga a receptor egyetlen funkcionális alegységből áll, az IL-28R-alfa lánc viszont az IL-10R-béta láncsal összekapcsolódva képes kifejteni hatását.

Az IL28B molekulát az interleukin-28B (IL28B) gén kódolja. A humán IL28B gén a 19. kromoszóma hosszú karján található (19q13.13) és 5 exonból áll.

Ge és mtsai 1137 pegilált interferon (PEG-IFN) plusz ribavirin (RBV) kezelt HCV-beteg DNS-mintáin több mint 500 000 egy nukleotidot érintő polimorfizmust (SNP) elemeztek, és az IFN- $\lambda$ 3-at kódoló *IL28B* gén régiójában hét olyan variánst találtak, amelyek kapcsolatot mutattak az IFN-terápiára adott válasszal. Közülük a legfontosabbnak az rs12979860 SNP bizonyult: ennek CC genotípusa esetén a PEG-IFN plusz RBV (P/R) kezelés kétszer hatékonyabb volt, mint a TT variáns mellett. Azt is kimutatták, hogy az afroamerikai etnikumú betegekben alacsony a CC és magas a TT genotípus prevalenciája, ami (részben) magyarázhatja ezen populációban ismert alacsonyabb gyógyulási arányt az IFN-alapú anti-HCV-kezelésre. A CC genotípus ritkábban fordult elő HCV1 genotípusú betegekben, mint egészségesekben, ami a variáns protektív hatására utalt. Mindezt több tanulmány is alátámasztotta. Mások pedig azt igazolták, hogy a CC variáns hajlamosít a HCV-infekció spontán gyógyulására is.

Az interleukin 10 családjába tartozó interleukin-10 (IL10) egy anti-inflammatorikus citokin, melyet monociták, makrofágok és T-sejtek termelnek. Szerepe többérettű, meggátolja a CD4+ T-segítő sejtek aktivációját, a citotoxikus CD8+ T sejtek, természetes ölösejtek (NK) és antigén prezentáló sejtek funkcióját, valamint modulálja a máj csillag alakú sejtjeinek kollagén szintézisét. Az IL10 szabályozó szerepet tölt be az immunreakciókban, mely során elnyomja a gyulladáshoz vezető válaszreakciókat proinflammatorikus citokinek termelése által. Az IL10 hatását az interleukin-10 receptoron (IL10R) keresztül fejt ki, mely heterodimer felépítésű, egy IL-10R1 és egy IL-10R2 részből áll. Az IL-10R1 a kötődésért felelős, IL-10R2 alegység pedig a szignál létrehozásának indukátora.

A humán *IL10R* gén a 11. kromoszóma hosszú karján található (11q23), és 7 exonból áll.

A megnövekedett IL10 produkció hátterében az *IL10R* promotor régiójának három polimorfizmusa által meghatározott -1087G, -819C, -592C GCC promotor haplotípus áll. Kutatások kimutatták, hogy az *IL10R* rs1800896 (-1087) GG genotípus frekvenciája magasabb idősebb egészséges egyéneknél, mint szívinfarktusos betegekben. Az emelkedett IL10 termelés tehát védő hatású, és hosszabb élettartamot eredményez.

## 1.3. *PRDM1-ATG5* régió genetikája

A humán *PRDM1* (positive regulatory domain I protein) másnéven *BLIMP1* (B lymphocyte-induced maturation protein 1) gén egy represszor transzkripciós faktorként működő fehérjét kódol, mely fontos szerepet játszik különböző celluláris folyamatok szabályozásában, úgy mint a sejtek proliferációja, differenciálódása és apoptózisa. Limfociták, epidermális sejtek, őssejtek és más sejtípusok végső specializálódásában vesz részt, humán limfómák patogenezisével hozható összefüggésbe.

A *PRDM1* gén transzkriptuma kétféle mRNS formát eredményez, két különböző izoformát alakítva ki a PRDM1 alfát és a PRDM1 bétát, melyek aránya különböző típusú sejtekben eltérő. A PRDM1 alfa a nagyobb és gyakrabban expresszáldó izoforma, 825 aminosavat tartalmaz, molekulatömege 92 kDa. A fehérje N-terminális részén PR domént tartalmaz, a C terminális szakaszon pedig öt C2H2 típusú cink ujjat, ami a DNS kötő domént adja. A középső részen foglal helyet egy prolin/szerin gazdag régió. Ezzel szemben a PRDM1 béta rövidebb az N-terminális részen 101 aminosavval, ezáltal PR doménje csonkított. A PRDM1 béta funkcionálisan csökkent transzkripció represszor aktivitással bír.

A *PRDM1* számos különböző szövetben és szervben expresszáldó, úgy mint a hematopoetikus rendszer (plazmasejtek, B- és T-limfociták, NK-sejtek, monociták, granulociták és dendritikus sejtek), bőr, központi idegrendszer, here és bélrendszer. B sejt populációban expressziója akkor kezdődik meg, mikor elkötelezik magukat a végső differenciálódásra. Normál limfoid sejtekben, de myelomában és különböző limfómákban egyaránt expresszáldó, amit számos transzkripció aktivátor és represszor regulál. Pasqualucci és munkatársai megállapították, hogy a *BLIMP1*, mint tumor szupresszor gén működik, melynek inaktivációja limfoma kialakulásához vezet a B sejtek plazmasejtté történő differenciálódásának blokkolása következtében. A vizsgált két SNP (rs4946728 és rs1040411) a *PRDM1* és az autofágia-related 5 (*ATG5*) gén közötti nem kódoló régióban helyezkedik el a hatos humán kromoszómán, 6q21-es pozícióban.

Az *ATG5* gén egyike azon géneknek, melyek esszenciális funkciót töltenek be az autofagoszóma, késői endoszóma és lizoszóma képződésben. A humán *ATG5* gén a 6. kromoszóma hosszú karján található (6q21), és 8 exonból áll. Az *ATG5*-*ATG12*-vel való konjugálódása kulcs regulátora az autofágia folyamatának a természetes antivirális immunválaszban.

#### 1.4. *FCER2* gén genetikája

A humán (immunglobulin E Fc fragment, alacsony affinitás II, CD23 receptor) *FCER2* gén a 19-es kromoszóma rövid karján 19p13.2 pozícióban elhelyezkedő, immunglobulin-E és CD21 megkötéséért felelős receptor (FcεRII) fehérjét kódoló gén. Az *FCER2* gén fehérje terméke egy 45 kDa molekulatömegű protein, mely 321 aminosavból áll.

Az FcεRII receptor különböző celluláris biológiai folyamatokat közvetít; ilyen az apoptózistól való védelem, citotoxikus mediátorok felszabadulása, celluláris adhézió. Legfontosabb szerepet a B-limfociták általi IgE szintézis down-regulációjában tölt be, emellett felelős az antigén prezentációért, T- és B-limfociták éréséért és differenciálódásáért. Proteolitikus hasítás következtében kialakul az *FCER2* szolubilis formája, ami képtelenné teszi a sejt felszínén való kötődésre, ezáltal megszakad a negatív feedback mechanizmus gátló hatása, ami az IgE szint emelkedésével jár. Feltételezhetően ez a folyamat képezheti különböző allergiás reakciók alapját.

Az intronikus c.621+7T>C (T2206C, rs28364072) variáns jelenléte asztmás gyermekekben csökkent génextpresszió következtében emelkedett IgE szinttel társul. Ez a polimorfizmus feltételezhetően szerepet játszik a gyógyszeres kezelés hatástalanságában, mivel csökkent terápiás eredményt tapasztaltak inhalációs kortikoszteroidok alkalmazásakor az *FCER2* gén 2206C variánsát hordozó betegekben.

## **1.5. Autoimmun betegségek**

### **Spondilitis ankylopoetika (SPA)**

A spondilitis ankylopoetika a reumatikus megbetegedésekhez tartozó, immunmediált betegség, melyet Bechterew-kórnak is neveznek. A 20-30 éves kor körül jelentkezik és férfiaknál gyakoribb. Legjellegzetesebb tünete a sacroileitis, de a perifériás ízületek is érintettek lehetnek a betegség lefolyása során. A betegség megjelenésekor kialakuló fájdalom leginkább az ágyéki területeken jelentkezik, melyhez reggelente ízületi merevség is társulhat. Az ízületeknél gyakorta erózió és szklerózis jelentkezhet. A férfiaknál a gerinc és a medence, míg a nőknél inkább a csukló, a térd, és a könyök érintett. Ellentétben más arthritis formákkal, ahol az ízületi deformitások szöveti károsodáshoz köthetőek, az AS esetében kontrollálatlan csontosodás következhet be, melynek eredményeként az ízületeknél jelentkező funkcióvesztés elkerülhetetlen. Az ízületeken kívül megjelennek extraintesztinális manifesztációk is, a leggyakoribb az uveitis anterior, amely a szemek folyamatos gyulladását idézi elő, továbbá a betegeknek megjelenhet fényérzékenység, fokozott könnytermelés is.

### **Szisztémás lupus erythematosus (SLE)**

A szisztémás lupus erythematosus krónikus gyulladással járó autoimmun betegség, szimptomái többféle szervrendszer szintjén is megmutatkozhatnak. Az SLE a lupus leggyakoribb formája, megjelenésének hátterében genetikai, immunológiai, környezeti és hormonális tényezők egyaránt állhatnak. Ismert kockázati tényező az ultraviola sugárzás, a dohányzás és számos környezeti toxin. Férfiaknál és nőknél egyaránt jelentkezhet, a nőknél a gyermekvállalás időszakában jelenik meg leggyakrabban, amelynek oka a hormonrendszerben bekövetkező változásokban keresendő. Általános tünetei között szerepel a láz, a fáradtság, az ízületi fájdalom, az étvágytalanság és a súlyvesztés. A vázrendszer, a bőr és a légzőszervrendszer elsődlegesen érintettek. A bőr kipirosodása jelentkezhet az arc területén, mely kialakítja a lupus során jellemző jellegzetes „pillangó” kiütést. A bőrhöz köthető manifesztációi továbbá, a száj és az orr körül megjelenő sebek, a Raynaud szindróma és az alopecia. A muszkuloszkeletális rendszerhez kapcsolódó megnyilvánulásai az arthritis és az izmokban, ízületekben jelentkező rendkívül erős fájdalom. A köhögés, a nehézlégzés a légzőszervrendszerben fellépő szimptomái közé sorolhatóak. A kardiovaszkuláris rendszer érintettsége esetén pericarditis, miocarditis, endocarditis a központi idegrendszer érintettsége esetén pedig fejfájás, depresszió, szorongás és stroke jelentkezhetnek. A kiválasztószervrendszer megbetegedése során megjelenő tünet a glomerulonephritis, az SLE egyik legjellemzőbb manifesztációja.

### **Sjögren-szindróma (SS)**

A Sjögren-szindróma egy szövetspecifikus gyulladással járó autoimmun kórkép, mely elsősorban az exokrin mirigyeket érinti, azok közül is a nyálmirigyben és a könnymirigyben okoz elváltozásokat. A mirigyek gyulladásának következtében kialakuló szövetkárosodás a nyál és könnyű produkció drasztikus csökkenéséhez vezet, melynek eredményeként száj- és szemszárazság alakul ki. Gyakori tünetei az égő, viszkető illetve idegentest érzet a szemen, ízérzésvizelés, nyelvszél berepedezés. Multifaktoriális eredetű betegség, így a környezeti, hormonális és genetikai faktorok egyaránt befolyásolják. A genetikai hajlam tanulmányozása rávilágított arra, hogy genetikai hajlammal rendelkező egyének esetében egy vírus vagy más patogén által bekövetkező fertőzés, mint, ahogy más autoimmun betegségek esetében is, a SS-nél is kiváltó tényező lehet.

## **Psoriasis (PS)**

A psoriasis vagy pikkelysömör a bőrt és az ízületeket egyaránt érintő krónikus immunmediált kórkép. A kontrollálatlan bőrgyulladás kialakulásának hátterében a genetikai tényezők mellett számos tényező is szerepet játszik, többek között a keratinocyták kontrollálatlan proliferációja, és a T sejtek felhalmozódása a bőrben. Az újabb kutatások az IL17 és az IL23 citokinek jelentőségét hangsúlyozzák ennek kapcsán, valamint a terápiás lehetőségek gátlása ezek révén valósulhat meg. Poligénes öröklődésű, megjelenése számos génhez köthető, azonban genetikai hajlam mellett a környezeti faktorok is szerepet játszhatnak a világszerte jelentkező betegség kialakulásában. A stressz, klimatikus viszonyok kiváltó faktorként szerepelhetnek a betegségre való hajlammal rendelkező egyéneknél. A PS egy papulosquamous bőrgyógyászati kórképek közé tartozik, legfőbb tünetei a bőrön megjelenő krónikus, hámló papulák és plakkok. A megjelenő bőrelváltozások általában szimmetrikusan jelentkeznek, jól körülhatárolható vörös papulák vagy ezüstfehér plakkok formájában. A hajas fejbőr, a könyök, a térd, a lumboszakrális terület és a testredők egyaránt érintettek lehetnek a bőrelváltozásokban. Változatos morfológiával, és többféle súlyossági fokkal jellemezhető. Leggyakoribb formája a plakkos psoriasis, amelynél élesen határolt kerek plakkok figyelhetők meg. Ritkább formája a guttált psoriasis, amelynél számtalan apró (2-10mm), akutan jelentkező cseppalakú bőrelváltozás figyelhető meg testszerte. Rendszerint  $\beta$ -hemolizáló Streptococcus fertőzés után alakul ki és leginkább fiatal felnőttek körében jellemző. Az inverz psoriasis esetében a hajlatokban jelentkező, vörös, fénylő felszínű plakkok jellemzőek. A psoriasis erythrodermiás formája a teljes testfelületet vagy annak egy nagyobb részét érinti. A pustulosus psoriasis megjelenése leginkább a tenyéren és a talpon jellemző. Alapvetően nem köthető egy adott életkorhoz, azonban megfigyelhetők olyan életszakaszok, amelyeknél megjelenése gyakoribb. Ilyen életszakasznak tekinthető a 15-20 és az 55-66 életév körüli időszak, mely életkorokban a betegség felbukkanása szignifikáns.

## **Gyulladásos bélbetegségek (IBD)**

A gyulladásos bélbetegségek ismeretlen eredetű, lassú lefolyású bélgyulladást jelent, kialakulásának hátterében számos tényező szerepelhet. Kialakulásában több faktor együttes kölcsönhatása játszhat szerepet, úgymint az egyes környezeti hatások, életmód, lelki tényezők, immunrendszeri rendellenességek és a genetikai hajlam interakciója. Multifaktoriális betegségként tartják számon, számos gén és azok interakciója is részt vehet a betegség kialakulásában. A környezeti faktorok között egyaránt szerepelhetnek egyes gyógyszerek, bélbaktériumok és fertőzések. A kiváltó tényezőkhöz általában társulnia kell egy szerzett vagy veleszületett hajlammal is. Az IBD-re hajlamos egyéneknél az egyes béllument érő károsodások, fertőzések egy kontrollálatlan, krónikus gyulladást indíthatnak el, mely a betegség kialakulásához vezetnek.

Magyarországon legalább 25-30 ezer ember érintett az IBD betegségek valamelyik formájában, Crohn betegségben (CD) vagy colitis ulcerosában (UC). A két betegség között számos hasonlóság fedezhető fel, így az esetek 10-15%-ban nehezen elkülöníthetőek. Mindkét betegség hullámzó lefolyású, kiújulásra hajlamos és mindkettőnél jelentkezhetnek a bélrendszeren kívül, extraintesztinális manifesztációik is. Ezek közül a leggyakoribbak a szemészeti, reumatikus, bőrgyógyászati, hematológiai elváltozások.

A CD a vékony- és vastagbelet érintő idült gyulladás, amely a tápcsatorna felsőbb szakaszait is érintheti. A mucosa transzmurális gyulladásos betegsége, a bélfal minden rétegét érintheti. Tünetei közé tartozik puffadás, a hasi fájdalom, a hasmenés és a fogyás, amely a vékonybél károsodása miatt fellépő felszívódási zavar eredményeként következhet be.

Jellemző szövődményként jelentkezik a CD-ben a sipoly- és a tályogképződés a végbél területén. A bélrendszeren kívül, a szem és a bőr területén is megfigyelhetők elváltozások.

Az UC ismeretlen eredetű, fekélyes vastagbélgyulladást jelent. A krónikus gyulladás csak a vastagbelet érinti, nem transzmurális betegség így a gyulladás csak a nyálkahártya rétegében mutatkozik meg fekély formájában. Tünetei között szerepelhet hasi fájdalom, láz, véres hasmenés, víz- és só vesztes egyaránt. A gyulladás a végbél felől indul és onnan halad tovább az azt követő bélszakaszokra. Az érintett területek alapján megkülönböztetnek proctitist, bal oldali colitist és pancolitist. A betegség során a tüneteken túl, olyan szövődmények is kialakulhatnak, mint a toxikus megacolon, szűkület, vérzés vagy súlyosabb esetben rákos elfajulás is képződhet.

## **Rheumatoid arthritis (RA)**

A szervezetben kialakuló ismeretlen eredetű tünetegyüttes, a genetikai hajlam mellett feltételezhető bakteriális vagy virális infekció is (Mycobacteriumok, Proteus, Streptococcusok, bizonyos Chlamydia fajok, parvovirus B19, rubeola-, és HIV-vírusok).

A szervezet saját kötőszöveti elemeit idegenként kezeli és ellenük gyulladással reagál. A gyulladás következtében az ízület belhártyája megvastagszik, az ízületi folyadék felgyülemlik, ezek együttese meggátolja a normális működést, akadályozza az ízületi mozgást. Az izmokban görcsök jelentkeznek, a későbbiek során állandósul az ízület hajlított állapota. A gyulladás során kóros elváltozások alakulnak ki: az ízületek, és a környező képletek leépülése, pusztulása jellemző, gyakori az ínhüvelygyulladás, reumás csomók jelenhetnek meg a bőrben, illetve különböző csontelváltozások keletkezhetnek.

Az RA viszonylag gyakori betegség, a népesség átlagosan 0,5-1,5 %-át érinti, Magyarországon kb. százezer embert. A nők háromszor gyakoribb, 16 éves kor felett bármely életkorban kezdődhet, leggyakrabban azonban 40-50 éves korban alakul ki. Gyakorlatilag mindenhol előfordul a Földön, az egyes népcsoportok között azonban különbség lehet a betegség gyakoriságában, lefolyásában és súlyosságában.

### **1.6. Hepatitis C-vírusfertőzés (HCV)**

A kórkép elsősorban a májat érinti, de a máj sokrétű funkcióinak károsításával az egész szervezet súlyos állapotba kerülhet, emellett a kórokozó más szervekben is elterjedhet és azokat is megbetegítheti. A betegség a világon 170 millió embert érint, lappangási ideje 2-25 hét. A hepatitis C gyakran tünetmentes, a krónikus fertőzés azonban a májhegesezéséhez, majd több év után májsugorhoz vezethet, ezáltal májelégtelenség, májrák is kialakulhat. A nyelőcső vénatágulatainak vérzése nagyon gyakran halálos kimenetelhez vezet.

A HCV infekció kimenetelét meghatározó tényezők között – a vírus sajátosságai és bizonyos környezeti faktorok mellett – kulcsfontosságú a gazdaszervezet immunreakciója. A HCV eliminálása egyrészt a természetes (innate) immunválasz, másrészt az adaptív, poliklonális CD4 és CD8 T-sejt-válasz függvénye. E folyamatokban jelentősek egyrészt az antigén-prezentációban részt vevő fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) molekulái, másrészt az immunsejtek által termelt citokinek, amelyek expressziója genetikai kontroll alatt áll.

Korábban vírushepatitisekben elsősorban a humán leukocita-antigének (HLA) és a betegség-társulás összefüggéseit vizsgálták, ugyanakkor a citokinek kódoló génvariánsok szerepe is az érdeklődés előterébe került. A teljes géntársulás tanulmány (genome-wide association study (GWAS)) módszerével és az SNP-k analízisével igazolták az *IL28B* génrégió közelében, valamint az *IL10R* promotor régiójában lévő SNP-k fontos szerepét a betegség kapcsán.

## 1.7. Hodgkin-limfóma (másodlagos malignitás)

A Hodgkin-limfóma vagy más néven Hodgkin-kór főleg a nyirokcsomókat érintő limfocita eredetű daganatos betegség (ún. limfóma), mely Thomas Hodgkin brit patológusról kapta a nevét, aki elsőként írta le a betegség jellemzőit.

A Hodgkin-kór általában egy nyirokcsomó-csoportban kezdődik, gyakran a fejnnyakon, ritkábban a hónaljban vagy az ágyéki területen. Sajátos, kiszámítható terjedési mintázattal rendelkezik, nyirokcsomóról a szomszédos nyirokcsomókra terjed a szervezetben. Nyirokcsomón kívüli (extranodális) érintettség csak a betegség előrehaladott stádiumában jelentkezik (pl. csontvelő, máj). Mások általános tünetekkel, láz, fogyás, éjszakai izzadás, egész testre kiterjedő viszketés miatt fordulnak orvoshoz. Jellemző lehet még a teljesítőképeség csökkenése, valamint alkoholfogyasztást követően az érintett nyirokcsomóban fájdalom észlelése. A T-limfociták működészavara következtében a betegek hajlamosabbak TBC, gomba és vírusfertőzések kialakulására. Továbbá előfordulhatnak idegrendszeri tünetek, hormonális zavarok, valamint csont-, tüdőérintettség és húgyivarszervi panaszok is.

Kimenetel szempontjából meghatározó a betegség stádiuma, valamint a kockázati tényezők megléte. A jó prognózist viszont rontja az alkalmazott sugárkezelés és kemoterápia késői toxikus hatása. Ide sorolható a másodlagos tumorok (leginkább emlő- és pajzsmirigy-rák) kialakulásának fokozott kockázata a besugárzást követő 15 éven belül (11%), akut mieloid leukémia megjelenése az első 10 évben (1%), illetve non-Hodgkin-limfóma kifejlődése.

Egy legutóbbi GWAS tanulmány azonosított 2 nem-kódoló SNP-t (rs4946728 és rs1040411) a *PRDM1* és *ATG5* régiók között, melyek kockázati tényezőnek tekinthetők másodlagos malignitásra sugárkezelésben részesített gyermekkori Hodgkin-limfómás betegekben.

## 1.8. Asztma

Az asthma bronchiale egy komplex etiológiájú, krónikus, multifaktoriális légzőszervrendszert érintő gyulladásoos betegség. A betegség prevalenciája magas, világszerte több mint 300 millió ember érintett. Jellemző visszatérő tünetei az asztmás légzés (zihálás), köhögés, légszomj.

A betegség általában (az esetek 70-80%-ában) gyermek vagy fiatal felnőtt korban kezdődik olyan közönséges, mindennapos allergének hatására, mint a pollen, por, állati szőr, ételek vagy gyógyszerek. Epidemiológiai tanulmányok rávilágítottak, hogy a genetikai tényezőkön kívül számos más kockázati faktor is hatással lehet a betegség kifejlődésére, úgy, mint etnikum, nem, táplálkozás, foglalkozás, anyatejes táplálás, virális- és mikrobiális infekciók, házi állatok, dohányfüstnek való kitettség.

A farmakogenetikai kutatások elsődleges célja a genetikai információ segítségével egyénre szabni a gyógyszeres terápiát a hatás maximalizálásával és a toxikus mellékhatások minimalizálásával. Az utóbbi évek asztma-farmakogenetikai vizsgálatai nagy hangsúlyt fektettek egyebek mellett az alacsony affinitású IgE receptor gén (*FCER2*) polimorfizmusainak tanulmányozására, melyek felelősek lehetnek asztmás betegekben a tünetek súlyosbodásáért.



## 1.9. Roma populáció bemutatása, főbb jellemvonásai

A roma populáció nagysága kb. 12-15 millióra tehető, amelyből megközelítőleg 10-12 millió fő él Európában. Indiából származnak, az 1300-as években érkeztek meg Északkelet Európába majd pedig Közép- és Nyugat-Európa területeit is meghódították. A populáció becsült nagyságát tekintve Magyarország a negyedik az európai országok közül, ahol a roma lakosság mérete eléri az 550-600 ezer főt. A populációval folytatott vizsgálatok többek között fényt derítettek az általános halálozási ráta fokozatos emelkedésére, a négyszeres csecsemőhalálozásra és a populációban megjelenő specifikus, betegségekhez kapcsolódó mutációk meglétére is.

Számos tanulmány bebizonyította, hogy a Magyarországon élő romák farmakogenetikailag releváns metabolizáló enzimek genetikai variánsainak tekintetében élesen elkülönülnek a magyar népességtől, alátámasztva ezzel eltérő származásukat. Mindezek alapján feltételezzük, hogy a roma populáció bizonyos betegségekre hajlamosabb lehet, vagy éppen ellenkezőleg védettnek bizonyulhat, mindehhez azonban genetikai háttér feltérképezésére van szükség.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk legfőbb célja, hogy a nem kódoló régiók fontos szerepére, jelentőségére világítsunk rá.

*IL23R* gén kapcsán autoimmun betegségekre hajlamosító a gén 3'UTR régiójában elhelyezkedő rs10889677, az intronikus rs1004819 és rs2201841, valamint az intergénikus rs11209032 SNP-k, ezen kívül az autoimmun betegségek szempontjából védő intronikus rs7517847 variáns tanulmányozását tűztük ki célul magyar és roma populáció vonatkozásában, vizsgálni kívántuk, hogy a két népcsoport tekintetében mutatkoznak-e jelentős genetikai eltérések, melyek hajlamosítóbbá vagy éppen védettebbé tehetik az adott populációt autoimmun betegségekre nézve.

További célunk volt, hogy a 6q21 kromoszóma régióban megtalálható, a *PRDMI* és *ATG5* gének között elhelyezkedő, sugárterápiával kezelt Hodgkin-limfómás betegekben másodlagos tumorokra hajlamosító rs4946728 és rs1040411 nem kódoló SNP-k genetikai eltéréseit megvizsgáljuk magyar és roma populáció vonatkozásában, és következtetéseket vonjunk le arra vonatkozólag, hogy a két népcsoport közül melyik kitettebb másodlagos malignitásnak.

Célként tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az asztma tüneteinek súlyosbodásáért felelős *FCER2* gén rs28364072 nem kódoló farmakogenetikai szempontból viszont igen jelentős genetikai variánsát magyar és roma populációban, és megállapítsuk, hogy a roma populáció genetikai determináltsága mennyiben tér el a magyarokétól.

Vizsgálni kívántuk az *IL28B* gén rs12979860, valamint *IL10R* rs1800896 variánsait is, melyek szintén nem kódoló régióba esnek, hogy bírnak-e bármiféle hatással HCV fertőzött betegekben összehasonlítva az eredményeket egészséges kontrollokkal.

### 3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. Vizsgált populációk

Eltérő számú magyar és roma DNS-sel dolgoztunk, valamennyi a Pécsi Tudományegyetem központi biobankjából származott, amely az országos biobank részét képezi.

Az *IL23R* gén rs10889677, rs1004819, rs2201841, rs11209032, valamint rs7517847 SNP-k kapcsán 273 roma (103 férfi, 170 nő) és 253 magyar (104 férfi, 149 nő) személy DNS mintáját használtuk fel.

Az *IL28B* gén rs12979860 és az *IL10R* rs1800896 SNP-k esetén a genetikai vizsgálatokba 748 HCV-fertőzött beteget (365 férfi, 383 nő) vontunk be. Közülük 420 beteget kezeltünk *pegilált interferon alfa 2a/2b* injekcióval (Pegasys, Hoffmann-La Roche Inc./Pegintron, SP Labo N. V. Belgium) 135–180 µg/1,0–1,5 µg/kg subcutan hetente), és per os *ribavirinnel* (RBV) (Copegus, Hoffmann-La Roche Inc./Rebetol, SP Labo N. V. Belgium), testsúlytól függően 1000–1200 mg/napi dózisban 24–72 héten át. A kezelés utáni követési időszak tartama 24 hét volt. A peginterferon- (P-) és RBV-kezelt (P/R) betegek közül 195 (46,4%) ért el tartós virológiai választ (sus tained virological response – SVR), vagyis 24 héttel a kezelés befejezése után HCV-RNS negativitást. Kontrollként 105 egészséges egyén (64 férfi, 41 nő) szolgált, önkéntes véradók normális májpróbákkal és negatív HBV-, HCV- és HIV-szerológiával. A krónikus hepatitis C diagnózisát >6 hónapon át fennálló kóros transzamináz- (GPT-) értéken vagy >F2 fibrosis, valamint az anti-HCV és HCV-RNS pozitivitás alapján állítottuk fel. Az anti-HCV kimutatása ELISA technikával, a HCV-RNS valós idejű reverz transzkriptáz-polimeráz láncreakcióval (RT-PCR) történt. A HCV betegek 70%-ában készült percutan májbiopszia.

A *PRDMI* és *ATG5* gének közé lokalizálódó rs4946728 és rs1040411 SNP-eket tekintve 293 roma (124 férfi, 169 nő) és 289 magyar személy (166 férfi, 123 nő) DNS mintáját analizáltuk. Az egészséges roma és magyar mintáink genotípusait egymással és a Best (2011) által korábban vizsgált eset és kontroll minták eredményeivel vetettük össze.

Best és munkatársai három eset és három kontroll csoportot (discovery, replication és combined) használtak GWAS tanulmányukban. (1) A „discovery” készlet 96 esetből (19 férfi, 77 nő) és 82 kontrollból (31 férfi, 51 nő) állt. Az eset csoportot tették ki azok a betegek, akik körében megfigyelhető volt másodlagos rosszindulatú daganat (SMN), míg a kontroll csoport tagjai másodlagos rosszindulatú daganat-mentes kontrollok. Az eredmények reprodukálásához Best és kutatócsoportja egy 62 esetből (6 férfi, 56 nő) és 71 SMN-mentes kontrollból (14 férfi, 57 nő) álló független (2) „replication” készletet használt. A „discovery” és „replication” eset és kontroll mintákat összevonva létrehozott egy kombinált, úgynevezett (3) „combined” csoportot (158 eset és 153 kontroll). Fontos megjegyezni, hogy mind az eset, mind pedig a kontroll minták olyan európai eredetű személyektől származtak, akiket gyermekkorukban Hodgkin-limfómával diagnosztizáltak és mediastinalis sugárterápiával (25–40 Gy) kezelték alkiláló ágenszt tartalmazó kemoterápiával vagy anélkül, a kontroll személyeket pedig legalább 27 évig követték másodlagos malignitás irányába.

Az *FCER2* rs28364072 SNP esetén 458 roma (206 férfi, 252 nő) és 397 magyar (222 férfi, 175 nő) egyéntől származó DNS mintát használtunk vizsgálatainkhoz.

#### 3.2. Molekuláris biológiai módszerek

A DNS-izolálást EDTA-val alvadásgátolt vérmintákból végeztük. A minták analizálására PCR-RFLP módszert alkalmaztunk. A PCR termék detektálása gélelektroforézissel, etidium bromidos festéssel, UV fényben történt.

Az *IL23R* eltérései során a következő primereket alkalmaztuk: rs10889677 SNP esetén a forward primer: 5'-ATC GTG AAT GAG GAG TTG CC-3', a reverse primer: 5'-TGT GCC TGT ATG TGT GAC CA-3'; rs1004819 SNP esetén a forward primer: 5'- GCA TTC TAG GAC CGT TTT GG-3', a reverse primer: 5'-ATC TGG TGG AAA TAT GTG AAA CCT A-3'; rs2201841 SNP esetén a forward primer: 5'-GGC AAA AGG GAA TTG AGA GG-3', a reverse primer: 5'-GGC CTA TGA TTA TGC TTT TTC CTG-3'; rs11909032 SNP esetén a forward primer: 5'-TTG TTA CTG GAG TTA AAC CTC TTG C-3', a reverse primer: 5'-AGG AAT AAT TGC TGA GAT GCA ATG-3'; rs7517847 SNP esetén a forward primer: 5'-AAA CAT TGA CAT TCC CTT CAT AC-3', a reverse primer: 5'-GAA ATG AGT CAC CAA TAA TCC AC-3' volt. Az emésztésekhez a következő restrikciós endonukleázokat alkalmaztuk: rs10889677 esetén MnlI, rs1004819 esetén TaaI, rs2201841 esetén HpyF3I, rs11209032 esetén BseMI, rs7517847 esetén pedig BseMII enzimeket használtunk.

Az *IL28B* rs12979860 SNP-t Custom Taqman SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Life Technologies, Foster, CA, USA) segítségével határoztuk meg, a használati utasítás szerint. *IL10R* rs1800896 SNP esetén a következő primereket alkalmaztuk: a forward primer 5'-AAG ACA ACA CTA CTA AGG CT-3', a reverse primer 5'-TAA ATA TCC TCA AAG TTC C-3' volt. A PCR termék emésztése EcoNI allélspecifikus restrikciós endonukleázzal történt.

A *PRDMI* és *ATG5* gének között elhelyezkedő 6q21 kromoszómán megtalálható rs4946728 és rs1040411 SNP-eket Custom Taqman SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Life Technologies, Foster, CA, USA) segítségével határoztuk meg, a használati utasítás szerint.

Az *FCER2* rs28364072 SNP esetén szintén Custom Taqman SNP Genotyping Assayt (Applied Biosystems, Life Technologies, Foster, CA, USA) alkalmaztunk a megadott kondíciók szerint.

### 3.3. Statisztikai elemzés

A populációk és a vizsgált genetikai variánsok között fennálló összefüggések feltárására  $\chi^2$ -tesztet és regressziós analízist alkalmaztunk SPSS 20.0 programcsalád felhasználásával.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. *IL23R* gén

Valamennyi genotípus- és allélmegoszlás a Hardy-Weinberg egyensúlyt tükrözte. *IL23R* rs10889677 AA (24,5% vs. 5,93%), rs1004819 AA (24,2% vs. 9,49%), rs2201841 CC (20,5% vs. 6,32%), valamint rs11209032 AA (19,0% vs. 9,49%  $p < 0,5$ ) hajlamosító homozigóta genotípus frekvenciája szignifikánsan magasabb volt a roma csoportban a magyarokhoz képest. Az rs10889677A (48,5% vs. 29,8%), rs1004819A (47,9% vs. 30,2%), rs2201841C (46,1% vs. 28,9%) és rs11209032A (43,2% vs. 33,2%  $p < 0,05$ ) minor allél frekvenciák szintén szignifikánsan emelkedettebbek voltak a roma populációban a magyarokkal való összevetés során. Az rs7517847 variáns védő GG homozigóta genotípus frekvenciája (5,13% vs. 16,2%), valamint a minor G allél frekvencia (28,9% vs. 43,5%  $p < 0,05$ ) a romáknál szignifikánsabban alacsonyabbnak mutatkozott a magyar populációhoz képest (1. táblázat).

1. táblázat: Az *IL23R* gén variánsai által meghatározott genotípus megoszlások és allél frekvenciák a vizsgált roma és magyar csoportokban.

	Roma (273)	Magyar (253)
IL23R genotípus		
<b>IL23R rs10889677</b>		
CC	75 (27,5%)	117 (46,2%)
CA	131 (48,0%)	121 (47,8%)
AA	67 (24,5%)*	15 (5,93%)
A allél frekvencia	48,5%*	29,8%
<b>IL23R rs1004819</b>		
GG	77 (28,2%)	124 (49,0%)
GA	130 (47,6%)	105 (41,5%)
AA	66 (24,2%)*	24 (9,49%)
A allél frekvencia	47,9%*	30,2%
<b>IL23R rs2201841</b>		
TT	77 (28,2%)	123 (48,6%)
TC	140 (51,3%)	114 (45,1%)
CC	56 (20,5%)*	16 (6,32%)
C allél frekvencia	46,1%*	28,9%
<b>IL23R rs11209032</b>		
GG	89 (32,6%)	109 (43,1%)
GA	132 (48,4%)	120 (47,4%)
AA	52 (19,0%)*	24 (9,49%)
A allél frekvencia	43,2%*	33,2%
<b>IL23R rs7517847</b>		
TT	129 (47,3%)	74 (29,2%)
TG	130 (47,6%)	138 (54,5%)
GG	14 (5,13%)*	41 (16,2%)
G allél frekvencia	28,9%*	43,5%

\*  $p < 0,05$  vs. Magyar

## 4.2. *IL28B* és *IL10R* gének

Az egészséges populáció és a HCV-betegek *IL28B* genotípus frekvencia megoszlását vizsgálva kimutattuk, hogy a CC genotípus szignifikánsan ritkábban fordult elő a betegekben, mint a kontrollban, ami a CC genotípus védőhatására utalt. Ugyanakkor a CT heterozigóta genotípus és a T-allél gyakoribb volt a HCV-betegekben, ami a T-allél hajlamosító szerepét jelezte (2. táblázat). A P/R kezelt *IL28B* CC genotípusú betegek magasabb arányban értek el virológiai gyógyulást (SVR), mint a CT genotípusú (58,6% vs. 40,8%,  $p = 0,002$ ) vagy a T-allélt hordozó betegek (41,8%,  $p = 0,002$ ) (3. táblázat).

*IL10R* esetén a GG genotípus alacsonyabb frekvenciával volt jelen a HCV betegcsoportban összehasonlítva az eredményeket a kontroll csoporttal. Az A allél gyakorisága viszont emelkedett volt a betegekben a kontrollokhoz képest (4. táblázat). Azok között a P/R kezelt betegek között, akik elérték az SVR-t, a GG genotípus magasabb frekvenciát mutatott, mint az AA genotípus (57/178, 32,0% vs 31/178, 17,4% OR: 1.84). A GG genotípusú betegben az SVR arány 42,2% (59/125) a GA-val rendelkezőkben 47,4%, az AA genotípusúakban 39,7% volt. Akik az A allél hordozták, azoknál elérte a 46,4%-ot.

2. táblázat: *IL28B* genotípusok megoszlása egészséges egyénekben és krónikus hepatitis C-vírusfertőzött betegekben.

		HCV1 (n=748)	Kontroll (n=105)
<b><i>IL28B</i> genotípus</b>			
<b>rs12979860</b>	CC	195 (26,1%)*	54 (51,4%)
	CT	411 (54,9%)*	39 (37,1%)
	TT	142 (19,0%)	12 (11,4%)
	T allél frekvencia	553 (73,9%)*	51 (48,6%)

3. táblázat: Tartós virológiai válasz (SVR) előfordulása pegilált interferon- és ribavirininterápia hatására különböző *IL28B* genotípusú krónikus hepatitis C-vírusfertőzött betegekben.

<b><i>IL28B</i> genotípus</b>	<b>Kezeltek</b>		<b>SVR (virológiailag gyógyultak)</b>	
	<b>n</b>	<b>Betegek száma</b>	<b>%</b>	
CC	116	68	58,6	
CT	228	93	40,8	
TT	76	34	44,7	
T-allél (nem CC genotípus)	304	127	41,8	

*IL28B* CC vs. CT OR: 2,057 (1,305–3,236),  $p = 0,002^*$   
*IL28B* CC vs. TT OR: 1,751 (0,975–3,134),  $p = 0,059$   
*IL28B* CC vs. T (nem CC genotípus) OR: 1,976 (1,263–3,058),  $p = 0,002$

4. táblázat: *IL10R* genotípusok megoszlása egészséges egyéneknél és krónikus hepatitis C-vírusfertőzött betegekben.

		HCV1 (n=672)	Kontroll (n=92)
<b><i>IL10R</i> genotípus rs1800896</b>	GG	214 (31,8%)	48 (52,2%)
	GA	333 (49,6%)	32 (34,8%)
	AA	125 (18,6%)	12 (13,0%)
	A allél frekvencia	458 (68,15%)	44 (47,8%)

### 4.3. *PRDMI-ATG5* gének közötti régió

A *PRDMI-ATG5* régió két nem kódoló variánsát vizsgálva (rs4946728 és rs1040411) a roma és a magyar populáció között nem találtunk szignifikáns különbséget a hajlamosító allélfrekvenciák és az egyes genotípusok tekintetében. A roma és magyar minták hajlamosító variánsainak gyakorisága (rs4946728; C és rs1040411; A) összevetve Best „replication”, „discovery” és „combined” kontroll csoportjainak ugyanezen variánsaival szintén nem mutattak statisztikailag szignifikáns különbséget.

Az rs4946728 SNP esetén a hajlamosító C allél homozigóta hordozásának gyakorisága szignifikánsan emelkedett az általunk vizsgált roma és magyar populációs mintákban, összehasonlítva a Best által vizsgált „discovery” és „combined” kontroll csoporttal. Emellett a roma populációs mintákban az rs4946728 polimorfizmus heterozigóta hordozásának frekvencia értéke szignifikánsan magasabb volt, mint a korábban Best által leírt „replication”, „discovery” és „combined” kontroll minták esetén. Továbbá a hajlamosító C allél jelentős akkumulációja volt megfigyelhető mind a magyar, mind pedig a roma csoportban, összehasonlítva az allélfrekvencia értékeket a „discovery” és „combined” kontroll mintákkal (79,4% és 83,5% vs. 59,1% és 63,7%,  $p < 0,05$ ) (5. táblázat).

A *PRMDI* rs1040411 homozigóta hajlamosító AA genotípus roma és magyar mintákban is szignifikánsan magasabbnak bizonyult, összehasonlítva Best és munkatársai „discovery” és „combined” kontroll mintáival. Statisztikailag szignifikáns eredményt kaptunk az rs1040411 polimorfizmus hajlamosító A allélfrekvenciájának tekintetében magyar és roma mintáinkat vizsgálva szemben a „discovery” kontroll csoporttal (56,4% és 55,8% vs. 39,6%;  $p < 0,05$ ), míg a „combined” kontroll csoport hajlamosító allélfrekvencia értéke csak a magyar mintákkal összehasonlítva mutatott szignifikáns különbséget (56,4% vs. 44,1%;  $p < 0,05$ ) (6. táblázat).

Roma és magyar mintáinkat Best és munkatársai eset csoportjaival való összehasonlítása után az rs4946728 és az rs1040411 polimorfizmusok esetén nem észleltünk szignifikáns különbséget sem a „replication”, „discovery” sem pedig a „combined” csoporttal szemben.

5. táblázat: Az rs4946728 polimorfizmus genotípus és hajlamosító allélfrekvencia eloszlása roma és magyar populációs mintákban, összehasonlítva Best eset és kontroll csoportjaival.

<b>rs4946728</b>				
<b>Csoport</b>	<b>Genotípus</b>			<b>Hajlamosító (C) allél frekvenciája (%)</b>
	<b>A/A (n)</b>	<b>A/C (n)</b>	<b>C/C (n)</b>	
Roma	7 <sup>abc</sup>	78 <sup>abc</sup>	194 <sup>ac</sup>	83,5 <sup>ac</sup>
Magyar	7 <sup>abc</sup>	100	170 <sup>ac</sup>	79,4 <sup>ac</sup>
Discovery eset <sup>f</sup>	2	23	71	86,0
Replication eset <sup>f</sup>	1	17	43	84,4
Combined eset <sup>f</sup>	3	40	114	85,3
Discovery kontroll <sup>f</sup>	12	43	27	59,1
Replication kontroll <sup>f</sup>	6	32	33	69,1
Combined kontroll <sup>f</sup>	18	75	60	63,7

<sup>a</sup> p<0,05 vs. „discovery” kontroll

<sup>b</sup> p<0,05 vs. „replication” kontroll

<sup>c</sup> p<0,05 vs. „combined” kontroll

<sup>d</sup> p<0,05 vs. „discovery” eset

<sup>e</sup> p<0,05 vs. „combined” eset

<sup>f</sup> Genotípus és allélfrekvencia adatok Best és mtsai nyomán (Best és mtsai 2011).

6. táblázat: Az rs1040411 polimorfizmus genotípus és hajlamosító allélfrekvencia eloszlása roma és magyar populációs mintákban, összehasonlítva Best eset és kontroll csoportjaival.

<b>rs1040411</b>				
<b>Csoport</b>	<b>Genotípus</b>			<b>Hajlamosító (A) allél frekvenciája (%)</b>
	<b>A/A (n)</b>	<b>A/G (n)</b>	<b>G/G (n)</b>	
Roma	84 <sup>ac</sup>	140	52 <sup>acde</sup>	55,8 <sup>a</sup>
Magyar	84 <sup>ac</sup>	141	49 <sup>acd</sup>	56,4 <sup>ac</sup>
Discovery eset <sup>f</sup>	42	47	7	68,2
Replication eset <sup>f</sup>	22	30	9	60,6
Combined eset <sup>f</sup>	64	77	16	65,3
Discovery kontroll <sup>f</sup>	10	45	27	39,6
Replication kontroll <sup>f</sup>	18	33	19	49,3
Combined kontroll <sup>f</sup>	28	78	46	44,1

<sup>a</sup> p<0,05 vs. „discovery” kontroll

<sup>b</sup> p<0,05 vs. „replication” kontroll

<sup>c</sup> p<0,05 vs. „combined” kontroll

<sup>d</sup> p<0,05 vs. „discovery” eset

<sup>e</sup> p<0,05 vs. „combined” eset

<sup>f</sup> Genotípus és allélfrekvencia adatok Best és mtsai nyomán (Best és mtsai 2011).



#### 4.4. *FCER2* gén

A vizsgált *FCER2* gén intronikus T2206C variánsát tekintve szignifikáns különbséget észleltünk a homozigóta CC genotípusú roma és magyar (2,8% vs. 5,8%) populációs mintákat összehasonlítva ( $p=0,032$ ). A homozigóta 2206CC genotípus romákban fele akkora gyakorisággal sem volt jelen, mint a magyar mintákban. A hajlamosító C allél frekvenciája közel azonos gyakorisággal volt észlelhető a két vizsgált populációban (24,8% vs. 24,6%) (7. táblázat).

7. táblázat: *FCER2* genotípusok és minor allél frekvencia megoszlása egészséges roma és magyar mintákban.

	<b>Roma (n=458)</b>	<b>Magyar (n=397)</b>
<b><i>FCER2</i> genotípus</b>		
<b>rs28364072</b>		
TT	244 (53,3%)	225 (56,7%)
TC	201 (43,9%)	149 (37,5%)
CC	13 (2,8%)*	23 (5,8%)
C allél frekvencia	24,8%	24,6%

\*  $p<0,05$  vs. magyar

## 5. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A DNS jelentőségének megismerését követően évtizedekig a fehérjét kódoló szakaszainak mind részletesebb feltárása állt a kutatások középpontjában, miközben a genom jelentős részét, több mint 98%-át kitevő, nem kódoló DNS szekvenciákat evolúciós maradványnak tartották („junk DNA“, azaz „hulladék DNS“). Kiderült azonban, hogy ezek a szakaszok fontos jelentőséggel bírnak, az emberi genom zöme nem kódoló (pseudogén, gén fragmentum, intron és le-nem-fordítódó), illetve génen kívüli, gének közötti ún. extragénikus szekvencia.

Az extragénikus szakaszok nagy hányada, kb. 80%-a egyedi vagy kis kópiaszámban előforduló, kisebb része erősen ismétlődő, repetitív. Az erősen ismétlődő szakaszok kétfélek lehetnek, tandem ismétlődő szakaszok és szétszórt repetitív szekvenciák.

A tandem ismétlődések rövid DNS-szakaszoknak három alosztálya van: szatellita DNS, miniszatellita DNS, mikroszatellita DNS. A tandem ismétlődések szakaszai befolyásolják a szomszédos gének aktivitását. Az ismétlődések határozzák meg ugyanis, hogy mennyire szorosan csavarodik fel a DNS a nukleoszómáknak nevezett különleges alakzatokba, és ez a becsomagolási szerkezet szabja meg azt, hogy milyen mértékben lehet aktiválni a géneket.

Gének szintjén az intronok és a le nem fordítódó szakaszok a legfontosabbak. Az intronok alkotják a DNS legkiterjedtebb részét. Ez arra enged következtetni, hogy az intronok szereteágazó biológiai funkcióival rendelkeznek, szabályozási és strukturális célok.

Génmutációk esetében nemcsak a mutáció kiterjedése fontos, hanem a helye is. Nem mindegy, hogy a mutáció kódoló vagy nem kódoló szakaszban vagy éppen a kettő határán található-e. A splicing mutáció nyomán például elveszhet egy exon, vagy előfordul, hogy egy intron lefordítódik, mindezek eredményeképpen hibás fehérje fog képződni.

A nem-kódoló régiók tehát igen fontos szerepkörrel bírnak, mutációik számos betegség kialakításában is részt vesznek. A dolgozatban 10 SNP került tárgyalásra, ezek közül egy 3'UTR régióban helyezkedik el (*IL23R* rs10889677), hat intronikus (*IL23R* rs1004819, rs2201841, rs7517847; *IL28B* rs12979860; *IL10R* rs1800896; *FCER2* rs28364072), három pedig intergénikus, két gén által közrezárt nem kódoló régióban helyezkedik el (*IL23R-IL12Rβ1* rs11209032; *PRDM1-ATG5* rs4946728, rs1040411). Célunk az volt, hogy ezen eltéréseket megvizsgáljuk roma és magyar populációban (*IL28B* és *IL10R* esetén HCV fertőzött betegek és kontrollok képezték a vizsgálat tárgyát), és következtetéseket vonjunk le arra vonatkozólag, hogy melyik népcsoport hajlamosítottabb az adott betegség kialakulása szempontjából.

*IL23R* rs10889677, rs1004819, rs11209032 SNP-k esetén a minor A allél és az AA homozigóta genotípus, míg rs2201841 SNP esetén a minor C allél és a CC homozigóta genotípus frekvencia volt szignifikánsan magasabb a roma csoportban a magyarokhoz képest, így ezeknek az SNP-nek a hordozása magasabb rizikót mutat autoimmun betegségek kialakulására a roma népcsoportban. *IL23R* rs7517847 SNP esetén a minor G allél és a GG homozigóta genotípus frekvencia mutatkozott szignifikánsan alacsonyabbnak a roma populációban a magyarokkal való összevetés során, mely alapján valószínűsíthetjük, hogy ennek a variánsnak a hordozása esetén a roma populáció védettebb autoimmun betegségek kialakulásával szemben.

*IL28B* rs12979860 esetén a HCV betegcsoport szignifikánsan alacsonyabb C allél és CC genotípus frekvenciát mutatott, ebből az szűrhető le, hogy ennek a variánsnak a megléte véd HCV kialakulása ellen. *IL10R* esetén a HCV betegcsoportban a G allél és a GG genotípus hordozása mutatkozott alacsonyabbnak, így valószínűsíthető, hogy akik ezt az eltérést hordozzák védettebbek HCV kialakulásával szemben.

Sugárterápiával kezelt Hodgkin-limfómás betegekben másodlagos tumorokra hajlamosító a *PRDM1-ATG5* gének közötti régió rs4946728 és rs1040411 nem kódoló SNP-it vizsgálva nem találtunk szignifikáns különbséget a roma és a magyar populáció között sem az allélfrekvenciák sem a genotípusok szintjén összevetve a két csoport eredményeit. Így megállapítható, hogy a két népcsoport közel azonos kitétséggű másodlagos malignitásnak sugárterápiát követően.

Farmakogenetikai szempontból igen fontos *FCER2* rs28364072 SNP esetén a hajlamosító homozigóta CC genotípus szignifikánsan alacsonyabb volt roma populációban a magyarokhoz képest. Így e variáns tekintetében elmondhatjuk, hogy magyar populációban a receptor fehérje csökkent expressziója, ez által az emelkedett IgE szint és az ezzel együtt járó gyulladási tünetek súlyosbodása gyakrabban állhat a magyar asztmás betegek betegségenek hátterében.

A nem kódoló régióknak tehát kiemelt jelentőségük van egyes betegségekre való hajlamosítás tekintetében, valamint farmakogenetikai szempontból is, az egyes eltérések a gyógyszermetabolizmust, ezáltal a terápiás választ befolyásolhatják. Egyes népcsoportok között jelentős különbségek lehetnek mindezek tekintetében, a disszertáció mondanivalója is erre a tényre világít rá.

## 6. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Autoimmun betegségekkel kapcsolatba hozható *IL23R* gén öt eltérést tanulmányoztuk 273 roma és 253 magyarpopulációs mintán. *IL23R* rs10889677, rs1004819, rs2201841 és rs11209032 SNP-k esetén a minor allél frekvenciák és a homozigóta gyakori genotípusok szignifikánsan emelkedettebbek voltak a roma populációban a magyarokhoz képest, így ezeknek a variánsoknak a hordozása hajlamosítottabbá teszi a roma populációt autoimmun betegségek kialakulására. *IL23R* rs7517847 SNP esetén a minor G allél és a GG homozigóta genotípus frekvenciája szignifikánsan csökkentebb volt a roma populációban, mely alapján valószínűsíthetjük, hogy ennek a variánsnak a hordozása védettebbé teszi a roma populációt autoimmun betegségek kialakulásával szemben.

2. Az *IL28B* gén rs12979860 SNP esetén 748 HCV-fertőzött betegről származó és 105 kontroll, míg *IL10R* rs1800896 SNP-k esetén 672 HCV betegről származó és 92 kontroll DNS mintát vizsgáltunk. *IL28B* rs12979860 SNP esetén a HCV betegcsoport szignifikánsan alacsonyabb C allél és CC genotípus frekvenciát mutatott, így ennek a variánsnak hordozása védő hatásúnak bizonyul HCV kialakulásával szemben. *IL10R* esetén a HCV betegcsoportban a G allél és a GG genotípus hordozása mutatkozott szignifikánsan alacsonyabbnak, ezért akik ezt az eltérést hordozzák szintén védettebbek HCV-vel szemben.

3. Sugárterápiával kezelt Hodgkin-limfómás betegekben másodlagos tumorokra hajlamosító *PRDM1* és *ATG5* régiók között elhelyezkedő rs4946728 és rs1040411 nem kódoló SNP-eket megvizsgálva 293 roma és 289 magyar személy DNS mintáján, azt tapasztaltuk, hogy a roma és a magyar populáció nem mutat szignifikáns különbségeket sem minor allélfrekvenciák, sem az egyes genotípusok szintjén. Ezért valószínűsíthető, hogy a két népcsoport közel azonos kitétséggű másodlagos malignitásnak.

4. Az asztma tüneteinek súlyosbodásáért felelőssé tehető *FCER2* gén rs28364072 SNP-jét megvizsgálva 458 roma és 397 magyar DNS mintán azt tapasztaltuk, hogy a roma populációban szignifikánsan alacsonyabb a kockázati CC homozigóta genotípus frekvenciája. Magyaroknál az emelkedett CC homozigóta genotípus frekvencia alapján valószínűsíthető, hogy az asztmás betegségek előfordulási gyakorisága magasabb lesz.

## 7. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

### 7.1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

**Varszegi D**, Duga B, Melegh BI, Sumegi K, Kisfali P, Maasz A, Melegh B. Hodgkin Disease Therapy Induced Second Malignancy Susceptibility 6q21 Functional Variants in Roma and Hungarian Population Samples. *Pathol Oncol Res.* 2013 Dec 5. [Epub ahead of print] **IF: 1,555**

Magyari L, **Varszegi D**, Sarlos P, Jaromi L, Melegh BI, Duga B, Kisfali P, Kovesdi E, Matyas P, Szabo A, Szalai R, Melegh B. Marked differences of haplotype tagging SNP distribution, linkage, and haplotype profile of IL23 receptor gene in Roma and Hungarian population samples. *Cytokine.* 2014 Feb;65(2):148-52. **IF: 2,518**

Par A, Par G, Tornai I, Szalay F, **Varszegi D**, Frater E, Papp M, Lengyel G, Feher J, Varga M, Gervain J, Schuller J, Nemes Z, Peterfi Z, Tusnadi A, Hunyady B, Haragh A, Szinku Z, Vincze A, Szereday L, Kisfali P, Melegh B. IL28B and IL10R -1087 polymorphisms are protective for chronic genotype 1 HCV infection and predictors of response to interferon-based therapy in an East-Central European cohort. *BMC Res Notes.* 2014 Jan 8;7(1):12. **IF: 1,390**

Par A, Par G, Tornai I, Szalay F, **Varszegi D**, Frater E, Papp M, Lengyel G, Feher J, Varga M, Gervain J, Schuller J, Nemes Z, Peterfi Z, Tusnadi A, Hunyady B, Haragh A, Szinku Z, Palinkas L, Berki T, Vincze A, Kisfali P, Melegh B. [IL28B CC genotype: a protective factor and predictor of the response to interferon treatment in chronic hepatitis C virus infection]. *Orv Hetil.* 2013 Aug 11;154(32):1261-8.

Szalai R, Matyas P, **Varszegi D**, Melegh M, Magyari L, Jaromi L, Sumegi K, Duga B, Kovesdi E, Hadzsiev K, Melegh B. Admixture of beneficial and unfavourable variants of GLCCI1 and FCER2 in Roma samples can implicate different clinical response to corticosteroids. *Mol Biol Rep.* 2014 Nov;41(11):7665-9. **IF: 2,506**

### 7.2. Csatlakozó közlemények

Sarlos P, **Varszegi D**, Csongei V, Magyari L, Jaromi L, Nagy L, Melegh B. Susceptibility to ulcerative colitis in Hungarian patients determined by gene-gene interactions. *World J Gastroenterol.* 2014 Jan 7;20(1):219-27. **IF: 2,547**

Marek E, Dergez T, D'cruz G, Bozsa S, Cseh A, Szilard I, Benczik M, Kiss I, **Varszegi D**, Vilagi S, Ember I, Gocze P. Human papillomavirus infections among Hungarian female sex workers. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2014 Jan;23(1):65-75. **IF: 1,308**

Szigeti R, Chao SC, **Varszegi D**, Czako M, Kosztolányi G, Kellermayer R. [The first genetically supported case of chronic benign pemphigus (Hailey-Hailey disease in Hungary)]. *Orv Hetil.* 2005 Sep 11;146(37):1933-5.

Harangi F, **Varszegi D**, Schneider I, Zombai E. Complete recovery from juvenile pemphigus vulgaris. *Pediatr Dermatol.* 2001 Jan-Feb;18(1):51-3. **IF: 1,041**

Nyul Z, Harangi F, **Varszegi D**, Zombai E. Vesicobullous lesions in a child. Bullous pemphigoid (BP). Arch Dermatol. 1997 Jun;133(6):776-7, 779-80. **IF: 2,714**

Harangi F, **Varszegi D**, Szucs G. Asymmetric periflexural exanthem of childhood and viral examinations. Pediatr Dermatol. 1995 Jun;12(2):112-5. **IF: 1,041**

**Összesített impakt faktor: 16,620**