

**SZERVES ANION TRANSZPORTER FEHÉRJÉK GENETIKAI
VARIÁBILITÁSÁNAK VIZSGÁLATA ÉS FARMAKOGENETIKAI
JELENTŐSÉGE MAGYAR ÉS ROMA POPULÁCIÓBAN**

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

DR. NAGY ÁGNES



Doktori iskola vezetője

Prof. Dr. Sümegi Balázs

Program és Témavezető

Prof. Dr. Melegh Béla

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Klinikai Központ, Orvosi Genetikai Intézet

Pécs, 2017

1. BEVEZETÉS

Metabolizmus folyamatán a különböző endogén és exogén kémiai anyagok olyan szervezeten belüli biotranszformációját értjük, mely végeredményeképpen egy módosult, polárosabb, könnyebben eliminálódó anyag keletkezik. A testidegen anyagok átalakításában különféle útvonalak és enzimek vesznek részt, melyek a különböző szubsztrátok szintézisére és degradációjára képesek.

A gyógyszerek a biológiai membránokon eltérő módokon juthatnak át. A szervezet számára az olyan létfontosságú anyagok, mint a cukrok, aminosavak, szervetlen anyagok, ionok valamint a különböző gyógyszerek sejtekbe befelé illetve kifelé történő áramlása különböző típusú, membránon átívelő fehérjék által szabályozott. Ezeket a proteineket működésük alapján aktív és passzív transzporterekre lehet osztani. Egy adott sejtben általában mind az influx, mind az efflux transzporter egyszerre előfordul. A transzport funkcióval rendelkező fehérjéket három nagy kategóriába lehet sorolni:

1. Aktív transzporterek (ATP pumpák)
2. Ioncsatorna fehérjék
3. Transzporterek (Carrier fehérjék)

GYÓGYSZER TRANSZPORTER FEHÉRJÉK

ABC transzporterek

A legtöbb efflux transzporter az ATP-kötő kazetta transzporter (ABC transzporter) szupercsaládba tartozik, melyek a sejtekben befolyásolják a különböző anyagok intracelluláris koncentrációját. A szubsztrátjaik sejtmembránon történő átjuttatásához szükséges energiát az ATP hidrolízise, valamint a transzportfehérje foszforilációja biztosítja, ezáltal lehetővé téve a szubsztrátok koncentrációgrádiensének függvényében történő átjutását a membránon.

Az ABC szupercsaládba 49 fehérje tartozik, ezeket a fehérjéket doménjeik szerveződése és az ABC transzporterek filogenetikai analízise alapján 7 alcsaládra osztották. Jelenleg több mint 20 ABC fehérje ismert, melyeket különböző betegségekkel hoztak összefüggésbe. Többségük klinikailag fontos szerepet játszik a gyógyszerlebontásban, valamint a gyógyszerrezisztenciában.

A legelsőként azonosított és legjobban jellemzett ABC transzporter a multidrog rezisztenciát okozó humán ABCB1. A fehérje széles szubsztrátspecificitással rendelkezik, funkcionális barrierként szolgálhat a különböző gyógyszerekkel szemben. Mivel ez a fehérje a

vér-agy gát endotheliális sejtjeiben is kifejeződik, ezáltal gátolja a gyógyszerek vér-agy gáton történő átjutását a központi idegrendszerbe.

Az ABCC1 fehérjét, melyet az *ABCC1* gén kódol, a doxorubicin-rezisztens kissejtes tüdőrák H69AR sejtjében azonosították először. Az ABCC1 multispecifikus organikus anion transzporterként szolgál olyan gyógyszerek számára, mint az antimetabolitok, antraciklinek, növényi alkaloidok és az antiandrogének.

Az ATP-kötő kazetta transzporter MRP2 fehérjét az *ABCC2* gén kódolja. Az ABCC2-t eredetileg kanalikuláris multispecifikus szerves anion transzporterként jellemezték. Emellett aktívan exportál több nem-konjugált szubsztrátot is, ezért méregtelenítési útvonalak fontos részének tekintik. Az MRP2 megkönnyíti az olyan rákellenes szerek transzportját, mint a ciszplatin, vinblasztin és kamptotecin-származékok.

Az emlőrák rezisztencia fehérje (BCRP) vagy ABCG2 az ABC transzporterek G-családjának legismertebb tagja. A hem és más porfirinekkal kölcsönhatásba lépve védi a sejteket és a szöveteket a protoporfirin felhalmozódásától. Feltételezik, hogy az ABCG2 jelentős hatással van egyes xenobiotikumok és endogén szubsztrátok farmakokinetikai és farmakodinamikai profiljára. Úgy vélik, hogy hozzájárul a multidrogrezisztenciához, mivel a tipikus szubsztrátjai az olyan citosztikus gyógyszerek, mint a ciszplatin, kamptotecin, doxorubicin, daunorubicin, etoposid, methotrexat, mitoxantron, SN-38, topotekán és vinkrisztin.

SLC transzporterek

A solute carrier (SLC) család tartalmazza a legtöbb membrán transzportfehérjét. Az SLC transzporterek többsége másodlagos aktív transzporter, mint például az ioncserélők, szimporterek és az antiporterek, ahol a transzport különböző energiával kapcsolt mechanizmusok által történik. A humán SLC transzporterek családja 386 tagból áll. Az egyes fehérjéket szekvenciájuk, transzmembrán alpha helixek (TMH) száma (10-14 TMH) és a fehérjék biológiai funkciói alapján 52 családba osztották.

Az SLC-k szabályozzák az olyan szubsztrátok membránon keresztül történő transzportját, mint a szerves ionok, nukleotidok, aminosavak, neurotranszmitterek, cukrok, purinok, zsírsavak és gyógyszer-molekulák.

Az SLC mutációk, vagy az egyes tagok genetikai variánsai, mint kiváltó tényezők szerepet játszanak az autizmus, cukorbetegség, rák, pszichiátriai rendellenességek és idegrendszeri fejlődési rendellenességek kialakulásában. Emiatt az egyes SLC fehérjék fontos gyógyászati célpontnak számítanak.

A glutamát transzporterek (GLT) az SLC1 családba tartoznak, melyekre jellemző, hogy különösen fontos szerepet játszanak az extracelluláris glutamin koncentráció excitotoxikus szint alatti tartásában. A család SLC1A2 (GLT1) tagja részt vesz az amiotrófiás laterális szklerózis, valamint Alzheimer-kór és az autizmus patogenezisében. A család SLC1A3 tagja viszont a skizofrénia patogenezisében játszik szerepet. Az olyan patológiás körülmények esetében, mint az ischemia, a neuronális glutamát transzporter SLC1A1 valószínűleg visszafelé irányuló glutamát transzporterként kezd működni, emiatt a glutamát transzporter specifikus inhibitorok lehetséges terápiás lehetőségnek számítanak az ischemiás körülmények közt fellépő excitotoxicitás megakadályozására.

Az SLC2 családba tartozó SLC2A9-et eredetileg glükóz illetve fruktóz transzporternek tekintették.

Gyógyászati szempontból az SLC6 a legjobban vizsgált és felhasznált SLC család. A családba tartozó transzporterek szerotonint, dopamint, noradrenalint, gamma amino vajsavat, taurint, kreatinint szállítanak. Emiatt a családba tartozó fehérjék olyan betegségekhez köthetők, mint a figyelemhiányos hiperaktivitás zavar, X-kromoszómához kötött mentális retardáció, Tourette-szindróma, skizofrénia, Parkinson-kór, autizmus, depresszió, szorongás, obszesszív kompulzív személyiségzavar és a poszttraumás stressz szindróma.

Az SCL13 család tagjai Na^+ -kapcsolt di- és tri-karboxilát/szulfát transzporterek. Kiemeltebb klinikai szerepe az SLC13A2 és SLC13A3 fehérjéknek van. Utóbbi az 1-es típusú glutársav aciduriához és a Canavan-betegséghez köthető.

A vezikuláris monoamin transzporterek (VMAT) felelősek a monoaminok szinaptikus vezikulákba való szállításáért. Genetikai asszociációs vizsgálatok kimutatták, hogy a *VMAT1* variánsok szorongással kapcsolatos személyiségjegyekhez, skizofréniahoz és bipoláris zavarhoz köthetők. A megnövekedett VMAT2 aktivitás Parkinson-kór esetében egy új terápiás célt képezhet vagy javíthatja a prognózist.

Az SLC21 (organikus anion transzporter), SLC22 (organikus kation/anion/ikerion transzporter) és az SLC47 (multidrog és toxin kiválasztó (MATE) transzporter) rendkívül gyakran található meg a májban, vesében, vér-agy gátban, ahol szabályozzák a gyógyszerek felszívódását, eloszlását, metabolizmusát és kiválasztását.

SLCO GÉNEK GENETIKÁJA

Az *SLCO* gének által kódolt organikus anion transzporter polipeptidek (OATP-k) membránhoz kötött gyógyszerhatóanyag transzportáló fehérjék, melyek a különböző gyógyszerek sejtbe történő felvételét könnyítik meg. A géncsalád tagjai közül az *SLCO1* a gyógyszerhatóanyagok szállításában vesz részt, az *SLCO3*, *SLCO5* és *SLCO6* a szerves anionok transzportjában játszik fontos szerepet. Míg az *SLCO2* a prosztaglandinok és szteroid szulfátok szállításában, addig az *SLCO4* a pajzsmirigyhormon transzportjában vesz részt.

***SLCO1B1* gén**

A solute carrier organikus anion transzporter család 1B1 (*SLCO1B1*) gén által kódolt OATP1B1 részt vesz különböző endogén szubsztrátok (pl.: epesavak), xenobiotikumok, valamint többféle gyógyszerhatóanyag (pl.: statinok, antibiotikumok, angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátlók) sejtekbe való bejuttatásában. Az *SLCO1B1* génnek 190 gyakori variánsa ismert, minor allél frekvenciája nagyobb, mint 5%.

Az OATP1B1-nek fontos szerepe van a statinok farmakokinetikájában. A statinok 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductáz inhibitorok, melyeket széles körben használnak szív- és érrendszeri betegségek kockázatának csökkentésére. Az utóbbi években összefüggést mutattak ki az *SLCO1B1* variánsok és a simvastatin-indukálta myopathiák között, utalva arra, hogy OATP1B1 részt vesz a simvastatin transzportban.

Az *SLCO1B1* gén 190 polimorfizmusa közül a legjobban karakterizált variánsok az rs2306283 (c.388A>G, p.Asn130Asp) és az rs4149056 (c.521T>C, p.Val174Ala).

Az *SLCO1B1* c.388A>G SNP az OATP1B1 fehérje emelkedett aktivitását, valamint alacsonyabb plazma statin koncentrációt eredményez. Az *SLCO1B1* c.521T>C polimorfizmus a fehérje csökkent aktivitásával, valamint emelkedett plazma statin koncentrációval jár együtt. A két SNP együtt négy féle haplotípust határoz meg: *SLCO1B1*1A* (c.388A - c.521T, vad típus), *SLCO1B1*1B* (c.388G - c.521T), *SLCO1B1*5* (c.388A - c.521C) és *SLCO1B1*15* (c.388G - c.521C). Ezek közül az *SLCO1B1*1B* a leggyakoribb, ezt követi az *SLCO1B1*15* és az *SLCO1B1*5*.

Az *SLCO1B1* gén nemkódoló rs4363657 (c.1498-1331T>C) polimorfizmusa kapcsán az esetek több mint 60%-ában jelentős összefüggést mutattak ki a polimorfizmus C variánsa, valamint a statin indukálta myopathia között.

***SLCO1B3* gén**

Az OATP1B3 (organic anion-transporting polypeptide 1B3) egy fontos endogén és exogén vegyületek Na⁺- független felvételét közvetítő transzmembrán fehérje. Az OATP1B3 influx protein alapvető szerepet játszik a szívelégtelenség kezelésére alkalmazott digoxin és a statinok farmakokinetikájában.

A két legrészletesebben tanulmányozott misszensz variáns az *SLCO1B3* génben a 4. exonban elhelyezkedő c.334T>G (rs4149117, p.Ser112Ala) és a 7. exonban található c.699G>A (rs7311358, p.Met233Ile) polimorfizmusok.

A c.334T>G (p.Ser112Ala) polimorfizmus hordozása megváltozott farmakokinetikai hatással társul vese transzplantáción átesett, mikofenolát mofetillel kezelt betegek körében.

Korábbi kutatók vizsgálatai az *SLCO1B3* gén intronikus c.1683-5676A>G (rs11045585) variánsát csökkent docetaxel gyógyszer clearance értékkel hozták kapcsolatba. Továbbá ennek az SNP-nek a jelenléte mutatta a legszignifikánsabb kapcsolatot docetaxel-indukálta leukopéniával.

STATIN TERÁPIA

A koleszterin a humán szervezet számára esszenciális szteránvázas vegyület, amelynek fontos szerepe van a sejthártya felépítésében, emellett számos hormon szintézisének kiindulási vegyülete. A koleszterin szint csökkentése igazoltan csökkenti az arteriosclerosis és a fiatalkori Coronary Vascular Disease (CVD) kockázatát.

A statinok HMG-CoA reductáz (HMGCR) inhibitorok. A HMGCR központi szerepet játszik a koleszterin szintézisben. Magas koleszterin szint esetén nagyobb a cardiovascularis megbetegedés kockázata. Számos kontrollált klinikai vizsgálat igazolta, hogy a statin terápia csökkenti a myocardialis vascularis események számát, valamint a stroke-os események bekövetkezésének gyakoriságát.

Öt nagy klinikai vizsgálatból két vizsgálat igazolta az intenzívebb statin terápia hatékonyságát a coronária betegségek számának csökkentésében. Magasabb dózisú statin terápia jobban csökkenti a cardiovascularis események számát. A magas dózisú statin kezelés széleskörű ajánlásának az egyetlen mérlegelendő akadálya a gyógyszer biztonságosságának pontos megítélése, a lehetséges mellékhatások számbavétele. A statinok mellékhatásai magasabb dózisú kezelésnél nagyobb kockázattal jelentkezhetnek, ugyanakkor bizonyos genetikai polimorfizmusok is befolyással vannak a statinok metabolizmusára.

A STATINOK MELLÉKHATÁSAI

Myopathia

A statin kezelést limitáló tényező lehet a statinok dózis dependens és genetikai variabilitással összefüggő myopathiát okozó mellékhatásuk. A statin myopathia klinikai képe leggyakrabban szimmetrikus alsóvégtag gyengeségben, izomfájdalomban jelentkezik. Az előfordulási gyakoriság valószínűleg 1-5% körülire tehető. Nagyobb a kockázata a statin okozta myopathiának magasabb statin dózisoknál.

Rhabdomyolysis

A rhabdomyolysis a vázizomzatot érintő, akár életveszélyes állapot, mely során a vázizom sejtek elhalnak és myoglobin kerül először a vérbe, majd vesén keresztül ürül. Klinikai tünetei a gyengeség, az izomfájdalom, de ismeretesebb tünetszegény formák. A vizelet sötétté válik. Laboratóriumi tünetek: CK, SGOT, SGPT, LDH megemelkedik. A betegek <1%-ánál esetenként súlyos mellékhatás jelentkezhet, myopathia.

Statinok és a diabetes

A statin kezelés alkalmazása nem koronáriabeteg diabeteses betegek esetében ugyanolyan rizikó csökkenést okoz, mint más betegcsoportokban a súlyos koronária események tekintetében. Ugyanakkor nagyszámú klinikai vizsgálat, 91140 betegen végzett összesített adatai arra hívták fel a figyelmet, hogy a statinok növelhetik a diabetes kialakulásának kockázatát. Összességében azonban a statin terápia haszna vitathatatlan ebben a betegcsoportban.

A statinok egyéb mellékhatásai

A statinok alkalmazása egyéb mellékhatásokkal is járhat, mint például a májfunkciós értékek emelkedése (elsősorban GOT és GPT), pancreatitis, hepatitis, beleértve a krónikus aktív hepatitist, kolesztatikus sárgaság, máj elzsírosodás, cirrhosis, fulmináns hepatitis hepatoma, anorexia, hányinger, hányás, emlékezetzavar.

Statin terápiát befolyásoló genetikai variánsok

Ismeretes, hogy az *SLCO1B1* transzporter gén bizonyos polimorfizmusainál gyakrabban fordul elő simvastatin okozta statin myopathia, így ezek a variáns genotípusok magasabb

statin koncentrációt eredményeznek, így még nagyobb a kockázat nagy dózisú statin kezelés esetében. Rhabdomyolysis több esetben 80 mg simvastatin kezelés mellett fordult elő. A rhabdomyolysis gyakorisága 1,9/100 000 volt, mely esetek 60%-nak a hátterében az rs4149056 genetikai variáns áll.

A MAGYAR ÉS ROMA POPULÁCIÓ

Magyar populáció

A magyarok egyedülállóak a többi környező populáció között a származásuk tekintetében. A magyar állam 1100 évvel ezelőtt alakult. A korai magyarok a Kárpát-medencében telepedtek le a 9. század végén két évezredes migráció után, maguk mögött hagyva az Urál hegységet. Ezen a régió már évezredekkel korábban a magyarok érkezése előtt éltek dákok, rómaiak, szarmaták, gótok, hunok, avarok és szlávok. A honfoglalás idején a bennszülött lakosság legnagyobb része szláv eredetű volt.

Mitokondriális DNS vizsgálatokat, Y kromoszómális bináris markervizsgálatokat és array alapú SNP vizsgálatokat végeztek a honfoglalás korából származó, Kárpát-medencében élő populációkból annak érdekében, hogy feltérképezzék genetikai szerkezetüket.

A 10-11. századból származó 27 ősi minta, 101 recens magyar és 76 Erdélyből származó magyar nyelvű székely mitokondriális szekvenciáját összehasonlították 57 európai és ázsiai populációból származó 7752 egyén szekvenciájával, beleértve a Finn-Ugor populációt is. Az eredmények azt mutatták, hogy a 10-11. századból származó ősi populáció genetikailag heterogén, és egy kis ázsiai genetikai hatás is mutatkozik a magyar honfoglaló populációban.

Apai öröklődést is vizsgáltak, mely jobb földrajzi felbontást ad, mint az anyai. Összesen 22 biallélikus polimorfizmust azonosítottak a humán Y kromoszóma nem rekombinációs régiójában, 100 modern magyarban és 97 székelyben. Az eredményeket összehasonlították más európai populációkkal és analizálták a populációk Y kromoszóma pooljait filogeográfiai összefüggésben. Egy specifikus Y kromoszómális bázis csere (T>C) ami viszonylag újnak számít (95 %-os konfidencia intervallum, 3140-6200 év) értékes marker a finnugor populációs vizsgálatokban. Ezen polimorfizmus C allélja elterjedt minden uráli nyelvű populációban, kivéve a modern magyarul beszélő populációkban, ahol vagy teljesen hiányzik, vagy nagyon ritka. A modern egyének közül, csak 1 székely egyén hordozta ezt a C allélt, míg a honfoglalás idejéből származó 4 csontmaradványból 2-nél volt megtalálható. Ez az eredmény arra utal, hogy a honfoglaló magyarokban volt egy szibériai leszármazási vonal, amely később eltűnt.

A laktáz non-perzisztencia (hipolaktázia) autoszómális recesszív öröklésmentet mutat. A felnőtt típusú laktáz non-perzisztencia prevalenciája 3-70% Európában a kaukázusi populációkban, Észak-Európában ritka, azonban délen és keleten gyakoribb. Az ázsiaiakban viszont közel eléri a 100 %-os frekvenciát. Nemrégiben az *LTC* gén egy T>C SNP variánsát hozták összefüggésbe a laktáz non-perzisztenciával. Továbbá kimutatták, hogy a C/T-13910 polimorfizmusnak szerepe van a laktáz génexpresszió szabályozásában. A különböző C/T-13910 laktáz genotípusok prevalenciáját megvizsgálták a mostani magyar populációkban véletlenszerű mintavétel során. Eredményül kapták, hogy a T allél frekvenciája 37,8%, a C allél pedig 62,2%. A C allél frekvenciája a magyar populációban alacsonyabb volt, mint a svéd és finn populációkban (81 %), viszont magasabbnak bizonyult, mint a francia (43,1%), észak-olasz (35,7%) populációkban és megegyezett a portugál populációéval (62%). Másrészt, hasonlóan magas volt a C allél frekvenciája - összehasonlítva a jelenlegi magyar populációval - azoknál a populációknál, akik közel éltek a magyarokhoz a szibériai otthonukban, 71% Észak Manysiakban, 78% Nyenyecében, 50% Komi-Permjakokban és 59% Udmurtokban.

Roma populáció

Írásos történelmi bizonyítékok, valamint lingvisztikai és populációgenetikai vizsgálatok eredményei alapján a roma populáció eredetét tekintve nagy valószínűséggel az észak-nyugat indiai Pandzsáb, Radzsasztán és Gudzsarát államokból származtatható. Vándorlásuk a 11. században vette kezdetét, melynek során észak-nyugat Indiából kiindulva a mai Irán területét érintve a 13. századra elérték Európát. A 14. század végétől kezdve a roma populáció Európa minden országába eljutott.

Y haplocsoport vizsgálatok kimutatták, hogy a roma férfiak 47,3%-a hordozza az indiai szubkontinensen kívül ritkán detektálható Y kromoszóma H-M82 haplocsoportot. Az indiai egyéneknél leggyakrabban előforduló mitokondriális M haplocsoport Dél-Ázsián kívül ritkán mutatható ki, azonban a romák közel 30%-ában megtalálható. Lengyel romák részletes tanulmánya is mutatja az indiaiakban specifikus M5-ös leszármazási vonalat. Az Y haplocsoport analízisek mellett teljes genomra kiterjedő SNP array-en, valamint újgenerációs szekvenálási technikán alapuló vizsgálatok is alátámasztják a romák indiai eredetére vonatkozó feltételezéseket.

Európába érkezve egy palacknyak effektus következtében lecsökkent a roma populáció egyedszáma, így egy kis lélekszámú alapító populációt hozva létre. Ennek eredményeként,

valamint a roma közösségekre jellemző zárt genetikai rendszer következményeként, a roma populációnak egyedi genetikai profilja alakult ki.

Magyarország népessége heterogén, több etnikai kisebbség is megtalálható az országban, melyek közül a roma kisebbség alkotja a legnagyobb csoportot. A 2008-as adatok alapján már 600.000- 800.000 közötti ember vallotta magát a roma kisebbséghez tartozónak.

A magyarországi romák történelmük és a nyelvük alapján 3 nagy csoportba sorolhatók: romungró, oláh és beás.

Korábbi nemzetközi tanulmányok szerint a ritka betegségek kategóriájában néhány speciális örökletes betegség a roma népességben már ismert, mint például az öröklött motoros és szenzoros neuropátia, veleszületett szürke hályog, arc dysmorphia, neuropátia szindróma, veleszületett myasthenia szindróma, végtagöv típusú izomsorvadás, galaktokináz hiány és a policisztás vesebetegség. A zárt genetikai rendszer következtében megnövekedett autozigócia mértékének okán autoszómális recesszív öröklődésű multiplex rendellenességek felhalmozódását figyelték meg néhány magyarországi roma kolóniában is.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja a szerves anion transzporter fehérjéket kódoló *SLCO1B1* és *SLCO1B3* génekben leírt 5 polimorfizmus genetikai vizsgálata, gyakoriságuk és eloszlásuk meghatározása roma és magyar populációs mintákban.

Kitűzött céljaink a következő polimorfizmusok vizsgálatára terjedtek ki:

1. *SLCO1B1* gén c.388A>G (rs2306283) polimorfizmus
2. *SLCO1B1* gén c.521T>C (rs4149056) polimorfizmus
3. *SLCO1B1* gén c.1498-1331T>C (rs4363657) polimorfizmus
4. *SLCO1B3* gén c.334T>G (rs4149117) polimorfizmus
5. *SLCO1B3* gén c.1683-5676A>G (rs11045585) polimorfizmus

Célunk volt továbbá a három *SLCO1B1* és két *SLCO1B3* polimorfizmusok között fennálló kapcsoltság vizsgálata, az általuk alkotott haplocsoportok meghatározása, valamint azok gyakoriságának megállapítása roma és magyar populációban.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

VIZSGÁLT POPULÁCIÓK

A vizsgálatainkhoz használt magyar és roma DNS mintákat egészséges, magyarországi roma és magyar személyektől gyűjtöttük. A roma és magyar DNS minták a Pécsi Tudományegyetem központi biobankjából származtak, mely része a Páneurópai Nemzetközi Biobankhálózatnak (BBMRI; Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure).

Kutatásaink az *SLCO1B1* és az *SLCO1B3* gének 5 funkcionálisan jelentős polimorfizmusának vizsgálatára terjedtek ki.

Az *SLCO1B1* rs2306283 (c.388A>G), rs4149056 (c.521T >C) és rs4363657 (c.1498-1331T>C) polimorfizmusai esetében 470 roma (170 férfi és 300 nő; átlag életkor 39±16 év) valamint 442 magyar (183 férfi és 259 nő; átlag életkor 45±10 év) egyént vizsgáltunk. Az *SLCO1B3* rs4149117 (c.334T>G) és rs11045585 (c.1683-5676A>G) polimorfizmusai esetében 467 roma (172 férfi és 295 nő, átlag életkor 39±15 év) és 448 magyar (204 férfi és 244 nő; átlag életkor 45±11 év) személyt vizsgáltunk.

MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREK

DNS izolálás

A DNS-izolálást EDTA-val alvadásgátolt vérmintákból végeztük.

Polimeráz láncreakció

A DNS-analízis kiindulópontja a polimeráz láncreakcióval (PCR) végzett amplifikáció volt, mely 50µl-es végtérfogatban történt és standard módon az adott szekvenciára specifikus, saját tervezésű szintetikus oligonukleotid primerek - forward és reverse primerek -, dNTP, Taq polimeráz, puffer és genomiális DNS-templát alkalmazásával zajlott.

A PCR termék további vizsgálata gélelektroforézissel, etídium-bromidos festéssel és UV megvilágítással történt.

Direkt szekvenálás

Valamennyi általunk tervezett PCR-RFLP módszer specifikitását és eredményeink megerősítését véletlenszerűen választott mintákon Sanger-féle bidirekcionális szekvenálással

végeztünk, BigDye Terminator v.1.1 cycle sequencing kit alkalmazásával, ABI 3500 Genetic Analyser szekvenátor segítségével.

STATISZTIKAI ELEMZÉS

A populációk és a vizsgált genetikai variánsok között fennálló összefüggések feltárására χ^2 -tesztet és regressziós analízist alkalmaztunk SPSS 20.0 programcsalád felhasználásával, a szignifikancia szintet $p < 0,05$ -nél húztuk meg. A haplotípus analízishez Phase 2.1. programot alkalmaztunk, a kapcsoltsági vizsgálat elvégzéséhez pedig Haploview 3.3 szoftvert használtunk.

4. EREDMÉNYEK

SLCO1B1 GÉN

Genotípus- és allélfrekvencia meghatározás

Az *SLCO1B1* 388A>G, 521T>C és 89595T>C polimorfizmusok genotipizálását követően a kapott genotípusok és allélok frekvenciáját roma és magyar populációban az 1. Táblázat foglalja össze. Az *SLCO1B1* rs2306283 polimorfizmus vizsgálatát követően eredményeinkről elmondható, hogy statisztikailag szignifikáns különbséget észleltünk a variáns és a vad típusú homozigóta genotípusok gyakoriságában roma és magyar populáció között. Az *SLCO1B1* 388AA vad genotípus előfordulási gyakorisága roma populációs mintákban 24,5% volt, magyar mintákban 45,5%. A homozigóta variáns 388GG genotípus frekvenciája 33,4% volt roma és 17,9% volt magyar populációban. Az AG+GG (75,5% vs. 54,5%) variáns SNP-t hordozók gyakoriságában szintén szignifikáns különbség volt megfigyelhető a két vizsgált csoportban, valamint az *SLCO1B1* 388G allél frekvenciájában is (54,5% vs. 36,2%, $p < 0,001$).

Az *SLCO1B1* rs4149056 polimorfizmust illetően megállapíthatjuk, hogy az *SLCO1B1* 521TT vad genotípus gyakoriságában a két populáció között talált eltérés statisztikailag szignifikánsnak mutatkozott. Ez az érték romákban 67,0%, magyarokban pedig 65,2% volt ($p=0,05$). Ezzel szemben a homozigóta *SLCO1B1* 521CC genotípus (1,49% vs. 2,94%) és a variáns *SLCO1B1* 521C allél frekvenciájában (17,2% vs. 18,9%) szintén találtunk különbséget, de ez már nem volt szignifikáns.

Az intronikus *SLCO1B1* c.1498-1331T>C rs4363657 polimorfizmust vizsgálva, a roma és magyar populációkat összehasonlítva eredményeink hasonlóságot mutattak a két csoportban. A homozigóta CC genotípus és ezzel együtt a variáns *SLCO1B1* 1498-1331C allél frekvenciája a magyar mintákban enyhén emelkedett volt a romákhoz viszonyítva, egyenként 3,6% vs. 2,6% és 19,6% vs. 18,5%. Ugyanakkor az *SLCO1B1* 1498-1331 TC heterozigóta genotípusok frekvenciája a két csoportban teljesen megegyezett, 31,9%-ra tehető a roma és a magyar populációban is.

Haplotípus analízis

Az *SLCO1B1* gén 3 vizsgált variánsának együttállásából 8 fő haplotípust (ht) kaptunk. A leggyakrabban előforduló haplotípus a ht8 (GTT) volt mindkét populáció mintáiban, romákban 43,6%-os, magyarokban pedig 59,1%-os előfordulási gyakorisággal. A ht6-os haplotípus (GCT) roma mintákban nem volt kimutatható, magyarokban is mindössze 0,18%-

os frekvenciával. A haplotípus analízis statisztikailag jelentős különbségeket eredményezett a ht4 (ATT, 37,2% vs 20,8%), ht5 (GCC, 1,15% vs. 3,62%) és ht8 (GTT, 43,6% vs. 59,1%) haplotípusok gyakoriságában. E három értékpár között a szignifikancia érték minden esetben $p < 0,01$ -nak bizonyult.

Kapcsoltsági analízis

A Linkage disequilibrium (LD) analízisünk eredménye alapján az rs4149056 és rs4363657 polimorfizmusok között közel teljes linkage disequilibrium áll fent mind roma (LD=95), mind pedig magyar (LD=96) populációban. Roma populációban ezen kívül szintén erős kapcsoltság volt kimutatható az *SLCO1B1* rs2306283 és rs4149056 SNP-k között (LD=86).

SLCO1B3 GÉN

Genotípus- és allélfrekvencia meghatározás

Az *SLCO1B3* gén c.334T>G és c.1683-5676A>G SNP-k vizsgálata során kapott allél- és genotípus frekvencia értékek Hardy-Weinberg egyensúlyban voltak. Ezek gyakoriságát roma és magyar populációban a 2. Táblázat szemlélteti. Az *SLCO1B3* c.334T>G (rs4149117) polimorfizmus vizsgálatát követően az *SLCO1B3* 334GG homozigóta genotípus gyakorisága roma mintákban szignifikánsan magasabbnak mutatkozott, mint magyarokban (41,54% vs. 8,04%, $p < 0,001$). A roma és magyar mintákat összehasonlítva további szignifikáns különbséget észleltünk az *SLCO1B3* 334G variáns allél frekvenciájában (70,56% vs. 52,23%, $p = 0,001$).

Az intronikus *SLCO1B3* c.1683-5676A>G (rs11045585) variánst illetően szignifikáns különbséget észleltünk az 1683-5676G allél gyakoriságában roma és magyar populációs mintákban (3,43% vs. 15,07%, $p < 0,001$). A homozigóta variáns *SLCO1B3* 1683-5676GG genotípus szignifikánsan gyakoribb volt a magyarokban, mint romákban (2,01% vs. 0,43%, $p = 0,028$).

Kapcsoltsági analízis

Linkage disequilibrium analízist végeztünk el a tanulmányozott *SLCO1B3* kódoló c.334T>G (rs4149117) és az intronikus c.1683-5676A>G (rs11045585) polimorfizmusok kapcsoltságának vizsgálatához. Az LD értékek ($|D'| \times 100$) roma és magyar populációs mintákban egyenként 80 és 90 voltak, melyek erős kapcsoltságra utalnak mindkét csoportban.

5. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Jelen dolgozatban a transzporter-mediálta gyógyszerfelvételben szerepet játszó szerves anion transzporter fehérjéket kódoló *SLCO1B1* és *SLCO1B3* gének rs2306283, rs4149056, rs4363657, rs4149117 és rs11045585 variánsainak - mint funkcionálisan releváns polimorfizmusoknak - genetikai vizsgálatát követően, azok gyakoriságát, valamint egészséges roma és magyar populációkban való eloszlását tárgyalom. Az egy nukleotidot érintő polimorfizmusok az *SLCO1B3* génben különböző mértékben magyarázhatják a betegek közötti variabilitást a módosult transzporter aktivitásnak köszönhetően a klinikumban alkalmazott immunszuppresszáns és daganat ellenes gyógyszerek farmakokinetikájában.

SLCO1B1

Az *SLCO1B1* c.388G>A (rs2306283) SNP vizsgálatát követően hasonlóan más kaukázusi populációkhoz, az *SLCO1B1* 388G allél tekinthető a minor allélnak a magyarok körében, míg romákban - hasonlóan a szingapúri indiai populációhoz - a 388A allélt ismerhetjük el, mint minor allélt. (3. Táblázat)

Az *SLCO1B1* c.521T>C (rs4149056) SNP-t vizsgálva elmondható, hogy ez egy gyakori polimorfizmus különböző népcsoportokban; kaukázusiban 8-20%-os, kínaiában 16%-os, japánban 10-16%-os előfordulási gyakorisággal. Az *SLCO1B1* 521C minor allél frekvenciaértéke romákban majdnem háromszorosa más indiai populációs értékeknek (17,2% vs. 6,5%). (3. Táblázat)

A magyar populációból származó 18,9%-os *SLCO1B1* 521C allélfrekvencia érték hasonlóan magas, mint más kaukázusi populációban kapott érték. Az *SLCO1B1* 521C variáns hozza létre az *SLCO1B1**15 haplotípust, melyet összefüggésbe hoztak rifampin-indukálta májkárosodással, továbbá ennek a misszensz polimorfizmusnak az előfordulása jelentősen növeli simvastatin gyógyszer alkalmazása esetén a szisztémás expozíciót, ezzel együtt a simvastatin-indukálta myopathia kialakulásának rizikóját.

Magyar populációs mintákban a 89595C allél frekvenciája enyhén magasabbnak adódott, mint romákban, vagy, mint más európai populációkban. Meglepő módon az *SLCO1B1* 89595C allél gyakorisága a vizsgált roma populációban közel háromszorosa volt más indiai (gujarati) populációhoz viszonyítva, de hasonlóan magasnak bizonyult, mint korábbi kutatók afrikai értékei. Ha összehasonlítjuk roma és magyar allélfrekvencia értékeinket más kutatók nem-HapMap adataival, melyeket az *SLCO1B1* rs4363657 SNP-t vizsgálva kaptunk, feltűnik, hogy hasonló eredményhez jutottunk, mint a korábbi kutatócsoportok kaukázusi egyének

genotipizálását követően. A 89595C intronikus variáns jelenléte, hasonlóan az 521T>C SNP-hez az *SLCO1B1* génben, szintén fokozott kockázatot jelent simvastatin-indukálta myopathiára. (4. Táblázat)

Az *SLCO1B1* rs2306283, rs4149056 és r4363657 SNP-k együttállásából való haplotípus analízis eredményből megállapítható, hogy a leggyakoribb haplotípus az *SLCO1B1* génben a ht8 (rs2306283G/rs4149056T/rs4363657T) volt mind roma, mind pedig magyar populációban. Ezt követte a vad típusú ht4 (rs2306283A/rs4149056T/rs4363657T), majd a ht1 (rs2306283A/rs4149056C/rs4363657C) konstelláció.

A ht6 (rs2306283G/rs4149056C/rs4363657T) magyar mintákban alacsony frekvenciával ugyan (0,18%), de jelen volt, míg roma mintákban nem volt detektálható. A ht2 haplotípus (rs2306283A/rs4149056C/rs4363657T), mely az 521T>C variánst reprezentálja és csökkent transzporter aktivitással jellemezhető roma populációban közel kétszer gyakoribb volt, mint magyar mintákban.

A linkage disequilibrium analízisből származó kapcsoltsági térképeket összevetve megállapíthatjuk, hogy az *SLCO1B1* gén rs2306283, rs4149056 és r4363657 variánsainak kapcsoltsági viszonyairól roma és magyar populációban hasonló következtetések vonhatók le, miszerint az rs4149056 és rs4363657 polimorfizmusok között közel teljes kapcsoltság áll fent mind roma, mind pedig magyar populációban (LD=95 vs. LD=96).

SLCO1B3

Jelentős különbségeket észleltünk az *SLCO1B3* gén vizsgálatát követően a roma és magyar populációk között a c.334T>G és a c.1683-5676A>G polimorfizmusok tekintetében, mely a variáns allélok és a homozigóta variáns genotípusok gyakoriságában egyaránt megmutatkozott.

Az *SLCO1B3* c.334T>G variánst illetően a 334GG homozigóta genotípus több mint ötször gyakrabban fordult elő roma mintákban, összehasonlítva a magyar populációk mintákkal. Az *SLCO1B3* 334G allél frekvenciája a roma csoportban szintén szignifikánsan magasabb volt. Ellentmondásos eredményekkel találkozhatunk az irodalomban az *SLCO1B3* c.334T>G polimorfizmus farmakokinetikai befolyását illetően. Míg Miura és munkatársai az *SLCO1B3* 334GG genotípust a mikofenolsav emelkedett AUC (dose-adjusted area under the curve) értékével hozták összefüggésbe mikofenolát mofetillel történő kezelés során vese transzplantáción átesett betegek körében, addig Picard és kutatócsoportja szerint az *SLCO1B3* 334T allél hordozása állhat a mikofenolsav magasabb AUC értékének hátterében. Ezekkel

szemben, Bouamar és munkatársai 2012-ben publikált eredményei nem mutatnak szignifikáns asszociációt az *SLCO1B3* gén polimorfizmusai és a gyógyszer expozíció között.

Az általunk vizsgált intronikus *SLCO1B3* c.1683-5676A>G variánst tekintve elmondható, hogy az *SLCO1B3* 1683-5676G allél és a GG homozigóta variáns genotípus frekvenciája közel ötször magasabbnak bizonyult magyar minták vizsgálatát követően, szemben a romákkal. Következésképpen ez az emelkedett érték a magyar populáció tagjainak körében csökkent OATP1B3 funkcióval társulhat, mely egy potenciális módosulást eredményezhet a gyógyszeres terápia hatékonyságában.

Az *SLCO1B3* c.1683-5676A>G és c.334T>G polimorfizmusok vizsgálatából származó eredményeinket összevetve a HapMap projekt adataival (5. Táblázat), összefoglalva elmondható, hogy a kapott intronikus *SLCO1B3* 1683-5676G allél frekvenciája roma populációban hasonlóan alacsonynak mutatkozott, mint más indiai populációkban. Az *SLCO1B3* 334G allél frekvenciája roma mintákban viszont a gujarati indiai allélfrekvencia értékeknél alacsonyabbnak bizonyult (70,6% vs. 94,1%), inkább a kínai és japán adatokkal állt összhangban.

Magyar minták genetikai vizsgálatát követően megállapítottuk, hogy az észlelt *SLCO1B3* 1683-5676G allél gyakorisága hasonlóságot mutat más európai populációk variáns allélfrekvencia értékeivel (15,1% vs. 14,7%). Azonban az *SLCO1B3* 334G allél frekvenciája az általunk genotipizált magyar mintákban sokkal alacsonyabbnak adódott, mint más kutatók korábbi, olasz és egyéb európai populációk vizsgálatából származó értékei.

Az LD analízisből származó eredményeket összefoglalva elmondható a két populációról, hogy mindkettő népcsoportban erős kapcsoltság áll fent a két vizsgált SNP között, de a magyar mintákban erősebb a kapcsoltság a roma mintákkal összehasonlítva (LD=90 vs. LD=80).

6. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

- Az *SLCO1B1* c.388A>G SNP-t tekintve roma populációban szignifikánsan emelkedett frekvenciával vannak jelen a 388GG és AG+GG genotípusok, valamint az *SLCO1B1* 388G allél.
- Magyar populációban nagyobb gyakorisággal észleltük az *SLCO1B1* c.521C variáns allélt és a CC homozigóta genotípust.
- Az intronikus *SLCO1B1* c.1498-1331T>C SNP-re nézve a magyar populációs mintákban kissé emelkedett frekvenciával van jelen a 1498-1331CC genotípus és a C variáns, szemben a roma mintákkal.
- A vizsgált rs4363657, rs2306283 és rs4149056 polimorfizmusok együttállásai magyar mintákban 8, roma mintákban 7 különböző haplotípust alakítottak ki.
- A leggyakrabban előforduló haplotípus a ht8 (GTT) volt romákban és magyarokban egyaránt.
- A haplotípus analízis statisztikailag jelentősen emelkedett gyakoriságot eredményezett a ht4 (ATT) haplotípus gyakoriságában roma populációban, a ht5 (GCC) és ht8 (GTT) viszont a magyar populációs mintákban volt gyakoribb.
- Az *SLCO1B1* rs4149056 és rs4363657 polimorfizmusok között erős linkage disequilibrium áll fent roma és magyar populációban.
- Az *SLCO1B3* rs4149117 GG homozigóta genotípus gyakorisága és a variáns *SLCO1B3* 334G allél frekvenciája roma mintákban szignifikánsan magasabbnak mutatkozott, mint magyarokban.
- Az *SLCO1B3* rs11045585 variáns frekvenciája magyar populációban szignifikánsan magasabb volt, mint roma minták esetén.
- A homozigóta variáns *SLCO1B3* rs11045585 GG genotípus szignifikánsan gyakoribb volt a magyarokban, mint romákban.
- Az *SLCO1B3* rs4149117 és rs11045585 polimorfizmusok LD értékei roma és magyar populációs mintákban erős kapcsoltságra utalnak.

7. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

Nagy A, Szalai R, Magyar L, Bene J, Toth K, Melegh B.

Extreme differences in SLCO1B3 functional polymorphisms in Roma and Hungarian populations. Environ Toxicol Pharmacol. 2015 May;39(3).

(IF:2,084)

Nagy A, Sipeky Cs, Szalai R, Melegh B I, Matyas P, Ganczer A, Toth K, Melegh B.

Marked differences in frequencies of statin therapy relevant SLCO1B1 variants and haplotypes between Roma and Hungarian populations. BMC Genetics. 2015.

(IF:2,40)

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. Bock I, Melegh B, Nagy A, Losonczy H, Csete B, Schroder W, Kardos M, Istvan L, Jager R, Toth AM, Toth A, Falko H, Mozsik G.

Molecular biologic study and the factor VIII gene in hemophilia A. Orv Hetil. 1996 Nov 17;137(46):2573-5.

2. Nagy A, Melegh B, Losonczy H.

Study of the Leiden mutation (factor VQ 506), the most frequent cause of thrombophilia, in 116 thrombosis patients. Orv Hetil. 1997 Nov 2;138(44):2797-800. Hungarian.

3. Melegh B, Stankovics J, Kis A, Nagy A, Storcz J, Losonczy H, Mehes K.

Increased prevalence of factor V Leiden mutation in neonatal intracranial haemorrhage. Eur J Pediatr. 1998 Mar;157(3):261.

IF: 1,050

4. Stankovics J, Melegh B, Nagy A, Kis A, Molnár J, Losonczy H, Schuler A, Kosztolanyi G. **Incidence of factor V G1681A (Leiden) mutation in samplings from the Hungarian population.** Orv Hetil. 1998 May 10;139(19):1161-3. Hungarian.

5. Stankovics J, **Nagy A**, Mehes K, Melegh B.

Umbilical venous catheterization and development of Banti syndrome: the possible role of the factor V Leiden mutation. Eur J Pediatr. 1998 Aug;157(8):696.

IF: 1,050

6. David M, Losonczy H, **Nagy A**, Kutscher G, Meyer M.

Screening methods in genetic diagnosis of hereditary protein C deficiency. Orv Hetil. 1999 Jan 17;140(3):125-32. Review. Hungarian.

7. Gasztonyi B, Par A, Szomor A, Battyany I, **Nagy A**, Kereskai L, Losonczy H, Mozsik G. **Hepatitis C virus infection associated with B-cell non-Hodgkin's lymphoma in Hungarian patients.** Br J Haematol. 2000 Aug;110(2):497-8.

IF: 3,068

8. David M, Losonczy H, Sas G, **Nagy A**, Kutscher G, Meyer M.

Identification of mutations in 15 Hungarian families with hereditary protein C deficiency. Br J Haematol. 2000 Oct;111(1):129-35.

IF: 3,068

9. Szomor A, Molnár L, **Nagy A**, David M, Alizadeh H, Kecskes M, Vidra T, Kereskai L, Pajor L, Losonczy H.

Treatment of chronic myeloid leukemia with interferon-alpha. Orv Hetil. 2000 Nov 26;141(48):2601-4. Hungarian.

10. Gasztonyi B, Par A, Szomor A, **Nagy A**, Kereskai L, Losonczy H, Pajor L, Horanyi M, Mozsik G.

Hepatitis C virus infection and B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Orv Hetil. 2000 Dec 3;141(49):2649-51. Hungarian.

11. Kecskes M, **Nagy A**, Vidra T, Kispal G, Radvanyi G, Vezendi K, Hajnal L, Kellner R, Losonczy H.

Screening for carrier state of Haemophilia B using indirect genomic detection. Orv Hetil. 2001 Feb 18;142(7):341-4. Hungarian.

12. Komlosi K, Havasi V, Bene J, Ghosh M, Szolnoki Z, Melegh G, **Nagy A**, Stankovics J, Csaszar A, Papp E, Gasztonyi B, Toth K, Mozsik G, Romics L, ten Cate H, Smits P, Mehes K, Kosztolanyi G, Melegh B.

Search for factor V Arg306 Cambridge and Hong Kong mutations in mixed Hungarian population samples. Acta Haematol.2003;110(4):220-2.

IF: 1,874

13. Molnar L, **Nagy A**, David M, Szomor A, Mehes G, Kovacs G, Losonczy H.

Results of imatinib therapy in late-stage chronic myeloid leukemia after treatment with interferon-alpha. Orv Hetil. 2004 Apr 25;145(17):901-7. Hungarian

14. Toth O, David M, Habon T, **Nagy A**, Keszthelyi Z, Kovacs N, Losonczy H.

Type I antithrombin deficiency as a cause of arterial and venous thrombosis in a family with severe thrombophilia. Orv. Hetil. 2005 Oct 9;146(41):2121-5. Review. Hungarian.

15. Szilagyi A, **Nagy A**, Tamas P, Vizer M, Szabo I, Losonczy H.

Two successful pregnancies following eight miscarriages in a patient with antithrombin deficiency. Gynecol Obstet Invest. 2006;61(2):111-4. Epub 2005 Oct 21.

IF: 0,874

16. Toth O, Szabo C, Kecskes M, Poto L, **Nagy A**, Losonczy H.

In vitro effect of the potent poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor INO-1001 alone and in combination with aspirin, eptifibatide, tirofiban, enoxaparin or alteplase on haemostatic parameters. Life Sci. 2006 Jun 20;79(4):317-23.

IF: 2,389

17. Szendrei T, Magyarlaki T, Kovacs G, **Nagy A**, Szomor A, Molnar L, David M, Tokes-Fuzesi M, Rideg O, Poto L, Pajor L, Kajtar B, Losonczy H.

Multidrug resistance in chronic lymphocytic leukemia.

Orv Hetil. 2008 Jan 27;149(4):161-7. Hungarian.

18. Gerlinger I, Torok L, **Nagy A**, Patzko A, Losonczy H, Pytel J.
Frequency of coagulopathies in cases with post-tonsillectomy bleeding. Orv Hetil. 2008
Mar 9;149(10):441-6. Hungarian.

19. Molnar TF, Benko I, Szanto Z, **Nagy A**, Horvath OP.
Complications after ultrasonic lung parenchyma biopsy: a strong note for caution.
Surg Endosc. 2008 Mar;22(3):679-82.
IF: 3,231

20. **Nagy A**, Losonczy H, Toth O, Kosztolanyi Sz, Miko A, Mozes R, David M.
**Masszív vérzés kezelése magas titerű inhibitoros haemophiliás betegeknél,
szekvenciális áthidaló kezeléssel** Hematológia- 44:(3-4) pp. 148-151. (2011)

21. Cziraki A, Ajtay Z, **Nagy A**, Marton L, Verzar Z, Szabados S.
**Early post-operative thrombosis of the prosthetic mitral valve in patient with
heparin-induced thrombocytopenia.** J Cardiothorac Surg. 2012 Mar 13;7:23.
IF: 0,900

22. Labadi A, **Nagy A**, Szomor A, Miseta A, Kovacs GL.
Factitious hyperkalemia in hematologic disorders. Scand J Clin Lab Invest. 2017
Feb;77(1):66-72.
IF: 1,11

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: **4,484**

Egyéb közlemények összesített impakt faktora: **18,614**

Összesített impakt faktor: 23,098

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A doktori disszertációm alapjául szolgáló kutatómunkát a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézetében végeztem, a Multidiszciplináris Orvostudományok keretén belül, Humán molekuláris genetika témában. Így elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla Professor Úrnak, aki lehetővé tette, hogy részt vegyek a kutatásban, szakmai tevékenységemet mindvégig figyelemmel kísérte, kutató munkámat hasznos meglátásaival irányította és segítette. Szakmai útmutatásával valósulhatott meg, hogy a vizsgálatokat elvégezzük és a disszertációm alapjául szolgáló közleményeim nemzetközi folyóiratokban megjelenhessenek.

Hálámat szeretném kifejezni Dr. Tóth Kálmán Professor Úrnak, a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ I. számú Belgyógyászati Klinika igazgatójának szakmai segítségnyújtásáért, támogatásáért.

Hálás köszönettel tartozom az Orvosi Genetikai Intézet összes dolgozójának, legfőképpen Szalai Renátának, Dr. Berenténé Dr. Bene Juditnak, Dr. Kövesdi Erzsébetnek és Mátyás Petrának a rengeteg szakmai segítségért, amit nyújtottak, valamint az Intézet összes asszisztensnőjének, akik a vizsgálatok elvégzésében segítettek.

Továbbá köszönöm a hazai együttműködő kollégák, kolléganők segítségét, akik közreműködtek a minták gyűjtésével.

1. Táblázat A vizsgált *SLCO1B1* polimorfizmusok genotípus- és allélfrekvencia értékei roma és magyar populációban

Polimorfizmus	rs	Genotípus	Genotípus frekvencia	
			Roma n=470 (%)	Magyar n=442 (%)
c.388A>G	rs2306283	AA	115 (24,5)	201 (45,5)
		AG	198 (42,1)	162 (36,6)
		GG	157 (33,4) ^x	79 (17,9)
		G allélfrekvencia	54,5% ^x	36,2%
c.521T>C	rs4149056	TT	315 (67,0) ^y	288 (65,2)
		TC	148 (31,5)	141 (31,9)
		CC	7 (1,5)	13 (2,9)
		C allélfrekvencia	17,2%	18,9%
c.1498-1331T>C	rs4363657	TT	308 (65,5)	285 (64,5)
		TC	150 (31,9)	141 (31,9)
		CC	12 (2,6)	16 (3,6)
		C allélfrekvencia	18,5%	19,6%

^xp<0,001

^yp=0,05

2. Táblázat Az *SLCO1B3* polimorfizmusok genotípus- és allélfrekvencia értékei roma és magyar populációban

Polimorfizmus	rs	Genotípus	Genotípus frekvencia	
			Roma n=467 (%)	Magyar n=448 (%)
c.1683-5676A>G	rs11045585	AA	437 (93,57)	322 (71,87)
		AG	28 (6,00)	117 (26,12)
		GG	2 (0,43) ^{***}	9 (2,01)
		G allélfrekvencia	3,43% [*]	15,07%
c.334T>G	rs4149117	TT	2 (0,43)	16 (3,57)
		TG	271 (58,03)	396 (88,39)
		GG	194 (41,54) [*]	36 (8,04)
		G allélfrekvencia	70,56% ^{**}	52,23%

^{*}p<0,001

^{**}p=0,001

^{***}p=0,028

3. Táblázat Genotípus- és allélfrekvencia értékek gyakorisága különböző populációkban az *SLCO1B1* G388A és T521C polimorfizmusok kapcsán

Populáció	n	G388A					T521C					Ref.
		%					%					
		AA ¹	AG	GG ¹	AG+GG ¹	G allél ¹	TT ²	TC	CC	TC+CC	C allél	
Roma	470	24,5	42,1	33,4	75,5	54,5	67,0	31,5	1,49	33,0	17,2	
Magyar	442	45,5	36,6	17,9	54,5	36,2	65,2	31,9	2,94	34,8	18,9	
Finn	468	29,3	49,2	21,6	70,8	46,2	63,9	31,8	4,30	36,1	20,2	[170]
Indiai (Észak)	270	31,9	46,7	21,4	68,1	45,0	-	-	-	-	-	[171]
Indiai (Szingapúr)	100	17,0	52,0	31,0	83,0	57,0	87,0	13,0	0,00	13,0	6,50	[172]
Kínai (Szingapúr)	100	5,00	31,0	64,0	95,0	79,5	75,0	24,0	1,00	25,0	13,0	[172]
Kínai (Han)	111	9,00	35,1	55,9	91,0	73,4	73,8	24,3	1,80	26,1	14,0	[173]
Maláj (Szingapúr)	100	2,00	22,0	76,0	98,0	87,0	79,0	20,0	1,00	21,0	11,0	[172]
Brazil	143	55,9	35,7	8,40	44,1	26,2	74,1	23,8	2,10	25,9	14,0	[174]

¹p<0,001

²p=0,05

4. Táblázat Az *SLCO1B1* intronikus (T89595C) polimorfizmus genotípus- és allélfrekvencia értékei roma és magyar populációs mintákban, összevetve a HapMap projekt populációs adataival

Populáció	n	T89595C %				
		TT	TC	CC	TC+CC	C allél
Roma	470	308 (65,5)	150 (31,9)	12 (2,60)	162 (34,5)	0,185
Magyar	442	285 (64,5)	141 (31,9)	16 (3,60)	157 (35,5)	0,196
Európai (CEU)	113	77 (68,1)	35 (31,0)	1 (0,90)	36 (31,9)	0,164
Olasz	102	60 (58,8)	38 (37,3)	4 (3,90)	42 (41,2)	0,225
Indiai (Gujarati, Houston)	101	88 (87,1)	13 (12,9)	0 (0,00)	13 (12,9)	0,064
Japán (Tokió)	113	44 (38,9)	49 (43,4)	20 (17,7)	69 (61,1)	0,394
Kína (Han)	135	44 (32,6)	60 (44,4)	31 (23,0)	91 (67,4)	0,452
Kínai (Colorado)	108	34 (31,5)	44 (40,7)	30 (27,8)	74 (68,5)	0,481
Afrikai (USA)	57	36 (63,2)	18 (31,6)	3 (5,30)	21 (36,9)	0,211
Kenyai (Luhya)	109	78 (71,6)	29 (26,6)	2 (1,80)	31 (28,4)	0,151
Kenyai (Maasai)	156	106 (67,9)	43 (27,6)	7 (4,50)	50 (32,1)	0,183
Nigériai (Joruba)	147	109 (74,1)	36 (24,5)	2 (1,40)	38 (25,9)	0,136
Mexikói (LA)	57	46 (80,7)	10 (17,5)	1 (1,80)	11 (19,3)	0,105

5. Táblázat Az *SLCO1B3* c.1683-5676A>G és c.334T>G polimorfizmusok allélfrekvencia értékei különböző populációkban a HapMap projekt adatai alapján

Populáció	1683-5676A>G		334T>G	
	A %	G %	T %	G %
Roma	96,6	3,4	29,4	70,6
Magyar	84,9	15,1	47,8	52,2
Európai	85,3	14,7	14,3	85,7
Olasz	89,7	10,3	11,4	88,6
Indiai (Gujarati)	95,5	4,5	5,9	94,1
Mexikói	89,7	10,3	12,9	87,1
Afrikai	82,5	17,5	51,8	48,2
Afrikai (Kenya)	75,0	25,0	69,5	30,5
Afrikai (Nigéria)	79,6	20,4	64,4	35,6
Kínai (Han)	81,4	18,6	26,6	73,4
Kínai (Colorado)	85,3	14,7	26,4	73,6
Japán	84,5	15,5	29,9	70,1