

**NON-HLA HAJLAMOSÍTÓ GÉNEK ÉS POLIMORFIZMUSAIK VIZSGÁLATA MAGYAR  
RHEUMATOID ARTHRITIS BETEGPOPULÁCIÓBAN**

Ph.D. értekezés tézisei

FARAGÓ BERNADETT

Témavezető: Dr. MELEGH BÉLA

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar  
Orvosi Genetikai Intézet



PÉCS, 2011.

## **1. BEVEZETÉS**

### **1.1. Az autoimmun betegségekről általában**

Az autoimmunitás mint biológiai jelenség az élő működés egyik lényegi és elválaszthatatlan részét képezi. Annak ellenére, hogy mind molekuláris és sejtszinten, mind pedig a fiziológiás szabályozás részeként folyamatosan zajlanak autoimmun reakciók a szervezetben, az emberi populációban és az állatvilágban egyaránt előfordul számos olyan súlyos - és esetleg az életet is veszélyeztető - betegség, amely a hibás immunreguláció következtében alakul ki, elsősorban az autoreaktív T-sejtek és autoantitestek rendellenes működésének eredőjeként.

Minthogy az autoimmunitás egy hálózatszerűen működő, sokkomponensű szabályozás eredményeként jön létre, a rendszer bármely komponensének (vagy az azt kódoló génnek) a rendellenes működése vezethet az immunrendszer normális funkciójának megváltozásához és egyben valamilyen autoimmun kórkép kialakulásához.

Az autoimmun betegségek mindegyikét jellemzi a saját-antigének elleni abnormális immuntolerancia, valamint a genetikai tényezők bizonyított közrejátszása a kórkép kialakulásában.

Az autoimmun betegségeket két csoportra oszthatjuk aszerint, hogy a szervezet egy vagy több szerve illetve szervrendszere érintett. A szervspecifikus autoimmun betegségek közé tartozik például a diabetes mellitus, a gyulladós bélbetegségek (colitis ulcerosa, Crohn-betegség), a psoriasis, az autoimmun thyroiditisek és számos más kórkép. A szisztémás autoimmun megbetegedések közül a leggyakoribb előfordulást a szisztémás lupus erythematosus, a szisztémás sclerosis, a Sjögren-szindróma és a rheumatoid arthritis (RA) mutatják.

### **1.2. Rheumatoid arthritis**

#### **1.2.1. A rheumatoid arthritis klinikai képe**

A rheumatoid arthritis a leggyakrabban előforduló szisztémás autoimmun betegség: az átlagpopuláció mintegy 1%-át érinti, Magyarországon is. Az egész világon előfordul, Afrikában azonban viszonylag ritka. A legnagyobb prevalenciát az észak-amerikai bennszülött törzsek (Pima, Chippewa) körében mutatja. Megfigyelések szerint a betegség 2,5-szer több nőt érint, mint férfit.

Elsősorban a kisízületeket érintő, krónikus, gyulladós, destruktív kórkép, súlyosabb formában viszont extraarticuláris manifesztációi is lehetnek. Kezelés nélkül a beteg életvitele jelentősen romolhat, mozgáskorlátozottság, tartós rokkantság is bekövetkezhet. Általánosságban elmondható, hogy a tünetek szimmetrikusan érintik a két testfelet. A tünetek közül leggyakoribbak a fájdalom, az ízületi merevség, a perifériás ízületek duzzanata, a lágy szövetek duzzanata, regionális csonttritkulás, az ízületi rés szűkülése, és a rostos ankylosis, ám a klinikai kép igen heterogén lehet.

A tünetek bármely életkorban jelentkezhetnek, leggyakrabban viszont a 40. és 70. életév között manifesztálódnak. A synovitisből eredő ízületi leépülés a betegek 70%-ánál már az első két évben bekövetkezik, és radiográfiai módszerekkel már kimutatható.

MRI-vel a betegség első négy hónapjában már felfedezhetők synoviális hipertrófiák, csontödémák és más korai erozív elváltozások.

### **1.2.2. Szerológiai jellemzők**

Az RA diagnosztikája a klinikum, a képalkotó- és a laboratóriumi eljárások együttes értékelésén alapszik. Habár számos szerológiai teszt elvégezhető, két olyan, a vérből könnyedén kimutatható faktorról érdemes említést tennünk, amely nagy specifitással és érzékenységgel bír a rheumás betegek esetében.

A rheumatoid factor (RF) olyan autoantitest, amely közvetlenül a normál emberi immunglobulin-G (IgG) Fc-régiójához kötődik, de más immunglobulin-izotípusokhoz való kapcsolódását is azonosították (IgE, IgM, IgA, IgG). A gyakorlatban az IgM-RF mérését szokták elvégezni. Az RF a RA-betegek 75%-ában jelen van, a maradék 25%-ban ugyanakkor annak ellenére sem detektálható, hogy a beteg mutatja a RA egyéb specifikus tüneteit. Ezzel ellentétben viszont különböző fertőzések és más rheumatológiai betegségek fennállásakor az RF előfordulhat egészséges (azaz nem RA-s) egyénekben is. Ráadásul a megfigyelések szerint a nagy mennyiségű kávéfogyasztás és a dohányzás is elősegíti a RF felhalmozódását. A faktor RA-specifitása tehát nem számottevő. Az esetek csupán 19,3%-ában mutatható ki még a specifikus rheumatoid arthritis-es tünetek megjelenése előtt, így prognosztikus értéke is csekély. Az viszont tény, hogy az RF-szeropozitív betegek kórlefordulása gyorsabb és súlyosabb, továbbá gyakran extraarticularis manifesztáció is megfigyelhető. Összegzésként elmondható, hogy az RF ELISA-teszttel való kimutatása szűrő tesztként nem alkalmazható, általában akkor bizonyul hasznosnak a vizsgálat elvégzése, ha más, RA-ra utaló tüneteket is tapasztaltak a páciensnél.

A rheumatoid faktor relatíve alacsony specifitása arra vezetett, hogy más, specifikusabb és érzékenyebb RA-autoantitestek után kutassanak.

Az anti-ciklikus citrullinált peptid elleni antitest (anti-CCP) olyan peptidek ellen termelődik, melyek enzimatisz átalakítás során citrullinált formába kerültek (ez egy arginin-citrullin átalakulást jelent). Az anti-CCP antitestek közvetlenül a gyulladt régióban keletkeznek, RA-ban a citrullinált fehérjék a synoviumban lokalizálódnak. Az anti-CCP az RF-nél kisebb érzékenységgel (66,4%), ám jóval nagyobb specifitással (97,1%) rendelkező szerológiai faktor. Az anti-CCP-teszt érzékenységét annak köszönheti, hogy a citrullinált peptidek elleni humorális immunválasz dysregulációjának mechanizmusa RA-specifikus. Az autoantitest már a korai RA-ban is 40-60% valószínűséggel kimutatható, és az RF-negatív betegek 34,5%-ában is megtalálható, főleg a betegség korai szakaszában. Jelenléte utalhat ízületi destrukció és progresszív kórlefordulás későbbi kialakulására.

Az anti-CCP és RF együttes előfordulása 28,9-szeres valószínűséggel predestinálja az RA kialakulását az egészséges, anti-CCP-re és RF-re egyaránt szeronegatív populációhoz képest.

### **1.2.3. A rheumatoid arthritis etiológiája**

Hasonlóan más autoimmun kórképekhez, az RA kiváltásában is számos egyidejűleg érvényesülő tényező játszik szerepet. Egyrészt fontos a genetikai hajlam, másrészt, feltételezhető valamilyen mikrobiális ágens által kiváltott infekció szerepe is, és részt vehetnek benne valódi autoimmun mechanizmusok is. Minthogy az RA végső soron egy krónikus gyulladás kialakulásával jár, a betegség inkább tekinthető úgynevezett „immunoinflammatórikus” kórképnek, mint valódi autoimmun megbetegedésnek.

### 1.2.3.1. Környezeti faktorok

A kórkép kialakításában esetlegesen szerepet játszó környezeti faktorokkal kapcsolatban számos tanulmány született, ám következtetések egymásnak ellentmondóak: míg a dohányzás feltételezhetően elősegíti az RA manifesztálódását, addig az alkohol – úgy tűnik – ezzel ellentétes hatással bír. A kávéfogyasztás, az orális fogamzásgátlók szedése, az obezitás és az elsőfokú rokonok közötti skizofrénia előfordulása szintén növelik a hajlamot, hatásuk azonban függ a beteg szerológiai sajátosságaitól, például az anti-CCP-státusztól. Egy dán tanulmány szerint egyedül a nőbetegek életkora a menarche idején mutat szignifikáns predispozíciót a betegségre, függetlenül a beteg anti-CCP-szerológiájától.

Számos kutató feltételez valamilyen bakteriális vagy vírusos fertőzést az RA hátterében: leginkább a Mycobacteriumok, Streptococcusok, Proteus, Chlamydia fajok, parvovirus B19, rubeola-, és HIV-vírusok kerültek a kutatás fókuszába, de kétséget kizáróan egyikük hajlamosító mivolta sem nyert igazolást<sup>1</sup>. Feltételezhetően csak meghatározott genetikai hátterű egyéneknél érvényesülhet egyik vagy másik fertőző ágens kóroki szerepe.

### 1.2.3.2. Genetikai faktorok

Monozigóta és dizigóta ikreken végzett kutatások arra utalnak, hogy az RA kialakulásában mintegy 60%-ra tehető a genetikai faktorok szerepe. A fennmaradó 40%-ért a fent tárgyalt környezeti tényezők felelősek.

A genetikai predispozíció körülbelül felét teszi ki a humán leukocita antigén (*HLA*) génkomplex meghatározott variánsainak jelenléte, míg a hajlam további kialakításában illetve növelésében egymástól független gének és ezek polimorfizmusainak egyike-másika (esetleg sok különböző variáns együttes jelenléte) vesz részt.

#### 1.2.3.2.1. A HLA génkomplex

A rheumatoid arthritis és más autoimmun betegségek genetikai hátterének kutatása során legelőször a *HLA*-génkomplex hajlamosító, és a betegség lefolyását döntően meghatározó szerepére derült fény.

A *HLA*-gének által kódolt MHC (major histocompatibility complex)-molekulákat három osztályba sorolhatjuk. A rheumatoid arthritis tekintetében a II. osztályba tartozó molekulákról (MHC-II.) érdemes szót ejtenünk. Ezek olyan immunoglobulin szerkezetű sejtfelszíni glikoproteinek, melyek az antigén-prezentációban játszanak szerepet. Közreműködésük szükséges a humorális és celluláris immunválasz együttes kiváltásához. Leginkább a B- és aktivált T-sejtekben, valamint makrofágokban expresszálódnak.

Az MHC-II. molekulákat kódoló génlókuszokat *HLA-DR*, *DQ* és *DP* nevekkel jelölik, és mindegyik lókuszt számos alléllal rendelkezik. A *HLA*-gének szoros kapcsoltságban állnak egymással, így egy egységként (haplotípusként) öröklődnek.

Patogenetikai szempontból a betegséggel asszociált MHC-molekulatípusok a DRB-lánc harmadik hipervariábilis régiójában egy meghatározott és erőteljesen konzervált, öt aminosavból álló szekvenciát hordoznak, melyet megosztott (shared) epitópnak nevezünk. Ezen szekvenciákat bizonyos, az RA kialakulásában feltehetőleg szerepet játszó mikroorganizmusok is hordozzák, és az antigén-prezentáció során kiemelt affinitással prezentálódnak.

Újabb kutatások kiderítették azonban, hogy a Gregersen-féle shared epitóp hipotézis a valóságban nem állja meg maradéktalanul a helyét, minthogy a kaukázusi népesség 45%-a hordozza a shared epitópot anélkül, hogy RA-ban szenvedne.

### 1.2.3.2.2. Egyéb hajlamosító gének

A rheumatoid arthritis heterogén klinikai képe arra engedett következtetni, hogy a kórkép etiológiájában a *HLA* mellett még számos más gén és azok polimorfizmusai is szerepet játszanak. Az azonosított genetikai ágensek közt elsősorban az RA patogenezisében kiemelt jelentőséggel bíró citokinek, kemokinek és ezek receptorait kódoló gének mutációit, polimorfizmusait találjuk. Ezen polimorfizmusok közül – a teljesség igénye nélkül - néhány az *interleukin-1 (IL-1)*, *IL-1 promoter*, *tumor-nekrózis-faktor- $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) promoter*, az *interferon- $\gamma$  (IFN $\gamma$ )*, *IL-3*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *IL-12*, a *CCR5* kemokin-receptor, a *p53 tumor-szupresszor*, az *NFKBIL1* (Nuclear factor kappa-B inhibitor-like 1 gén), és a *STAT4* (signal transducer and activator of transcription 4 gén) génekben lokalizálódik, és napjainkig ezen variánsok prediszpozáló szerepe a leginkább alátámasztott.

## 2. VIZSGÁLATI CÉLKITŰZÉSEK

### 2.1. Genetikai variánsok

Munkánk során olyan gének és azok polimorfizmusainak előfordulási gyakoriságát és esetleges hajlamosító jellegének vizsgálatát tűztük ki célul, melyek esetében magyar populációra vonatkozó adatok korábban nem voltak fellelhetőek a nemzetközi irodalomban. Igyekeztünk olyan géneket választani, melyeknek az RA kialakulásában illetve lefolyásában betöltött szerepe valamely okból nem volt egyértelmű: az irodalmi adatok alapján populációfüggő hatással bírt, vagy csupán az RA betegpopuláció valamely meghatározott alcsoportjában bizonyult relevánsnak.

#### 2.1.1. PADI4 gén variánsai által kódolt haplotípusok

A peptidil-arginin-deimináz (PADI) enzimeket kódoló gének az 1p36 kromoszóma-régióban lokalizálódnak. Az általuk kódolt enzimek a fehérjék poszt-transzlációs citrullinálását katalizálják. A négyféle enzim közül a PADI4 bizonyult az RA szempontjából fontosnak. A PADI enzimek által deiminált proteinek kimutathatók a neurodegeneratív léziókban, ahol fokozott mértékű apoptózis zajlik, valamint leukocitákban is megfigyelték a jelenlétüket in vitro apoptózis-indukálást követően.

A citrullinált fehérjék ellen a szérumba anti-CCP és más RA-specifikus autoantitestek választódnak ki. Az anti-CCP – az RF mellett - a rheumás betegek egyik legspecifikusabb és legszenzitívebb markere, így feltételezhető, hogy a citrullinálás folyamata az RA patomechanizmusának egyik fontos mozzanata. Könnyen beláthatjuk, hogy a citrullinálást végző enzimeket kódoló génekben történő változások közvetve (az enzimek aminosav-szekvenciáját és ezáltal immunológiai funkcióját érintve) szerepet játszhatnak a kórkép kialakulásában. Ázsiai populációkon végzett tanulmányok arra a következtetésre jutottak, hogy valóban léteznek olyan természetesen előforduló *PADI4*-gén (MIM 605347) variánsok, melyek növelik az RA kialakulásának esélyét. Ezzel szemben európai (brit, francia, spanyol) népcsoportokban ezidáig nem sikerült bizonyítani az ázsiaiakban vizsgált variánsok hajlamosító voltát. Mindössze egyetlen német publikáció számol be arról, hogy a *PADI4* gén egy funkcionális haplotípusa összefügghet a betegséggel.

Célunk az, hogy 1) meghatározzuk a magyar RA-betegpopulációban előforduló *PADI4*-haplotípusokat és azok gyakoriságát, 2) teszteljük, hogy valamely haplotípus hordozása jelent-e megnövekedett hajlamot az RA kialakulására, és 3) megvizsgáljuk, hogy van-e különbség az egyes, szerológiai tulajdonságaik alapján meghatározott RA-

alcsoportokban a haplotípusok előfordulása és gyakorisága között. Utóbbi kérdéseinkre a válasz arra is magyarázatot adhat, van-e összefüggés valamely haplocsoport hordozása és az anti-CCP illetve RF antitestek jelenléte között.

### 2.1.2. *PTPN22* gén, 1858C/T variáns

A protein tirozin foszfatáz gén (*PTPN22*; MIM 600716) egy lymphocitákban expresszálandó gén, mely az intracelluláris protein-tirozin-foszfatáz 22-es nem-receptor típusának kódolásáért felelős. Az általa meghatározott fehérje lymphoid-specifikus foszfatáz (Lyp) néven is ismert. A *PTPN22* gén 1858C/T variánsát tekintve bizonyítást nyert, hogy számos autoimmun betegség, köztük az 1. típusú diabetes mellitus, a szisztémás lupus erythematosus, egyes thyroiditisek és a rheumatoid arthritis kifejlődésének rizikóját is növeli. A 1858C/T szubsztitúció a fehérjetermék 620. kodonjában egy arginin → triptofán cserét eredményez (R620W). Ez a változás a *PTPN22* fehérje SH3 kötőhelyének konformációját módosítja, ezáltal megváltoztatja a molekula kötődését az intracelluláris c-src protein-tirozin-kinázhoz (Csk). Fiziológiásan ez a két molekula egymáshoz kötődve inaktíválja a lymphocita-specifikus protein-tirozin-kinázt, amely a korai T-sejt-aktiváló rendszerek negatív regulációjában vesz részt. Összességében tehát a *PTPN22* gén 1858T variánsa a módosult T-sejt-aktiváción keresztül szerepet játszhat olyan gyulladásszerű betegségek patológiás immunválaszának létrejöttében, mint amilyen például az RA is.

A nemzetközi irodalomban ellentmondó eredmények jelentek meg arra vonatkozólag, hogy a beteg anti-CCP illetve RF-szeropozitivitása mennyiben befolyásolja a 1858C/T variáns és a rheumatoid arthritis közötti, máskülönben szinte kétségtelenül fennálló korrelációt. Célkitűzésünk tehát – azon túl, hogy magyar betegpopuláción először vizsgáljuk ezen *PTPN22*-variáns előfordulását és gyakoriságát - az volt, hogy választ kapjunk a kérdésre, miszerint a 1858C/T allél hordozása a beteg szerológiai sajátosságaitól függetlenül jelent-e fokozott hajlamot RA-ra, vagy szerepe csupán az anti-CCP- illetve RF-szeropozitív szubpopulációban számottevő.

### 2.1.3. *CTLA4* gén, +49A/G és CT60 variánsok

A citotoxikus T lymphocita-asszociált antigén (*CTLA4*) egy, a CD4+, CD8+ T-sejtekben, valamint a B-sejtekben expresszálandó sejtfelszíni molekula. Expressziója illetve denzitása a sejt felszínén az adott T-sejt aktiváltsági állapotától függ. A CD28 molekulával ellentétben, amely az antigén-prezentáló sejteken lévő B7-1 vagy B7-2 receptorokhoz kötődve aktiváló szignált küld a T-sejtek felé, a *CTLA4* inhibitoros faktorként van jelen a T-sejt aktiváló rendszerekben.

A *CTLA4* gén (MIM 123890) polimorfizmusainak szerepét számos T-sejt által mediált autoimmun kórkép patomechanizmusában sikerült igazolni. Ilyen betegségek például az 1. típusú diabetes mellitus, a szisztémás lupus erythematosus, a Hashimoto thyroiditis, az Addison-kór, a Grave-kór, a sclerosis multiplex és a cöliákia.

A két leggyakrabban vizsgált *CTLA4*-polimorfizmus, a Nistico által azonosított, és a gén 1. exonjában lokalizálódó +49A/G (T17A) tranzíció G allélja, valamint az Ueda és munkatársai által leírt másik, 3'-UTR régióban lokalizálódó polimorfizmus, a CT60 (6230A/G) G variánsa egyes munkák szerint fokozza a rheumatoid arthritis kialakulására való hajlamot is, habár a nemzetközi álláspont e tekintetben nem tekinthető egységesnek. Míg jó néhány kutatás alátámasztja a két egyponos nukleotid polimorfizmus (single nucleotide polymorphism, SNP) RA-ban játszott szerepét, addig mások nem találtak összefüggést a betegség és a genetikai variánsok hordozása között.

Célunk az, hogy megvizsgáljuk a két polimorfizmus előfordulását és gyakoriságát a magyar betegpopulációban, különös tekintettel a két SNP által meghatározott haplotípusokra.

#### **2.1.4. *IL-23R* gén rs10889677C/A, rs2201841T/C és rs1884444G/T variánsai**

Az interleukin-23 citokin (*IL23*) és receptora (*IL23R*), valamint az azt kódoló gén csak nemrégiben került a kutatások fókuszába. Az *IL23* fontos szerepet játszik a veleszületett és T-sejt által mediált gyulladásos folyamatok létrejöttében. Duerr és munkatársai az *IL-23* receptor génjének (GenBank NM\_144701, GenelD 149233) 12 polimorfizmusát vizsgálták, és szoros összefüggést találtak egyes allélok hordozása és a gyulladásos bélbetegségek (inflammatory bowel diseases = IBD) között. Míg egyes variánsok fokozott hajlamot jelentenek IBD-re (rs10889677, rs2201841, rs1004819, rs11209032, rs1495965), addig mások védő szereppel bírnak (rs11209026, rs10489629, rs11465804, rs7517847, rs1343151), míg megint mások közömbösnek bizonyultak (rs7530511, rs1884444).

Genetikailag deficiens állatokon végzett vizsgálatok arra utalnak, hogy az *IL-23R* génnek nemcsak a gyulladásos bélbetegségekben, hanem a kollagén-indukálta arthritisben is fontos szerepe lehet. Ezek a megfigyelések sarkalltak minket arra, hogy az *IL-23R* gén három kiválasztott variánsának előfordulását humán RA-populációban megvizsgáljuk. A Duerr által leírt polimorfizmusok közül két, Crohn-betegségre hajlamosító variánst: a 3'-UTR régióban lokalizálódó rs10889677 allélt és a 7. intronban található rs2201841 variánst, valamint a közömbös rs1884444 SNP-t választottuk, mely utóbbi His3Gln cserével jár.

### **3. BETEGEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK**

#### **3.1. A vizsgált beteganyag**

A munkánkhöz felhasznált DNS-minták mindegyike a Nemzeti Biobank Hálózathoz (www.biobank.hu) származik, melynek létrehozásában és fenntartásában intézetünk is fontos szerepet vállalt. A biobankban ezidáig 452 rheumatoid arthritis-es beteg vérmintáját gyűjtöttük össze, de reményeink szerint ez a szám folyamatosan nőni fog. A mintáknak csaknem fele (n=236) a Pécsi Tudományegyetem saját gyűjtése, míg a többi mintát (n=216) a Debreceni Tudományegyetem bocsájtotta rendelkezésünkre. A betegek mindegyike az átlag magyar populáció tagja, így a betegcsoport a magyarországi kisebbségeket azok természetes előfordulási gyakoriságával reprezentálja. Csak olyan páciensek mintáit használtuk fel kutatásaink során, akik megfelelnek az American College of Rheumatology által felállított és világszerte elfogadott diagnosztikai kritériumoknak.

A kontroll-csoportba 297 klinikailag egészséges személyt választottunk, akik mindegyike önkéntes véradók, valamint intézeteink hallgatói és dolgozói közül került ki. A kontrollok kor és nem szerinti megoszlását az RA-betegcsoport hasonló sajátságaihoz igazítottuk; a kisebbségi előfordulás a normális eloszlás szerinti volt.

#### **3.2. Szerológiai jellemzés**

Betegeink és kontrolljaink mindegyikének nem-hemolizált vérszérumából elvégeztük az RF kimutatására szolgáló Factor Screen ORG522S tesztet (ORGENTEC Diagnostika GmbH; Mainz, Németország). Az anti-CCP autoantitestek detektálására az Euro-Diagnostica (Malmö, Svédország) által gyártott enzim-immunoassay-t alkalmaztuk.

Kontroll-csoportunkba csak olyan minták kerültek, melyek mind az RF, mind pedig az anti-CCP jelenlétére negatívnak bizonyultak.

### 3.3. Genotípus elemzés

A DNS-izolálást EDTA-val alvadásgátolt vérmintákból végeztük kisózásos módszerrel. A DNS-analízis kiindulópontja a polimeráz láncreakció (PCR) módszerével végzett amplifikáció, mely standard módon az adott szekvenciára specifikus, szintetikus oligonukleotid primerek, Taq-polimeráz, dNTP, puffer és genomiális DNS-templát jelenlétében zajlott. A PCR termék analíziséhez agaróz gélelektroforézissel, etidium bromidos festéssel, majd azt követő detektálása UV-megvilágítással történt. A vizsgálataink fókuszában lévő gének (*PADI4*, *PTPN22*, *CTLA4*, *IL-23R*) különböző mutációinak/polimorfizmusainak meghatározására restriktív fragment-hosszúság polimorfizmus (RFLP) eljárásokat alkalmaztunk.

A biobankban való tárolásra és a DNS-analízisre etikai bizottsági engedély birtokában került sor. A vizsgálatok a Pécsi Orvostudományi és Egészségtudományi Központ Regionális Kutatás-etikai Bizottsága által 2000. július 10-én és 2003. február 4-én, valamint az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományi és Kutatás-etikai Bizottságának 2004. március 9-én kiadott engedélyei alapján történtek. Munkánk során betartottuk a nemzetközileg elfogadott, 1975-ös Helsinkii Deklaráció ajánlásait is.

#### 3.3.1. *PADI4* gén variánsai által kódolt haplotípusok

Munkánk során minden betegben hat olyan *PADI4*-polimorfizmust genotipizáltunk, melyek haplotípust alkotva öröklődnek. A hat variáns a következő: 4 exonikus *PADI4* SNP: *padi4\_89* (163G/A, GenBank rs11203366), és *padi4\_90* (245T/C, GenBank rs11203367) a 2. exonban, *padi4\_92* (335C/G, GenBank rs874881) a 3. exonban és *padi4\_104* (349C/T, GenBank rs1748033) a 4. exonban; valamint 2 intronikus SNP: *padi4\_94* (17535226C/T az 1. kromoszómán, GenBank rs2240340) és *padi4\_102* (17546809C/T az 1. kromoszómán, GenBank rs2240337). A természetesen előforduló haplotípusokat a 2. Táblázatban gyűjtöttük össze. A négy exonikus variáns mindegyike aminosav-cserét eredményez a fehérje-termékben, sorrendben ezek a módosulások a következők: Gly55Ser, Val82Ala, Gly112Ala, és Leu117Leu cserék.

A célszekvenciák amplifikálásához a következő specifikus primerpárokat alkalmaztuk: *padi4\_89*\*G/A esetében forward 5'-CTC CTC ACT GCA TCC TCT GCT-3' és reverse 5'-CTT TCA TCG TCA GGG TCA CCT CTA-3'; *padi4\_90*\*T/C esetében forward 5'-CAA AGT CCC ACG ATC TGC AAG-3' és reverse 5'-AGG ACA CTA TGG CTG GAA GAA GC-3'; *padi4\_92*\*G/C esetében forward 5'-AGC TTT TTG CTT TCC CTC CAT T-3' és reverse 5'-GTC TGA CTG GCT AGA AAC CAT GC-3'; *padi4\_94*\*C/T esetében forward 5'-CTC ACC AAC CTC TCC TGG TAC-3' és reverse 5'-TCA CCA ATT GTG GGT TCA GA-3'; *padi4\_102*\*C/T esetében forward 5'-CTG GCC CAG GCA CCA CCA G-3' és reverse 5'-AGG GTT TCG GCA GCT GTG CC -3', valamint *padi4\_104*\*C/T esetében forward 5'-CAT CAC AGT TGT GGC CCC G-3' és reverse 5'-GCG GGT GAT GTC TGC GCC C-3'. A mismatch bázisokat aláhúzással jelöltük. A PCR-amplifikációkat a *PADI4* gén és a további munkáink során (*PTPN22*, *CTLA4*, *IL23R*) is MJ Research PTC 200 thermal cycler készüléken végeztük. A *PADI4* variánsok vizsgálata során a következő protokollt alkalmaztuk 35 PCR-cikluson keresztül: elődenaturáció 95°C-on 2 percig, denaturáció 94°C-on 30 másodpercig, primer-kötődés 55°C-on 30 másodpercig (*padi4\_102* és *padi4\_104* esetén 60°C-on, *padi4\_94* esetén pedig 57°C-on), DNS-szintézis 72°C-on 30 másodpercig. A végső szintézis 72°C-on, 5 percig zajlott.



Az amplikonokat allél-specifikus endonukleázokkal emésztettük: *padi4\_89* esetén *HaeIII*, *padi4\_90* esetén *MlsI*, *padi4\_92* esetén *HpaII*, *padi4\_94* esetén *KpnI*, *padi4\_102* esetén *RsaI*, és *padi4\_104* esetén *PasI* enzimmel inkubáltuk. Mint minden munkánk során, ez esetben is minden amplikon tartalmazott egy obligát enzim-hasító helyet annak érdekében, hogy az emésztés 100%-os hatékonyságát ellenőrizhessük. A restriktív fragmentek elválasztásához agaróz gélen elektroforézist alkalmaztunk. A fragmentek vizualizálása UV-megvilágítással történt.

### 3.3.2. *PTPN22* gén, 1858C/T variáns

A 1858C/T polimorfizmus (GenBank rs2476601) alléljainak meghatározásához PCR/RFLP módszert használtunk. A célszekvencia amplifikálásához a forward 5'-TTT TAG ACA TCA AAT GTT GCT CAG-3' és reverse 5'-AAG AGA ATT TAT TTT GCT TTT TCC-3' primerpárt terveztük és alkalmaztuk. A PCR-reakciót az alábbi kondíciók mellett végeztük 35 PCR-cikluson keresztül: elődenaturáció 96°C-on 3 percig, denaturáció 96°C-on 30 másodpercig, primer-kötődés 55°C-on 30 másodpercig, DNS-szintézis 72°C-on 30 másodpercig, a végső szintézis 72°C-on, 10 percig történt.

Az amplikonokat *RsaI* restriktív endonukleázzal (vagy izoschizomerével, az *AfaI* enzimmel) emésztettük. A C allél esetében 44, 223 és 421 bp hosszúságú fragmenteket, a T allél esetében pedig 267 és 421 bp hosszúságú DNS-szakaszokat különítettünk el agaróz gél-elektroforézis segítségével. Heterozigóta genotípusú (TC) betegek mintájában mind a négy különböző hosszúságú fragment jelen volt.

### 3.3.3. *CTLA4* gén, A+49G és CT60 variánsok

A *CTLA4* gén +49A/G (GenBank rs231775) és CT60A/G (GenBank rs3087243) polimorfizmusainak PCR módszerrel történő amplifikálásához a +49G/A variánst tartalmazó szekvencia esetében következő primerpárt használtuk: 5'-CTT GAG GTT GTC TTT TCG AG-3' (forward) és 5'-TAC TAA ATA CCT GGC GCT CT-3' (reverse); míg a CT60 SNP-t magában foglaló szekvencia felerősítését a 5'-ATC TGT GGT GGT CGT TTT CC-3' (forward) és 5'-TGG AAA CCA AAT GTG CTG AG-3' (reverse) primerekkel végeztük. A PCR-reakció során 35 cikluson keresztül a következő lépéseket alkalmaztuk: elődenaturáció 96°C-on 3 percig, denaturáció 96°C-on 45 másodpercig, primer-kötődés 56°C-on 45 másodpercig, DNS-szintézis 72°C-on 45 másodpercig, a végső szintézis 72°C-on, 10 percig történt. Az RFLP során a PCR-termékeket *BseXI* (+49A/G) illetve *Maell* (CT60) restriktív endonukleázokkal emésztettük meg.

Az agaróz gélelektroforézist követően UV-megvilágítás alatt az alábbi fragmenteket detektáltuk: a +49A/G variáns meghatározásakor A allél esetén 39 bp és 541 bp, G allél hordozásakor 39 bp, 261 bp és 274 bp hosszú fragmenteket; CT60A/G vizsgálatokor A allél jelenlétében 202 bp és 403 bp, G allél jelenlétében pedig 151, 202 és 252 bp hosszúságú fragmenteket láttunk. Heterozigóták esetében mindkét meghatározásnál az összes lehetséges méretű fragment jelen volt.

### 3.3.4. *IL-23R* gén rs10889677C/A, rs2201841T/C és rs1884444G/T variánsok

A három kiválasztott *IL23R* polimorfizmust (GenBank rs10889677, rs2201841, valamint rs1884444) tartalmazó szekvenciák felerősítéséhez az alábbi oligonukleotid-párokat alkalmaztuk: az rs10889677 esetében 5'-ATC GTG AAT GAG GAG TTG CC-3' mint forward és 5'-TGT GCC TGT ATG TGT GAC CA-3' mint reverse; az rs2201841 esetében 5'-

GGC AAA AGG GAA TTG AGA GG-3' mint forward és 5'-GGC CTA TGA TTATGC TTT TTC CTG-3' mint reverse; végül a rs1884444 variáns esetén 5'-CAG TCT TTT CCT GCT TCC AGA CAT GAA TC-3' mint forward 5'-AAT AAA ATC ATA CTC TTG CCA ATG GCC C-3' mint reverse primerek. A mismatch bázisokat aláhúzással jelöltük.

Az RFLP során *MnII* (rs10889677), *HpyF3I* (rs2201841), illetve *Psci* (rs1884444) restriktációs endonukleázokkal emésztettük a PCR-termékeket. Az rs10889677 amplikonjának emésztése C allél jelenlétében 61, 185 és 225 bp hosszúságú fragmenteket, míg A allél jelenlétében 185 és 286 bp emésztési termékeket eredményezett. Az rs2201841 polimorfizmus T allélját 163 és 257 bp hosszú DNS-szakaszok, míg C allélját 25, 163 és 232 bp hosszú fragmentek reprezentálták. Az rs1884444 SNP G allélja esetén 191 és 318 bp, T allélja esetén 28, 191 és 290 bp hosszú fragmenteket detektálhattunk. Heterozigóták mintájában mindhárom vizsgálatnál jelen volt az adott polimorfizmus mindkét alléljára jellemző összes fragment.

### 3.4. Statisztikai analízis

SPSS 11.5 programcsalád segítségével,  $\chi^2$ -tesztet és regressziós analízist alkalmaztunk a betegség és a vizsgált genetikai variáns, valamint a szerológiai jellemzők között fennálló összefüggések feltárására.

Az *IL23R* gén polimorfizmusai közötti kapcsoltsági vizsgálatokhoz a Haploview 4.1 programot használtuk. Az eredményeket az  $R^2$  korrelációs koefficienssel és a  $D'$  valószínűségi változóval adtuk meg.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. *PADI4* gén variánsai által kódolt haplotípusok

Munkánk során 214 RA-beteg (41 férfi és 173 nő, átlag életkor  $57,1 \pm 14,5$  év) és 194 kontroll (108 férfi és 86 nő, átlag életkor  $36,5 \pm 10,5$  év) DNS-mintáját genotipizáltuk. Mind a hat vizsgált egy pontos nukleotid polimorfizmus esetében az allél-frekvenciákat Hardy-Weinberg egyensúlyban találtuk a beteg- és a kontroll-populációban egyaránt.

Az egészséges kontrollokhoz viszonyítva a variánsok egyike sem mutatott szignifikáns halmozódást a rheumás csoportban (az adatokat nem tüntettük fel). A *padi4\_102* variáns esetében a T allél jelentősen nagyobb előfordulási gyakoriságát tapasztaltuk a kontroll-csoportban, a betegek körében látottakhoz képest (15,2% vs. 24,4%;  $\chi^2=5,05$ ;  $p=0,025$ ; OR=0,54; 95%CI: 0,32-0,93).

A vizsgált mintacsoportokban megtalálható haplotípusokat és előfordulási gyakoriságukat a 2. Táblázatban foglaltuk össze. A legnagyobb gyakoriságot az 1. haplotípus (amelyet a *padi4\_89*\*A, *padi4\_90*\*C, *padi\_92*\*C, *padi4\_94*\*C, *padi4\_102*\*C és *padi4\_104*\*C allélok együttes jelenléte jellemez), valamint a 2. haplotípus (*padi4\_89*\*G, *padi4\_90*\*T, *padi4\_92*\*G, *padi4\_94*\*T, *padi4\_102*\*C és *padi4\_104*\*T) mutatta. A genotipizálás során találtunk 1B haplotípust hordozó mintákat is (az elnevezések tekintetében Hoppe és mtsai. munkáját követtük), mely haplocsoportot a hat vizsgált SNP három különböző haplotípusra jellemző allélja határoz meg: a *padi4\_89*\*A, *padi4\_90*\*C és *padi4\_92*\*G allélok együttes előfordulása jellemzi. Az 1B haplotípus betegekben és kontrollokban tapasztalt gyakorisága azonban nem mutatott egymáshoz képest különösebb eltérést. Hasonlóképpen, egyik detektált haplotípus halmozódását sem tapasztaltuk a beteg-csoportban a kontrollokhoz képest.

Nem találtunk összefüggést a haplotípusok megoszlása és a betegség között az RF- illetve anti-CCP antitestek jelenléte alapján elkülönített rheumatoid arthritis-es szubpopulációkban sem, akár az egészséges kontrollokhoz viszonyítottuk őket, akár a szeropozitív és szeronegatív csoportokat hasonlítottuk egymáshoz (3. Táblázat). A mindkét szerológiai faktor (RF plusz anti-CCP) jelenlétére pozitív betegek körében tapasztalt haplotípus-profil sem mutatott eltérést az RF -és anti-CCP jelenlétére egyaránt negatívnak bizonyult páciensekéhez képest.

#### **4.2. PTPN22 gén, 1858C/T variáns**

Az 1858C/T variáns genotipizálása során 399 RA-beteg (86 férfi és 313 nő, átlag életkor  $55,1 \pm 14,5$  év), valamint 107 kontroll (44 férfi és 63 nő, átlag életkor  $58,3 \pm 15,3$  év) analízisét végeztük el. A genotípusok és a T allél RA- illetve kontroll-populációban tapasztalt eloszlását a 4. Táblázat szemlélteti. Az allélok gyakorisága az összes analizált csoportban megfelelt a normál Hardy-Weinberg megoszlásnak.

A rheumás betegek körében a TC heterozigóta genotípus, valamint a T allél hordozása (TC és TT genotípusok együttléve) szignifikáns halmozódást mutatott. Ezt a halmozódást nem csak a teljes RA-populációban, hanem az összes szeropozitív alcsoportban is megfigyeltük. Hasonlóképpen, a kontroll-csoporthoz viszonyítva a TT genotípus is emelkedett prevalenciával volt jelen.

Bináris logisztikus regressziós analízis elvégzésével sikerült igazolnunk a betegség és az 1858T allél hordozása között fennálló korrelációt (4. Táblázat). A statisztikai elemzés rávilágított, hogy a T allélok száma és a rheumatoid arthritisre való hajlam közt markáns gén-dózis hatás áll fenn: két T allél jelenléte (TT genotípus) több, mint duplájára növeli a kórkép kialakulásának esélyét az egyetlen T allél hordozásához (TC genotípus) képest.

#### **4.3. CTLA4 gén, +49A/G és CT60 variánsok**

A két CTLA4 polimorfizmus meghatározását 428 RA-beteg (102 férfi és 326 nő, átlag életkor  $54,9 \pm 14,5$  év) és 230 egészséges kontroll (98 férfi és 132 nő, átlag életkor  $57,4 \pm 16,1$  év) mintáján végeztük el. Az allélok megoszlása minden vizsgált csoportban megfelelt a Hardy-Weinberg equilibrium elméletnek.

Az 5. Táblázat a +49A/G és CT60 SNP-k genotípusainak és alléljainak megoszlását, valamint a +49\*G- CT\*60 haplotípus előfordulási gyakoriságát szemlélteti az összes általunk vizsgált betegcsoportban, illetve a kontrollok körében. Az RF- és/vagy anti-CCP szeropozitív RA-alcsoportokban a CT60\*GG genotípus és a CT60\*G allél szignifikáns halmozódását tapasztaltuk, a +49A/G variáns tekintetében azonban egyik allél gyakorisága sem mutatott különösebb eltérést az egészséges kontrolloknál megfigyeltekhez képest.

Munkánk során megvizsgáltuk a lehetséges haplotípus kombinációk megoszlási mintázatát is. A +49\*A-CT60\*A, +49\*A-CT60\*G, +49\*G-CT60\*A, és +49\*G-CT60\*G haplotípusok közül, csupán a +49\*G-CT60\*G kombináció akkumulációját figyelhettük meg az RA-s betegcsoportban. További elemzések rávilágítottak arra, hogy a tapasztalt szignifikánsan megemelkedett haplotípus-gyakoriságot a szeropozitív betegek túlsúlya eredményezi; a szeronegatív alcsoportban ugyanis nem találtunk hasonló halmozódást (5. Táblázat).

A logisztikus analízisek alapján megállapítható, hogy a CT60\*GG variáns hordozása már önmagában emelkedett rizikót jelent a rheumatoid arthritis RF-

és/vagy anti-CCP-szeropozitív formájának kialakulására (6. Táblázat). Hasonlóképpen, az említett csoportokban a CT60\*G és +49\*G allélok együttes hordozása is mintegy másfélszeresére növeli a betegség megjelenésének esélyét. A +49A/G variáns önmagában nem bizonyult hajlamosító tényezőnek.

#### 4.4. *IL-23R* gén rs10889677C/A, rs2201841T/C és rs1884444G/T variánsok

A három kiválasztott *IL23R* variáns meghatározása során 412 rheumatoid arthritisben szenvedő beteg (96 férfi és 316 nő, átlag életkor:  $54,9 \pm 14,7$  év) és 220 kontroll (115 férfi és 105 nő, átlag életkor:  $41,7 \pm 13,1$  év) genotipizálására került sor. A genotípus- és allél-megoszlások minden tanulmányozott populációban a Hardy-Weinberg equilibrium szerint alakultak.

A teljes RA-betegcsoportban az rs10889677AA genotípus mintegy kétszer gyakoribbnak bizonyult, mint a kontrollok körében (7. Táblázat). Az RF-, anti-CCP, illetve a mindkét faktorra nézve szeropozitív szubpopulációkban a genotípus előfordulási gyakoriságának hasonló emelkedését tapasztaltuk (7. Táblázat). Regressziós analízis segítségével igazoltuk, hogy az AA genotípus hordozása önmagában rizikófaktort jelent RA-ra (7. Táblázat).

Az rs2201841 egyponos nukleotid polimorfizmus CC genotípusa ennél is magasabb, több mint kétszeres gyakoriságot mutatott az RA-s csoportokban, mint a kontrollokban. Ennél a polimorfizmusnál a beteg szerológiai sajátosságai nem befolyásolták az rs2201841CC variáns hajlamosító szerepét: hordozása a betegség szeropozitív és szeronegatív típusára egyaránt emelkedett (több mint kétszeres) rizikót jelentett.

Az rs10889677AA és az rs2201841CC genotípusok egyidejű hordozása a betegcsoportban a páciensek 9,95%-ára volt jellemző, míg a kontrollok csupán 3,64%-ában találtuk meg egyszerre mindkét hajlamosító variánst ( $p=0,008$ ; az adatokat külön nem tüntettük fel). A kapcsoltsági analízis során a két említett variánusra  $R^2=68$  és  $D'=83$  értékeket kaptunk (1. Ábra).

Ellentétben az rs10889677 és rs2201841 SNP-kkel, a harmadik vizsgált polimorfizmus, az rs1884444 genotípus- és allél-mintázata lényegében egyik vizsgált betegcsoportban sem tért el a kontroll-csoportban talált mintázattól (7. Táblázat).

1. Táblázat: A *PADI4* variánsok emésztése során keletkező allél-specifikus fragmentek hosszúsága bázispárban kifejezve

PADI4 SNP	ALLÉL 1				ALLÉL 2				
padi4_89	G	40	115		A	40	155		
padi4_90	T	108	177	593	770	C	108	770	
padi4_92	C	100	285		G	100	134	151	
padi4_94	C	21	87	204		T	108	204	
padi4_102	C	40	359			T	36	40	323
padi4_104	C	22	98	169		T	120	169	

2. Táblázat A PADI4 gén haplotípusainak szerkezete és gyakorisága az RA- és kontroll populációkban

Haplotípus	SNP azonosítója (padi4_x)						Haplotípus gyakorisága		Regressziós analízis		
	89	90	92	94	102	104	RA (n=334)	Kontroll (n=260)	$\chi^2$	p	OR (95%CI)
1. haplotípus	A	C	C	C	C	C	170 (50,9)	125 (48,1)	0,47	0,495	1,12 (0,81-1,55)
2. haplotípus	G	T	G	T	C	T	92 (27,5)	60 (23,1)	1,53	0,216	1,27 (0,87-1,84)
3. haplotípus	G	T	G	T	T	T	20 (5,98)	16 (6,15)	0,01	0,933	0,97 (0,49-1,91)
4. haplotípus	G	T	G	T	C	C	28 (8,38)	24 (9,23)	0,13	0,717	0,90 (0,51-1,59)
Egyéb*	NÉ	NÉ	NÉ	NÉ	NÉ	NÉ	29 (8,68)	34 (13,1)	NÉ	NÉ	NÉ

Az értékek az esetszámokat, valamint zárójelben feltüntetve a relatív gyakoriságokat jelentik %-ban kifejezve.

NÉ: nem értelmezhető

\* Alacsony előfordulási gyakorisága miatt az 1B haplotípust az "Egyéb" haplotípusok közé soroltuk

3. Táblázat: A PADI4 SNP-k által alkotott haplotípusok megoszlása és előfordulási gyakorisága az RA-betegek RF- és anti-CCP szeropozitivitása alapján elkülönített alcsoportokban

HAPLOTÍPUS	RA-BETEGEK					
	RF		anti-CCP		RF és anti-CCP	
	Pozitív (n=242)	Negatív (n=92)	Pozitív (n=214)	Negatív (n=120)	Pozitív- pozitív (n=200)	Negatív- negatív (n=78)
1. haplotípus	125 (51,7)	45 (48,9)	108 (50,5)	62 (51,7)	102 (51,0)	39 (50,0)
2. haplotípus	68 (28,1)	24 (26,1)	63 (29,4)	29 (24,2)	59 (29,5)	20 (25,6)
3. haplotípus	13 (5,37)	7 (7,61)	12 (5,61)	8 (6,67)	10 (5,00)	5 (6,41)
4. haplotípus	22 (9,09)	6 (6,52)	19 (8,88)	9 (7,50)	18 (9,00)	5 (6,41)
Egyéb	14 (5,79)	10 (10,9)	12 (5,61)	12 (10,0)	11 (5,50)	9 (11,5)

Az értékek az esetszámokat, valamint zárójelben feltüntetve a relatív gyakoriságokat jelentik %-ban kifejezve.

4. Táblázat: A PTPN22 1858C/T variáns genotípusainak és alléljainak megoszlása az RA-betegek és a kontrollok körében (\* $p \leq 0,05$  vs. kontroll)

	RA-BETEGEK				KONTROLLOK
	Összesen (n=399)	RF-pozitív (n=299)	anti-CCP-pozitív (n=286)	RF + anti-CCP-pozitív (n=263)	Összesen (n=107)
CC (%)	241 (60,4)	178 (59,5)	171 (59,8)	161 (61,2)	85 (79,4)
TC (%)	121 (30,3)	92 (30,8)	86 (30,1)	76 (28,9)	20 (18,7)
TC+TT (%)	158 (39,6)*	121 (40,5)*	115 (40,2)*	102 (38,8)*	22 (20,6)
TT (%)	37 (9,27)*	29 (9,69)*	29 (10,1)*	26 (9,89)*	2 (1,87)
T (%)	195 (24,4)*	150 (25,1)*	144 (25,2)*	128 (24,3)*	24 (11,2)
OR (95% CI) TC+TT vs. kontrollok	2,48 (1,48-4,18)	2,57 (1,51-4,38)	2,55 (1,49-4,36)	2,39 (1,39-4,11)	
p	0,001	0,001	0,001	0,002	
OR (95% CI) TC vs. kontrollok	1,89 (1,10-3,24)	2,00 (1,15-3,49)	1,88 (1,07-3,28)	1,81 (1,03-3,19)	
p	0,022	0,015	0,027	0,040	
OR (95% CI) TT vs. kontrollok	5,04 (1,18-21,5)	4,71 (1,09-20,3)	5,49 (1,27-23,7)	4,94 (1,14-21,4)	
p	0,029	0,038	0,022	0,033	

Az értékek az esetszámokat, valamint zárójelben feltüntetve a relatív gyakoriságokat jelentik %-ban kifejezve.

5. Táblázat: A CTLA4 CT60 és +49A/G SNP-k genotípusainak és alléljainak, valamint a +49\*G-CT60\_G haplotípus megoszlása és előfordulási gyakorisága az RA-betegek RF- és anti-CCP szeropozitivitása alapján elkülönített alcsoportokban (\*:  $p < 0,05$  vs. kontroll)

	RA-BETEGEK							KONTROLLOK
	Összesen (n=428)	RF		anti-CCP		RF és anti-CCP		
		Pozitív (n=324)	Negatív (n=104)	Pozitív (n=310)	Negatív (n=118)	Pozitív-pozitív (n=286)	Negatív-negatív (n=80)	
CT60								
AA (%)	84 (19,6)*	62 (19,1)*	22 (21,2)	59 (19,0)*	25 (21,2)	54 (18,9)*	17 (21,3)	64 (24,0)
GA (%)	199 (46,5)	143 (44,1)	56 (53,8)	131 (42,3)	68 (57,6)	122 (42,7)	47 (58,8)	109 (48,8)
GA+GG (%)	344 (80,4)	262 (80,9)	82 (78,8)	251 (81,0)	93 (78,8)	232 (81,1)	63 (78,8)	166 (78,4)
GG (%)	145 (33,9)*	119 (36,7)*	26 (25,0)	120 (38,7)*	25 (21,2)	110 (38,5)*	16 (20,0)	57 (27,1)
G (%)	489 (57,1)*	381 (58,8)*	108 (51,9)	371 (59,8)*	118 (50,0)	342 (59,8)*	79 (49,4)	223 (48,5)
+49A/G								
AA (%)	160 (37,4)	122 (37,7)	38 (36,5)	112 (36,1)	48 (40,7)	104 (36,4)	30 (37,5)	98 (42,6)
GA (%)	201 (47,0)	151 (46,6)	50 (48,1)	147 (47,4)	54 (45,8)	135 (47,2)	38 (47,5)	97 (42,2)
GA+GG (%)	268 (62,6)	202 (62,3)	66 (63,5)	198 (63,9)	70 (59,3)	182 (63,6)	50 (62,5)	132 (57,4)
GG (%)	67 (15,7)	51 (15,7)	16 (15,4)	51 (16,5)	16 (13,6)	47 (16,4)	12 (15,0)	35 (15,2)
G (%)	335 (39,1)	253 (39,0)	82 (39,4)	249 (40,2)	86 (36,4)	229 (40,0)	62 (38,8)	167 (36,3)
+49*G-CT60*G								
	182 (21,3)*	147 (22,7)*	35 (16,8)	147 (23,7)*	35 (14,8)	134 (23,4)*	22 (13,8)	62 (13,5)

Az értékek az esetszámokat, valamint zárójelben feltüntetve a relatív gyakoriságokat jelentik %-ban kifejezve.

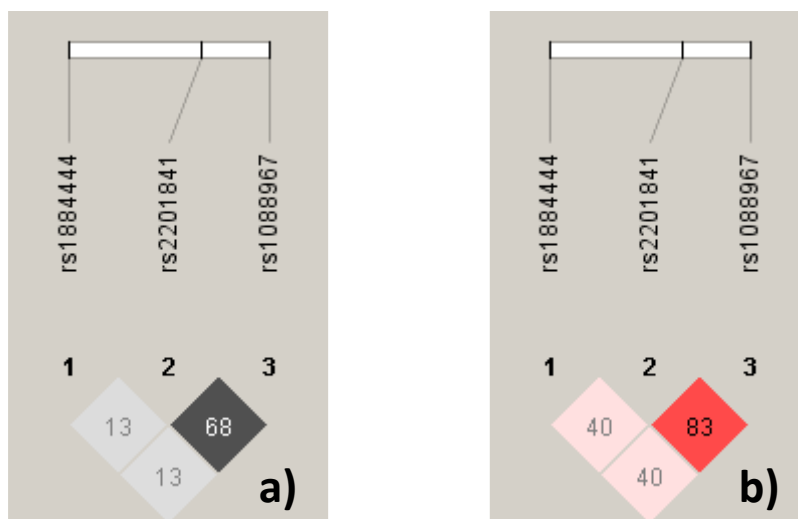


6. Táblázat: A CT60\*GG genotípus, a CT60\_G allél és a +49\*G-CT60\*G haplotípus hajlamosító szerepének feltárására végzett regressziós analízisek eredménye az RA-betegek RF- és anti-CCP szeropozitivitása alapján elkülönített alcsoportokban, a kontrollokhoz viszonyítva.

	RA-BETEGEK						
	Összesen	RF		anti-CCP		RF és anti-CCP	
		Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív	Pozitív-pozitív	Negatív-negatív
CT60*GG							
OR (95% CI)	1,56 (1,09-2,23)	1,76 (1,21-2,56)	1,01 (0,59-1,73)	1,92 (1,32-2,79)	0,82 (0,48-1,39)	1,90 (1,29-2,78)	0,76 (0,41-1,42)
p	0,016	0,003	0,966	0,001	0,455	0,001	0,386
CT60*G							
OR (95% CI)	1,42 (1,13-1,78)	1,52 (1,20-1,93)	1,15 (0,83-1,60)	1,58 (1,24-2,02)	1,06 (0,78-1,46)	1,58 (1,23-2,03)	1,04 (0,72-1,49)
p	0,003	0,001	0,410	<0,001	0,145	<0,001	0,845
+49*G – CT60*G							
OR (95% CI)	1,73 (1,27-2,37)	1,88 (1,36-2,61)	1,30 (0,83-2,04)	2,00 (1,44-2,76)	1,12 (0,71-1,75)	1,96 (1,41-2,73)	1,02 (0,61-1,73)
p	0,001	<0,001	0,256	<0,001	0,626	<0,001	0,931

7. Táblázat: A három vizsgált IL23R-polimorfizmus genotípusainak és alléljainak megoszlása az RA-betegek és a kontrollok körében (\*p ≤ 0,05 vs. kontroll)

	RA-BETEGEK				KONTROLLOK
	Összesen (n=412)	RF-pozitív (n=310)	Anti-CCP pozitív (n=293)	RF- és anti-CCP pozitív (n=272)	Összesen n=220
<b>rs10889677</b>					
CC	183 (44,4%)	135 (43,5%)	129 (44,0%)	118 (43,4%)	96 (43,6%)
AC	180 (43,7%)	136 (43,9%)	132 (45,1%)	123 (45,2%)	111 (50,5%)
AC+AA	229 (55,6%)	175 (56,5%)	164 (56,0%)	154 (56,6%)	124 (56,4%)
AA	49 (11,9%)*	39 (12,6%)*	32 (10,9%)*	31 (11,4%)*	13 (5,91%)
OR (95% CI) AA vs. CC+AC	2,15 (1,14-4,06)	2,29 (1,19-4,40)	1,95 (0,99-3,82)	2,05 (1,04-4,02)	
p	0,018	0,013	0,050	0,037	
<b>rs2201841</b>					
TT	178 (43,2%)	127 (41,0%)	122 (41,6%)	109 (40,1%)	101 (45,9%)
CT	180 (43,7%)	140 (45,2%)	133 (45,4%)	126 (46,3%)	106 (48,2%)
CT+TT	234 (56,8%)	183 (59,0%)	171 (58,4%)	163 (59,9%)	119 (54,1%)
CC	54 (13,1%)*	43 (13,9%)*	38 (13,0%)*	37 (13,6%)*	13 (5,91%)
OR (95% CI) CC vs. TT+CT	2,40 (1,28-4,51)	2,56 (1,34-4,89)	2,37 (1,23-4,57)	2,51 (1,30-4,85)	
p	0,006	0,004	0,010	0,006	
<b>rs1884444</b>					
GG	118 (28,6%)	78 (25,2%)	74 (25,3%)	65 (23,9%)	55 (25,0%)
GT	281 (68,2%)	220 (71,0%)	210 (71,7%)	198 (72,8%)	162 (73,6%)
GT+TT	294 (71,4%)	232 (74,8%)	219 (74,7%)	207 (76,1%)	165 (75,0%)
TT	13 (3,16%)	12 (3,87%)	9 (3,07%)	9 (3,31%)	3 (1,36%)
OR (95% CI) TT vs. GG+GT	2,36 (0,66-8,36)	2,91 (0,81-10,4)	2,29 (0,61-8,57)	2,48 (0,66-9,26)	
p	0,185	0,101	0,218	0,178	



1. Ábra: A három vizsgált IL23R polimorfizmus kapcsoltsági analízise.  
a) az  $R^2$  korrelációs koefficiens értékei; b) a  $D'$  valószínűségi változó értékei.

## 5. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A rheumatoid arthritis egy igen gyakori, immunoinflammatórikus kórkép, mely feltételezhetően környezeti, mikrobiális és genetikai faktorok szimultán jelenlétének eredőjeként alakul ki. A betegség etiológiájában mintegy 60%-ra tehető a genetikai predispozíció, melynek feléért a HLA-génkomplex meghatározott variánsai felelősek. A kórkép heterogén klinikai képe előrevetítette, hogy számos más gén részt vehet, és bizonyítottan részt is vesz az öröklött hajlam kialakításában. Célunk az volt, hogy olyan, a magyar populációban korábban nem vizsgált géneket és polimorfizmusait tanulmányozzuk a rendelkezésünkre álló beteganyagban és egészséges kontrollokon, amelyek RA-ban játszott szerepe a nemzetközi irodalmi adatok alapján még kérdéseket vet fel.

A kiválasztott polimorfizmusok genotipizálása során PCR-reakciót követő RFLP-módszert alkalmaztunk, majd az eredményeket chi-négyzet tesztek segítségével hasonlítottuk össze. A vizsgált variáns és a betegség közt esetlegesen fennálló korrelációt regressziós analízisekkel teszteltük.

A *PADI4* gént mint rizikó faktort elsőként a japán Suzuki és munkacsoportja azonosította. Más ázsiai tanulmányok alátámasztották a *PADI4* gén variánsainak kockázatonnövelő természetét, európai populációban azonban nem sikerült bizonyítani a gén és a betegség között fennálló asszociációt; egyetlen német tanulmány utal csupán a kapcsolatra. Ismert tény, hogy más génekhez hasonlóan az autoimmun betegségekre hajlamosító genetikai variánsok előfordulása is populációfüggő gyakoriságot mutat, beleértve a *PADI4* gént is. Miután az ősmagyar alapító törzsek Ázsiából érkeztek a Kárpát-medencébe, felvetődött bennünk a kérdés: vajon őrzünk-e még valamit az ázsiai genetikai gyökerekből, azaz a *PADI4* vajon hajlamosítónak bizonyul-e a magyar populációban, vagy más európai népekhez hasonlóan nem mutatható ki összefüggés a *PADI4* gén meghatározott variánsai és az RA között.

Vizsgálataink során egyik azonosított és természetesen előforduló *PADI4*-genotípus illetve haplotípus halmozódását sem tapasztaltuk az RA-betegek körében a kontrollokhoz képest; még abban az esetben sem, amikor külön tanulmányoztuk az anti-CCP illetve RF faktorokkal rendelkező és nem rendelkező betegeket. Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy a vizsgált magyar populációban a *PADI4* önmagában nem jelent fokozott rizikót RA-ra; e tekintetben tehát a magyarság nem különbözik más európai népcsoportoktól.

A *PTPN22* gén 1858C/T variánsának T allélja a T-sejt aktiváció módosításán keresztül játszik szerepet az autoimmun megbetegedésekben, így a rheumatoid arthritisre is jellemző pathológiásan felfokozott immunválasz kialakításában. A polimorfizmus jelentősége az RA patomechanizmusában az irodalmi adatok alapján egyértelműnek tűnik, ellentmondást jelent azonban, hogy egyes kísérletek az 1858T variáns hajlamosító természetének univerzalitását támasztják alá, míg mások azt hangsúlyozzák, hogy csupán a betegség RF-és/vagy anti-CCP-szeropozitív típusában tekinthető rizikófaktornak a hordozása.

Saját beteganyagunkon az 1858TC és 1858TT genotípusok, valamint az 1858T allél jelentősen gyakoribbnak bizonyultak, mint a kontroll-csoportban. A jelenség a teljes RA-populációban megfigyelhető, de a páciensek szerológiai sajátságai alapján történő további elemzések rávilágítottak arra, hogy a halmozódás statisztikailag is szignifikáns volta az RF és/vagy anti-CCP-szeropozitív betegek túlsúlyának köszönhető csupán.

A regressziós analízisek felfedték, hogy az 1858T allél RA-ra hajlamosító természetében markáns gén-dózis hatás érvényesül: egyetlen T allél hordozása (TC heterozigóta genotípus) mintegy duplájára emeli a betegség kialakulásának rizikóját, míg az allél két példány (TT homozigóta genotípus) már 4,9-5,5-szeres hajlamot jelent. A jelenségre a gén által kódolt Lyp molekula működése szolgál magyarázattal: feltehetőleg csak az 1858C (Arg620) variáns alkalmas arra, hogy komplexet alkosson a Csk-kinázzal, míg az 1858T nem képes rá. Heterozigótákban tehát a CC genotípusúakhoz viszonyítva csökken a Lyp-Csk komplexek mennyisége, homozigótákban pedig egyáltalán nincs mód a komplex kialakulására. Végül soron a T sejt-aktiváció inhibíciója zavart szenved: minél kevesebb működőképes Lyp-Csk komplex van jelen, a sejt annál hiperaktívabb lesz, és ez generálja az autoantigénekkal szembeni destruktív immunválaszt.

A *CTLA4* gén bizonyos polimorfizmusai számos autoimmun kórkép kialakulásának kockázatát növelik. Rheumatoid arthritis esetében a rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján azonban a *CTLA4* hajlamosító szerepe nem tekinthető minden kétséget kizáróan igazoltnak. Munkánk során a két leggyakrabban vizsgált *CTLA4* egy pontos nukleotid polimorfizmus genotipizálását végeztük el. Megvizsgáltuk eloszlásukat és esetleges korrelációjukat a betegséggel minden szerológiailag jellemzett RA-alcsoportban és az egészséges kontrollokban. Különös figyelmet szenteltünk a +49A/G és CT60 allélok által alkotott haplotípusok előfordulási gyakoriságának.

A kontroll-csoporthoz viszonyítva a CT60 polimorfizmus GG genotípusa, valamint a CT60\*G allél emelkedett prevalenciát mutatott a teljes RA-csoportban. A további elemzések rávilágítottak, hogy a megnövekedett gyakoriságot a szeropozitív betegek túlsúlya eredményezi: míg a szeropozitív alcsoportokban hasonló genotípus- és allél-megoszlást találtunk, addig a szeronegatívok körében látott genetikai profil statisztikailag nem különbözött a kontroll-csoportban tapasztaltaktól.

Az anti-CCP és/vagy RF-szeropozitív alcsoportokban a CT60\*G allél jelenléte mintegy másfélszeresére emelte az RA genetikai kockázatát a CT60\*AA genotípusú betegekhez képest. Ezen eredményünk összhangban van a korábbi irodalmi adatokkal is. Azoknál a betegeknél, akik a CT60\*GG genotípust hordozták, tehát a G allél két példányával is rendelkeztek, a betegség relatív kockázata a kétszeresére emelkedett az AA

genotípusúakéhoz képest. Ezek az adatok egyfajta gén-dózis függést sejtetnek a G allél hajlamosításban játszott szerepében annak ellenére, hogy a két G allélt hordozók RA-kockázata számszerűen nem a duplája az egyetlen G alléllal rendelkezőknél tapasztaltnak.

A +49A/G variáns vizsgálata során nem találtunk számottevő különbséget a betegek és a kontrollok genotípus- illetve allél-megoszlása között. További elemzéseink felfedték, hogy amennyiben a +49\*G és a CT60\*G allélok együttesen vannak jelen a betegben, akkor az RA-ra való hajlam mintegy kétszeresére nő az egyéb haplotípusokhoz képest. A jelenség azonban csak az anti-CCP és/vagy RF-autoantitesteket hordozó szubpopulációkra korlátozódik.

Vizsgálataink alapján tehát arra következtethetünk, hogy a +49A/G polimorfizmus önmagában nem emeli az RA kockázatát, de a CT60\*G alléllal kombinálva – mely egymagában is bír hajlamosító szereppel - fokozza annak prediszponáló hatását.

Az *IL23R* gén és genetikai variánsai a közelmúltban kerültek az RA-kutatás fókuszába. Néhány polimorfizmusról bebizonyosodott, hogy szerepet játszanak a gyulladással járó bélbetegségek genetikai kockázatának kialakításában. Miután az *IL23R* jelentőségét RA-ra vonatkozólag még korábban nem vizsgálták, célunk az volt, hogy két Crohn-betegségre hajlamosító és egy Crohn-betegségben semlegesnek aposztrofált polimorfizmus genotipizálásával teszteljük az *IL23R* és az RA közt esetlegesen fennálló asszociációt.

A magyar RA populációban az rs10889677AA és az rs2201841CC genotípusok halmozódását tapasztaltuk az egészséges kontrollokhoz képest. A regressziós analízisek igazolták a két variáns hajlamosító természetét. Ellentétben a *PTPN22* és *CTLA4* gének vizsgált polimorfizmusaival, az *IL23R* gén ezen két variánsának RA-kockázatot fokozó jellege a beteg anti-CCP és RF-szerológiájától függetlenül bizonyult. Az rs10889677AA és rs2201841CC genotípusok egyidejű hordozása jóval gyakrabban fordult elő a betegcsoportban, mint a kontrollok körében, ami arra utal, hogy az *IL23R* gén több polimorfizmusa együttesen –haplotípusként - alakítja ki a gén hajlamosító jellegét. Ezen kölcsönhatás fennállását a kapcsoltsági analízis eredményei is alátámasztják.

Újabb kutatások igazolták, hogy az *IL23R* gén az RA mellett számos más autoimmun kórkép etiológiájában is jelentőséggel bírhat. Ez a tény különösen fontos lehet az autoimmun betegségben szenvedők kezelésének szempontjából, minthogy az anti-p40 terápia az IL-12 és IL-23 molekulák funkcióját is gátolja, ezáltal hozzájárul a patológiásan fokozott immunválasz redukálásához. A valódi személyre szabott kezelés megvalósulásához természetesen további vizsgálatok szükségesek, de az *IL23/IL17* molekuláris tengely jelentőségének felfedezése mindenképpen új perspektívákat eredményez.

Az általunk végzett genetikai vizsgálatok eredményei végső soron hozzájárulnak a rheumatoid arthritis genetikai hátterének pontosabb megismeréséhez és megértéséhez, amely pedig elengedhetetlen a betegség korai diagnózisához, valamint hozzájárulhat új terápiás célpontok azonosításához. Természetesen szükség van további genetikai variánsok azonosítására és körültekintő genotípus-fenotípus elemzésekre is, hiszen az egyre bővülő ismeretanyag csak így vezethet el az effektív prevencióhoz, illetve az RA-ban szenvedő betegek hatékonyabb kezeléséhez.

## 6. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

- I. Eredményeink arra utalnak, hogy magyar rheumatoid arthritis betegpopulációban a *PADI4* gén vizsgált polimorfizmusa (padi4\_89, padi4\_90, padi4\_92, padi4\_94, padi4\_102, padi4\_104) és az általuk alkotott haplotípusok egyike sem hajlamosít a betegségre.

- II. A vizsgált populációban a *PTPN22* gén 1858C/T variánsa, valamint a *CTLA4* gén CT60 polimorfizmus G alléljának hordozása RF- és/vagy anti-CCP szeropozitív rheumatoid arthritis-típus esetén fokozza a kórkép kialakulásának esélyét. Az 1858T allél kifejezett, míg a CT60 variáns G allélja enyhe gén-dózis hatással érvényesül a rheumatoid arthritis patomechanizmusában.
- III. Elemzéseink alapján a *CTLA4* gén +49A/G variánsa önmagában nem járul hozzá a rheumatoid arthritis genetikai prediszpozíciójának kialakításához, a CT60\*G alléllal együttesen azonban fokozza az utóbbi hajlamosító hatását.
- IV. Az *IL23R* gén három genotipizált variánsa (rs10889677, rs2201841, rs1884444) közül az rs10889677 és rs2201841 polimorfizmusok AA illetve CC genotípusának hordozása a rheumatoid arthritis kialakulására nézve kockázatot jelent; ez független a beteg RF- illetve anti-CCP-szerológiai státuszától.
- V. Az rs10889677AA és rs2201841CC genotípusok gyakori együttes hordozása és az elvégzett kapcsoltsági vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy az *IL23R* gén polimorfizmusai haplotípust alkotva, együttesen formálják a gén rheumatoid arthritisben játszott szerepét.

## 7. PUBLIKÁCIÓS LISTA

### 7.1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

- 1 **Faragó, B.**, Talián, G.C., Maász, A., Magyar, L., Horvatovich, K., Kovács, B., Cserép, V., Kisfali, P., Kiss, C.G., Czirjak, L. és Melegh, B.: Prevalence of functional haplotypes of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme gene in patients with rheumatoid arthritis: no influence of the presence of anti-citrullinated peptide antibodies. *Clin Exp Rheumatol.* 2007(4):523-8. IF=2.270
- 2 **Farago, B.**, Magyar, L., Safrany, E., Csongei, V., Jaromi, L., Horvatovich, K., Sipeky, C., Maasz, A., Radics, J., Gyetvai, A., Szekanecz, Z., Czirjak, L. és Melegh, B.: Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(2):248-250. IF=7.188
- 3 **Farago, B.**, Safrany, E., Melegh, B.: Role of interleukin-23 receptor polymorphisms in rheumatoid arthritis. In Press. Review. Hungarian.
- 4 **Farago, B.**, Talian, G.C., Komlosi, K., Nagy, G., Berki, T., Gyetvai, A., Szekanecz, Z., Nyarady, Z., Kiss, C.G., Nemeth, P., Czirjak, L. és Melegh, B.: Protein tyrosine phosphatase gene C1858T allele confers risk for rheumatoid arthritis in Hungarian subjects. *Rheumatol Int.* 2009;29(7):793-796. IF=1.493
- 5 **Faragó, B.**, Kisfali, P., Magyar, L., Polgár, N. és Melegh, B.: Cytotoxic T lymphocyte associated antigen +49G variant confers risk for anti-CCP- and rheumatoid factor-

positive type of rheumatoid arthritis only in combination with CT60\*G allele. Autoimmune Diseases. 2010. In Press.

## 7.2. Csatlakozó közlemények

- 1 Szolnoki, Z., Maasz, A., Magyar, L., Horvatovich, K., **Farago, B.**, Somogyvari, F., Kondacs, A., Szabo, M., Fodor, L., Bodor, A., Hadarits, F. és Melegh, B.: Coexistence of angiotensin II Type-1 receptor A1166C and angiotensin-converting enzyme D/D polymorphism suggests susceptibility for small-vessel-associated ischemic stroke. *Neuromolecular Med.* 2006;8:353-360. IF=3.396
- 2 Magyar, L., Bene, J., Komlosi, K., Talian, G., **Farago, B.**, Csongei, V., Jaromi, L., Safrany, E., Sipeky, C., Lakner, L., Varga, M., Gasztonyi, B. és Melegh, B.: Prevalence of SLC22A4 1672T and SLC22A5 -207C Combination Defined TC Haplotype in Hungarian Ulcerative Colitis Patients. *Pathol Oncol Res.* 2007;13(1):53-6. IF=1.272
- 3 Magyar, L., **Faragó, B.**, Bene, J., Horvatovich, K., Lakner, L., Varga, M., Figler, M., Gasztonyi, B., Mózsik, G. és Melegh, B.: No association of the cytotoxic T-lymphocyte associated gene CTLA4 +49A/G polymorphisms with Crohn's disease and ulcerative colitis in Hungarian population samples. *World J Gastroenterol.* 2007 Apr 21;13(15):2205-8.
- 4 Szolnoki, Z., Maasz, A., Magyar, L., Horvatovich, K., **Farago, B.**, Somogyvari, F., Kondacs, A., Szabo, M., Bodor, A., Hadarits, F. és Melegh, B.: The combination of homozygous MTHFR 677T and angiotensin II type-1 receptor 1166C variants confers the risk of small-vessel-associated ischemic stroke. *J Mol Neurosci.* 2007;31(3):201-7. IF=1.735
- 5 Sáfrány, E., Balikó, L., Guseo, A., **Faragó, B.** és Melegh, B.: The autosomal dominant cerebellar ataxias are hereditary neurodegenerative diseases. *Orv Hetil.* 2007 Nov 11;148(45):2125-32. Review. Hungarian.
- 6 Maász, A., Kiszfali, P., Horvatovich, K., Mohás, M., Markó, L., Csöngői, V., **Faragó, B.**, Járomi, L., Magyar, L., Sáfrány, E., Sipeky, C., Wittmann, I. és Melegh, B.: Apolipoprotein A5 T-1131C Variant Confers Risk for Metabolic Syndrome. *Pathol Oncol Res.* 2007;13(3):243-7. IF=1.272
- 7 Komlósi, K., Talián, G.C., **Faragó, B.**, Magyar, L., Cserép, V., Kovács, B., Bene, J., Havasi, V., Kiss, C.G., Czirják, L. és Melegh, B.: No influence of SLC22A4 C6607T and RUNX1 G24658C genotypic variants on the circulating carnitine ester profile in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2008 Jan-Feb;26(1):61-6. IF=2.189
- 8 Illes Z., Safrany, E., Peterfalvi, A., Magyar, L., **Farago, B.**, Pozsonyi, E., Rozsa, C., Komoly, S. és Melegh, B.: 3'UTR C2370A allele of the IL-23 receptor gene is

associated with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurosci Lett.* 2008;431:36. IF=2.200

- 9 **Faragó, B.** és Melegh, B.: Gilbert syndrome. *Orv Hetil.* 2008 Jul 6;149(27):1277-82. Review. Hungarian.
- 10 Szolnoki, Z., Maasz, A., Magyar, L., Horvatovich, K., **Farago, B.**, Kondacs, A., Bodor, A., Hadarits, F., Orosz, P., Illes, A. és Melegh B.: Galectin-2 3279TT variant protects against the lymphotoxin-alpha 252GG genotype associated ischaemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg.* 2009 Apr;111(3):227-30. IF=1.303
- 11 Járomi, L., Csöngéi, V., Polgár, N., Szolnoki, Z., Maász, A., Horvatovich, K., **Faragó, B.**, Sipeky, C., Sáfrány, E., Magyar, L., Kiszfali, P., Mohás, M., Janicsek, I., Lakner, L., Melegh, B.: Functional variants of glucokinase regulatory protein and apolipoprotein A5 genes in ischemic stroke. *J Mol Neurosci.* 2010 May;41(1):121-8. IF=2.720
- 12 Csöngéi, V., Járomi, L., Sáfrány, E., Sipeky, C., Magyar, L., **Faragó, B.**, Bene, J., Polgár, N., Lakner, L., Sarlós, P., Varga, M., Melegh, B.: Interaction of the major inflammatory bowel disease susceptibility alleles in Crohn's disease patients. *World J Gastroenterol.* 2010 Jan 14;16(2). IF=2.092

### 7.3. Idézhető absztraktok

- 1 Horvatovich, K., Magyar, L., Maasz, A., **Farago, B.**, Laczy, B., Marko, L., Wittmann, I. és Melegh, B.: Association between ApoA5 T-1131C mutation and triglyceride level in Hungarian patients with metabolic syndrome and diabetes mellitus. *Eur J Hum Genet* 2006;14(S 1):236.
- 2 **Farago, B.**, Talian, G.C., Maasz, A., Magyar, L., Horvatovich, K., Kovacs, B., Cserép, V., Kiszfali, P., Kiss, C. és Melegh, B.: Padi4\_89\*G/A, padi4\_90\*T/C and padi4\_92\*G/C SNPs in the gene of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme type 4 (PADI4) are not associated with rheumatoid arthritis in Hungarian patients. *Eur J Hum Genet* 2006;14(S 1):326.
- 3 Horvatovich, K., Magyar, L., Maász, A., **Faragó, B.**, Laczy, B., Markó, L., Wittmann, I. és Melegh, B.: ApoA5 T-1131C mutáció és trigliceridszint közötti összefüggés vizsgálata metabolikus szindrómában és II. típusú diabetes mellitusban szenvedő betegcsoportban. *Klin Kísérl Lab Med* 2006;(S-32):69.
- 4 **Faragó, B.**, Talián, C. G., Maász, A., Magyar, L., Horvatovich, K., Kovács, B., Cserép, V., Kiszfali, P., Kiss, C., Czirják, L. és Melegh, B.: A peptidilarginin deimináz enzimet kódoló gén funkcionális haplotípusainak gyakorisága rheumatoid arthritis betegekben. *Klin Kísérl Lab Med* 2006;(S-32):101.
- 5 **Farago, B.**, Magyar, L., Csongei, V., Jaromi, L., Safrany, E., Horvatovich, K., Sipeky, C., Maasz, A., Radics, J., Czirjak, L. és Melegh, B.: Interleukin-23 receptor 3'-UTR



- C2370A SNP confers risk for rheumatoid arthritis. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):256-257.
- 6 Kisfali, P., Horvatovich, K., Mohas, M., Maasz, A., Marko, L., Csongei, V., **Farago, B.**, Jaromi, L., Magyari, L., Safrany, E., Sipeky, C., Wittmann, I. és Melegh, B.: Common allelic variants of APOA5 gene in the metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):210.
  - 7 Csongei, V., Jaromi, L., Safrany, E., Sipeky, C., Maasz, A., Magyari, L., Horvatovich, K., **Farago, B.**, Takacs, I. és Melegh, B.: Polimorphisms of the MDR1 gene in a Hungarian Roma population sample. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):260.
  - 8 Safrany, E., **Farago, B.**, Csongei, V., Magyari, L., Maasz, A., Sipeky, C., Jaromi, L., Horvatovich, K., Radics, J., Czirjak, L. és Melegh, B.: Interleukin-23 receptor (IL23R) gene C2370A polymorphism in scleroderma patients. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):256.
  - 9 Horvatovich, K., Magyari, L., Maasz, A., Kisfali, P., Bokor, S., **Farago, B.**, Csongei, V., Jaromi, L., Safrany, E., Sipeky, C., Molnar, D. és Melegh, B.: Apolipoprotein A5 T-1131C alleles in pediatric patients with obesity and metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):178.
  - 10 Maasz, A., Horvatovich, K., Kisfali, P., Mohas, M., Marko, L., Csongei, V., **Farago, B.**, Jaromi, L., Magyari, L., Safrany, E., Sipeky, C., Wittmann, I. és Melegh, B.: Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):178.
  - 11 Magyari, L., **Farago, B.**, Safrany, E., Csongei, V., Horvatovich, K., Jaromi, L., Sipeky, C. és Melegh, B.: IL-23 receptor 3'UTR C2370A variant in inflammatory bowel disease: differential profile in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):255.
  - 12 Sipeky, C., Csongei, V., **Farago, B.**, Horvatovich, K., Jaromi, L., Magyari, L., Safrany, E., Takacs, I. és Melegh, B.: Polymorphisms of CYP2C9 and VKORC1 genes associated with the warfarin metabolism in Hungarian Roma population. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S 1):282.
  - 13 Sipeky, C., Csöngői, V., **Faragó, B.**, Horvatovich, K., Járomi, L., Maász, A., Magyari, L., Kisfali, P., Sáfrány, E., Takács I. és Melegh, B.: Vitamin K epoxide reductase haplotypes in Roma and average Hungarian samples. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(8):A139.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impact factor: 10.951  
A csatlakozó közlemények összesített impact factor: 18.179  
**Kumulatív impact factor: 29.130**

