

# **Karcinogenezisben szerepet játszó allélpolimorfizmusok a magyarországi roma populációban**

**Doktori (PhD) értekezés**

**Orsós Zsuzsanna**

**Programvezető: Prof. Dr. Ember István**

**Témavezető: Prof. Dr. Ember István**

**Pécsi Tudományegyetem**

**Általános Orvostudományi Kar**

**Pécs, 2013**

# I. Bevezetés

## I.1. A cigányság, a romák főbb csoportjai, etnográfia, demográfia

Európa legnagyobb, 10-12 millió főt magába foglaló etnikai kisebbségét a roma / cigány populáció képezi (Kalaydjieva, 2001). A kettős elnevezés abból ered, hogy a „cigány” szó a különböző nyelvekben gyakran előítéletet hordoz és diszkriminatív kifejezésnek minősül, ezért az 1971-ben, Londonban megrendezésre került első Roma Világkongresszuson a számos ország által delegált szervezetek képviselőinek döntése alapján a nép neve egységesen „roma” (romani) lett (<http://romediafoundation.wordpress.com>). A romák Észak-, illetve Északnyugat-Indiából származnak, ahonnan hosszú vándorlás után, mintegy 1000 évvel ezelőtt érhatték el Európát (Gresham, 2001). Attól függetlenül, hogy a többségi társadalom számára a romák egy etnikai csoportot jelentenek, meg kell jegyezni, hogy az ebbe a közösségbe tartozók valójában nem alkotnak egységes csoportot. A cigány közösségekbe tartozók egyik legmarkánsabb sajátossága az általuk beszélt nyelv. Ezek alapján, Magyarországon ma három nagyobb, egymással nem szívesen keveredő roma közösség különíthető el. A legnépesebb csoportot (kb. 70%) az ún. magyar cigányok („romungró” vagy muzsikus cigányok) alkotják, akik ma már csak a magyar nyelvet beszélik. A hazai cigányság körülbelül 20%-át az „oláh” (vlax) cigányok (kolompárok) képezik. Túlnyomó részük az oláh cigány nyelv lovári változatát beszéli a magyar mellett. A lovári nyelv, mint hivatalos cigány nyelv, élénken él e közösség tagjai között. Jóval kisebb csoportot képeznek a román területekről érkező „beás” cigányok, akik a román nyelv archaikus dialektusát használják. Főként a Dunántúlon élő beásokra jellemző, hogy a tradicionálisan a családi környezetben használt beás nyelvet az újabb generációk egyre kevésbé beszélik, így azt a kihalás veszélyezteti.

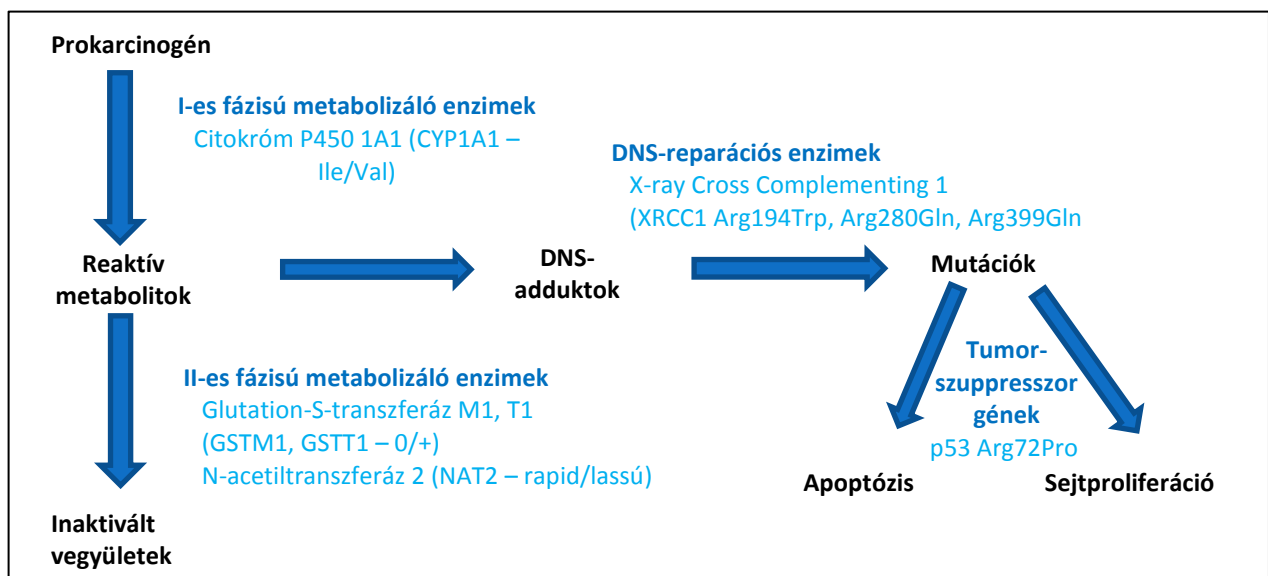
2011-ben a népszámláláskor 315.583 fő vallotta magát ebbe az etnikai csoportba tartozónak, ez Magyarország lakosságának 3,2%-át tette ki. Probléma, hogy nem könnyű definiálni, hogy ki a cigány. Jogilag csak azokat a személyeket tekinthetjük romának aki, annak vallja magát, de a cigányoknak mondott társadalmi csoportok tagjait érő számtalan előítélet miatt sokan egyre kevésbé vállalják fel származásukat (Ladányi, 2004; Tomka, 1991). A társadalomkutatók és szociológusok egyetértenek abban, hogy a cigányság valós száma jóval magasabb, mint amit az önbevalláson alapuló népszámlálási adatok mutatnak (Kemény, 2004; Puporka, 1999). Speciális becslés-sorozatok alapján a romák valós száma 2009-ben mintegy 640.000 fő volt (összlakosság 6-7%-a, Habolicsek, 2007). A roma közösségek demográfiai jellemzői erőteljesen eltérnek a magyarországi nem roma populációtól, természetes népmozgalmi mutatóik (pl. fiatal korösszetétel, magas termékenység, magas halandóság, alacsony születéskor várható élettartam) a demográfiai átmenet stádiumában lévő populációkra jellemzők (Habolicsek, 2007). Az elkövetkező időszakban a roma populáció minden korcsoportjában jelentős létszámnövekedés várható.

## I.2. A romák egészségi állapota

Bár a romák nem képeznek egységes csoportot, a publikált eredmények megegyeznek abban, hogy egészségi mutatóik egységesen és jelentősen eltérnek a többségi társadalomhoz tartozó, nem roma populációtól. A születéskor várható átlagos élettartam körülbelül 10-15 évvel a

többségi társadalomban mért életkor alatt marad (Bogdanović, 2007; Kósa, 2002; Koupilova, 2001). Az iparilag fejlett országokban a mortalitás fő okát a nem fertőző betegségek képezik. Daganatokra vonatkozólag a Delphoi Consulting 2004-es vizsgálata szerint a magyarországi cigányok körében a daganatos halálozások 1,8-szer gyakoribbak a nem romákénál (Delphoi Consulting, 2004; Babusik, 2005).

A daganatok etiológiájában mind a környezeti, mind a genetikai tényezők nagy szereppel bírnak. A cigányság vonatkozásában hiányoznak azok a vizsgálatok, amelyek a daganatok kialakulásában népegészségügyi szempontból fontos genetikai tényezők szerepét kutatják. A kifejezetten örökletes betegségeket okozó, magas penetranciájú genetikai tényezők által okozott populációs járulékos kockázati többlet alacsony, e tényezők viszonylag ritka előfordulásának következményeképp. Ha a populációs szintű incidenciát illetve mortalitást komolyabban befolyásoló tényezőket szeretnénk vizsgálni, akkor az úgynevezett „egyéni érzékenység” jellegű faktorokat kell tanulmányoznunk, amelyek tipikusan a daganatok kockázatát kisebb mértékben befolyásoló, de általánosan jelen levő allélpolimorfizmusok. Vizsgálatunkban a ritka, örökletes szindrómák, illetve ezekért felelős mutációk vizsgálata helyett azokat a magas járulékos populációs kockázattal bíró génpolimorfizmusokat tanulmányoztuk, amelyek általánosan elterjedtek a populációban. Igyekeztünk a korai karcinogenezis folyamatát legpontosabban modellezni, a xenobiotikumok biotranszformációjában, a DNS hibajavító mechanizmusában és a sejtproliferáció szabályozásában részt vevő gének bevonásával. A kiválasztott allélpolimorfizmusok bizonyítottan befolyásolják a daganatok iránti egyéni érzékenységet, de tudomásunk szerint ezidáig a roma populációra vonatkozóan még nem vizsgálták azokat. Vizsgálati alanyként a roma identitást leginkább megőrző és relatíve nagy lélekszámú oláh cigány populációt választottuk. Az alábbi ábrán összefoglalva szemléltetjük a korai karcinogenezis folyamatát, az abban kulcsfontosságú szereppel bíró géneket, majd röviden ismertetjük az általunk kiválasztott allélpolimorfizmusokat.



1. ábra: A karcinogenezis korai szakasza, illetve az azokban résztvevő és általunk vizsgálni kívánt gének polimorfizmusai.

### **I.3. A vizsgált genetikai tényezők**

#### ***I.3.1. Citokróm P450 1A1 (CYP1A1) – Ile/Val polimorfizmus***

A CYP1A1 – mint I-fázisú metabolizáló enzim – a szervezetbe került kémiai vegyületek átalakítása során gyakran az eredeti komponensnél jóval toxikusabb metabolitokat hoz létre (Nelson, 1996). Szubsztrátjai között számos külső – potenciálisan karcinogén – kémiai vegyület (pl. benzpirén és más policiklusos aromás szénhidrogének) illetve több endogén szubsztrát (pl. szteroid hormonok, zsírsavak) is megtalálható. A CYP1A1 gén funkcionális Ile/Val polimorfizmusáról akkor beszélünk, amikor a 7-es exon területén egy A→G szubsztitúció következtében a vad típusról átíródó izoleucin aminosav (Ile allél) helyett valin (Val allél) keletkezik. A Val allél által kódolt fehérje enzimaktivitása fokozott, tehát hatékonyabban, gyorsabban aktiválja a szervezetbe került potenciális karcinogéneket (Kawajiri, 1993; Hayashi, 1991).

#### ***I.3.2. Glutation-S-transzferáz M1 (GSTM1), Glutation-S-transzferáz T1 (GSTT1) – inszerciós/deléciós polimorfizmus***

A biotranszformáció során a xenobiotikumok reaktív metabolitjai illetve az oxidatív stressz által keletkezett reakciótermékek intracelluláris szintje a II-es fázisú metabolizáló enzimeknek köszönhetően csökken. E detoxikáló folyamatok legjobban ismert képviselői a glutation-S-transzferáz (GST) enzim-szupercsalád tagjai közé tartoznak. A külső kémiai karcinogének, mint például a policiklikus aromás szénhidrogének, 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon, dimetil-benzantracén, metil-kolantrén, benzpirén illetve az epoxidok többségének detoxikálásáért a GST enzimcsalád  $\mu$  (GSTM) és  $\theta$  (GSTT) enzimjei felelősek (Hayes, 2005; Ketterer, 1988). Mind a GSTM1, mind a GSTT1 gének legjelentősebb polimorfizmusa az inszerciós/deléciós (0/+) polimorfizmus. Ebben az esetben a GSTM1 illetve GSTT1 gén egy szakasza hiányozhat, aminek következtében a róla átíródó fehérje nem képes a glutationnal történő konjugációra. Null genotípus esetén mind a két szülői allélről funkcióképtelen enzim íródik át.

#### ***I.3.3. N-acetiltranszferáz 2 (NAT2) – lassú és gyors acetiláló polimorfizmus***

Az N-acetiltranszferázok csoportjába tartozó NAT2 enzim a konkrét szubsztráttól függően akár I-es akár II-es fázisú reakciókat is katalizálhat. A NAT2 részt vesz az aromás aminok és hidrazidok biotranszformációjában. A NAT2 génpolimorfizmusok következtében a génről átíródó enzimek aktivitása eltérő (Borlak, 2006). A vad típusú (NAT2\*4) allél gyors acetiláló képességgel rendelkező enzimet kódol. A nagyszámú polimorfizmus a fenotípusban három formában jelenik meg. Gyors acetilálóknak nevezzük azokat, akik homozigóták a vad típusú allélek tekintetében, míg lassú acetilálóknak nevezzük azokat, akik a variáns allélekre homozigóták. A harmadik fenotípust a közepes acetilálók képezik, náluk az egyik NAT2-allél vad típusú, a másik pedig egy variáns allél. Leegyszerűsítve gyakran csak két kategóriát szoktak megkülönböztetni: a rapid acetilálók akik hordozzák a vad típusú allélt, míg a lassú acetilálóknak csak variáns alléljeik vannak (Seow, 1999).

#### ***1.3.4. Az X-ray repair cross complementing 1 (XRCC1) DNS reparációs gén –***

##### ***Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln polimorfizmusok***

A szervezetbe került karcinogének intracelluláris koncentrációja a metabolizáló enzimek aktivitásának, illetve inaktivitásának függvénye. A hatékony detoxikáló enzimek ellenére is reaktív metabolitok maradnak a sejtben, amelyek reakcióba lépve a makromolekulákkal, adduktokat képeznek. Az ionizáló sugárzások, a dohányzás, az alkohol, az oxidatív stressz okozta sejtkárosodások leggyakrabban egyes szálú lánctöréseket és bázis-sérüléseket okoznak. Ezen DNS-léziók elsődleges javítása a bázisexcíziós repair mechanizmus segítségével történik. A BER mechanizmusban az XRCC1 gén kulcsszereplő. A DNS reparációs mechanizmusban résztvevő gének genetikai polimorfizmusai bizonyítottan befolyásolják a daganatok iránti egyéni érzékenységet (Wu, 2011; Engin, 2011).

#### ***1.3.5. TP53 tumorszuppresszor gén – Arg72Pro polimorfizmus***

A 393 aminosavból álló, igen konzervatív p53 fehérje számos olyan regulációs folyamatban vesz részt, amelyek a sejt integritását igyekeznek megőrizni. A p53 protein G1 fázisban megállítja a sejtciklust, ezáltal akadályozva meg a károsodott sejt proliferációját. Ekkor a reparációs folyamatokban részt vevő enzimek kijavíthatják a keletkezett hibákat. Ha a DNS-ben létrejött hibák kijavítása nem lehetséges, akkor a p53 apoptózist indukál, így járulva hozzá a szervezet védelméhez. A humán daganatok mintegy 50%-ban figyelhető meg a TP53 gén mutációja (Bennett, 1999). A génnek azonban allélpolimorfizmusai is ismeretesek, legjelentősebb a 72-es kodon területén található Arg/Pro polimorfizmus, amikor a génben egy G→C szubsztitúció miatt arginin helyett prolin íródik át. Ez az aminosavcsere a p53 fehérje transzaktivációs doménjének területére esik, az így expresszálandó p53 fehérje apoptotikus és transzkripciós aktivitása eltér a vad típusú alléltól (Dumont, 2003). Az Arg72Pro polimorfizmus allélgyakoriságai széles variabilitást mutatnak a különböző rasszok/etnikai csoportok között, így felelőssé tehető a daganatok iránti érzékenységben tapasztalt egyéni, illetve az interetnikai különbségek kialakulásáért is (Wu, 2002).

#### ***1.3.6. mikroRNS-ek – mikroRNS-146a (miR-146a) polimorfizmus***

A humán genom jelentős része mikroRNS reguláció alatt áll (Friedman, 2009), így a daganatok kialakulásában fontos gének is. A funkcionális génekhez hasonlóan, a mikroRNS-eket kódoló génekben is léteznek polimorfizmusok, amelyek kihatással vannak az érés folyamatára vagy az érett mikroRNS funkciójára. Ezek az allélpolimorfizmusok még abban az esetben is befolyásolhatják a pre-mikroRNS érését, stabilitását, ha a polimorfizmus az érés során kivágódó területekre esik. A miR-146a target génjei között megtaláljuk a humán karcinogenezis folyamatában igen fontos regulációs szereppel bíró géneket is, így a miR-146a polimorfizmus ugyancsak befolyásolhatja a daganatok kialakulásának kockázatát. Az említett saját pilot tanulmányban a miR-146a rs2910164 polimorfizmus fej-nyaki daganatos kockázatra gyakorolt hatását elemeztük, eset-kontroll vizsgálatban.

## I.4. A fej-nyaki daganatok

Európában 2012-ben a fej-nyaki daganatok tekintetében a legmagasabb mortalitás Magyarországon volt tapasztalható. A fej-nyaki daganatok legjobban ismert kockázati tényezője a dohányzás és az alkoholtartalmú italok túlzott fogyasztása. Hatásuk külön-külön is jelentős, de együttes jelenlétük esetén az ajak- és szájüregrák kialakulásának esélye megegyezően megnövekszik. A kockázati tényezők közül ki kell emelnünk a rossz- vagy nem megfelelő szájhygiénét. A magas rizikójú HPV-típusok (pl. 16, 18) etiológiai szerepe ma már a fej-nyaki daganatok laphámrák esetén is jól ismert (Kreimer, 2005). A hátrányos helyzetben lévő személyek között a fej-nyaki daganatok incidenciája lényegesen magasabb, hiszen a fent említett kockázati tényezők e közösségek tagjai között halmozottan fordulnak elő. A magas fej-nyaki daganatos halálozások, ill. a romák fokozott veszélyeztetettsége miatt, önálló, külön vizsgálatként iktattuk be – a PhD-munka fő gondolatmenetét lényegében megszakítva – a pre-miR-146a rs2910164 allélpolimorfizmus fej-nyaki daganatok kockázatára gyakorolt hatásának tesztelését. Ezt a vizsgálatot tehát etnikai alapon nem szelektált, „általános” magyar népességben végeztük; előnye, hogy a kérdéses genetikai tényező szerepét a teljes magyar népesség vonatkozásában adja meg.

## II. Célkitűzések

- A magyarországi oláh cigány populáció allélgyakoriságának felmérése néhány, a karcinogenezis folyamatában kulcsfontosságú metabolizáló enzim (CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT2) allélpolimorfizmusa tekintetében.
- A magyarországi oláh cigány populáció allélgyakoriságának felmérése a karcinogenezis folyamatában kulcsfontosságú XRCC1 DNS reparációs gén allélpolimorfizmusai vonatkozásában.
- A magyarországi oláh cigány populáció allélgyakoriságának felmérése a karcinogenezis folyamatában kulcsfontosságú TP53 tumorszuppresszor gén Arg72Pro allélpolimorfizmusát illetően.
- A pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus hatásának vizsgálata a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatára.
- A magyarországi oláh cigány populáció allélgyakoriságának felmérése a pre-miR-146a rs2910164 allélpolimorfizmusa tekintetében.
- A fenti allélmegoszlások leírása a hazai nem roma népességben és ezek összevetése a romákban talált gyakoriságokkal, valamint a romák indiai eredete okán irodalmi adatokból származó indiai adatokkal.

## III. Anyag és módszer

### III.1. Résztevők, vizsgálati elrendezés

#### **III.1.1. Roma és nem roma allélmegoszlások összehasonlítása**

PhD munkámban 195 oláh cigány személy genotipizálását végeztük el. A roma résztvevők felkutatása, valamint a vérvétel a Johan Béla Országos Epidemiológiai Központ roma projektje keretében történt, a mintákat dr. Béres Judit bocsátotta rendelkezésünkre. A mintavétel, illetve a vizsgálatok a szükséges etikai engedélyek és a résztvevők írásos hozzájárulásának birtokában zajlottak, a részvétel önkéntes volt. Kontrollként 547, magyarországi nem roma populációból származó személy perifériás véréből izoláltunk DNS-t és végeztük el ugyanazon gének allélgyakoriságának vizsgálatát. A roma illetve a többségi társadalomból származó nem roma allélgyakoriságokat a cigányság indiai eredete okán, az irodalomból származó indiai populációkban mért allélgyakoriságokkal is összevetettük (Mittal, 2011; Majumder, 2005; Buch, 2002; Tandle, 2001; Zhao, 1995). A lehetőségeken belül törekedtünk arra, hogy észak-indiai népeiségeken végzett vizsgálati eredményeket vegyünk az összehasonlítás alapjául.

#### **III.1.2. A fej-nyaki daganatok kockázata és a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus közötti kapcsolat vizsgálata**

Ezt az eset-kontroll vizsgálatot a roma/nem roma allélmegoszlások összehasonlításától teljesen függetlenül végeztük, célja a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus fej-nyaki daganatos kockázatra gyakorolt hatásának tisztázása volt, magyar népességben. A résztvevők etnikai hovatartozását nem ismertük, illetve nem regisztráltuk, és ilyen szelekciót nem végeztünk. A beteg és a kontroll csoport is 468 főből állt. A kontroll csoport tagjait egyéni szinten illesztettük a betegekhez, életkor ( $\pm 5$  év), nem és dohányzási szokások alapján.

### III.2. Genotipizálás

A perifériás véreket 0,84%-os  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -oldattal való ismételt centrifugálással vvt-mentesítettük, majd a fehérvérsejtekből GenomicPrep (Pharmacia, Uppsala, Svédország) DNS-izoláló kittel, az ott leírt reagensekkel és protokoll alapján DNS-t izoláltunk. A genotipizálásokat az alábbiakban részletezett metodika szerint végeztük.

#### **III.2.1. CYP1A1 Ile/Val polimorfizmus**

Allélspecifikus polimeráz láncreakció (PCR) segítségével a 7-es exonban lévő Ile/Val polimorfizmus genotípusa meghatározható (Hirvonen, 1992). Ekkor a reakció párhuzamosan zajlik két csőben, amelyben az upstream primer azonos, de a downstream primerek az utolsó bázisban eltérnek egymástól. Az upstream primer szekvenciája: GAAAGGCTGGGTCCACCCTCT, a downstream primerek szekvenciája: AAGACCTCCAGCGGGCAAT AAGACCTCCAGCGGGCAAC. Amplifikáció abban a csőben történik, amelynek downstream primere teljesen komplementer az adott DNS-szakasszal.

### **III.2.2. GSTM1 – GSTT1 szimultán genotipizálás**

A reakcióelegyben mind a GSTM1, mind a GSTT1 specifikus primerek, valamint kontrollként a  $\beta$ -globin gén egy szakaszára specifikus primerek voltak jelen, (Pool-Zobel, 1998). GSTM1-F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC, GSTM1-R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG, GSTT1-F: TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC, GSTT1-R: TCACCGGATCATGGCCAGCA,  $\beta$ -globin-F: CAACTTCATCCACGTTACC,  $\beta$ -globin-R: GAAGAGCCAAGGACAGGTAC. + genotípus esetén az adott fragment amplifikálódik, 0 genotípusnál nincs amplifikáció.

### **III.2.3. NAT2 rapid/lassú acetiláló polimorfizmus**

A PCR amplifikáció után kapott terméket 3 részre osztva 3 különböző restrikciós enzimmel emésztettük (*KpnI*, *TaqI*, és *BamHI*), a leggyakoribb lassú acetiláló genotípusok azonosítására. Az esetek 95%-ában ezen allélek /M1 (*KpnI*), M2 (*TaqI*), M3 (*BamHI*)/ jelenléte felelős a NAT2 alacsony aktivitásáért (lassú acetilálók). Lassú acetilálónak tekintettük a vizsgált személyt, ha a vad típusú allél nem volt jelen, tehát mindkét allélje „lassú” allél volt (Okkels, 1997). Primerek: GGAACAAATTGCACTTGG, TCTAGCATGAATCACTCTGC.

### **III.2.4. XRCC1-DNS reparációs enzim polimorfizmusai**

Az XRCC1 gén variánsait restrikciós fragment hosszúság-polimorfizmus (RFLP) módszerével vizsgáltuk (Xing, 2002, Lee, 2001b, Lunn, 1999). 194-es kodon primerek: 5'-GCC AGG GCC CCT CCT TCA A -3', 3'-TAC CCT CAG ACC CAC GAG T -5', emésztés: *PvuII*, 280-as kodon primerek: 5'-TTG ACC CCC AGT GGT GCT AA -3', 3'-GGC TGG GAC CAC CTG TGT T -5', emésztés: *RsaI*, 399-es kodon primerek: 5'- TTG TGC TTT CTC TGT GTC CA -3', 3'- TCC TCC AGC CTT TTC TGA TA -5', emésztés *MspI*.

### **III.2.5. TP53 Arg72Pro polimorfizmus**

Az allélspecifikus amplifikáció két csőben párhuzamosan, ugyanazzal a 3' primerrel, és az utolsó bázisukban különböző 5' primerekkel történt (Murata, 1996). 3' primer: GCAACTGACCGTGCAAGTCA, 5' primerek: ATGCCAGAGGCTGCTCCCCG, ATGCCAGAGGCTGCTCCCCC.

### **III.2.6. pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus**

A miR-146a genotipizálás a konfrontálódó primer-párok módszerével történt (Hishida, 2011; Hamajima, 2000). A két primer-pár úgy lett megtervezve, hogy az 1. párnál a reverz primer utolsó bázisa, míg a másik primer párnál pedig a forward primer essen a vizsgált SNP helyére. Az első primer az egyik, a második primer a másik alléllal teljesen komplementer, így jelen esetben az alábbi amplifikációs változatokat kapjuk: Mindenképpen keletkezik egy közös, 261 bp hosszúságú fragmentum (1. pár forward és 2. pár reverz primere), a C allélt hordozóknál emellett egy 128 bp fragmentum is jelen lesz (1. primer pár), míg a G allél pedig egy 182 bp hosszúságú terméket generál (2. primer pár). Primerek: F1: AAGCAGCTGCATTGGATT, R1: CAGCTGAAGAACTGAATTTAC, F2: GTTGTGTCAGTGTGACACCTC, és R2: CAAGCTCTTCAGCAGACTGA.

## **III.3. Statisztikai módszerek**

Az allélgyakoriságok összehasonlítása esély-hányados (OR) és 95%-os megbízhatósági tartomány (95% CI) számításával történt, illetve p-értéket is számoltunk a Pearson-féle  $\chi^2$ -próbával. A Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérést  $\chi^2$ -próbával vizsgáltuk. Az eset-kontroll vizsgálatban az életkort Student-féle kétmintás t-próbával, a gyakorisági változókat pedig  $\chi^2$ -próbával hasonlítottuk össze. A rizikófaktorok és a fej-nyaki daganatos kockázat közötti kapcsolatot logisztikus regressziószámítással elemeztük, életkor-, képzettség- és krónikus szájüregi betegségek fennállása szerint igazítva.



## IV. Eredmények

A hazai nem roma populációban talált allélmegoszlásokat összevetettük irodalmi adatok alapján, más európai vagy amerikai populációkon történt vizsgálatok eredményeivel, és azt találtuk, hogy a hazai allélgyakoriságok jól illeszkednek ezekhez az arányokhoz (Piacentini, 2011; Borlak, 2006; Matullo, 2001; Matthias, 1998; Sjölander, 1995). A miR-146a polimorfizmusnál saját eredményeink valamelyest eltértek az USA-ban publikált allélmegoszlásoktól, de nem különböztek statisztikailag szignifikánsan a török népességben talált allélgyakoriságoktól (Permuth-Wey, 2011; Akkiz, 2011). A vizsgált allélmegoszlások vonatkozásában a Hardy-Weinberg egyensúlytól egyik polimorfizmus esetében sem tapasztaltunk statisztikailag szignifikáns eltérést.

### IV.1. Metabolizáló enzimekre vonatkozó eredmények

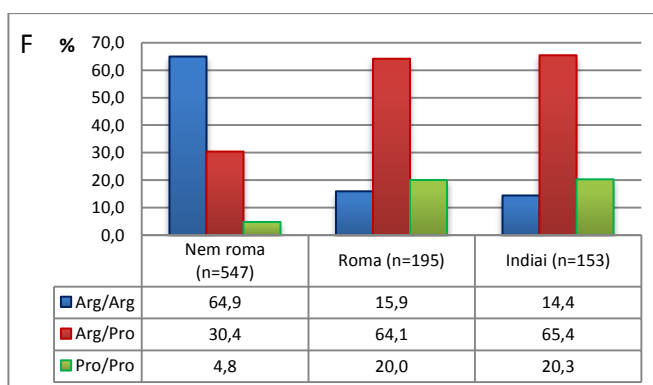
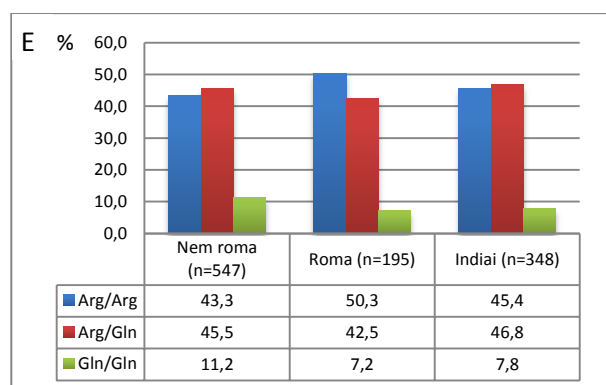
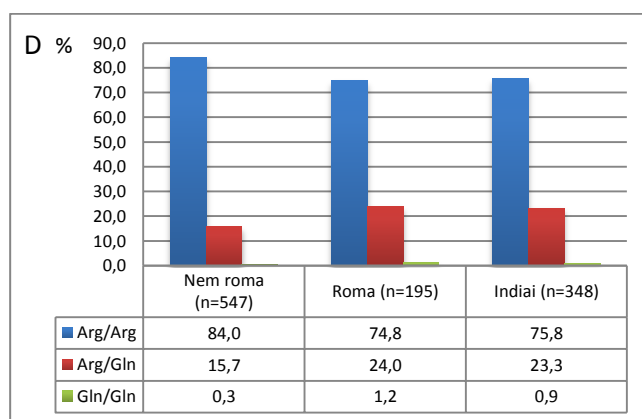
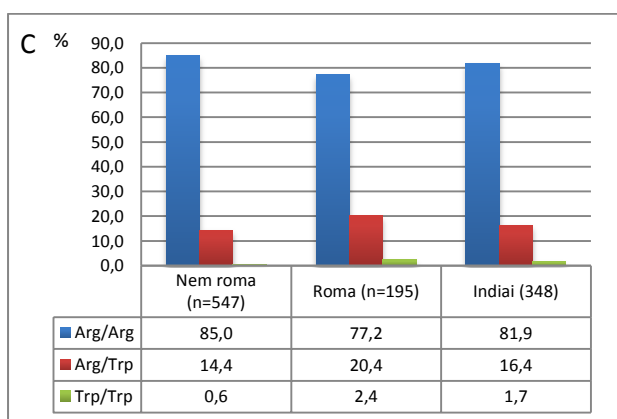
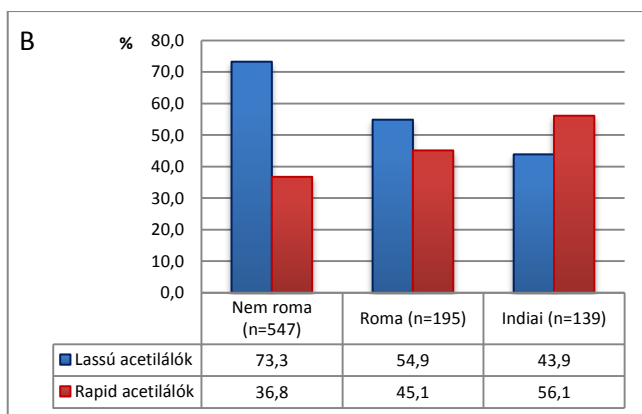
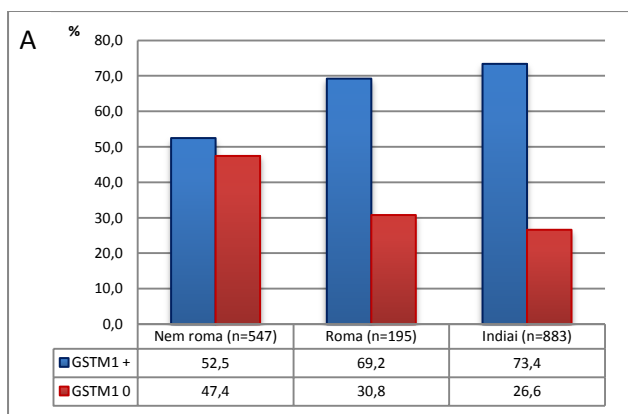
A CYP1A1 allélmegoszlásai és a GSTT1 genotípusok esetében mindhárom populáció hasonló képet mutatott. A GSTM1 0 genotípus prevalenciáját illetően a hazai oláh cigány populáció szignifikánsan különbözött a magyarországi nem roma populációtól (OR: 0,49, 95% CI: 0.34-0.70,  $p < 0,001$ ). A roma népesség ezen gyakoriságok tekintetében az indiai megoszlások képét mutatta és attól statisztikailag szignifikánsan nem tért el. A NAT2 rapid acetilálók arányát illetően a hazai roma populációban talált allélgyakoriság a –jelentős különbséget mutató – hazai nem roma és az indiai népségek között helyezkedett el, de kicsit közelebb az indiai népesség gyakoriságaihoz. A roma genotípus-gyakoriságok statisztikailag szignifikánsan eltértek a nem romákétól (OR: 1,42, 95% CI: 1,00-2,00,  $p = 0,039$ ), míg borderline különbséget találtunk az indiai népességtől (OR: 0,64, 95% CI: 0,41-1,02,  $p = 0,048$ ), (2 A,B. ábra).

### IV.2. Az XRCC1 DNS reparációs enzimre vonatkozó eredmények

Az XRCC1 Arg194Trp polimorfizmus tekintetében a hazai roma/nem roma megoszlások szignifikáns különbséget mutattak, a minor allél (Trp) gyakoribb volt romák között, mint a többségi populációban (OR: 1,75, 95% CI:1,19-2,57,  $p = 0,003$ ). A hazai nem roma arányok viszont nem mutattak statisztikailag szignifikáns eltérést az indiai megoszlástól, vagyis a hazai roma népesség kis mértékben ugyan, de még az indiainál is „távolabb” állt a hazai nem roma populációtól. Az Arg280Gln polimorfizmusnál a minor allél (Gln) úgyszintén gyakoribb volt romák között, mint nem romákban (20. ábra), az allélgyakoriságok közötti különbség ezúttal is statisztikailag szignifikánsnak bizonyult (OR: 1,68, 95% CI:1,15-2,46,  $p = 0,003$ ). Az Arg399Gln polimorfizmus esetében a minor allél (Gln) volt ritkább az oláh cigány népességben, és a különbség borderline szignifikanciát mutatott (OR: 0,78, 95% CI:0,60-1,01,  $p = 0,048$ ) (2 C, D, E ábra).

### IV.3. A TP53 tumorszuppresszor génre vonatkozó eredmények

Az indiai és a hazai nem roma populáció között a TP53 Arg72Pro polimorfizmusa mutatta a legfeltűnőbb különbséget. Míg például az Arg/Arg homozigóták aránya a hazai nem roma populációban 64,9% volt, addig ez Indiában csak 14,4%. A magyarországi roma populációban az indiai populációkban mért allélmegoszlások tükröződtek, a hazai nem roma populációtól jelentősen, statisztikailag szignifikánsan eltérve (OR: 4,36, 95% CI: 3,38-5,63,  $p < 0,001$ ), (22. ábra).



2. ábra: GSTM1, NAT2 genotípusok, az XRCC1 194, 280 és a 399 allélek illetve a TP53 allélek előfordulási gyakorisága magyarországi nem roma, roma, és indiai populációkban. (%)

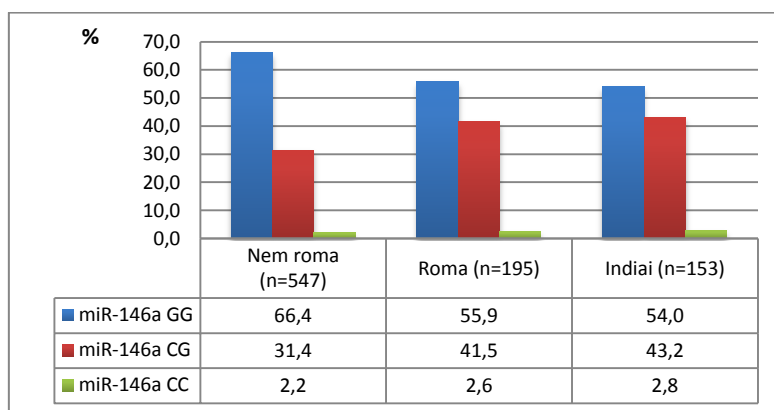
#### IV.4. A pre-miR146a mikroRNS polimorfizmusa és a fej-nyaki laphámrákok közötti kapcsolat

A pre-miR-146a genotípusok megoszlása az alábbi volt (beteg – kontroll): GG 60,7% vs. 69,0%, GC 35,9% vs. 29,1%, és CC 3,4% vs. 1,9%. A vizsgált allélgyakoriságok mindkét csoportban megfeleltek a Hardy-Weinberg egyensúlynak. A többváltozós logisztikus regressziószámítás kapcsolatot mutatott ki a vizsgált pre-miR-146a allélpolimorfizmus és a fej-nyaki laphámrákok

kialakulása között. A GG homozigótákhoz viszonyítva mind a heterozigóták (OR: 1,46, 95% CI: 1,10-1,95, p=0,009), mind a CC homozigóták (OR: 2,37, 95% CI: 1,01-5,60, p=0,048) aránya statisztikailag szignifikánsan magasabb volt a betegek között, mint a kontroll csoportban. A kapcsolat akkor is szignifikáns volt, ha a heterozigótákat és CC homozigótákat közös csoportba vontuk össze (OR: 1,52, 95% CI: 1,15-2,01, p=0,004). Bár jelen vizsgálatunk fő célja nem az alkoholfogyasztás és a fej-nyaki daganatok közötti kapcsolat tanulmányozása volt, elemzésünk szignifikáns, dóziszfüggő kapcsolatot talált az alkoholfogyasztás és a fej-nyaki daganatok előfordulása között (erős alkoholfogyasztás: OR: 3,35, 95% CI: 2,18-5,17, p<0,001). A krónikus szájüregi betegségek fennállása úgyszintén kockázati tényezőnek bizonyult (OR: 1,87, 95% CI: 1,43-2,45, p<0,001), míg az iskolai végzettséggel nem találtunk kapcsolatot. Rétegzett analízist is végeztünk, amelyben a nem hatásmódosító tényezőnek bizonyult: az alkoholfogyasztással (erős alkoholfogyasztás: OR: 4,26 vs. OR: 5,60), a szájüregi rendellenességekkel (OR: 1,75 vs. OR: 2,52) és a pre-miR-146a C alléllal (OR: 1,44 vs. OR: 1,84) egyaránt erősebb volt a kapcsolat nők körében, mint férfiak között. A rétegzett analízisben ugyancsak kölcsönhatást találtunk a pre-miR-146a allélpolimorfizmus és a dohányzás között. A dohányzás, akár a naponta elszívott cigaretták számát, akár a dohányzás időtartamát elemeztük, fokozta a pre-miR-146a C allél kockáztnövelő hatását: ez a hatás csak a hosszabb ideje dohányzóknak vagy a naponta legalább 20 cigarettát szívóknak volt kifejezetten erős és statisztikailag szignifikáns.

#### IV.5. A pre-miR146a mikroRNS-allélmegoszlások a roma népességben

A hazai többségi népesség allélgyakoriságai statisztikailag szignifikánsan különböztek mind az oláh cigány populáció (OR: 1,39, 95% CI: 1,04-1,86, p=0,025), mind az indiai népesség megoszlásaitól (OR: 1,48, 95% CI: 1,14-1,93, p=0,003). Romák között, illetve az indiai népességben a C allél gyakrabban fordult elő, mint a magyarországi nem roma populációban. A roma megoszlások nem különböznek szignifikánsan az irodalmi adatokból kapott indiai arányoktól (3. ábra).



3. ábra: A miR-146a genotípusok megoszlása hazai nem roma, roma és indiai populációkban (%).

## V. Megbeszélés

A második legfontosabb halálokat képező betegcsoport Magyarországon a daganatos betegségek csoportja. Jelen PhD munka fő célkitűzése az volt, hogy megpróbáljunk választ adni a kérdésre, vajon a magas hazai roma daganatos halálozások hátterében állhatnak-e (és ha igen, akkor milyen mértékben) genetikai tényezők. Arra törekedtünk, hogy a kiválasztott gének a daganatkialakulás korai lépéseit befolyásoló molekuláris szintű történések minél szélesebb spektrumát reprezentálják. Csak olyan allépolimorfizmusokat választottunk, amelyekre vonatkozóan korábban már intézetünkben is történtek vizsgálatok valamilyen daganat kockázatára nézve, magyar népességben.

Mivel a miR-146a vonatkozásában hazai adat nem állt rendelkezésre, itt szükségesnek tartottunk egy saját vizsgálatot elvégezni, egyrészt a hazai allélmegoszlások megismerése céljából, másrészt pedig a daganatos kockázatra gyakorolt hatást megítélendő. Ehhez a vizsgálathoz fej-nyaki daganatos betegeket választottunk. A miR-146a rs2910164 polimorfizmusnak a fej-nyaki daganatokkal való kapcsolatát eddig mindössze egyetlen vizsgálat tanulmányozta (Liu, 2010). Ez a vizsgálat nem talált összefüggést az rs2910164 allépolimorfizmus és a fej-nyaki daganatok kockázata között, de kissé ellentmondásos módon ugyanez a polimorfizmus más genetikai tényezőkkel együtt, azokkal kölcsönhatásban már kockázati tényezőnek bizonyult. Saját vizsgálatunkban arra törekedtünk, hogy Liu és mtsai vizsgálatának esetleges hibalehetőségeit kiküszöböljük, ezért választottuk az illesztett eset-kontroll vizsgálati elrendezést (nem, életkor, dohányzási szokások tekintetében), amivel a potenciális zavaró tényezők hatását megfelelően kiküszöbölhettük (Orsós, 2013). Eltérés mutatkozott továbbá a két vizsgálat között a dohányosok arányát illetően, ami Liu és mtsai vizsgálatánál alacsonyabb volt a fejlett országokban jelenleg meglévő átlagos prevalenciánál. Többek között a fentiek alapján is úgy gondoljuk, hogy saját eredményeink mindenképpen pontosabbak és elfogadhatók a hazai, de az európai népeiségekre is, mint az egyébként az USA-ban végzett másik vizsgálaté.

Az rs2910164 polimorfizmus feltételezhető kockázatomódosító hatása azon alapulhat, hogy befolyásolja az érett miR-146a mennyiségét a sejtben. A miR-146a pedig sokrétű szabályozó funkciói révén befolyásol egyes sejt differenciációs folyamatokat, amiről pedig tudjuk, hogy potenciálisan kapcsolatba hozható a daganatkialakulással (Rusca, 2011). Az egyetlen eddigi vizsgálat, ami a miR-146a expresszióját tanulmányozta szájüregi daganatokban, úgy találta, hogy rosszabb a prognózis fokozott miR-146a-expresszió esetén (Hung, 2012). Ez, bár nem etiológiai, hanem prognosztikus vizsgálat, de annyiban mindenképpen alátámasztja saját eredményeinket, hogy megerősíti a miR-146a és a fej-nyaki daganatok közötti kapcsolat fennállását. Az általunk vizsgált polimorfizmus egy G:U→C:U báziscsere kapcsán párhibához (mismatch) vezet, és csökken az érett mikroRNS mennyisége, amint ezt Jazdzewski és mtsai expressziós vektorral végzett kísérletekkel igazolták (Jazdzewski, 2008). Ezen kívül a miR-146a feltételezett tumor szuppresszor funkcióját alátámasztja továbbá, hogy az említett, humán daganatokban történő expresszióját vizsgáló tanulmányok többsége csökkent expressziót talált. Az esetleges overexpresszió (Hung, 2012; Lavon, 2010) talán a

daganatos transzformáció során megzavart regulációs mechanizmusok hatásának ellensúlyozására, „feed-back” reakcióként alakul ki.

A vizsgálat lényegi részét képezte a roma-nem roma allélmegoszlások összevetése. A vizsgált 9 polimorfizmus közül egyedül a CYP1A1 Ile/Val polimorfizmus nem mutatott eltérést semmilyen összehasonlításban sem, vagyis itt az allélgyakoriságok lényegében megegyeztek mindhárom vizsgált népességben. Ezen kívül még csupán a GSTT1 esetében nem különbözött szignifikánsan a hazai nem roma és roma népesség. Itt statisztikailag szignifikáns különbség volt a magyarországi nem roma és az indiai népesség között, a roma genotípus- gyakoriságok viszont mintegy „középen” helyezkedtek el, és egyiktől sem mutattak szignifikáns eltérést.

A további hét allélpolimorfizmus (TP53, GSTM1, NAT2, pre-miR-146a, XRCC1 194-es kodon, 280-as kodon és 399-es kodon) mindegyikénél statisztikailag szignifikáns különbség volt a hazai roma és nem roma népesség allél- vagy genotípus- gyakoriságai között.

A NAT2 esetében a helyzet hasonló a GSTT1-nél tapasztaltnak, vagyis az indiai és a magyarországi nem roma népesség genotípus- gyakorisága szignifikánsan különbözött egymástól (OR: 2,20, 95% CI: 1,48-3,27,  $p < 0,001$ ), és a roma népesség a kettő között, „félúton” helyezkedett el. A két alappopuláció közötti eltérés egyébként igen jelentős volt: míg a hazai nem roma népességben a rapid acetilálók voltak többségben (73,3%), addig Indiában a lassú acetilálók (56,1%). Ehhez hasonló jelenséget írtak le Sipeky és mtsai az MDR1 gén vizsgálatánál, a C1236T polimorfizmusra vonatkozóan (Sipeky, 2011). A NAT2 polimorfizmus volt tehát az egyetlen, ahol a magyarországi roma népesség szignifikáns különbséget mutatott az indiai populációhoz képest, ami talán azzal magyarázható, hogy ez a gén számos polimorfizmust tartalmaz, a különböző allélek száma több, mint 60, ami az adott régió fokozottabb variabilitására utalhat.

Következőként a TP53 tumor szuppresszor gén polimorfizmusát kell kiemelni, ahol a NAT2-höz hasonlóan igen jelentős különbség volt az allélmegoszlások tekintetében a magyarországi nem roma és az indiai népesség között. Az allélgyakoriságok itt is ellentétes irányt mutatnak a két populációban: míg Magyarországon az Arg allél a gyakoribb, addig Indiában a Pro allél. A roma gyakoriságok szinte teljesen az indiai megoszlással egyeztek meg.

A TP53-hoz hasonlóan a pre-miR146a allélmegoszlások is szignifikánsan különböztek a hazai nem roma és az indiai népességben, a roma megoszlás pedig szintén az indiaihoz volt nagyon hasonló. Ugyanezt a tendenciát láttuk a GSTM1 polimorfizmust illetően is: szignifikáns különbség a hazai nem roma és az indiai népesség között, és a roma megoszlások az indiai arányokhoz voltak közel.

Az XRCC1 gén vizsgált mindhárom polimorfizmusánál statisztikailag szignifikáns különbséget találtunk a hazai roma és nem roma népesség között. Érdekes, hogy mindhárom allélmegoszlásnál sajátos módon a roma arányok még kissé az indiai arányoknál is távolabb álltak a hazai nem roma népességtől. Ez a jelenség sem egyedülálló az irodalomban (Sipeky, 2011).

Annak ellenére tehát, hogy a roma népesség az általunk vizsgált polimorfizmusok majdnem mindegyikének tekintetében különbözött a többségi magyar populációtól, az eredmények azt mutatják, hogy ezek a tényezők nem felelősek a romák magasabb daganatos halálzásaiért. Az eltérő allélmegoszlások ugyanis egymás esetleges kockázatemelő/kockázatcsökkentő hatását ellensúlyozni látszanak (egyres polimorfizmusoknál a high-risk, másoknál pedig a low-risk allélek voltak gyakoribbak romák között). Természetesen a kérdés biztossággal nem válaszolható meg 7 gén 9 allélpolimorfizmusának elemzése alapján, ezért jelen vizsgálatunk lényegében pilot studynak tekinthető, és remélhetőleg hasonló munkák sora fogja majd követni, számba véve az összes, daganatkialakulás szempontjából fontos genetikai tényezőt. A roma népesség halálzásai mutatóinak csökkentése tehát a külső tényezők befolyásolásán keresztül lehetséges, vagyis elsődleges cél a gazdasági-szociális egyenlőtlenségek megszüntetése. Természetesen az egészségmagatartás befolyásolását csak a roma népesség kulturális sajátosságainak megértésével és figyelembe vételével kidolgozott programokkal lehet elérni.

## VI. Új eredmények összefoglalása

- A magyarországi oláh cigány populációban a felsorolt polimorfizmusok tekintetében az alábbi allélmegoszlásokat találtuk:
  - CYP1A1: Ile/Ile 75,9%, Ile/Val: 23,1%, Val/Val: 1,0%
  - GSTM1: + genotípus 69,2%, 0 genotípus 30,8%
  - GSTT1: + genotípus 82,1%, 0 genotípus 18,0%
  - NAT2: lassú acetilálók 54,9% rapid acetilálók 45,1%
  - XRCC1:
    - Arg194Trp: Arg/Arg 77,2%, Arg/Trp 20,4%, Trp/Trp 2,4%
    - Arg280Gln: Arg/Arg 74,8%, Arg/Gln 24,0%, Gln/Gln 1,2%
    - Arg399Gln: Arg/Arg 50,3%, Arg/Gln 42,5%, Gln/Gln 7,2%
  - TP53: Arg/Arg 15,9%, Arg/Pro 64,1%, 20,0%
  - pre-miR-146a rs2910164: G/G 55,9%, G/C 41,5%, C/C 2,6%
- A fenti allélmegoszlások közül 8-nál nem volt statisztikailag szignifikáns különbség az indiai népességből származó adatokkal összehasonlítva. Borderline szintű különbség volt a NAT2 allélmegoszlások tekintetében. Eredményeink alapján tehát a roma populáció megőrizte az ősi genetikai jellemzőit.
- A hazai nem roma többségi populációval összevetve az oláh cigány allélgyakoriságok szignifikánsan eltérőek voltak a GSTM1, NAT2, TP53, XRCC1 Arg194Trp, Arg280Gln és Arg399Gln (borderline), valamint a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmusoknál.
- A fentiektől független eset-kontroll vizsgálatban igazoltuk, hogy a hazai népességben a pre-miR-146a rs2910164 C allél statisztikailag szignifikánsan fokozza a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatát.

## VII. Irodalom

1. Akkiz H, Bayram S, Bekar A. et al.: *Gene*. 2011;486(1-2):104-9.
2. Babusik F. Az esélyegyenlőség korlátai Magyarországon. *L'Harmattan*. 2005.
3. Bennett WP, Hussain SP, Vahakangas KH, et al. *J Pathol*. 1999;187:8–18.
4. Bogdanović D, Nikić D, Petrović B, et al. *Croat Med J*. 2007;48(5):720-726.
5. Borlak J, Reamon-Buettner SM. *BMC Med Genet*. 2006;7:e58.
6. Buch S, Kotekar A, Kawle D. et al.: *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2002;128:627-631.
7. Delphoi Consulting 2004. (<http://www.delphoi.hu/download-pdf/roma-szoc-eu.pdf>)
8. Dumont P, Leu JI, Della PA, et al. *Nat. Genet*. 2003;33:357–365.
9. Engin AB, Karahalil B, Engin A, Karakaya AE. *Mol Biol Rep*. 2011;38(8):5379-86.
10. Friedman RC, Farh KK, Burge CB and Bartel DP.: *Genome Res*. 2009;19: 92-105.
11. Gresham D, Morar B, Underhill PA, et al: *Am J Hum Genet*. 2001;69(6):1314-31.
12. Hablicsek L. *Demográfia*. 2007;50(1):5-54.
13. Hamajima N, Saito T, Matsuo K, et al.: *Jpn J Cancer Res*. 2000; 91: 865–868.
14. Havas G, Kemény I, Kertesi G. *Kritika* 1998;3:31-33.
15. Hayashi S, Watanbe J, Nakachi K, Kawagiri K. *J Biochem*. 1991;110:407-411.
16. Hayes JD, Pulford DJ. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1995;30:445-600.
17. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Kavjalainen A, et al. *C. Epid. Biom. Prev*. 1992;1:485-489.
18. Hishida A, Matsuo K, Goto Y, et al.: *Dig Dis Sci*. 2011;56:1131–1137.
19. Hung PS, Chang KW, Kao SY, et al. *Oral Oncol*. 2012;48:404-440.
20. Janky B. *Budapest*. 1999;217-238.
21. Kalaydjieva L, Gresham D, Calafell F. *BMC Med Genet*. 2001;2:5.
22. Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, et al.: *Carcinogenesis*.1993;14:1085-1089.
23. Kemény I, Janky B, Lengyel G. *MTA Etnikai-nemzeti Kisebbségkutató Intézet*. Budapest. 2004.
24. Ketterer B. *Mutat Res*. 1988;202(2):343-361.
25. Kogo R, Mimori K, Tanaka F, et al. *Clin Cancer Res*.2011;17:4277-4284.
26. Kósa K, Lénárt B, Adány R.: *Orv Hetil*. 2002;143(43):2419-2426.
27. Koupilova I, Epstein H, Holcik J, Hajioff S, McKee M.: *Soc Sci Med*. 2001;53(9)1191-1204.
28. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al.: *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:467-475.
29. Ladányi J, Szelényi I.: *Napvilág*. 2004;127.
30. Lavon I, Zrihan D, Granit A, et al.: *Neuro Oncol*.2010;12:422-433.
31. Lee JM, Lee YC, Yang SY, et al.: *Int J Cancer*. 2001b;95(4):240-6.
32. Lin SL, Chiang A, Chang D, Ying SY. *RNA*. 2008;14:417-424.
33. Liu Z, Li G, Wei S, et al: *Cancer*. 2010;116(20):4753-4760.
34. Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, et al: *Cancer Res*. 1999;59:2557–2561.
35. Majumder M, Sikdar N, Paul RR, Roy B. *C. Epid. Biomarkers Prev*. 2005;14(9):2106-2112.
36. Matthias C, Bockmuhl U, Jahnke V, et al.: *Pharmacogenetics*. 1998;8:91–100.
37. Matullo G, Palli D, Peluso M, et al: *Carcinogenesis*. 2001;22(9):1437-1445.
38. Mittal RD, Gangwar R, George GP, et al: *DNA Cell Biol*. 2011;30(6):401-6.
39. Murata M, Tagawa M, Kimura M, et al: *Carcinogenesis*. 1996;17:261-264.
40. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, et al: *Pharmacogenetics*. 1996;6:1–42.
41. Okkels H, Sigsgaard T, Wolf H, Autrup H. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997;6:225-231.
42. Orsós Zs, Szanyi I, Csejtei A, Gerlinger I, Ember I, Kiss I. *Anticancer Res*. 2013;33(1):341-6.
43. Papaconstantinou IG, Lykoudis PM, Gazouli M, et al.: *Pancreas*. 2012;41:671-677.
44. Permuth-Wey J, Thompson RC, Burton Nabors L: *J Neurooncol*. 2011;105(3):639-46.

45. Piacentini S, Polimanti R, Porreca F, et al: Mol Biol Rep. 2011;38(2):1225-30.
46. Pool-Zobel BL, Bub A, Liegibel UM, et al: Cancer Epid Biom Prev. 1998;7:891-899.
47. Puporka L, Zádori Z. Roma Sajtóközpont. 1999.
48. ROMEDIA Foundation: <http://romediafoundation.wordpress.com/> 2012/04/08/international-roma-day-when-a-romani-movement-and-anthem-were-born/
49. Rusca N, Monticelli S.: Mol Biol Int. 2011;2011:437301.
50. Seow A, Zhao B, Poh WT, et al: Carcinogenesis. 1999;20:1877-1881.
51. Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, et al.: Drug Metab Pharmacokinet. 2011;26(2):206-215.
52. Sjölander A, Birgander R, Kivelä A, Beckman G.: Hum Hered. 1995;45(3):144-9.
53. Starczynowski DT, Morin R, McPherson A, et al.: Blood. 2011;13:595-607.
54. Tandle AT, Sanghvi V, Saranath D.: Br J Cancer.2001;84:739-742.
55. Tomka M. Cigánylét – műhelytanulmányok. MTA Politikai Tudományok Intézete. 1991.
56. Wu K, Su D, Lin K, Luo J, Au WW. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12(9):2237-2243.
57. Wu X, Zhao H, Amos CI, et al: J Natl Cancer Inst. 2002;94:681–90.
58. Xing D, Qi J, Miao X, et al: Int J Cancer. 2002;100:600–605.
59. Zhao B, Lee EJ, Wong JY, et al: Pharmacogenetics. 1995;5:275-280.

## VIII. Saját publikációk

### IX.1. A disszertációhoz kapcsolódó angol nyelvű közlemények

1. **Zs. Orsós**, I. Szanyi, A. Csejtej, I. Gerlinger, I. Ember, I. Kiss: Association of pre-miR-146a rs2910164 polymorphism with the risk of head and neck cancer. Anticancer Res. 2013;33(1):341-6. imp.f.: 1.7
2. **Zs. Orsós**, J. Béres, E. Marek, I. Ember, I. Kiss: Allelic polymorphisms in the Hungarian Roma population. Ethnicity & Health, közlésre elküldve
3. J. Cseh, E. Pázsit, **Zs. Orsós**, E. Marek, A. Huszár, S. Balogh, I. Ember, I. Kiss: Effect of glutathione-S-transferase M1 and T1 allelic polymorphisms on the HPV-induced cervical precancer formation. Anticancer Res. 2011. 31: 3051-3056, 2011. imp f.: 1.656
4. Á Ember, F Budán, G Nowrasteh, T Varjas, I Prantner, Gy Góbel, ÖP Horváth, L Illényi, J Cseh, P Perjési, **Zs Orsós**, P Gergely, K Fehér, I Ember, I Kiss: Application of molecular epidemiological biomarkers by monitoring the effects of treatment in colorectal cancer during follow-up study. European Journal of Oncology. 2011. 16:(2): 99-104.) imp. f.: 0.697
5. A. Csejtej, A. Tibold, Zs. Varga, K. Koltai, A. Ember, **Zs. Orsós**, G. Feher, OP Horvath, I. Ember, I. Kiss: GSTM, GSTT and p53 polymorphisms as modifiers of clinical outcome in colorectal cancer. Anticancer Research. 2008. 28: 1917-1922. imp.f.: 1.39, cit: 14
6. I. Kiss, **Zs. Orsós**, K. Gombos, B. Bogner, A. Csejtej, A. Tibold, Zs. Varga, E. Pázsit, I. Magda, A. Zólyomi, I. Ember: Association between allelic polymorphism of metabolizing enzymes (CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 2E1, mEH) and occurrence of colorectal cancer in Hungary. Anticancer Research. 2007. 27: 2931-2938. imp.f.: 1.414, cit: 12
7. Kiss, Á. Németh, B. Bogner, G. Pajkos, **Zs. Orsós**, J. Sándor, A. Csejtej, Zs. Faluhelyi, I. Rodler and I. Ember: Polymorphisms of glutathione-S-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer. Anticancer Research. 2004. 24: 3965-3970. imp.f.: 1.395, cit: 19



## VIII.2. A disszertációhoz kapcsolódó magyar nyelvű közlemények

8. **Orsós Zs**, Szanyi I, Ember I, Kiss I: A mir 146A RS2910164 G/C allélpolimorfizmus hatása a fejnyaki daganatok kialakulásának kockázatára. Magyar Epidemiológia. 2011. 8:(4) pp. 201-206.
9. Kiss I, Béres J, **Orsós Zs**, Sándor J, Ember I: Daganatok iránti egyéni érzékenységet befolyásoló allélpolimorfizmusok vizsgálata magyarországi roma populációban. Magyar Epidemiológia. 2004. 1: 69-74.

## VIII.3. A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények

10. F. Budán, I. Szabó, T. Varjas, G. Nowrasteh, T. Dávid, P. Gergely, Zs. Varga, K. Molnár, B. Kádár, **Zs. Orsós**, I. Kiss, I. Ember: Mixture of Uncaria and Tabebuia extracts are potentially chemopreventive in CBA/Ca mice – A long-term experiment. Phytotherapy Research. 2011. 25:(4): 493-500. imp.f.: 1.878
11. F. Budán, I. Szabó, Á. Ember, ÖP Horváth, L. Illényi, **Zs. Orsós**, A De Blasio, I. Magda, T. Gracza, P. Perjési, T. Dávid, G. Nowrasteh, I. Ember: Effect of Uncaria and Tabebuia extracts on molecular epidemiological biomarkers in patients with colorectal cancer. Acta Alimentaria. 2011. 40:(3): 356-363. imp. f.: 0.379
12. I. Kiss, A. Tibold, R. Halmosi, É. Bartha, K. Koltai, **Zs. Orsós**, L. Bujdosó, I. Ember: Enhancement of organ regeneration in animal models by a stem cell stimulating plant mixture. Journal of Medicinal Food. 2010. 13(3) 599-604.. imp.f.: 1.461
13. K. Gombos, T. Varjas, **Zs. Orsós**, É. Polyák, J. Peredi, Zs. Varga, G. Nowrasteh, A. Tettinger, Gy. Mucsi, I. Ember: The effect of aspartame administration on oncogene and suppressor gene expressions. In Vivo. 2007. 21: 89-92. imp.f.: 1.143
14. **Orsós Zs.**, Nádasi E., Dávid T., Ember I., Kiss I.: A CoD tea fogyasztás hatása "short-term" tesztrendszerben onko és tumorszupresszor gének expressziójára. Egészségtudomány. 2007. 50: 95-107.

## A megjelent és közlésre elfogadott

teljes közlemények összesített impakt faktora: **15,9**

## VIII.4. Könyvfejezetek

1. **Orsós Zs.**: Daganatok epidemiológiája. (XI/3. fejezet) In: Népegészségügyi Orvostan (szerk: Ember István, Kiss István, Cseh Károly). Dialóg Campus , 2013.
2. Kiss I., **Orsós Zs.**: Általános epidemiológia. (X. fejezet) In: Népegészségügyi Orvostan (szerk: Ember István, Kiss István, Cseh Károly). Dialóg Campus, 2013.
3. **Orsós Zs.**, Berényi K., Ember I.: A roma közösségek egészségi állapota. (XVI/6. fejezet) In: Népegészségügyi Orvostan (szerk: Ember István, Kiss István, Cseh Károly). Dialóg Campus , 2013.

4. Kiss I., **Orsós Zs.**, Gombos K., Prantner I., Szele E., Ember I.: Szűrés, szűrővizsgálatok (X/4. fejezet). In: Népegészségügyi Orvostan (szerk: Ember István, Kiss István, Cseh Károly). Dialóg Campus , 2013.
5. **Orsós Zs.**: A külső okból bekövetkezett halálozások epidemiológiája (XI/13. fejezet). In: Népegészségügyi Orvostan (szerk: Ember István, Kiss István, Cseh Károly). Dialóg Campus , 2013.

### VIII.5. Idézhető angol nyelvű kongresszusi abstractok:

1. **Zs. Orsós**, J. Béres, J. Sándor, I. Ember, I. Kiss: Allelic polymorphisms of metabolizing enzymes in hungarian roma population. Anticancer Research. Vol 24. (5D): 3587.
2. I. Kiss, **Zs. Orsós**, A. Csejtej, R. Schnábel, Zs. Faluhelyi, B. Bogner, J. Sándor, Á. Németh, I. Ember: Allelic polymorphisms of metabolizing enzymes modify the risk of colorectal cancer. Anticancer Research. Vol 24. (5D): 3536.
3. T. Varga, **Zs. Orsós**, Zs. Faluhelyi, A. Csejtej, I. Ember, I. Kiss: Effect of allelic polymorphysm of p53 tumor suppressor gene and vitamin-D receptor gene on individual susceptibility to breast cancer. Anticancer Research. Vol 24. (5D): 3663.
4. Gy. Czakó, M. Varga, **Zs. Orsós**, Cs. Varga, I. Ember, I. Kiss: Effect of plant extract on the expression of oncosuppressor genes in mice. Anticancer Research. Vol 24. (5D): 3462
5. F.T. Molnár, I. Kiss, Zs. Faluhelyi, **Zs. Orsós**, L. Bujdosó: Oncogene and tumor suppressor gene expression in different tissues of lung cancer patients. Hungarian Epidemiology. II. 1: S.58.
6. Gy. Czakó, M. Varga, **Zs. Orsós**, I. Kiss: In vivo gene expression effects of plant extract in mice. Hungarian Epidemiology. II. 1: S.33.
7. **Zs. Orsós**, E. Nádas, T. Dávid, I. Ember, I. Kiss: Effects of CoD extract on onco/tumor suppressor gene expression in mice. International Journal of Molecular Medicine. Vol. 16. (1): S66. 2005.
8. I. Kiss, **Zs. Orsós**, L. Szabó, I. Ember: In vivo effects of a plant extract (Flavin 7) on onco/tumor suppressor gene expression. International Journal of Molecular Medicine. Vol. 16. (1): S66. 2005.
9. **Zs. Orsós**, J. Béres, A. Csejtej, Zs. Faluhelyi, I. Ember, I. Kiss: Allelic polymorphism of the XRCC1 DNA repair gene in the Hungarian Roma (Gypsy) population. International Journal of Molecular Medicine. Vol. 18. (1): 358. 2006.
10. I. Kiss, **Zs. Orsós**, A. Csejtej, Zs. Faluhelyi, Zs. Varga, E. Pázsit, I. Ember: Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes affect the risk of colorectal cancer. International Journal of Molecular Medicine. Vol. 18. (1): 357. 2006.
11. A. Csejtej, A. Tibold, K. Koltai, Zs. Faluhelyi, **Zs. Orsós**, I. Kiss, I. Ember: Allelic polymorphisms as modifiers of colorectal cancer risk. International Journal of Molecular Medicine. Vol. 18. (1): 361. 2006.
12. **Zs. Orsós**, L. Szabó, K. Gombos, I. Ember, I. Kiss: Anticancer Effect of „Flavin 77”, a Plant Extract with High Phytochemical Content: An In Vivo Study with a Transplanted Hypernephroma. Emirates Medical Journal. Vol. 25. (1): 78. 2007.

13. I. Kiss, G. Pajkos, **Zs. Orsós**, K. Gombos, A. Tibold, Zs. Faluhelyi, Zs. Varga and I. Ember: Effect of p53 Allelic Polymorphism on the Prognostic Value of K-ras Point Mutations in Colorectal Cancer. *Emirates Medical Journal*. Vol. 25. (1): 90. 2007.
14. J. Cseh, I. Ember, **Zs. Orsós**, A. Tibold, Zs. Varga, E. Pázsit, I. Kiss: Effect of an allelic polymorphism in the dopamin receptor D2 gene on the risk of cervical cancer. *Anticancer Research* 28:5C, September-October 2008, 3248: A129
15. L. Szabó, I. Kiss, **Zs. Orsós**, I. Ember: Effect of Nano-Fruit-Café on the expression of oncogenes and tumor suppressor genes. *Anticancer Research* 28:5C, September-October 2008, 3274: A186
16. I. Kiss, **Zs. Orsós**, A. Tibold, Zs. Varga, J. Cseh, A. Csejtei, I. Ember: Low penetrance genetic susceptibility factors in human carcinogenesis. *Anticancer Research* 28:5C, September-October 2008, 3351: A345
17. A. Tibold, A. Csejtei, Zs. Varga, K. Koltai, Á. Ember, **Zs. Orsós**, I. Ember, I. Kiss: Allelic Polymorphisms as modifiers of clinical outcome in colorectal cancer. *Anticancer Research* 28:5C, September-October 2008, 3518: A677
18. **Zs. Orsós**, I. Kiss: Allelic polymorphisms and cancer susceptibility. *International Conference of Preventive Medicine and Public Health. Magyar epidemiológia*. VII. 4:
19. I. Szanyi, **Zs. Orsós**, P. Móricz, I. Ember, I. Kiss: Effect of UDP-glucuronyltransferase 1A1 allelic polymorphism on the risk of development and prognosis of head and neck cancers. *International Conference of Preventive Medicine and Public Health. Magyar epidemiológia*. VII. 4:
20. J. Cseh, **Zs. Orsós**, E. Pázsit, Z. Ozsváth, I. Ember, I. Kiss: Allelic polymorphisms as risk/prognostic factors in cervical cancer. *International Conference of Preventive Medicine and Public Health. Magyar epidemiológia*. VII. 4:

## IX. Köszönetnyilvánítás

Szeretném őszintén megköszönni témavezetőmnek Dr. Ember István Professor Úrnak töretlen támogatását és biztatását munkám és tanulmányaim során, valamint a PhD disszertáció elkészítésénél nyújtott segítségét. Sajnos Professor Úr már nem lehet velünk, de mindig hálával fogok emlékezni rá.

Szeretném köszönetemet kifejezni munkacsoportom vezetőjének Dr. Kiss István Professor Úrnak, hogy idejét és fáradságát nem sajnálva pályafutásom során bármikor számíthattam rá.

Szeretném megköszönni családomnak, hogy gyermekkorom óta hittek bennem és szeretetükkel erőt adtak.

Szeretném megköszönni Dr. Béres Judit humángenetikusnak, hogy a roma mintákat a rendelkezésünkre bocsájtotta.

Szeretném megköszönni Déri Tibornének a laboratóriumban nyújtott segítségét.

Végül, de nem utolsósorban szeretném köszönetemet kifejezni a Magyar Tudományos Akadémiának, hogy a romáknak szánt PhD-ösztöndijával elsőként részesített abban az anyagi és erkölcsi megtiszteltetésben, ami erőt adott PhD-kutatásom és a dolgozatom megírásához is.