

Génexpressziók és allélpolimorfizmusok, mint a daganatmegelőzés molekuláris epidemiológiai biomarkerei

Dr. Kiss István

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Népegészségtani Intézet



Pécs, 2013

A daganatok fejlett országokban a második legfontosabb halálokot képezik. Ez Magyarországon sincs másképp, az összes halálozás 25%-át teszik ki. Ha nemcsak a halálozások számát tekintjük, hanem a potenciálisan elvesztett éveket is, akkor viszont a legfontosabb haláloki csoportot a daganatos betegségek képezik. A daganatterápia hatékonysága tekintetében Magyarországnak nincs oka szégyenkeznie, mert az anyagi források szűkös volta ellenére a betegek túlélési esélyei a legtöbb daganat vonatkozásában a nemzetközi trendeknek megfelelően alakulnak hazánkban is. Sajnos azonban ugyanezek a trendek és adatok mutatják egyúttal azt is, hogy a XXI. században a daganatok terápiájának kérdése még mindig nem megoldott, és kifejezetten jó esélyek akkor vannak a gyógyulásra, ha a betegséget korai stádiumban diagnosztizálták. Ez arra hívja fel a figyelmet, hogy a daganatok terápiája mellett kiemelt fontossága van egyrészt a korai diagnózisnak – szűrővizsgálatoknak – másrészt pedig a betegség megelőzésének, a primer prevenciónak is. Mivel az anyagi lehetőségek itt sem korlátlanok, mindent meg kell tenni, hogy a rendelkezésre álló erőforrásokat a leghatékonyabban használhassuk fel ezen a téren is.

A daganatok kialakulásáért környezeti és genetikai tényezők felelősek, természetesen egymással való kölcsönhatásban. A genetikai tényezőket lényegében két nagy csoportra oszthatjuk – bár közöttük az átmenet nem éles, hanem folyamatos –, az alacsony és a magas penetranciájú tényezőkre. Az utóbbiak okozzák az örökletes, illetve családi halmozódást okozó daganatokat, daganatos szindrómákat. Ezzel ellentétben az alacsony penetranciájú genetikai tényezők (amelyek esetében a populációs járulékos kockázat gyakoribb előfordulásuk miatt jóval magasabb) csak kisebb mértékben befolyásolják a daganatkialakulás kockázatát, vizsgálatukhoz nagyobb népességen végzett molekuláris/genetikai epidemiológiai vizsgálatokra van szükség.

Az alacsony penetranciájú genetikai tényezők tipikusan olyan gének allépolimorfizmusai, amelyek szerepet játszanak a malignus transzformáció folyamatában. Ilyenek lehetnek például az onkogének, tumorszuppresszor-gének, a DNS-reparációban részt vevő enzimek génjei, illetve a karcinogén anyagokat metabolizáló enzimeket kódoló gének allépolimorfizmusai, de elképzelhető, hogy közvetettebb kapcsolatot mutató gének is befolyásolják a daganatok kockázatát.

Metabolizáló enzimek

A szervezetünkbe kerülő karcinogén anyagok legnagyobb része prokarcinogén formájában kerül szervezetünkbe, és itt válik definitív karcinogénné, különböző metabolikus átalakulási folyamatok során. A karcinogén vegyületeket első lépésben átalakító enzimeket I-es fázisú enzimeknek nevezzük. Ezek az enzimek a szervezetbe jutott vegyületeket elektrofil, reaktív intermedierekké alakítják, amelyek a DNS-hez kötődnek majd pontmutációkat okozva karcinogén hatást fejtenek ki. Az aktivált karcinogén molekulák a szubsztrátjai az úgynevezett II-es fázisú enzimeknek, amelyek valamilyen konjugációs reakcióval inaktíválják azokat, illetve a vízoldhatóság növelésével elősegítik a szervezetből való kiválasztásukat. Eszerint tehát nemcsak a karcinogén-expozíció, hanem különböző metabolizáló enzimjeink aktivitása egyaránt lényeges az aktív karcinogének mennyiségének alakításában. Metabolizáló

enzimjeink jelentős része polimorf. Helypolimorfizmusaik általában az enzimaktivitás vagy génexpresszió szintjén is megmutatkozó különbségeket eredményeznek.

1. Citokróm P450 1A1 (CYP1A1)

A CYP1A1 (más néven aril-hidrokarbon-hidroxiláz (AHH)) az I-es fázisú metabolizáló enzimek csoportjába tartozik, és részt vesz számos a policiklusos aromás szénhidrogén átalakításában. (Kawajiri, 1991). Legfontosabb szubsztrátja a benz[a]pirén, amely egyike a dohányfüst számos kémiai karcinogén anyagának, továbbá jelentős expozíciót jelent a közlekedési eredetű (kipufogógázokból származó), valamint grillezett, füstölt élelmiszerek fogyasztása is.

A CYP1A1 gén polimorf. Mindkét funkcionális polimorfizusa egy nukleotidnyi eltérésben nyilvánul meg az egyes allélek között (single nucleotide polymorphism = SNP). Az rs1048943 azonosítójú Ile462Val polimorfizmus, amely egy DNS-szintű A/G szubsztitúciónak köszönhető. Az egyes allélvariánsok prevalenciáját illetően jelentős különbségek vannak különböző népcsoportok között: Ázsiában a Val allél előfordulása jóval gyakoribb (30-40%), mint például Európában (~10%), (Hirvonen, 1992; Kawajiri, 1993a). Mivel a policiklusos aromás szénhidrogének a dohányzás-tüdőrák kapcsolatban játszanak döntő szerepet, a CYP1A1 allélpolimorfizmusokat is elsősorban e tumorról kapcsolatban vizsgálták legelőször és legtöbbször, de az eredmények eltéréseket mutatnak a különböző népcsoportok esetében. Könnyű belátni, hogy ha a tüdőrák tekintetében – ahol a policiklusos aromás szénhidrogénekkel történő expozíció kulcsszerepe jól ismert – nem sikerült egyértelmű, minden népességre és tumor-altípusra vonatkozó összefüggést kimutatni, akkor más tumorok esetében a helyzet még összetettebb.

2. Citokróm P450 1A2 (CYP1A2)

A CYP1A2 515 aminosavból álló protein, a máj citokróm enzimjeinek egyik legnagyobb mennyiségben jelen levő tagja. Az enzim szubsztrátjai közé számos gyógyszer (haloperidol, tamoxifen, fenacetin, paracetamol) és egyéb xenobiotikum mellett néhány fontos karcinogén molekula (4-(metilnitróamino)-1-(3-piridil)-1-butanon /NNK/, 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin /PhIP/, 2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]quinoxalin /MeIQx/) is tartozik. Ismeretes, hogy a CYP1A2 aktivitását gátlószerek (fluorokinolonszármazékok, verapamil) és induktorok (a cigarettafüst egyes komponensei, metilkolantrén, a brokkoliben és kelbimbóban található vegyületek) jelentős mértékben befolyásolni tudják. A CYP1A2 aktivitását illetően 10-200-szoros egyéni variabilitást írtak le (Gunes, 2008), ami nyilvánvalóan felveti az interindividuális genetikai variabilitás szerepét. A génnek több, mint 40 polimorfizmus is ismeretes, többségükben SNP-ek, amelyek közül az exonok területén levők a fehérje enzimatisz aktivitását, a szabályozó régiókban levők pedig az expressziót vagy indukálhatóságot befolyásolják. Mivel a CYP1A2 részt vesz a táplálékkal a szervezetünkbe jutó heterociklusos aminok metabolizmusában, polimorfizmusainak szerepét leginkább ezzel kapcsolatosan vizsgálták.

3. Citokróm P450 2E1 (CYP2E1)

A CYP2E1 a 10-es kromoszómán elhelyezkedő, 9 exonból álló gén számos szövetben és szervben expresszálódik, a májban pedig mennyiségét illetően az összes CYP enzim 5-10%-át adja. Az utóbbi években igazolták, hogy az enzim – több más CYP enzimhez hasonlóan – nemcsak az endoplazmatikus

retikulumban, hanem a mitokondriumokban is megtalálható (Knockaert, 2011). A CYP2E1 által katalizált jellegzetes és fontos reakció a kis molekulású lipofil vegyületek (pl. aceton) oxidációja. Az enzim számos molekulát metabolizál, szubsztrátjai közé különböző kémiai szerkezetű és hatású vegyületek tartoznak például gyógyszerek (acetaminofen, pirazol), etanol, benzol, szén-tetraklorid, vinilklorid, kloroform, egyes N-nitrozovegyületek. Az enzim az alkohol általi indukálhatóságáról ismert, bár más szubsztrátjai is lehetnek egyúttal enziminduktorok, illetve egyes vegyületek, mint például izotiocianátok, disulfiram vagy chlormethiazol pedig gátolják az enzim aktivitását (Gebhardt, 1997). A CYP1E1-nek az etanol oxidatív átalakítása miatt fontos szerepe van az alkoholfogyasztás által indukált betegségek kialakulásában (Cederbaum, 2010) (bár az etanolt nagyobb részben az alkohol-dehidrogenáz metabolizálja), az ezzel kapcsolatos egyéni vagy populációs szintű érzékenység kialakításában (Lin, 1998).

A génnek több, mint 10 polimorfizmusát írták le, amelyek a szabályozó régiók-, intronok- illetve exonok területén helyezkednek el. A *PstI/RsaI* polimorfizmus és a daganatok kockázata közötti kapcsolatot illetően az eredmények finoman fogalmazva sem egyértelműek. Elméletileg a c2 allél esetében lenne várható a fokozott kockázat, hiszen ez jár együtt fokozott expresszióval, indukálhatósággal, vagyis az intenzívebb karcinogén-aktiváció miatt ekkor a legmagasabb a reaktív, karcinogén intermedierek koncentrációja szervezetünkben. Tovább bonyolítja a helyzetet a már említett ázsiai/kaukázusi különbség az egyes allélek megoszlását illetően.

4. Mikroszomális epoxi-hidroláz (mEH v. EPHX1)

Az emberi szervezetben a citokróm P450 enzimrendszer egyes tagjai karcinogén anyagok – például policiklusos aromás szénhidrogének – metabolizációja során epoxidokat képeznek e vegyületekből (I-es fázisú reakció). Mivel ezek az epoxidok komoly DNS-károsító potenciállal rendelkeznek, védelmi mechanizmusra van szükség velük szemben. Ennek a mechanizmusnak fontos elemei az epoxi-hidroláz enzimek, amelyek diolokat illetve dihidro-diolokat képeznek ezekből a vegyületekből (II-es fázisú reakció). Ezek a diolok általában kevésbé reakcióképesek, viszont vízzeloldékonyabbak, bár egyes esetekben (pl. benz[a]pirén) a keletkezett termék reaktív és erősen mutagén (Sims, 1980). Így tehát, annak ellenére, hogy általánosságban véve az epoxi-hidrolázok a karcinogén vegyületek elleni védekezés fontos enzimjei, néha éppen ellenkezőleg, a szubsztráttól függően mégis aktivációs reakciót katalizálhatnak. Az EPHX1 széles szubsztrátspecifitással rendelkezik, fő feladata a xenobiotikumok metabolizálása. Bizonyos esetekben ezek a szubsztrátok származhatnak direkt expozícióból, többségükben mégis a szervezetben képződnek, I-es fázisú reakciók termékeként. Az EPHX1 gén minden szövetben expresszálódik, különösen magas szinten a tüdőben, májban, vesében, gonádokban és epitheliális sejtekben (Seidegard, 1997).

Két genetikai polimorfizmusát vizsgálták kiterjedtebben, egyik a Tyr113His (C→T tranzíció a 3-as exon területén), a másik pedig a His139Arg (C→A szubsztitúció a 4-es exonban) SNP. A variáns allél a vad típusúhoz képest a Tyr113His polimorfizmusnál mintegy 40-50%-kal alacsonyabb, a His139Arg polimorfizmus esetén pedig kb. 25%-kal magasabb aktivitású enzimet kódol. Figyelembe véve, hogy az EPHX1 a cigarettafüstben levő benz[a]pirént aktiválja, nem meglepő, hogy a 113His homozigóták – akiknél tehát az enzimaktivitás alacsony – kaukázusi populációkban alacsonyabb tüdőrák-kockázatúnak bizonyultak (To-Figueras, 2001; Gsur, 2003). Érdekes viszont, hogy ázsiai népességben pontosan az ellenkezője látszik bebizonyosodni (Kiyohara, 2006) az eddigi vizsgálatok metaanalíziséből. A His139Arg

allélpolimorfizmust tekintve ugyanakkor a genotípusok a publikált eredmények (Persson, 1999; Yin, 2001).

5. Glutation-S-transzferáz M1 (GSTM1)

A glutation-S-transzferáz enzim-szupercsalád rendkívül heterogén, számos fehérjéből áll, amelyeket családokba (osztályokba) sorolunk. Ezen enzimek jelentős része fontos szerepet tölt be a reaktív karcinogén intermedier molekulák inaktiválásában, ami glutationnal való konjugáció útján történik. A szupercsalád legjobban ismert családja az 1-es kromoszóma 1p13.3 régiójában található mű osztály; tagjai közül kétségtelenül a GSTM1 enzimet vizsgálták legalaposabban, köszönhetően főként annak, hogy szubsztrátjai közé számos policiklusos aromás szénhidrogén (pl. benz[a]pirén tartozik. A GSTM1 a glutationnal való konjugáció révén fontos feladatot lát el szervezetünk e vegyületek elleni védekező rendszerében.

A legtöbb metabolizáló enzimmel ellentétben, amelyeknél az egy bázisnyi eltérés polimorfizmusok a jellemzők, és általában valamelyest eltérő aktivitású fehérjét kódolnak a különböző allélek, a *GSTM1* gén 0/+ polimorfizmusa sokkal erőteljesebben érinti a fehérje funkciót. A 0/+ polimorfizmus valójában egy Ins/Del polimorfizmus, a Del allélt hordozókban a gén egy része nincs jelen, a deléciónak következtében funkcióképtelen fehérje kerül átírásra. 0 genotípusnak a homozigóta Del genotípust nevezzük, az ilyen személyekben egyáltalán nem termelődik funkcióképes GSTM1 enzim. Érdekes, hogy ez a genotípus milyen gyakori: kaukázusi rasszban majdnem 50%-os a prevalenciája. Mivel a GSTM1 szubsztrátjait más II-es fázisú metabolizáló enzimek is képesek inaktiválni, a 0 genotípusú személyekben a kiesett GSTM1 funkciót a szervezet bizonyos mértékig kompenzálni tudja. A homo- vagy heterozigóta formában az Ins allélt hordozókat + genotípusúaknak nevezzük, itt nem szokás különbséget tenni a homo- és a heterozigóták között: Úgy tűnik, hogy a heterozigótákban is elégséges mennyiségű enzim szintetizálódik a megfelelő detoxikáló funkciók ellátásához.

Sok különféle daganatos betegcsoportot vizsgáltak, hogy tisztázzák, vajon kockázati tényező-e az adott daganat kialakulása szempontjából a GSTM1 0 genotípus. A vizsgálatok egy része kockázati tényezőnek találta a 0 genotípust, más részük nem talált ilyen kapcsolatot. Pl. cervixtumorok (Gao, 2011), gyomorrák (Zhu, 2012), szájüregi daganatok (Zhang, 2011); prosztatarák (Mo, 2009); hólyagtumorok (Jiang, 2011).

6. Glutation-S-transzferáz T1 (GSTT1)

A GST théta család 4 eddig leírt tagja közül a legfontosabb a GSTT1 enzim. Szubsztrátjai például az 1,3-butadién, az etilénoxid, aflatoxin-metabolitok. Polimorfizmusok tekintetében a GSTM1-hez hasonlóan 0/+ polimorfizmusa ismeretes, a különbség annyi, hogy a GSTT1 0 genotípus előfordulása kaukázusi népességben valamivel kevésbé gyakori, mint a GSTM1-nél (10-20%), ázsiaiakban viszont 50-60%-ban fordul elő. A polimorfizmus daganatos kockázati hatásait illetően a publikált vizsgálatok száma nem sokkal kevesebb, mint a GSTM1-nél, az eredmények ugyancsak kissé vegyesen, de többségükben a GSTT1 enyhe kockázatemelő hatását valószínűsítik néhány daganatra vonatkozóan (emlőrák (Sergentanis, 2010), kolorektális daganatok, (Economopoulos, 2010), cervixtumorok (Gao, 2011)), bár itt a negatív eredmények száma magasabb (Mo, 2009; Langevin, 2010; Zhang, 2011; Kumar, 2011).

7. *Glutation-S-transzferáz 1 (GSTA1)*

Az enzim szupercsalád pi osztályának tagja, és a gyakorló orvos számára azért különösen érdekes, mert szubsztrátjai között számos citosztatikus gyógyszer is megtalálható (melphalan, ciklofoszfamid, vinkrisztin, adriamicin, ciszplatin, etopozid, thiotepa, klorambucil, and buszulfan). Két funkcionális polimorfizmusa közül (Ile105Val és Ala114Val) az előbbit tanulmányozták sokkal alaposabban (Zimniak, 1994). A Val allélt hordozókban az enzimaktivitás alacsonyabb, részben magának a katalitikus aktivitásnak a csökkenése, részben a hőstabilitás megváltozása miatt. Ezt az allélt egyes vizsgálatok valamivel gyakoribbnak találták bizonyos daganatos betegekben, mint egészséges népességben, bár a legtöbb daganatra vonatkozóan az eredmények többsége inkább negatív volt (Langevin, 2010; Economopoulos, 2010; Spurdle, 2010). A polimorfizmus hatását inkább a citosztatikus kezelés hatékonyságának modulálását illetően vagy a terápia-indukálta daganatok kockázatára vonatkozóan (Allan, 2001) sikerült igazolni.

8. *N-acetiltranszferáz 2 (NAT2)*

Habár az N-acetiltranszferáz enzimek a II-es fázisú detoxikáló enzimek közé kerültek besorolásra, a katalizált reakciók egy része mégis a karcinogén molekulák aktivációjához vezet, vagyis az enzimek I-es fázisú reakciókat is katalizálnak. A II-es fázisú reakció az N-acetiláció, ami számos vegyület (pl. aromás aminok, hidrazinok) inaktiválásához vezet, míg az O-acetiláció pedig (pl. (N-hidroxilezett aromás aminok, heterociklusos aminok esetén) aktiváló hatású. A NAT enzimeknél a reakció jellege a konkrét szubsztráttól függ. Éppen ezért, a karcinogén-expozíciótól függően az enzim hatása megnyilvánulhat a daganatos kockázat emelésében, de csökkentésében is.

Maga a NAT2 gén meglehetősen rövid, egy exonból áll, a 8-as kromoszómán helyezkedik el (8p22). A 290 aminosavból álló fehérje viszont bővelkedik genetikai polimorfizmusokban. 7 gyakoribb polimorfizmusa alapján, ezek számos kombinációját 3 fő csoportba szokás besorolni, a kódolt enzim aktivitása alapján: rapid, közepes és lassú acetilálókra, de egyes vizsgálatok a három helyett csak két csoportot használnak. Ezen kívül egyébként ismeretesek még további, ritkább vagy néma polimorfizmusok is. A NAT2 genotipizálás a polimorfizmusok nagy száma miatt túlságosan is bonyolult, éppen ezért egyszerűsített módszereket szoktak alkalmazni, amelyek ugyan nem teljes körűen genotipizálnak, de az adott fő csoportokba tartozókat viszonylag jó pontossággal besorolják (Le Marchand, 1996; Potter, 1999). Egyes vizsgálatok pedig fenotípus, vagyis enzimaktivitás-mérés alapján sorolják be a vizsgált személyeket (Evans, 1992).

9. *N-acetiltranszferáz 1 (NAT1)*

A NAT1 azért került a NAT2 enzim mögé a felsorolásban, mert polimorfizmusait később kezdték el vizsgálni, és genetikai heterogenitása is kevésbé erősen nyilvánul meg az enzimaktivitás színjén (Walker, 2009). Míg a NAT2 inkább a májban és a bélben expresszálódik, a NAT1 számos extrahepatikus szövetben megtalálható. Ugyancsak több polimorfizmusa ismeretes, és a NAT-hoz viszonyítva kevesebb vizsgálat számol be ezek daganatos kockázatot moduláló hatásáról (Sørensen, 2008; Demokan, 2010). Érdekes, hogy emberben létezik egy NATP nevű pszeudogén is. Ez működőképes NAT enzimet nem kódol, de a pszeudogének funkciójaként az utóbbi időben feltételezik, hogy esetleg a róluk átíródó RNS-

ek tölthetnek be szabályozó funkciókat (mikroRNS-ekhez kapcsolódhatnak, amivel lényegében a mikroRNS-szabályozást befolyásolják, regulálják).

10. Uridin-difoszfát-glukuroniltranszferáz 1A1 (UGT1A1)

A 2-es kromoszóma 2q37 régiójában elhelyezkedő gén által kódolt UGT1A1 a II-es fázisú metabolizáló enzimek csoportjába tartozik, elnevezésének megfelelően glukuronidációs folyamatokat katalizál. Az UGT-családnak egyébként számos további tagja van, bizonyos mértékben átfedés van szubsztrátjaik között. Az UGT1 enzimek egyes izoformái egyébként úgy jönnek létre, hogy különböző promotor/első exon szekvenciák kapcsolódnak a közös exon 2-5 részhez. Az 1-es exon felelős a szubsztrátspecifitásért, az N-terminális, közös rész pedig az UDP-glukuronsavval való interakcióért. Az UGT1A1 enzimet legszélesebb körben nem a daganatokkal való esetleges kapcsolata miatt tanulmányozták, hanem azért, mert – strukturálisan egymástól meglehetősen különböző egyéb szubsztrátjai (pl. β -ösztadiol, 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridin, zsírsavak, PAH metabolitok, irinotecan és egyéb xenobiotikumok) – mellett az enzimsaládból egyedülként ez az enzim felelős a bilirubin UDP-glukuronsavval történő konjugációjáért.

Az UGT1A1-nek számos polimorfizmusa ismeretes, többsége SNP, amelyek az enzimatis aktivitás kisebb mértékű zavarát, megváltozását okozzák. A daganatok és az UGT1A1 kapcsolata egyébként oda vezethető vissza, hogy a kolorektális daganatok terápiájában használt irinotecan a UGT1A1 szubsztrátja, az enzimaktivitás tehát a gyógyszer metabolizmusát befolyásolja. A legtöbbet vizsgált polimorfizmus a gén promotor régiójában található, és a génexpresszió, vagyis a szintetizált enzim mennyiségének változását idézi elő. A TATA box régióra lokalizálódó polimorfizmus egy Ins/Del polimorfizmus, mégpedig egy TA dinukleotid-szekvencia jelenlétére vagy hiányára utal. A vad típusú allél *1, míg a variáns, 7 TA-repeat formát *28 elnevezéssel illetjük. A *1/*28 polimorfizmus szerepét többnyire hormon-dependens daganatok esetén vizsgálták, mivel az enzimnek szerepe van a nemi hormonok metabolizmusában.

X-ray repair cross complementing 1 (XRCC1) DNS-reparációs enzim

A 19-es kromoszómán (19q13.2) található XRCC1 gén az XRCC DNS-reparációs enzimrendszer tagja, több, mint 20 további XRCC enzimmel egyetemben. A DNS-reparációs folyamatokban számos enzim működik közre, a különböző típusú hibák kijavítása más-más módon és más-más fehérjék által történik. A DNS-károsodások fontos típusai a lánc-törések, amelyek lehetnek egyes szálú vagy kettős szálú törések. Ezek közül az XRCC1 fehérje a gyakoribb egyes láncú törések kijavításában vesz részt, ami különösen lényeges az ionizáló sugárzások vagy egyes citosztatikumok által okozott károsodásoknál, de számos más vegyület is okozhat egyes láncú töréseket. A csak az egyik láncot érintő további hibák kijavításának fő útjai a báziskivágásos reparáció, a nukleotidkivágásos reparáció és a mismatch reparáció. A károsodott bázis eltávolítása után a foszfodiészter-kötés bontása, majd a rés kitöltése és ligáció következik. Az XRCC1 a báziskivágásos reparációban is részt vesz.

Az XRCC1 fehérje feladatainak végrehajtása közben kapcsolatba kerül többek között a DNS ligáz III α , DNS polimeráz β , APE1, polinukleotid kináz/foszfatáz, poli(ADP-ribóz) polimeráz 1 és 2 (PARP-1 és 2) valamint a 8-oxoguanin DNS glikoziláz (OGG1), illetve az aprataxin fehérjékkel (Brem, 2005), és velük együtt vesz részt a hibajavítás bonyolult és precízen koordinált mechanizmusában. Az XRCC1-mutáns sejtvonalak

különösen érzékenyek például a szabadgyök-, oxidáló sugárzások- vagy alkiláló szerek DNS-károsító hatásaira, genetikai instabilitást mutatnak (Thompson, 1982), az XRCC1 knock-out egerek életképtelenek (Tebbs, 1999). Kulcsfontosságú reparációs enzimről lévén szó, nem meglepő, hogy az XRCC1 fehérje minden szövetben expresszálódik. Főemlősökben a herékben mérték a legerősebb expressziót, majd a petefészek és a szívizom következett (Zhou, 1995). Ez azzal magyarázható, hogy a genetikai állomány stabilitása, változatlanságának megőrzése az ivarsejtek képződésekor a legfontosabb.

Logikus a feltételezés, hogy a DNS reparációs kapacitás csökkenése, a reparációs mechanizmusok zavara vagy csökkent aktivitása a DNS-károsodások perzisztálása kapcsán fokozhatja a daganatok kialakulásának kockázatát is. Mivel nincs olyan humán sejtvonal, amely ne expresszálna legalább valamilyen mértékben XRCC1 fehérjét, ezért nemcsak gyakorlati (kockázatbecslési), hanem a fehérje szerepének tanulmányozása miatt elméleti szempontból is különösen érdekes az XRCC1 gén allélpolimorfizmusainak tanulmányozása. A 32 kb-nyi területet elfoglaló, 17 exont tartalmazó génnek több, mint 60 SNP-jét írták le ezidáig.

p53 tumorsuppresszor gén

A 17-es kromoszómán elhelyezkedő (17p13.1) p53 tumor suppresszor gén talán a legismertebb gén a daganatkialakulással, daganatokkal kapcsolatosan. Kulcsszerepét illusztrálja, hogy egyes humán tumoroknak akár 50%-ában is találunk valamilyen p53 mutációt, habár ez nem azt jelenti, hogy minden ilyen mutációnak oki szerepe lenne a daganat kialakulásában, hiszen egy részük a tumorigenezis későbbi stádiumában keletkezik. A p53 egyes daganatokban gyakran inaktiválódik alternatív mechanizmusokon keresztül. A szignálok hatására stabilizálódott és aktiválódott p53 fehérje kötődni fog a DNS p53 reszponzív elemeihez, és így modulálja a p53 reszponzív gének transzkripcióját. Ezáltal különböző hatásokat válthat ki, amelyek jelentős változással járnak a sejt működését illetően: Apoptózis-indukció, a sejtciklus megállítása, DNS-reparáció, illetve komplexebb szerveződési szinten az angiogenezis- és metasztázisképződés gátlása. A tumorsuppresszor jelleg többek között abban nyilvánul meg, hogy DNS-károsodások hatására az aktiválódott p53 fehérje a sejtciklust megállítja és egyúttal stimulálja a DNS-reparációt. Amennyiben a károsodásokat sikerült kijavítani, a sejtciklus blokkolása megszűnik, a sejt osztódhat. Ellenkező esetben a p53 tumorsuppresszor gén – más génekkel együttműködve – apoptózist indukál, hogy a sérült génállományú sejtek ne szaporodhassanak tovább, mert az daganatkialakulás alapját képezhetné. Más tumor suppresszor génekkel ellentétben a p53-mutációk többsége misszensz mutáció. A p53 mutációk döntő többsége a DNS-kötő helyre esik, és ezzel csökkenti vagy megakadályozza, hogy a p53 protein transzaktivációs funkcióit kifejtthesse. A mutáns p53 fehérjék általában stabilabbk, hosszabb a féléletidejük, jelentős mennyiségben felhalmozódhatnak az érintett sejtekben. A mutációs spektrum vizsgálata jellegzetes „hot-spot”-okat tárt fel, amelyek daganat- és expozícióspecifikusak is lehetnek. Emberben a p53 örökletes mutációja áll a Li-Fraumeni szindrómának nevezett örökletes daganatos szindróma hátterében.

A p53 génnek több, mint 80 különböző allélpolimorfizmusa ismeretes. A p53 allélpolimorfizmusok molekuláris epidemiológiai vizsgálata szinte kizárólag a 72-es kodon területére eső Arg/Pro polimorfizmusra (215C→G) koncentrált, amely érdekes észak-dél irányú grádienszt mutat, a Pro allél lappokban tapasztalt 17%-os gyakoriságától a nyugat-afrikai jorubák körében leírt 63%-ig. Ugyanilyen földrajzi eloszlást sikerült találni nemrég ázsiai populációk vizsgálatával. A polimorfizmus nem a p53

mutációk által gyakran érintett régióra csakhamar az úgynevezett poliprolin doménre, amelynek a pontos szerepe a p53 fehérje működésében nem teljesen tisztázott.

Dumont és munkatársai *in vitro* vizsgálatuk eredményeképpen leírták, hogy az Arg allélnek erősebb apoptózist indukáló hatása van (Dumont, 2003), éppen ezért számos epidemiológiai vizsgálat abból a hipotézisből indult ki, hogy a Pro allél fokozottabb daganatos kockázatot eredményez. Nem tudjuk azonban, hogy ez a különbség minden sejttypusban egyforma erősségű-e, illetve hogy univerzálisan – sejt- illetve szövettípustól függetlenül – fennáll-e egyáltalán. Ugyancsak nem tudjuk pontosan, hogy az allélpolimorfizmussal kapcsolatosan talált egyéb különbségek (a sejtciklus megállítása kifejtett hatás terén, a DNS-reparációval kapcsolatosan, illetve egyes kemoterápiás szerek hatékonyságának befolyásolásában) mennyire jellemzőek és általános érvényűek-e (Sullivan, 2004; Siddique, 2006).

miR 146-a

A mikroRNS-ek a fehérjét nem kódoló RNS-ek közé tartoznak, elsőként *Caenorhabditis elegans*-ban írták le jelenlétüket (Lee, 1993), majd funkciójukat pontosabban mintegy tíz évvel ezelőtt tisztázták (Lagos-Quintana, 2001; Lau, 2001). A génexpresszió negatív szabályozásának újonnan megismert mechanizmusa a mikroRNS-ek által kifejtett reguláció. Ezeknek a rövid (általában 19-22 nukleotid hosszúságú) RNS molekuláknak sajátos érési mechanizmusuk van: A transzkripciót követően úgynevezett pri-mikroRNS képződik, amelyek viszonylag hosszú (500-3000), több hajtűformát tartalmazó nukleinsav, majd ebből alakul ki az egy hajtűformából álló, 60-70 nukleotidnyi hosszúságú pre-mikroRNS, a Drosha és Pasha enzimek hatására. A pre-mikroRNS az exportin nevű fehérje segítségével kijut a citoplazmába, ahol a Dicer nevű endonukleáz enzim hasítja, kettős szálú RNS-t előállítva ezzel. Ennek az egyik szála – az érett mikroRNS – képezi majd részét az úgynevezett RISC (RNA induced silencing complex) ribonukleoprotein komplexnek, amely szekvensspecifikusan csökkenti a szabályozott gének expresszióját. Az expressziócsökkenés nem transzkripció szinten valósul meg, hanem vagy a messenger RNS degradációján vagy a transláció represszióján keresztül. Egy mikroRNS számos célgén expresszióját szabályozza, így aztán génjeink jelentős része áll mikroRNS-szabályozás alatt (Friedman, 2009).

A mikroRNS-ek és a daganatok kapcsolatát elsőként Calin és mtsai vetették fel (Calin, 2002), akik leírták a miR-15 és miR-16 downregulációját krónikus limfocitás leukémiában, illetve az ezeket a mikroRNS-eket tartalmazó kromoszómaszakasz gyakori delécióját. Ettől kezdve számos közlemény foglalkozott a mikroRNS-ek lehetséges szerepéről a daganatok kialakulásában, illetve prognosztikus jelentőségük vizsgálatával (Michael, 2003; Akao, 2006).

A funkcionális génekhez hasonlóan, a mikroRNS-eknél is adódott a feltételezés, hogy nemcsak over- vagy downregulációjuk, hanem – ha létezik – allélpolimorfizmusai is befolyásolhatják az általuk szabályozott gének expresszióját (Mishra, 2009). Bár a mikroRNS polimorfizmusok irodalma még messze nem akkora, néhány munkacsoport vizsgálta már különböző mikroRNS polimorfizmusok hatását egyes daganatok kialakulásának kockázatára (Hu, 2008; Lee, 2010; Liang, 2010).

A daganatkialakulással kapcsolatba hozott polimorf mikroRNS-ek egyike a miR-146a. A miR-146a célgénjei közé többek között olyan, fontos szabályozó funkciókat ellátó gének tartoznak, amelyeknek az elváltozásait leírták különböző humán daganatokban. A miR-146a génjében leírt G/C allélpolimorfizmus (rs2910164) nem esik magának az érett mikroRNS-nek a területére, hanem az érési folyamat során a

képződő mikroRNS-mennyiséget befolyásolja (Jazdzewski, 2008). Az eddigi vizsgálatok szerint ez a polimorfizmus kapcsolatban lehet egyes tumorok, például a pajzsmirigy- (Jazdzewski, 2008), gyomor- és nyelőcsőrákok kockázatával (Guo, 2010). A témában eddig elvégzett két metaanalízis szerint egyelőre még nem erősíthető meg a miR-146a kockázati szerepe, mindenképpen további vizsgálatokra van szükség a hatás tisztázásához (Wang, 2011, Qiu, 2011).

Személyiség, pszichés kockázati tényezők

Régóta ismert, hogy pszichés tényezők befolyásolhatják számos betegség kialakulásának kockázatát, illetve a prognózist. A lelki tényezők szerepével, például a stresszel kapcsolatban ma is intenzív kutatások folynak, mind az epidemiológiai összefüggés, mint az esetleges hatásmechanizmusok feltárását célozva. Bizonyosra vehető, hogy személyiségvonásaink befolyásolhatják viselkedésünket, szokásainkat, életmódunkat. Ez utóbbi tényezők pedig már könnyen kapcsolatba hozhatók a daganatkialakulás kockázatával (pl. táplálkozási szokások, dohányzás, szexuális élettel kapcsolatos rizikófaktorok). Kérdés, hogy genetikai tényezők befolyásolhatják-e személyiségvonásainkat olyan mértékben, hogy akár a fent említett életmódi tényezőkön keresztül, akár más mechanizmusokkal hatással legyenek egyes daganatok kockázatára.

Ha érzelmekkel, örömmézzel, addikciókkal kapcsolatba hozható genetikai tényezőket keresünk, elsőként a dopaminerg rendszer kerül figyelmünk középpontjába. Emberben ez négy fő pályát foglal magába, a nigrostriatális rendszert, amely elsősorban a finomabb mozgáskoordinációért felelős, a tuberoinfundibuláris rendszert, aminek szexuális hormontermeléssel, illetve késztetéssel kapcsolatos szerepe van, a mezokortikális pályarendszert, ami elsősorban kognitív működésekben, másodsorban pedig az érzelmek alakításában vesz részt, végül a mezolimbikus rendszer, aminek pedig a „reward”-mechanizmusokban, az örömmézt kialakításában, addikciók létrejöttében van szerepe. A dopaminerg neurotranszmitter rendszerekben a dopamin, mint ingerületátvivő molekula specifikus receptorain keresztül fejti ki hatását. Ezen receptorok általában a posztszinaptikus neuronokon találhatóak, de a szabályozás finom egyensúlya érdekében egyes preszinaptikus neuronok is rendelkeznek dopamin-receptorokkal.

A dopamin-receptorok öt típusát működésük alapján, két csoportba, a D1 és a D2 típusú receptorok csoportjába sorolhatók. A D2 receptorra jelentős figyelem irányult az utóbbi években, ugyanis kiemelt szerepe van a jutalmazási és megerősítési mechanizmusokban, ezért számos szerző kapcsolatba is hozta addiktív mechanizmusokon alapuló betegségekkel. A dopamin-receptorok közül a DRD2 a legfontosabb autoregulációs receptor.

A DRD2 gén *TaqIA* allélpolimorfizmusa (rs1800497, A1/A2 allélek) a gén 3' nem kódoló régiójára eső SNP. Később kiderült, hogy valójában a kérdéses régió nem a DRD2 génhez, hanem a vele szomszédos ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (ANKK1) génhez tartozik. Az ANKK1 átíródó fehérje egy protein kináz, ami szignáltranszdukciós folyamatokban játszik szerepet. A jelenség lehetséges magyarázata lenne, hogy a kérdéses polimorfizmus kapcsoltan öröklődhet más, valóban funkcionális DRD2 polimorfizmusokkal, vagy pedig az ANKK1 gén a fizikai közelség mellett funkcionálisan is kapcsolatban van a DRD2-vel. Érdekes, hogy az irodalomban az rs1800497 polimorfizmust vizsgáló közlemények jó része „funkcionális dopamin-receptor polimorfizmusként” tekint erre a genetikai variancára. Ez ad absurdum olyan szinten is megnyilvánul, hogy még mindig több közlemény is csak

egyszerűen DRD2 TaqIA polimorfizmusként említve a jelenséget – bár ma már a leggyakrabban használt megnevezés a két gén közötti szoros kapcsolatot is tükröző „DRD2/ANKK1 polimorfizmus”.

A DRD2 TaqIA allélpolimorfizmust több szerző is vizsgálta különböző dependenciákra való hajlammal kapcsolatban (például alkohol-, nikotin- vagy opioidok iránti függőség), és többnyire találtak is ilyen összefüggéseket (Noble, 1994; Comings, 1996; Noble, 2003). Az addikciókon kívül ez a polimorfizmus még más mentális betegségekkel, stressz által kiváltott hatásokkal is kapcsolatot mutatott (Eisenberg, 2006). A daganatokkal való lehetséges összefüggést mindeztáig kevés szerző vizsgálta. Ezen vizsgálatok egy része – emlő-, kolorektális- és tüdőrák esetén – úgy találta, hogy az A1 allélt hordozók kockázata valamivel magasabb (Campa, 2007), más vizsgálatok viszont nem találtak ilyen kapcsolatot.

A fent leírt megfontolások, illetve az eddigi irodalmi adatok alapján érdekes kérdésnek tűnt a DRD2 rs1800497 polimorfizmus vizsgálata a daganatos kockázattal való összefüggésben. Mivel a méhnyakrákkal való lehetséges összefüggését még nem vizsgálták, viszont elméletileg könnyen elképzelhető egy ilyen kapcsolat (többek között például a dohányzási vagy a szexuális szokásokon keresztül), úgy gondoltuk, érdemes megvizsgálni e polimorfizmus hatását a méhnyakrák kialakulásának kockázatára.

Génexpresszió-változások, mint biomarkerek

A daganatkialakulás hosszú, többlépcsős folyamat, ami emberben hosszú éveket vagy évtizedeket vehet igénybe. Túl azon az ismert tényen, hogy a minél korábbi stádiumban diagnosztizált daganatos beteg gyógyulási esélyei jobbak, a folyamat a daganatkialakulás igen korai stádiumában – amikor még rosszindulatú daganatról nem is beszélünk – még citosztatikus-, sebészi- vagy sugárkezelés nélkül is visszafordítható lehet. A daganatszűrő módszerek általában már nem a daganatmegelőző állapotot, hanem magát a – korai stádiumban levő – tumort azonosítják, a daganatincidencia csökkentéséhez tehát nem járulnak hozzá. Amennyiben viszont a fokozottan veszélyeztetett populációt – vagy azokat, akiknél a daganatkialakulás folyamata megkezdődött – azonosítani lehetne, és itt célzott kemoprevenciót alkalmaznánk, feltehetően csökkenteni lehetne a kialakult daganatok számát is. A fokozottan veszélyeztetett személyek, illetve csoportok azonosításához olyan biomarkerekre van szükség, amelyek még a klinikai daganatkialakulás előtt – célszerűen a korai biológiai hatásokat alapul véve – képesek figyelmeztető jelzést adni.

A karcinogén expozíció hatására létrejövő sejtszintű válaszok közé tartozik az onkogének vagy tumorsuppresszor gének expressziójának változása. Az ilyen biológiai monitorozásnak többek között az lehet az előnye, hogy pontosan tükrözi a szervezetet ért expozíciót, illetve – a korai biológiai hatás markereként – több különböző karcinogén anyag együttes hatását mutatja. Így tehát – a szervezet saját védekező mechanizmusainak, pl. metabolizáló enzimek erejét is figyelembe véve – pontosabb, integrált képet kaphatunk a karcinogén-terhelés által kiváltott biológiai hatásokról. Megfelelően kiválasztott onkogének/tumorsuppresszor gének expressziójának nyomon követése alkalmas lehet a daganatkialakulás igen korai fázisának, illetve a de facto malignizáció előtti stádiumok nyomon követésére. Ez gyakorlati oldalról a veszélyeztetett populáció azonosítását segítheti elő.

Nem primér, hanem inkább terciár megelőzés kérdése, de elképzelhető, hogy ugyanezek a biomarkerek felhasználhatók a betegség stádiumainak és a terápia hatékonyságának monitorozására, a relapsusnak vagy metasztázisok kialakulásának jelzésére.

1. *c-myc*

A Myc géncsalád regulátor szerepet játszanak a sejtek alapvető életfunkcióiban, mint a növekedés, osztódás, motilitás, differenciáció és apoptózis (Smith, 2010). A c-myc egy transzkripciós faktor, amelynek overexpresszióját vagy amplifikációját számos daganatban megtalálták (Rochlitz, 1996; McNeil, 2006), és transzgén egerekben is daganatkialakulást eredményezett (Liao, 2007). Ugyancsak a c-myc gén kulcsszerepét demonstrálja a Burkitt-limfóma hátterében álló jól ismert 8/14 transzlokáció, ugyanis a c-myc gén a 8-as kromoszóma transzlokált szakaszán (8q24) helyezkedik el. A c-myc számos gén átíródását fokozza, de leírták represszálo hatását is (Herkert, 2010). Az általa szabályozott gének száma igen nagy, a teljes génállomány 10%-ára tehető (Fernandez, 2003).

A reguláció tipikus módja, hogy Myc fehérje a Max proteinnel heterodimért képezve (Blackwood, 1991) kötődik a célgén E-box régiójához (CACGTG-szekvencia), és transzaktiváló hatását részben a hiszton-acetiláció megváltoztatásán, részben a transzkripciós komplex-szel való direkt kölcsönhatás útján fejt ki. Mivel a c-myc gén overexpressziója sejtproliferációval járó folyamatokban, például daganatokban gyakori, feltételezték, hogy a Myc-génexpresszió alkalmazható lehet a daganatkialakulás során a karcinogén expozíció jelzésére. Több vizsgálat is úgy találta, hogy a c-myc gén expressziója nemcsak daganatsejtekben magas, hanem röviddel a karcinogén expozíció után már kimutatható, egy ideig még reverzibilisen. Aflatoxin-, nitrozodietanolamin-, arzén-, kadmium-, és más karcinogén anyagokkal történő expozíció vagy citosztatikumok különböző kísérleti modellekben a c-myc gén overexpresszióját okozták (Jussila, 1996; Achanzar, 2000), felvetve ezzel a c-myc gén biomarkerként való alkalmazásának lehetőségét.

2. *Ha-ras*

A Ras-onkogéneket eredetileg virális onkogénekként azonosították, a Harvey illetve a Kirsten egérszarkóma vírusok onkogén tulajdonságukért felelős elemeként, majd kiderült, hogy a virális géneknek a megfelelői a normális emberi genomban is jelen vannak. Később, neuroblasztomából származó DNS-ben találtak egy további hasonló onkogént (N-Ras), melynek viszont nincs virális megfelelője. A Ras gének 21 kDa molekulásúlyú fehérjéket kódolnak, amelyek szignáltranszdukciós folyamatokban vesznek részt. Ennek megfelelően a Ha-ras gén is egy sejtmembránhoz kapcsolódó protein, amelynek GTPáz aktivitása van. Ha a Ras-fehérjéhez GTP kapcsolódik, akkor aktív állapotban van, míg a GTP hidrolízise után a Ras-protein-GDP komplex pedig egy konformáció-változás következtében inaktív állapotba kerül. Bár rendelkezik GTPáz aktivitással, de önmagában a Ras-protein mégis kevésbé aktívan hidrolizálja a GTP-t. A GTP-GDP átalakítást további fehérjék, az úgynevezett GTPáz aktiváló fehérjék (GAP) facilitálják, a Ras-proteinhez kapcsolódva, a GDP leválását pedig a guanin nukleotid cserefaktor (GEF) fehérjék segítik elő. Ez a két fehérje tehát a Ras aktivitásának közvetlen szabályozásában kiemelkedő jelentőséggel bír. A Ras-fehérjét egyébként az EGF receptor fehérje aktiválja, és effektorként pedig további protein-kináz kaszkád szolgál (ERK-MAPK). A Ras-gének pontmutációit sokféle daganatban megtalálták, és jelen ismereteink szerint az összes onkogén közül a Ras-gének aktivációja fordul elő leggyakrabban humán daganatokban.

A p53 gén már jellemzésre került az allélpolimorfizmusokról szóló részben. Itt még annyit szükséges megemlíteni, hogy a poszttranszlációs szabályozó mechanizmusok mellett – amelyek például a fehérje acetilációján keresztül működnek – a p53 gén expressziójának transzkripciós szintű regulációja is van. A normálisnál magasabb p53 mRNS-szintű expressziót írtak le például hepatocelluláris karcinoma sejtvonalakban (Farshid, 1992), illetve a p53 transzkripciós szintű expresszió-változásáról számoltak be F9 teretokarcinoma sejtek differenciációjánál (Kosaka, 1992). Vizsgálták a p53 transzkripciót befolyásoló mechanizmusokat (Lozano, 1991), sőt az is kiderült, hogy a p53 gén szabályozni képes saját transzkripcióját (Deffie, 1993). Bebizonyosodott az is, hogy a p53 expressziójának változása bekövetkezik sejtkárosító ágensek pl. ionizáló sugárzás hatására is (Saini, 2012). A fentiek alapján létjogosultsága lehet a p53 tumorsuppresszor gén expresszió-változásainak is a karcinogén-expozíció lehetséges biomarkerei között.

Célkitűzések

- Onko/tumorsuppresszor gének biomarkerként való vizsgálata, vagyis olyan biomarkerek kifejlesztése és tesztelése, amelyek egyrészt a daganatok primér prevenciójában segíthetnének, az exponált populáció azonosításával illetve a korai biológiai hatás markereként, másrészt pedig daganatos betegekben prognosztikus markerekként szolgálhatnának (recidíva megelőzése, terciér prevenció).
- Az átlagos népességben előforduló genetikai variánsok (a daganatkialakulás folyamatát érintő allélpolimorfizmusok) populációs szintű hatásának vizsgálata, allélkombinációk vizsgálatával esetleges high-risk csoportok azonosítási lehetőségeinek kidolgozása. Egyes esetekben az allélpolimorfizmusok prognosztikus szerepe is felvetődik (recidíva, szövődmények prognosztizálása, terciér prevenció).
- Egy sajátos helyzetben levő magyar népcsoport, az oláh cigányok vizsgálata, a daganatok kockázatát érintő genetikai polimorfizmusokat illetően. Vannak-e az átlagos allélgyakoriságtól eltérő prevalenciájú génvariánsok a magyarországi romák e csoportjában? Befolyásolhatják-e lényegesen ilyen típusú genetikai tényezők a hazai roma daganatos halálozásokat?

A fenti fő célkitűzések konkrétabb és részletesebb megfogalmazása:

- I. 1-nitropirén hatásának vizsgálata kísérleti állatok különböző szerveiben kulcs onko/tumorsuppresszor gének (Ha-ras, c-myc, p53) expressziójára, vagyis annak tisztázása, hogy alkalmazhatók-e ezek a génexpresszió-változások a karcinogén expozíció biomarkereiként?
- II. Okoz-e, és ha igen, milyen időbeli lefolyással, változásokat CBA/Ca egerek különböző szerveiben az *in vivo* kezelés két újabb karcinogén anyaggal (dimetilbenz[a]antracén illetve metilnitrozourea)? Van-e eltérés a két különböző anyag hatására bekövetkező expresszió-változásokban a kezelést követő 24 órán belül?
- III. Az állatkísérletekben megfelelő biomarkernek tűnő Ha-ras, c-myc és p53 gének alkalmazhatók-e humán daganatos állapot nyomon követésére? Perifériás fehérvérsejtekben mérve magasabb-e ezen gének expressziója, mint kontroll, egészséges személyekben? A tumor-terápia után változnak-e a vérből mért génexpressziók?
- IV. Genetikai polimorfizmusok vizsgálata a magyar népességben: Milyen allélmegoszlást találunk a CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1, EPHX1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, UGT1A1, p53, XRCC1, miR-146a génpolimorfizmusoknál, és ez eltér-e más kaukázusi népességekben leírt gyakoriságoktól?
- V. Genetikai polimorfizmusok hatásának vizsgálata a magyar népességből származó mintán különböző daganatok kialakulásának kockázatára.
 - a. Kolorektális daganatok kockázata és a CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1, EPHX1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53 és XRCC1 gének polimorfizmusai közötti összefüggés feltárása.
 - b. A fej-nyaki daganatok és az XRCC1, CYP1A1, UGT1A1 és miR-146a allélpolimorfizmusok közti kapcsolat vizsgálata.
- VI. A GSTM1, GSTT1 és DRD2/ANKK1 polimorfizmusok hatásának tisztázása a HPV-indukálta cervixtumorok vagy cervikális diszpláziák kialakulásának kockázatára.
- VII. Genetikai polimorfizmusok hatásának vizsgálata daganatok prognózisára.
 - a. Befolyásolja-e a kolorektális daganatok prognózisát a GSTM1, GSTT1 és p53 genotípus?
 - b. Befolyásolja-e a fej-nyaki daganatok prognózisát a CYP1A1, UGT1A1 és XRCC1 genotípus?
 - c. Befolyásolja-e a méhnyakrákok prognózisát a GSTM1, GSTT1 és DRD2 genotípus?

A daganatok kialakulásának kockázatát befolyásoló egyes allélpolimorfizmusok megoszlásának vizsgálata magyarországi roma népességben, és összehasonlítás az átlagos magyar népesség allélmegoszlásaival (GSTM1, GSTT1, CYP1A1, NAT2, p53). Vajon a romák körében tapasztalt eltérő daganatos halálozások magyarázhatók-e az átlagos magyar népességtől eltérő gyakoriságot mutató allélvariánsok jelenlétével?

Génexpresszió változások vizsgálata

Az 1-NP génexpresszióra gyakorolt hatását vizsgáló kísérletben 6-6 db 8 hetes hím és nőstény CBA/Ca egeret használtunk. A kísérleti állatok egyszeri dózisban kaptak 30 $\mu\text{mol/ttkg}$ 1-NP-t, dimetil-szulfoxidban oldva. A kontroll csoport állatait csak az oldószerrel kezeltük. A kezelés után 24 órával cervikális diszlokáció után az állatok máját, lépét, tüdejét, veséit, a hasi nyirokcsomóit, thymusát, és femur-csontvelőjét eltávolítottuk, RNS-izolálás céljából. A 7,12-dimetilbenz(a)antracén (DMBA) és metilnitrozourea (MNU) vizsgálatánál egy kísérleti csoport 3 hím és 3 nőstény állatból állt. 4 csoport 30 mg/ttkg DMBA-t kapott ip., egyszeri dózisban, Salsol A infúziós oldatban oldva (fiziológiás NaCl), 4 csoport pedig kontrollként Salsol a kezelésben részesült. Ugyancsak 4 csoport állat kapott egyszeri ip. DMBA kezelést, 20 mg/ttkg dózisban, kukoricaolajban oldva, az ehhez tartozó 4 kontroll csoport pedig csak kukoricaolajat tartalmazó ip. injekciót kapott. A cervikális diszlokációt illetve az 1-NP kísérletnél leírt szervek eltávolítását itt a 4 csoportnál különböző időpontokban végeztük: 3-, 6-, 12- illetve 24 órával a kezelés után.

Genotipizálás

A DNS-izolálást szövetmintából vagy perifériás vérből izolált fehérvérsejtekből végeztük, fenol-kloroformos módszerrel vagy GenomicPrep (Pharmacia) DNS-izoláló kittel. A genotipizálás minden esetben PCR-alapú módszerekkel (restrikciós fragmenthossz analízis (RFLP), allélspecifikus amplifikáció, konfrontálódó primer-párok) történt az idézett irodalmi hivatkozások alapján (Murata, 1996; Hirvonen, 1992; Sachse, 2003; Yin, 2001; Lunn, 1999; Fang, 2004; Pool-Zobel, 1998; Jeronimo, 2002; Okkels, 1997; Hamajima, 2000; Hishida, 2011; Eisenberg, 2008). A HPV-tipizálás a 16-os és 18-as típusokra specifikus nested PCR módszerrel történt (Nawa, 1993).

Vizsgálati elrendezés, betegek és kontrollcsoportok

A humán vizsgálatokhoz azok megkezdése előtt az adott vizsgálat megkezdésekor érvényes szabályok szerint szükséges etikai engedélyeket megkértük, a résztvevők tájékoztatását elvégeztük, az adatok és a minták felhasználásához a vizsgálat megkezdése előtt beleegyező nyilatkozatot kértünk („informed consent”). A részvétel természetesen minden esetben önkéntes volt, a prognosztikus vizsgálatokban részt vevők arról is tájékoztatást kaptak, hogy a részvétel vagy annak visszautasítása az egészségügyi ellátásra, a kapott kezelésre semmilyen hatással nincsen. Minden mintát kódoltan, anonim módon, célhoz kötötten kezeltünk. Minden más tekintetben is az 1975-ös Helsinki Deklaráció, illetve az adott vizsgálat időpontjában érvényes hazai szabályozás szerint jártunk el. Az állatkísérletekhez szükséges hatósági engedélyekkel ugyancsak rendelkezünk.

Génexpresszió-változások fej-nyaki daganatos betegekben (1. vizsgálati csoport)

A vizsgálatban egyrészt fej-nyaki daganatos betegek génexpresszióit viszonyítottuk daganatos betegségben nem szenvedő kontrollokéhoz, másrészt pedig a daganatos betegekben nyomon követtük, hogy a terápia hatására hogyan változik a vizsgált gének (*Ha-ras*, *c-myc*, *p53*) expressziója. A kezdeti daganatos betegcsoport 116 betegből állt (95 férfi és 21 nő). A betegek a Pécsi Tudományegyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikáján kerültek felvételre és itt állították fel a diagnózist. A vizsgálatba minden fej-nyaki daganatos beteget bevontunk, nem szelektáltunk egy bizonyos alcsoportra vonatkozóan. A betegek 2003 január és 2007 február közötti időszakban jelentkeztek a Klinikán.

A daganatos betegek perifériás fehérvérsejtjeiből mért génexpressziókat nem daganatos kontrollcsoporttal vetettük össze. A nem daganatos betegek ugyancsak a Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikájáról származtak, egy részük más, könnyebb betegséggel került diagnosztizálásra, más részük pedig egészséges, kontroll vizsgálaton részt vevő személy volt. E csoport 33 személyből állt (14 férfi, 19 nő). A daganatos betegek génexpresszióit egyrészt a definitív kezelés előtt, másrészt a kezelés után határoztuk meg. A két vizsgálat között eltelt idő 2 év volt. A kezdeti 116-os csoportból 18 beteget sikerült elérni 2 év után, akik közül 17 beteg recidíva mentes volt, 1 betegnél lépett fel recidíva. A génexpresszió-változásokat ennek megfelelően a 17 beteg kezdeti illetve két év utáni értékeit alapul véve hasonlítottuk össze.

Allépolimorfizmusok és a fej-nyaki daganatok kapcsolata

2. vizsgálati csoport

Ezt a csoportot 142 olyan beteg (124 férfi és 18 nő) archív mintája képezte, akik a Pécsi Tudományegyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikáján kerültek felvételre és kezelésre, legalább öt évvel a vizsgálat megkezdése előtt. A kockázati szerep megítéléséhez a daganatos betegek genotípus-megoszlásait hasonlítottuk össze egy 150 fős (132 férfi, 18 nő) kontrollcsoportéval. A kontrollok a PTE ÁOK különböző klinikáin ambuláns vizsgálatra jelentkezők vagy szűrővizsgálaton részt vevők közül kerültek ki. A kontrollcsoport életkora nem különbözött statisztikailag szignifikánsan a daganatos betegektől.

E csoportban egyrészt a daganatos betegek allélmegoszlásait vetettük össze a nem daganatos kontrollcsoportéval, hogy információt nyerhessünk daganatkialakulás kockázatára gyakorolt hatásáról. Másrészt a fej-nyaki betegek túlélését vetettük össze a-genotípusokkal, hogy ezek a prognosztikus szerepét megítélhessük. E vizsgálatban UGT1A1 és CYP1A1 genotipizálást végeztünk.

3. vizsgálati csoport

A részt vevő betegek (468 személy) a Vas Megyei Markusovszky Kórház Onkológiai Osztályáról, illetve a Pécsi Tudományegyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikájáról származtak. Mivel itt túléléseket nem vizsgáltunk, ezért nem kellett alkalmaznunk azt a kikötést, hogy a betegek legalább öt évvel a vizsgálat megkezdése előtt kerültek felvételre. Ugyancsak nem alkalmaztunk szelekciót a betegség stádiumait illetően, hanem mindazon betegeket bevontuk a vizsgálatba, ahol a megfelelő anamnesztikus adatok rendelkezésre álltak, illetve azokat meg tudtuk szerezni. Ebben a vizsgálatban pre-miR-146a genotipizálást végeztünk, és hasonlítottuk össze az eloszlásokat ugyanazokból a városokból

származó kontroll személyekével. A kontrollok kiválasztására az 1. és 2. sz. csoportok leírásánál alkalmazott elveket használtuk.

A kontrollokat egyéni szintű illesztéssel választottuk ki, az illesztéshez használt változók az életkor, nem és a dohányzási szokások voltak, mint a fej-nyaki daganatok ismert és erős befolyásoló tényezői. Az életkornál ± 5 éves tűréshatárral végeztük az illesztést, a dohányzásnál pedig az alábbi tényezőket, illetve kategóriákat alkalmaztuk: naponta átlagosan elszívott cigaretták száma (<20 vagy ≥ 20 szál), dohányosként eltöltött évek száma (<30 vagy ≥ 30 év). Nem végeztünk illesztést a krónikus szájüregi betegségek (törött vagy szuvas fogak, parodontosis, egyéb krónikus gyulladás) meglétére vonatkozóan, az alkoholfogyasztás tekintetében, illetve az iskolai végzettséget illetően sem, hanem ezeket a tényezőket az analízisnél vettük figyelembe. Az iskolai végzettség tekintetében az UNESCO-ajánlások hazai viszonyokra alkalmazott, módosított és egyszerűsített, öt kategóriás csoportosítását használtuk (UNESCO, 2012). Az alkoholfogyasztás alapján (amelyet ital/nap egységre számítottunk át) a résztvevőket az alábbi 4 kategória egyikébe soroltuk: absztinens: 0, mérsékelt: >0 és ≤ 2 , közepes: >2 és ≤ 5 , erős: >5 . A vizsgált tényezőkre vonatkozó adatokat a kórházi kórtörténeti dokumentációból, az esetleges fogászati kezelések dokumentációjából, illetve esetenként személyes interjúkból szereztük be.

4. vizsgálati csoport

A vizsgálatához Vas Megyei Markusovszky Kórház Onkológiai és Patológiai osztályairól származó formalinban fixált, paraffinba ágyazott blokkokat használtunk fel. A csoportok összeállításánál arra törekedtünk, hogy TNM stádiumok alapján minden stádiumból 40 fej-nyaki daganatos beteget vonjunk be a vizsgálatba. Ez az SI, SII, SIII, SIV/A stádiumoknál sikerült is, azonban az SIV/B stádiumból csak 29 ilyen blokkot találtunk, az elemszám összesen tehát 189 volt (163 férfi, 26 nő). A csoporthoz életkor- és nem szerinti összetételében a daganatos betegekkel megegyező kontrollcsoportot állítottunk össze, amely egyrészt egészséges, önként vállalkozókból, másrészt pedig a kórház más osztályain kezelt nem daganatos betegekből állt. A betegek archív mintáit úgy választottuk ki, hogy ötéves túléléseiket össze tudjuk vetni a genotípusokkal (vagyis a vizsgálatunk kezdetétől számítva legalább öt évvel korábbi időszakból származzanak). A 2. csoporton végzett fej-nyaki tumoros vizsgálatához hasonlóan itt is egyrészt az XRCC1 polimorfizmus daganatos kockázatra gyakorolt hatását, másrészt esetleges prognosztikus szerepét vizsgáltuk.

Allélpolimorfizmusok és a kolorektális daganatok kapcsolata

5. vizsgálati csoport

A Szombathelyi Markusovszky Kórház Onkológiai és Patológiai osztályairól származó olyan archív mintákat (paraffinos blokkokat) használtuk fel a vizsgálatokhoz, amelyekhez a betegek túlélési adatait is társítani tudtuk. Legalább 44 hónapos időintervallumot tudtunk vizsgálni a prognosztikus hatás tekintetében. Örökletes daganatos szindrómában szenvedő betegek nem kerültek bevonásra a vizsgálatba. Arra törekedtünk, hogy a Dukes kritériumok alapján minden stádiumból 50 beteget tudjunk bevonni, de ez csak Dukes' A, B és C stádiumú betegek esetén sikerült, a Dukes' D csoportból csak 32 megfelelő mintát találtunk, ezért a vizsgálat össz-elemszáma 182 lett (127 férfi és 55 nő). A szövettani diagnózis kivétel nélkül adenokarcinoma volt. A nem daganatos kontrollcsoportot a szombathelyi fej-nyaki tumoros vizsgálatához hasonlóan a kórház más osztályain kezelt betegekből, ambuláns vizsgálatra

jelentkezőkből és egészséges önkéntesekből állítottuk össze. Ez a 182 személy az életkor-átlagot valamint a nem szerinti összetételt tekintve nem különbözött statisztikailag szignifikánsan a kolorektális daganatos betegek csoportjától. Ebben a csoportban GSTM1, GSTT1 és P53 genotipizálásokat végeztünk.

6. vizsgálati csoport

Ebbe a vizsgálati csoportba összesen 500 kolorektális daganatos beteget vontunk be, akiknek az anyagai egyrészt a Baranya Megyei Kórház Patológiai Osztályáról, másrészt pedig a BM Központi Kórházából származtak. Ugyanezen régiókból genotipizáltunk 500 nem daganatos kontroll személyt, akik részben szűrővizsgálaton vettek részt, részben pedig ambuláns vizsgálatokon vettek részt vagy egyéb betegségekkel kezelték őket a fenti kórházakban. A vizsgálatba csak olyan betegek kerültek be, akiknél a daganat nem örökletes formában jelentkezett (FAP vagy HNPCC kizáró ok volt).

Az e csoporton folytatott vizsgálatainkban a GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53 és XRCC1 polimorfizmusok hatásait elemeztük.

7. vizsgálati csoport

A csoportot az előzőhöz hasonlóan ugyancsak 500 vastag- vagy béldaganatos betegből állítottuk össze, átfedés nem volt a két betegcsoport között. Itt a betegek a PTE ÁOK Sebészeti Klinikájáról, illetve a Vas megyei Markusovszky Kórház Onkoradiológiai Osztályáról származtak. Mivel e vizsgálatban nem archív anyagokat használtunk fel, így lehetőség volt szélesebb körű adatgyűjtésre is a vizsgálatban részt vevő betegektől. A kontrollcsoport kiválasztása is ezen adatok alapján történt, vagyis a kontrollokat életkor-, nem-, dohányzási státusz- és vöröshús-fogyasztás alapján illesztettük a betegcsoporthoz. A jelen vizsgálat annyiban is különbözött az eddig leírtaktól (ahol a genotipizálás a paraffinos blokkokból izolált DNS-ből történt), hogy itt a kolorektális betegek genotipizálását is perifériás vérből végeztük (fehérvérsejtekből izolált DNS). A kontrollok az eddigiekhez hasonlóan itt is ambuláns- vagy más osztályokon kezelt betegekből (312 személy) és szűrővizsgálatra jelentkezők közül (182 személy) kerültek ki. A magas penetranciájú genetikai tényezők zavaró hatását kiiktatandó, az előző csoportoknál már említett szelekció (csak sporadikus daganatos esetek bevonása) itt is érvényesült.

E csoportban a CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1 és EPHX1 gének polimorfizmusainak hatását elemeztük.

Allépolimorfizmusok és a cervixtumороk kapcsolata

8. vizsgálati csoport

A vizsgálatokba a Fejér megyei Szent György Kórház vagy a Diósgyőri Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályának betegeit, vagy ezen osztályokon nőgyógyászati szűrésen részt vett személyeket vontunk be. A beválasztás egyik fő kritériuma volt az igazolt high-risk HPV fertőzöttség (16-os vagy 18-as típus) fennállása legalább 7 évvel a genotipizálást megelőzően, illetve még legalább egy alkalommal ezután is (tehát perzisztáló high-risk HPV fertőzöttség). Az erre vonatkozó adatok korábban elvégzett HPV-tipizálás eredményeiből, illetve az esetek egy részében archív mintán végzett HPV-azonosításból és tipizálásból származtak. A másik fő kritérium az volt, hogy a kezdeti HPV pozitivitás időpontjában cervikális diszplázia vagy cervixkarcinoma ne álljon fenn az érintett személynél. A HPV pozitivitás vagy a kórházi kórtörténeti adatokból nyerhetett bizonyítást, ha a betegnél annak idején végeztek HPV-

de_324_11 vizsgálatot, vagy – meglevő archív anyagok esetén – magunk végeztük el a 16-os vagy 18-as típusok jelenlétének igazolását.

A kórtörténeti adatok nyomon követésével, illetve személyes interjúk segítségével megállapítottuk, hogy a kezdetben cervix-elváltozást nem mutató – de HPV-fertőzött – nők közül hánynál alakult ki a 7 éves megfigyelési periódus alatt cervikális diszplázia vagy karcinoma. A vizsgált személyeket ugyanakkor genotipizáltuk is a GSTM1 és GSTT1 0/+, illetve DRD2 polimorfizmusokra nézve. A vizsgálat GST-genotipizálásra vonatkozó részében 253, a DRD2/ANKK1 hatásának vizsgálatában pedig 214 személy vett részt (8/a, illetve 8/b csoportok). A kimenetel szempontjából a vizsgálatba bevont, korábban (kórtörténeti adatokból retrospektíve regisztrálva) cervikális diszpláziát nem mutató nőknél a legalább high-grade diszplázia (vagy természetesen karcinoma) kialakulása volt. Pozitívnak (high-grade diszplázia) a definitív karcinoma mellett a citológiai vizsgálat eredményeként kapott HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion), illetve a biopsziával megállapított CIN II – CIN III (cervikális intraepiteliális neoplázia) fokozatú elváltozásokat tekintettük. A másik csoportot a cervikális elváltozásokat nem mutató, illetve a legfeljebb LSIL vagy CIN I diagnózisú nők képezték. A genotípusok hatásának a cervikális diszplázia kialakulásának kockázatára gyakorolt hatásának megítélésére a két csoport között összevetettük a vizsgált allélek megoszlásait. A további rizikófaktorokra, illetve demográfiai paraméterekre vonatkozó adatokat ugyancsak a kórtörténeti dokumentációból nyertük, szükség esetén személyes interjúval történő kiegészítéssel.

A DRD2/ANKK1 polimorfizmus vonatkozásában külön betegcsoporton vizsgáltuk a fentiekén túlmenően az allélpolimorfizmus prognosztikus szerepét is. E vizsgálati részbe 239, CIN III vagy I-es stádiumú cervixrák diagnózisú beteget vontunk be (8/c csoport), ugyancsak igazolt 16-os vagy 18-as típusú HPV pozitívassal. A résztvevők a vizsgálatától függetlenül a betegség által szükségessé tett kezelést kapták, amit a részvétel nem befolyásolt. A betegség alakulását a diagnózistól számított 5 év elteltével regisztráltuk, két csoportot képezve: 1. Elhalálozás a betegségből adódóan, progresszió, reziduum, illetve kezelés szükségessége a vizsgálat záró időpontjában. 2. Daganatmentes állapot, reziduumra, áttétképződésre vagy recidívára utaló jelek fennállása nélkül. A polimorfizmus prognosztikus értéket úgy ítéltük meg, hogy a különböző kimenetelt mutató két csoport között összevetettük a DRD2-allélgyakoriságokat.

Allélgyakoriságok roma és nem roma népességben

9. vizsgálati csoport

A vizsgálat célja az volt, hogy összehasonlítsuk az allélmegoszlásokat egyes genetikai polimorfizmusok tekintetében (CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT2, p53) a hazai roma és nem roma népességben. Mivel a roma népesség nem homogén népcsoport, így – homogenítésre törekedve – a második legnagyobb lélekszámú roma populációt, az oláh cigányokat választottuk ki az összehasonlításra. A hazánkban élő roma közösségek közül a kiválasztott populációra jellemző leginkább, hogy a mai napig megtartotta és használja cigány nyelvét, a hagyományos roma tradíciókat hűen ápolják, és mivel relatíve zárt közösséget alkotnak, kiválóan alkalmasak a roma populáció genetikai vizsgálatára. A vizsgálatához felhasznált 195 roma minta észak-magyarországi oláh cigány népességből származott, amelyet az Országos Epidemiológiai Központ munkatársai dr. Béres Judit koordinálásával gyűjtöttek be olyan személyektől, akik magukat cigánynak vallották. A nem roma mintát 547 személy képezte, akiknek az életkor és nem szerinti megoszlása nem tért el a roma résztvevőkétől. Ez a csoport nem egy földrajzi

régiót képviselt, hanem a résztvevők többségéből, elsősorban Baranyából, Budapest környékéről, Vas-, Veszprém-, Fejér- és Borsod-Abaúj-Zemplén megyékből származtak.

Statisztikai módszerek

A numerikus változóknál (pl. génexpressziók) az egyes csoportok átlagértékeit a Student-féle kétmintás t-próbával (független minták) hasonlítottuk össze. Statisztikailag szignifikánsnak akkor tekintettük a különbséget, ha a p értéke 0,05-nél kisebb volt. A gyakorisági adatok összehasonlításánál (pl. allélgyakoriságok különböző csoportokban) esélyhányadost (OR) és 95%-os megbízhatósági tartományt (95% CI) számoltunk, illetve khi négyzet próbát végeztünk. Abban az esetben, ha ilyenkor többváltozós elemzést végeztünk, akkor ez logisztikus regressziószámítás segítségével történt, és az ennek eredményeképpen kapott esélyhányadost tüntettük fel. Az egyes allélek megoszlását egy adott népességben a Hardy-Weinberg szabály alapján (az egyes allélgyakoriságokra igaz, hogy $p^2 + 2 p q + q^2 = 1$) teszteltük: A várt gyakoriságoktól való eltérést khi-négyzet próbával vizsgáltuk. A túléléseket Kaplan-Meier féle túlélési görbéken ábrázoltuk és az egyes csoportok közötti különbségeket log rank teszttel vizsgáltuk. A statisztikai számításokat az SPSS program aktuális verzióival végeztük (jelenleg IBM SPSS ver 20).

Eredmények

Génexpresszió-vizsgálatok eredményei

Az 1-NP kezelés hatására statisztikailag szignifikáns génexpresszió-változást találtunk c-myc gén esetén a lépben, nyirokcsomókban és a csontvelőben, csökkent viszont az expresszió a thymusban. A p53 génnél a lépben és a csontvelőben ugyancsak overexpressziót mértünk, csökkent viszont a nyirokcsomókban mért expresszió. A Ha-ras génnél talált elváltozások nem voltak statisztikailag szignifikánsak. Az MNU és DMBA kezelés után mért 3-, 6-, 12- és 24 órás génexpressziókat szervenként vizsgáltuk, a kukoricaolaj a DMBA kontrolljaként szolgált, míg a Salsol A-t pedig az MNU feloldására és bejuttatására használtuk.

Humán génexpressziók

1. Vizsgálati csoport: Ha-ras, c-myc és p53 expressziók fej-nyaki daganatos betegeken

A humán génexpresszió-vizsgálatot fej-nyaki daganatos betegeken végeztük. Első lépésben a betegeken kezelés előtt mért génexpressziókat vetettük össze nem daganatos kontrollcsoport génexpresszióival. Mindhárom vizsgált gén expressziója statisztikailag szignifikánsan magasabb volt a daganatos betegek között (c-myc 39,3%, $p < 0,01$; Ha-ras 48,4%, $p < 0,05$; p53 28,4%; $p < 0,05$), mint a kontrolloknál (17,6%, 32,8% és 16,6%).

Azoknál a betegeknél, akiknél lehetőség volt a kezelés után is vért venni (2 évvel az első vérvétel után), össze tudtuk hasonlítani a kezelés előtti és utáni génexpressziókat. 17 ilyen recidívamentes beteget tudtunk vizsgálni, mindegyik betegnél csökkent expressziót mutatott a c-myc (36,9%→30,6%), Ha-ras (54,8%→39,4%) és a p53 (33%→24,9%) gén is, ami a Ha-ras és a p53 esetén volt statisztikailag szignifikáns ($p<0,05$).

Allélpolimorfizmus-vizsgálatok eredményei

Fej-nyaki daganatokra vonatkozó eredmények

2. populáció: CYP1A1, UGT1A1 polimorfizmusok

A daganatos csoportban a CYP1A1 heterozigóta, ill. Val-homozigóta genotípusok gyakrabban fordultak elő (30,99%, OR: 1,72, 95% CI: 1,02-2,96, $p=0,044$), mint az egészséges kontrollcsoportban (20,67%). Tumoros alcsoportok szerinti bontásban a kontroll/daganatos allélgyakoriságok közötti különbség a mesopharynx tumoroknál (36,50%, OR: 2,21, 95% CI: 1,18-4,38, $p=0,022$) volt a legnagyobb.

Az UGT1A1*28 homozigóták gyakorisága statisztikailag szignifikánsan (OR: 2,74, 95% CI: 1,45-5,18, $p=0,002$) magasabb volt a daganatos betegek között, mint a kontrollcsoportban. A kontrollokban talált 10,6%-os gyakorisággal szemben a gégetumoros betegek között 29,2%, a hypopharynx-daganatos páciensek között 26,2%, míg a mesopharynx-tumoros betegek csoportjában pedig 34,6% volt a *28 homozigóták gyakorisága. Az UGT1A1*28 homozigóták fej-nyaki daganatos kockázata tehát magasabb, mint a heterozigóták vagy a *1 homozigóták rizikója. Az úgynevezett kettős high-risk genotípus – azaz mindkét high-risk genotípus egyidejű jelenléte szignifikánsan gyakoribb volt (OR: 2,15, 95% CI: 1,06-4,38) a fej-nyaki daganatos betegek között, mint a kontrollcsoportban.

A fentiekben igazoltuk, hogy a CYP1A1 és az UGT1A1 allélpolimorfizmusok befolyásolják a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatát. Ettől részben független kérdés, hogy ugyanezek az allélpolimorfizmusok vajon prognosztikus jelentőséggel is bírnak-e, amit jelen vizsgálatunkban a különböző genotípusú betegek túlélési idejének összehasonlításával elemeztünk. A CYP1A1 lle-homozigóták átlagos túlélése (26,69 hónap) statisztikailag szignifikánsan hosszabb, mint a heterozigótáké (18,02 hónap, $p=0,018$). Mindössze egyetlen egy Val-homozigóta beteg volt a résztvevők között, az ő átlagos túlélése 11 hónap volt, természetesen ebből az egy adatból érdemi következtetést levonni nem lehet. Az UGT1A1 genotípus és a túlélések vizsgálatánál úgyszintén statisztikailag szignifikáns összefüggést láttunk a genotípus és a túlélés között. A statisztikai analízis alapján mind a *1-homozigóta vs. heterozigóta, mind a *1-homozigóta vs. *28-homozigóta összehasonlítás szignifikáns túlélésbeli különbséget mutatott ($p=0,009$, illetve $p=0,006$). Különösen erős statisztikailag szignifikánsan ($p=0,001$) összefüggést találtunk, amikor a mindkét high-risk allélt (CYP1A1 Val, UGT1A1 *28) egyaránt hordozók túlélését hasonlítottuk össze a high-risk allélt nem- vagy csak egy high-risk allélt hordozók csoportjával (14,6 hónap vs. 26,4 hónap)

3. populáció: pre-miR-146a genotipizálás eredményei

A kontrollok illesztését a szájüregi daganatokkal legszorosabban összefüggő tényezők alapján (életkor, nem és dohányzási szokások) végeztük, de további lehetséges kockázati tényezőkről is gyűjtöttünk

adatokat. A szájüregi problémák előfordulási gyakorisága még a kontrollcsoportban is igen gyakori volt (34,8%), ami a hazai szájhygiénés szokások elégtelenségére, a szájhygiéne elhanyagolására hívja fel a figyelmet. A fej-nyaki daganatos betegek között a krónikus szájüregi rendellenességek még gyakrabban fordultak elő (48,9%), a különbség statisztikailag szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,001$). Ugyancsak szignifikánsan magasabb volt az alkoholfogyasztás a betegek között, mint a kontrollcsoportban ($p < 0,001$), nem volt viszont szignifikáns eltérés az iskolai végzettséget illetően a két csoport között ($p = 0,21$). A pre-miR-146a allélmegoszlások elemzése előtt megvizsgáltuk az allélgyakoriságokat, és megállapítottuk, hogy azok mindegyik csoportban megfeleltek a Hardy-Weinberg egyensúlynak.

Vizsgálatunk adatai alapján a magyar népességben a G alléljával gyakoribb, mint a C allél, a leggyakoribb genotípust a GG homozigóták adják (69,0%). Irodalmi adatokkal összevetve ez a török népességben leírt megoszláshoz áll a legközelebb (Akkiz, 2011). A betegek között magasabb volt a C allél előfordulási gyakorisága (CC homozigóták 3,4% vs 1,9%; heterozigóták 35,9% vs. 29,1%; GC + CC 39,3% vs. 31,0%), mint a kontrollcsoportban.

A vizsgált tényezők és a fej-nyaki daganatok közötti kapcsolatot logisztikus regressziószámítással elemeztük. Eszerint a daganatkialakulás statisztikailag szignifikáns kapcsolatban volt a szájüregi betegségek fennállásával (OR: 1,87, 95% CI: 1,43-2,45), az alkoholfogyasztással (>5 ital/nap vs. absztinensek OR: 3,35, 95% CI: 2,18-5,17), illetve a pre-miR-146a C allél jelenlétével (GC+CC vs. GG OR: 1,52, 95% CI: 1,15-2,01). Az alkoholfogyasztás esetében az esélyhányadosok alapján a vártnak megfelelő, emelkedő dózis-hatás összefüggést láthatunk. Míg a szájüregi krónikus rendellenességek és az alkoholfogyasztás tekintetében az eredmények nem újak, és inkább csak az elemzés „melléktermékének” tekinthetők, a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmust illetően elsőként igazoltuk a C allél kockáztnövelő hatását, mind heterozigóták, mind C/C homozigóták vonatkozásában.

Miután a vizsgált populáció egészére nézve beigazolódott a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus kockázatmódosító szerepe, rétegzett analízissel megvizsgáltuk, hogy az illesztésnél figyelembe vett kategorikus változók valamelyikével sikerül-e kölcsönhatást találni. A stratifikált analízis szerint a C allél jelenléte különösen erős kockázati tényező volt nők, naponta több, mint 20 cigarettát szívók és több, mint 30 éve dohányzók körében.

4. populáció: XRCC1 allélpolimorfizmus vizsgálatok eredményei

Az XRCC1 Arg194Trp polimorfizmus tekintetében volt ugyan különbség az egyes allélek megoszlását illetően, de ez nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. Mind a Trp-homozigóták, mind a heterozigóták előfordulása ritkább volt a tumoros betegek között, mint a kontrollcsoportban, vagyis a Trp allél jelenléte védő hatásúnak tűnt, de ez a hatás nem volt statisztikailag szignifikáns, még akkor sem, ha az összes Trp-hordozót vetettük össze az Arg-homozigótákkal (OR: 0,54; 95% CI: 0,71-1,01). Igaz, hogy ez utóbbi esetben borderline jellegű összefüggést láttunk, tehát érdemes lenne még nagyobb elemszámú vizsgálatot végezni az esetleges kapcsolat tisztázása érdekében.

Az XRCC1 Arg399Gln polimorfizmusnál viszont már statisztikailag szignifikáns hatást észleltünk: a Gln allél jelenléte fokozta a kockázatot, mind Gln/Arg vs. Arg/Arg (OR: 1,65; 95% CI: 1,05-2,59), mind Gln/Arg+Gln/Gln vs. Arg/Arg (OR: 1,70; 95% CI: 1,11-2,61) vonatkozásban is. A Gln-homozigóták előfordulása viszonylag ritkább, aminek része lehet abban, hogy e genotípus kockáztnövelő hatása nem volt statisztikailag szignifikáns.

A másik fej-nyaki daganatos vizsgálatunkhoz hasonlóan ezen polimorfizmusok esetleges prognosztikus szerepét is megvizsgáltuk egyrészt a teljes betegcsoportra, másrészt pedig stádiumonkénti csoportosításban. Az Arg194Trp polimorfizmus esetén a teljes beteganyag vonatkozásában statisztikailag szignifikáns összefüggést találtunk ($p=0,0116$), az Arg-homozigóták túlélése rosszabb volt, mint a Trp allélt homo- vagy heterozigóta formában hordozóké. Az Arg399Gln polimorfizmusnál a genotípus hatása nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét ($p=0,0606$) a teljes betegcsoporton.

Kolorektális daganatokra vonatkozó eredmények

5. populáció: GSTM1, GSTT1 ill. p53 polimorfizmusok eredményei

A betegcsoportban ritkábban fordult elő a + allél (GSTM1 esetén: 38,5%, a GSTT1 esetén: 65,4%. A GSTM1 esetében a különbség statisztikailag szignifikáns volt (OR: 1,83, 95% CI: 1,14-2,92). A p53 allélmegoszlás a kontrollok között a szokásos gyakoriságokat mutatta viszont a daganatos betegek csoportjában magasabb volt a heterozigóták (34,1%) és a Pro-homozigóták (5,5%) aránya. A viszonylag ritka előfordulás miatt a Pro/Pro genotípus nem volt szignifikáns összefüggésben a daganat jelenlétével, viszont a heterozigóták statisztikailag szignifikánsan gyakrabban fordultak elő a daganatos csoportban, mint a kontrolloknál. Ugyancsak szignifikáns volt az összefüggés, ha a Pro-allélt hordozók (vagyis a heterozigóták és a Pro-homozigóták) arányát vizsgáltuk (OR: 1,83, 95% CI: 1,14-2,92).

Ugyanezen betegcsoporton vizsgáltuk a fenti allélpolimorfizmusok túlélésre gyakorolt hatását is. A vizsgált betegek túlélési valószínűsége szoros és statisztikailag szignifikáns kapcsolatban van a Dukes' stádiummal. A GSTM1 és GSTT1 + genotípusúak illetve a p53 Arg-homozigóták túlélése szignifikánsan hosszabb, mint a 0 genotípusúak illetve a Pro-allélt hordozók túlélése.

6. vizsgálati csoport: GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53, XRCC1

Ebben a vizsgálatban nagy létszámú csoportok (500 kolorektális daganatos beteg és 500 kontroll) genotipizálását végeztük el a GSTM1 (+/0 genotípus), GSTT1 (+/0 genotípus), GSTP1 (Ile105Val), NAT1 (lassú/rapid acetilálók), NAT2 (lassú/rapid acetilálók), p53 (Arg72Pro) és XRCC1 (Arg399Gln) génekre vonatkozóan. Ez a vizsgálat az egyes génekre vonatkozó információkon túl azért is érdekes, mert a nagy elemszám és a vizsgált polimorfizmusok viszonylag nagy száma miatt lehetőséget nyújtott az allélpolimorfizmusok közötti kölcsönhatások elemzésére is. Mind a GSTM1, mind a GSTT1 polimorfizmus esetén magasabb volt a 0 genotípus előfordulása a daganatos betegek csoportjában. A GSTP1-nél a heterozigóták számát illetően minimális eltérés volt, azonban a Val-homozigóták aránya nagyobb volt a daganatos betegek között. Mind a NAT1, mind a NAT2 vonatkozásában több rapid acetilálót találtunk a daganatos csoportban, mint a kontrollok között, de a különbség a NAT2-nél jelentősebb volt (182→233 vs. 195→211). Sokkal alacsonyabb volt a p53 Arg-homozigóták száma a kontrollok között, mint a betegcsoportban, ami a betegek között jelentős Arg/Pro ill. Pro/Pro overreprezentációt okozott. Végül az XRCC1 esetében a Gln allél gyakoriság volt magasabb a betegek között, mint a kontrollcsoportban. A statisztikai elemzés eredményei azt mutatják, hogy statisztikailag szignifikáns különbséget a GSTM1, NAT2, p53 és az XRCC1 polimorfizmusoknál sikerült találni, vagyis a GSTM1 0 genotípus, a NAT2 rapid acetiláló genotípus, a p53 Pro allél és az XRCC1 Gln allél fokozzák a kolorektális daganatok kockázatát.

A gén-gén kölcsönhatások vizsgálata céljából aszerint csoportosítottuk a résztvevőket, hogy hány high-risk allélt találtunk náluk a genotipizálás során, és a kapott megoszlásokat összevetettük a betegek és a

kontrollok között. A két csoport közötti különbség statisztikailag szignifikáns ($p < 0,001$, khí-négyzet illeszkedésvizsgálattal). A hat vagy hét high-risk allél egyidejű jelenlétéből adódó kockázatemelkedés erős és statisztikailag szignifikáns (OR: 6,39, 95% CI: 2,73-14,92).

7. vizsgálati csoport: CYP1A1, CYP2E1, EPHX1 polimorfizmusok eredményei

Másik, szintén 500-500 elemszámú csoportokon végzett vizsgálatunkban a CYP1A1, CYP2E1 és az EPHX1 enzimek polimorfizmusainak hatását tanulmányoztuk, ugyancsak kolorektális daganatos betegek és nem daganatos kontrollok között. Az EPHX1 génjében két, egymással nem kapcsoltan öröklődő polimorfizmust is vizsgáltunk (exon 3 Tyr/His, exon 4 His/Arg). A CYP1A1 génnél a Val allél gyakoribb volt a daganatos betegekben, mint a kontrollcsoportban, míg a CYP1A2 esetében alig volt eltérés a két csoport allélgyakoriságai között. Kifejezetten magasabb volt a CYP2E1 c2 allél gyakorisága kolorektális daganatos csoportban. A két EPHX1 polimorfizmus is mutatott különbségeket: A 3-as exon polimorfizmus tekintetében a ritkább His/His genotípus volt felülreprezentálva a daganatos csoportban, míg a 4-es exonnál pedig a vad típusú allél (ugyancsak His) volt gyakoribb. A CYP1A1, CYP2E1 és az EPHX1 exon 3 polimorfizmusok esetében az allélgyakoriságok közötti különbségek statisztikailag szignifikánsak voltak, míg a CYP1A2-nél és az EPHX1 exon 4 polimorfizmusnál pedig nem. A 3 szignifikánsnak talált kapcsolat esetén a high-risk allélek egyidejű jelenléte kifejezetten erős kockázatemelkedést okozott (OR: 3,35, 95% CI: 1,61-7,08).

Méhnyakrákra vonatkozó eredmények

8/a. vizsgálati csoport: GSTM1, GSTT1 polimorfizmusok eredményei

A következőkben bizonyítottan magas kockázatú HPV-típussal (16 vagy 18) fertőzött nők nyomon követésével vizsgáltuk, hogy a GSTM1 és T1 allélpolimorfizmusok hogyan befolyásolják a HPV-indukálta cervix-karcinogenezist, pontosabban a cervix-preblasztomák kialakulásának kockázatát. A kezdetben HPV-pozitív, de cervikális elváltozást nem mutató résztvevőket két csoportra osztottuk, aszerint, hogy a megfigyelési időtartam alatt kialakult-e náluk HSIL ill. II-es vagy III-as stádiumú cervikális intraepiteliális neoplázia. Mivel a cervixtumorok kialakulásának kockázati tényezői eltérnek a fej-nyaki vagy a kolorektális daganatokétól, itt másfajta zavaró tényezők jelenlétével kellett számolni, illetve hatásukat ki kellett zárni. Mind a GSTM1, mind a GSTT1 allélpolimorfizmusnál magasabb volt a 0 allél prevalenciája a preblasztomás csoportban, mint azok között, akiknél a perzisztáló HPV-fertőzés ellenére sem alakult ki cervikális diszplázia. Az összefüggés mindkét polimorfizmusnál statisztikailag szignifikánsnak bizonyult (GSTM1 OR: 1,78 95% CI: 1,06-2,97; GSTT1: OR: 1,89, 95% CI: 1,10-3,26), és a kettős 0 genotípusú nőkben a kockázat fokozottan érvényesült.

8/b. vizsgálati csoport: DRD2/ANKK1 allélpolimorfizmus eredményei

A DRD2-vizsgálatba 214 résztvevőt sikerült bevonni. A részt vevő nők 47,7%-ában alakult ki high-grade diszplázia. Az allélmegoszlások statisztikailag szignifikánsan befolyásolták a súlyos diszplázia kialakulásának kockázatát (A1/A2+A1/A1 vs. A2/A2 OR: 1,87, 95% CI: 1,05-3,33, $p = 0,034$).

A DRD2 allélpolimorfizmus prognosztikus értékét 239, CIN III fokozatú elváltozást mutató, vagy I-es stádiumú cervixrák diagnózisú résztvevővel kezdtük meg. A vizsgálat záró időpontjában 182 résztvevő volt tumor- és panaszmentes. A másik csoportot az az 57 beteg képezte akinél a betegség progrediált (32 személy) vagy ezidő alatt elhalálozott (25 beteg). A DRD2 genotípusok megoszlása azt mutatta, hogy az A1 allél statisztikailag szignifikánsan gyakoribb volt a rossz prognózisú betegek között (OR: 2,00, 95% CI: 1,07-3,74, $p=0,030$).

A hazai roma populációra vonatkozó eredmények

9. vizsgálati csoport: CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT2, XRCC1, p53 és pre-miR-146a allélpolimorfizmusok eredményei

A magyarországi roma és nem roma népesség összehasonlítását CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT2 és p53 polimorfizmusokra végeztük el. A romák indiai származása miatti összehasonlítás érdekében célszerűnek tartottuk harmadikként minden esetben egy indiai populáció adatainak közlését is (ezek irodalmi adatok). A CYP1A1 és a GSTT1 allélek gyakoriságát illetően allélmegoszlások nem mutattak lényeges különbséget a három összehasonlított populáció között. A GSTM1 0 allél prevalenciája Indiában alacsonyabb, a + allél pedig magasabb volt, mint a magyar nem roma népességben. Az oláh cigányok körében talált allélgyakoriságok az indiai megoszláshoz álltak közel, és így tehát szignifikánsan eltértek a magyarországi nem roma csoporttól (+ allél: OR: 2,08, 95% CI: 1,45-2,99). A NAT2 lassú/rapid acetilálók megoszlása ugyancsak eltérő volt a magyarországi nem roma és az indiai populációk között. A roma népességben tapasztalt megoszlás a kettő között, majdnem középen helyezkedett el, alig valamivel közelebb az indiai megoszláshoz, a hazai nem roma gyakoriságoktól borderline szignifikancia szintjén különbözve (OR: 1,42, 95% CI: 1,00-2,00). A p53 allélmegoszlások tekintetében hatalmas különbséget láttunk az indiai és a hazai nem roma csoportok között. Míg nálunk a népesség 64,9%-át Arg-homozigóták tették ki, addig Indiában mindössze 14,4% volt. A roma népesség allélgyakoriságai a hazai nem romáktól jelentősen eltérve (OR: 10,2, 95% CI: 6,45-15,63) az indiai megoszláshoz álltak közel.

Végeredményben tehát igazoltuk, hogy a magyarországi oláh cigányok egyes genetikai tényezők tekintetében eltérő megoszlást mutatnak, mint a hazai nem roma népesség. Ha potenciális daganatos kockázat szempontjából csoportosítjuk ezeket az eltéréseket, akkor a p53 esetén a roma allélmegoszlások a kockázatemelkedés, a GSTM1 tekintetében pedig a rizikócsökkenés irányába mutatnak. A NAT2 esetén a helyzet nem egyértelmű, mert a rapid acetilálók vastagbélrák kockázata például valószínűleg alacsonyabb, de a húgyhólyagrák-rizikója pedig magasabb, mint a lassú acetilálóké. A fentiek alapján tehát nem mondható, hogy a vizsgált polimorfizmusok összességükben véve akár szignifikánsan magasabb, akár szignifikánsan alacsonyabb daganatos kockázatot eredményeznének romák körében a többségi népességhez viszonyítva. A krónikus nem fertőző betegségeknél látott halálozási különbségek okait nem elsősorban genetikai tényezőkben kell keresni.

Génexpresszió-változásokkal kapcsolatos állatkísérletek eredményei

A génexpresszió-változások szerepét vizsgáló állatkísérleteinkben, amelyekben jó néhány különböző karcinogén anyag hatását teszteltük, sikerült igazolni, hogy az expresszió-változások a karcinogén expozíció korai biomarkerei lehetnek. Sikeresen használtuk a módszert kemopreventív hatású anyagok tesztelésére is, ilyen esetekben pozitív kontrollként ismert – és génexpresszió-profilját illetően már vizsgált – karcinogén anyagot (pl. DMBA) használtunk (Szanyi, 2007). Eredményeink nem jelentik azt, hogy egy konkrét expresszió-változás alapján pontosan következtetni lehetne az expozíció időtartamára, mértékére, és azonosítani lehetne az expozíciót adó molekulát. Amint az itt részletesen tárgyalt kísérletek is mutatják, egyes szövetekben különböző időpontokban jelentkeznek a génexpresszió-változások, amelyek ráadásul tranzitórikusak is. Ugyanakkor megfelelő dózisú karcinogén kezelés után hosszabb idő elteltével is kimutathatók génexpresszió-változások, amelyek már feltehetően nem, vagy nem csak az expozíció, hanem már a malignus transzformáció markerei.

Kérdés, hogy miért, illetve milyen körülmények között lehet előnyös ilyen biomarkerek alkalmazása például az expozíció tradicionális markereivel – például a vizeletből mérhető metabolitok koncentrációjával – szemben? Az a tény, hogy ezek a biomarkerek nem specifikusak, ebben az esetben előnyt jelent, mert képesek különböző típusú karcinogén expozíciók jelzésére, sőt valójában mintegy integrálják is azokat, hiszen a karcinogén hatások eredőjeként létrejövő korai celluláris válaszokat reprezentálják. További előny, hogy epigenetikus hatásokra is érzékenyek, hiszen a transzkripcionális változások hátterében nem kell, hogy szükségszerűen genetikai változások, mutációk álljanak. Természetesen alkalmazásuk helyét, lehetőségét további vizsgálatokkal kell pontosan megállapítani, hiszen nem valószínű, hogy például egy konkrét munkahelyi expozíció esetén a biomonitorozásból kizsorítanák a hagyományos biomarkereket. Itt ugyanis egy konkrét anyagot kell monitorozni, amelynek a megfelelő metabolitja nyilvánvalóan és egyértelműen a legalkalmasabb biomarker erre a célra. Ahol viszont kevert vagy nem pontosan ismert, változó mértékű expozíciókról van szó, a génexpresszió-változások első lépésben alkalmasak lehetnek veszélyeztetett mértékben exponáltak azonosítására, akiknél majd további, pontosabb vizsgálatokkal lehet tényleges rizikóbecslést végezni. A biomarker-fejlesztés tehát két irányba haladhat tovább: egyrészt elképzelhető expozíció-specifikus génexpressziós panel fejlesztése, másrészt pedig az aspecifikus, de karcinogén expozíciók széles spektrumát jelző markerek standardizálása. Intézetünkben jelenleg is folynak az ilyen irányú biomarker-kutatások potenciális további target RNS-ek expresszióváltozásainak mérésével, illetve a vizsgálati rendszer újabb expozíciókra való kiterjesztésével. Ígéretes irányvonalnak tűnik a mikroRNS expressziók bevonása a korai, aspecifikus biomarkerek körébe, amint azt Juhász és mtsai DMBA és miR-21, miR-146a és let-7a vonatkozásában megtették (Juhász, 2012), majd a modellt további mikroRNS-ekre, illetve újabb kémiai karcinogén anyagra (NMU) is kiterjesztették (Juhász, 2013). A gyakorlati alkalmazások irányába továbblépve pedig Szele és mtsai például kukorica-alapú biodízelből tisztított glicerin hatásainak *in vivo* vizsgálata során 12 mikroRNS expressziójának vizsgálata mellett az Nfkb1, a Mapk8 és a K-Ras gének mRNS szintű expressziójának mérésével jutottak arra a következtetésre, hogy a termék karcinogenitásának kockázata minimális (Szele, 2013).

További kérdés, hogy az állatmodelleken túlmenően emberben is van-e létjogosultsága az *in vivo* génexpresszió-változásoknak, mint az expozíció vagy a korai biológiai hatás markereinek? A fő különbség

az állatkísérletekhez képest, hogy itt nincs lehetőség különböző szervekben tanulmányozni az expresszió-változásokat, hanem a rendelkezésre álló „leginvazívabb” beavatkozási lehetőség a vérvétel. A perifériás vérből izolált fehérvérsejtek használata egyrészt tehát kényszer szülte lehetőség, másrészt azonban előny is lehet, hiszen a különböző úton (táplálékkal felvett, belélegzett, bőrön keresztül felszívódó) a szervezetbe kerülő potenciálisan karcinogén hatású molekulák mind a vérbe kerülnek, és e transzport során expozíciót jelentenek a fehérvérsejtek számára is.

A humán alkalmazás előtt célszerű állatkísérletben igazolni, hogy valóban expresszió-változásokat találunk a fehérvérsejtekből izolált RNS alkalmazásával is, karcinogén expozíció hatására. Az intézetünkben (Gyöngyi, 2001), de más szerzők által végzett hasonló vizsgálatok is (Li, 2011), igazolták, hogy a feltételezés helytálló, a perifériás vérből mért génexpressziók alkalmazhatók helyettesítő biomarkerként (mármint az egyes szervekből mért expresszió-változások helyett). A fentiekből kiindulva intézetünkben korábban végeztünk már olyan vizsgálatokat, amelyek karcinogén anyaggal exponált emberekben mértünk génexpressziókat perifériás vérből izolált fehérvérsejtekből, és sikerült is az expozícióra utaló overexpressziókat találni (Ember, 1998a, Ember, 1998b). Az általunk választott irány helyességét jelzi, hogy utóbbi időben több szerző is próbálkozik a módszer alkalmazásával, sőt továbbfejlesztésével is, amit ma már a metodika eszköztárának fejlődése is elősegít. Így például néhány kiválasztott gén expressziójának mérése helyett több tucat (Templin, 2011) vagy több száz génre (van Leeuwen, 2007), de akár a teljes genomra (Hebels, 2011) kiterjedő expressziós mintázatokból történnek kísérletek egyes karcinogén expozíciók hatásának monitorozására.

Az eddig leírtakhoz kapcsolódik az a humán vizsgálat, amelyben ugyancsak perifériás fehérvérsejtekből mért génexpressziókat alkalmaztunk, de ezúttal nem a karcinogén expozíció, hanem a betegség biomarkereként (Szanyi, 2011). Régóta ismeretesek olyan próbálkozások, amelyek „új” tumormarkerek kidolgozását tűzik ki célul, és ezek között számos olyat találunk, amely mRNS alapon kísérli meg a daganat kialakulásának korai jelzését vagy a betegség nyomon követését. Ezek egy része tumorsejt-specifikus mRNS-ek kimutatását kísérli meg (Stevens, 1996; Funaki, 1996), ami tulajdonképpen a klasszikus tumormarkerek analógiája, csak nem fehérjetermészetű, hanem nukleinsav típusú markerrel. Ez a módszer tulajdonképpen nem más, mint a keringő tumorsejteknek az RNS alapú kimutatása.

Történtek azonban próbálkozások perifériás fehérvérsejtekből mért génexpressziók biomarkerként való alkalmazására is, különböző daganatok esetében. Bermano és mtsai például úgy találták, hogy emlőrákos betegek perifériás mononukleáris sejtjeiben a glutation-peroxidáz 4 enzim génjének transzkripciója mintegy 30%-kal volt alacsonyabb az egészséges személyekben mért expresszióhoz képest (Bermano, 2010). Egy másik vizsgálat szerint a perifériás vérből izolált mononukleáris sejtekben mért Olfactomedin4-expresszió pedig a hasnyálmirigy-adenokarcinómában szenvedő betegeknél magasabb, mint egészséges kontrollokban (Yan, 2011). A mátrix-metalloproteináz-9 expressziója pedig nasopharyngeális karcinómában volt magasabb, mint egészséges személyekben (természetesen itt is perifériás mononukleáris sejtekben), sőt korrelációban volt a betegség prognózisával is (He, 2011). Intézetünkben pedig vastagbél-daganatos betegek perifériás fehérvérsejtjeiben sikerült kimutatni onko/szuppresszor gének overexpresszióját (Csontos, 2008). Leidinger és Keller pedig mikroRNS-mintázatok alapján tudták megkülönböztetni a tüdőrákos betegeket az egészségesektől (Keller, 2009) vagy más tüdőbetegségben szenvedőktől (Leidinger, 2011). Az egyes gének- vagy meghatározott csoportjaik expressziójának célzott vizsgálata mellett számos munkacsoport végzett sok ezer génexpressziót magába foglaló vizsgálatot. Sheng és mtsai 22K oligonukleotid array-k segítségével vizsgálták perifériás vérből izolált limfociták génexpressziós mintázatát, és arra a következtetésre

jutottak, hogy módszerük alkalmazása a daganatos betegek korai kimutatására (Sheng, 2010). Ugyancsak leírtak már jellegzetes expressziós mintázatokat emlő- (Sharma, 2005), tüdő- (Showe, 2009), húgyhólyag- (Osman, 2006) és veserákban (Twine, 2003).

A disszertációban bemutatott saját vizsgálatunk eredményei azt mutatták, hogy a daganatos betegek perifériás fehérvérsejtjeiben mért Ha-ras, c-myc és p53 expressziók statisztikailag szignifikánsan magasabbak voltak, mint a kontroll személyeknél. Azoknál a betegeknél pedig, akiket nyomon tudtunk követni, és két év múltán sem volt recidíva, ez idő alatt a génexpressziók számottevően csökkentek (ez statisztikailag szignifikáns a Ha-ras és a p53 esetén volt). Ez a vizsgálat, amelyet egyik oldalról saját korábbi állatkísérleteink és humán eredményeink, másik oldalról az irodalomban megjelent hasonló témájú közlemények alapoztak meg, újabb tumorokra (fej-nyaki daganatok) terjeszti ki a perifériás fehérvérsejtekből mért génexpressziók alkalmazhatóságát, amely a későbbiekben akár a terápia nyomon követésében szerepet tölthet majd be.

Természetesen felmerül a kérdés, hogy miért találunk emelkedett génexpressziókat a tumoros betegek perifériás véréből izolált fehérvérsejtjeiben. Elvileg elképzelhető, hogy keringő tumorsejtek jutnak a vérbe (illetve ez nemcsak elképzelhető, hanem ismert tény), és ezekben a sejtekben teljesen eltérő génexpressziókkal találkozunk, ami befolyásolja mérési eredményeinket, hiszen ott az összes sejtre vonatkozó átlagértéket kapunk. Az ebben a kérdésben állást foglaló szerzők többsége végül elveti ezt a lehetőséget (Showe, 2009; Osman, 2006), hiszen a keringő tumorsejtek száma lényegében elhanyagolható a fehérvérsejtekhez képest (sem saját vizsgálatunk, sem az idézett tanulmányok nem alkalmaztak semmiféle dúsítási eljárást), így igen valószínűtlen, hogy a mért expressziós értékekre ilyen hatással lehetnének. Ezt alátámasztják Twine és mtsai említett génexpressziós vizsgálatának eredményei is, miszerint a perifériás fehérvérsejtjeiben mért specifikus expressziós mintázatok mellett nem találtak keringő veserák-specifikus markereket (Twine, 2003).

Felmerülhet még a folyamatos környezeti expozíciók szerepe, vagyis a környezetnek – ami évtizedek alatt a daganatkialakuláshoz vezetett –, az expozíciós mintázata hagyná a „lenyomatát” a mononukleáris sejtek expressziós mintázatán. Ez a magyarázat viszont merev, évtizedeken keresztül változatlan expozíciós viszonyok esetén lehet csak helyes, ez viszont ugyancsak igen kevésbé valószínű.

Amellett, hogy a kérdéssel foglalkozó szerzők általában úgy nyilatkoznak, hogy egyelőre nem tudjuk, mi okozza a perifériás vérben ezeket az expresszió-változásokat, egy figyelemre méltó elmélet is felmerült (Burczynski, 2005), amit a magunk részéről is lehetségesnek tartunk. Eszerint, mivel a vér – és így benne a fehérvérsejtek is – testünk majdnem minden szervével és szövetével közvetlen kapcsolatba kerül, felfogható tehát a szervezet általános állapotát érzékenyen visszatükröző rendszernek. Burczynski véleménye az, hogy ezeknek a sejteknek a különböző szervekben az ottani mikrokörnyezettel való kölcsönhatása, vagy inkább az ottani mikrokörnyezetre való reakciója mérhető a transzkriptom szintjén. Ez a reakció lehet például gyulladásos vagy immunológiai jellegű válasz, de valószínűleg ennél bonyolultabb hatásokról lehet szó, különösen annak fényében, hogy a perifériás fehérvérsejtek expressziós mintázata nemcsak „diagnosztikus”, de prognosztikus markernek is bizonyult veserákok esetében (Burczynski, 2005).

Az eredmények, illetve a lehetséges magyarázatok tükrében könnyen vélhetünk analógiát találni az úgynevezett „field cancerization” elmélettel. Az elméletet Slaughter és mtsai állították fel, már meglepően régen (Slaughter, 1953), amikor is szájjüregi daganatok esetében kerestek magyarázatot a multiplex primér tumorok megjelenésére vagy a lokális recidívák kialakulására. Az elmélet jelenlegi formájában azt mondja ki, hogy a daganatkeltő ágensek hatására az érintett szövet változásokon megy keresztül, és az így kialakuló mező területéről indul ki a primér daganat. A tumor eltávolítása után is

visszamaradhat azonban a „cancer field”-ban újabb primér tumor képződését magyarázhatja. Az elméletre vonatkozóan jelenleg is intenzív kutatások folynak, és számos bizonyíték áll rendelkezésre, amelyek alátámasztják azt (Angadi, 2012; Riverbark, 2012). Elképzelhető, hogy a perifériás vérben mért expresszióváltozások a „field cancerization” sajátos megjelenési formáját jelentik a vér, illetve akár a szervezet egésze vonatkozásában.

Mindazonáltal, a tény, hogy nem vagyunk pontosan tisztában a kapott génexpresszió-változások okaival, a gyakorlati felhasználhatóságukra irányuló kutatásoknak – illetve a biomarkerek verifikálása esetén a konkrét alkalmazásnak – nem lehet akadálya, de emellett nyilvánvalóan célszerű és szükségszerű a mechanizmus(ok) tisztázása érdekében is vizsgálatokat folytatni.

A genetikai polimorfizmusokra vonatkozó vizsgálatok

A genetikai polimorfizmusok szerepét az utóbbi egy-két évtizedben egyre intenzívebben vizsgálják a legkülönbözőbb betegségekkel kapcsolatban. Az egyes génvariánsok egyrészt befolyásolhatják a betegségek kialakulásának kockázatát, másrészt pedig – részben hasonló hatásmechanizmusokon keresztül – a betegségek prognózisát. Az előbbi szerepük elsősorban a primér prevencióban lehet lényeges, prognosztikus értékük pedig az adekvát terápia meghatározásában adhat segítséget, illetve a terciér prevenció számára adhat iránymutatást.

Saját vizsgálatainkban elméleti megfontolások alapján dolgoztunk ki hipotéziseket egyes allélpolimorfizmusokra vonatkozóan, és próbáltuk meg azok szerepét tisztázni a magyar népességre vonatkozóan. Ez utóbbi kitétel – ti. a hazai népesség vizsgálata – azért kiemelendő, mert interetnikai különbségek vannak az egyes polimorfizmusok hatását illetően, vagyis egyes genetikai tényezők emelték a daganatos kockázatot bizonyos populációkban, más népegekben azonban nem. Az ilyen eltérések figyelembe vétele nélkül általában nem lehet egy az egyben átvenni és elfogadni más populációk vizsgálatával született eredményeket.

Vizsgálatainkban először a daganatkialakulás molekuláris mechanizmusaihoz szorosabban köthető gének polimorfizmusait (p53 tumorsuppresszor gén, karcinogéneket metabolizáló enzimek, XRCC1 DNS reparációs gén) vizsgáltuk, majd e mechanizmusoktól távolabb álló, közvetettebb hatású gének polimorfizmusait (pre-miR-146a, DRD2) is elemeztük. Amint azt az eredményeknél részleteztük, számos allélpolimorfizmus esetében sikerült igazolni, hogy egyes daganatok kialakulásának kockázatát statisztikailag szignifikánsan fokozzák. Különösen fontos eredménynek tartjuk annak igazolását, hogy ezek a polimorfizmusok egymással kölcsönhatásban már jelentősebb kockázatemelkedéshez vezettek, ami lényegében kijelöli az utat az egyéniszintű genetikai rizikóbecslés irányába.

Több allélpolimorfizmust prognosztikus értékűnek találtunk, ami a klinikusok számára nyilván segítséget adhat az optimális terápia kiválasztásához, közegészségügyi, prevenciós szempontból pedig a terciér prevenció (szövődmények, relapszus) megelőzését segítheti elő, kijelölve azokat a betegeket, akiknél a kockázat az átlagnál magasabb.

Kutatásink egy gyakorlati aspektusát magunk is felhasználtuk, amikor is a magyarországi roma népesség átlagnál magasabb daganatos halálozásai hátterében álló esetleges genetikai tényezők szerepét vizsgáltuk. Öt egyéni érzékenysége jellegű allélpolimorfizmus tekintetében hasonlítottuk össze a hazai roma és nem roma népességet (pontosabban a romák tradíciójukat, viszonylagos izoláltságukat legjobban megőrző csoportját, az oláh cigányokat). Eredményeink azt mutatták, hogy nincs olyan

tendenciózus különbség a magyar hazai és nem roma népesség között, ami felelőssé lenne tehető a magasabb roma daganatos halálozásokért. Így tehát továbbra is az életmódi, gazdasági-szociális tényezőket tartjuk elsődlegesnek. Eredményeink szerint egyébként a magyar allélgyakoriságok sem tértek el a más kaukázusi népességekben leírtaktól, tehát populációs szinten a magyar daganatos halálozások magas volta sem magyarázható genetikai különbségekkel.

A kutatások folytatása, újabb, daganatos kockázatot befolyásoló allélpolimorfizmusok azonosítása, egymással és környezeti tényezőkkel való kölcsönhatásaik tisztázása után a jövőben remélhetőleg – számos allélpolimorfizmus egyidejű vizsgálatával – már megközelítjük majd az egyéni szintű genetikai kockázatbecslést. Az egészségügy számára ez célzott, és ennek megfelelően sokkal hatékonyabb prevenció programok (primer és tercier prevenció) végrehajtását teszi majd lehetővé. Az egyén számára pedig döntési szabadságának kiteljesedését jelnlheti, hiszen életmódját, szokásait nem az átlagos, hanem kifejezetten saját kockázatai szempontjából alakíthatja majd. Ez utóbbi gondolatnak a szellemében meg is kezdődött egyébként az allélpolimorfizmusok vizsgálatának, genotipizálásoknak az üzleti célú szolgáltatásként történő felhasználása. Remélhetőleg meg tudunk birkózni az új lehetőségekből adódó új feladatokkal és kihívásokkal, és a daganatok iránti egyéni érzékenységet befolyásoló genetikai tényezőket a társadalom és tagjai számára valóban hasznosítani tudjuk.

Új eredmények összefoglalása

- Igazoltuk, hogy állatkísérletben a kémiai karcinogén anyagokkal (MNU, DMBA, 1-NP) történő kezelés karcinogén-/szervspecifikus expresszióváltozásokat okoz a Ha-ras, c-myc és p53 gén expressziójában. Ezek a génexpressziók a karcinogén expozíció biomarkereiként felhasználhatók.
- A fenti gének expresszióváltozásainak alkalmazhatóságát humán vizsgálatban, a tumoros állapot markereként is demonstráltuk: fej-nyaki daganatos betegek perifériás fehérvérsejtjeiben a Ha-ras, c-myc és p53 gén expressziója magasabb volt, mint nem daganatos kontrollokban. Két évvel a daganatterápia után a recidívamentes betegek génexpressziói statisztikailag szignifikánsan csökkentek.
- Megállapítottuk, hogy a magyar népességben a vizsgált allélgyakoriságok nem térnek el lényegesen más kaukázusi populációkban leírtaktól. A pre-miR-146a allélmegoszlások a török népességével mutattak erős hasonlóságot.
- Igazoltuk, hogy a hazai népességben a GSTM1 0 genotípus, a NAT2 rapid acetiláló genotípusok, a p53 Pro allél, az XRCC1 Gln allél, a CYP1A1 Val allél, a CYP2E1 c2 allél és az EPHX1 exon 3 His/His genotípus statisztikailag szignifikánsan növeli a kolorektális daganatok kockázatát.
- Igazoltuk, hogy hazai népességben az XRCC1 Gln allél, az UGT1A1*28 allél és a CYP1A1 Val allél statisztikailag szignifikánsan fokozza a fej-nyaki daganatok kockázatát.
- Igazoltuk, hogy a pre-miR-146a C allél statisztikailag szignifikánsan fokozza a fej-nyaki laphámrákok kialakulásának kockázatát. Ez a hatás különösen erős nők, naponta több, mint 20 cigarettát szívók és több, mint 30 éve dohányzók körében.

- Bebizonyítottuk, hogy a vizsgált 324-111 polimorfizmusok között kölcsönhatások vannak, és a több különböző high-risk allélt hordozókban a kockázat jóval magasabb szintet ér el (kolorektális daganatokban 3 (CYP1A1, CYP2E1, EPHX1 exon3) vagy 7 polimorfizmus közötti kölcsönhatás: GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53, XRCC1).
- Igazoltuk, hogy a GSTM1 és a GSTT1 allélpolimorfizmusoknak szignifikáns szerepe van a magas kockázatú HPV-fertőzés indukálta cervix-karcinogenezisben. A 0 genotípusú személyekben statisztikailag szignifikánsan gyakrabban alakultak ki cervix-preblasztomák a perzisztens HPV-fertőzött nők körében.
- Igazoltuk, hogy a DRD2 A1/A2 polimorfizmusa statisztikailag szignifikánsan befolyásolja a cervix preblasztomák kialakulásának kockázatát, az A1 allél jelenléte kockázati tényezőnek bizonyult.
- A terciér prevencióban felhasználható prognosztikus markereknek bizonyultak a GSTM1, a GSTT1, az XRCC1 és a p53 gének allélpolimorfizmusai, amelyek a kolorektális ill. a fej-nyaki daganatos betegek túlélését szignifikánsan befolyásolták. Gyakorlati szempontból lényeges, hogy a hatás azokban a stádiumokban érvényesült legerősebben, amelyen belül jelentős különbségeket találhatunk az egyes betegek túlélését illetően.
- Ugyancsak terciós prevenció biomarkereknek bizonyult a DRD2 allélpolimorfizmus a méhnyakrák progressziójára nézve (A1 allél – rosszabb prognózis).
- Kimutattuk, hogy a magyarországi romák egy csoportja (oláh cigányok) több allélmegoszlás tekintetében is eltér a hazai kaukázusi népességtől, és az indiai populációkban leírt allélmegoszlásokhoz hasonlít (GSTM1, p53, kisebb mértékben NAT2).
- A magyarországi roma daganatos halálozások alakulásában az általunk vizsgált genetikai tényezőknek nem lehet lényeges szerepe, az okokat külső tényezőkben kell keresni.

Irodalom

Achanzar WE, Achanzar KB, Lewis JG, Webber MM, Waalkes MP. Cadmium induces c-myc, p53, and c-jun expression in normal human prostate epithelial cells as a prelude to apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2000; 164: 291-300.

Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNAs 143 and 145 are possible common onco-microRNAs in human cancers. *Oncol Rep.* 2006; 16: 845-850.

Allan JM, Wild CP, Rollinson S, Willett EV, Moorman AV, Dovey GJ, Roddam PL, Roman E, Cartwright RA, Morgan GJ. Polymorphism in glutathione S-transferase P1 is associated with susceptibility to chemotherapy-induced leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98: 11592-11597.

Angadi PV, Savitha JK, Rao SS, Sivaranjini Y. Oral field cancerization: current evidence and future perspectives. *Oral Maxillofac Surg.* 2012; 16: 171-180.

Bermano G, Smyth E, Goua M, Heys SD, Wahle KW. Impaired expression of glutathione peroxidase-4 gene in peripheral blood mononuclear cells: a biomarker of increased breast cancer risk. *Cancer Biomark.* 2010; 7: 39-46.

Blackwood E, Eisenman R. Max: a helix-loop-helix zipper protein that forms a sequence-specific DNA-binding complex with Myc. *Science.* 1991; 251: 1211.

- Brem R, Hall J. XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells. *Nucleic Acids Res.* 2005; 33: 2512-2520.
- Burczynski ME, Twine NC, Dukart G, Marshall B, Hidalgo M, Stadler WM, Logan T, Dutcher J, Hudes G, Trepicchio WL, Strahs A, Immermann F, Slonim DK, Dorner AJ. Transcriptional profiles in peripheral blood mononuclear cells prognostic of clinical outcomes in patients with advanced renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 1181-1189.
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 15524-15529.
- Campa D, Zienolddiny S, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Canzian F, Haugen A. Polymorphisms of dopamine receptor/transporter genes and risk of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007;56(1):17-23.
- Cederbaum AI. Hepatoprotective effects of S-adenosyl-L-methionine against alcohol- and cytochrome P450 2E1-induced liver injury. *World J Gastroenterol.* 2010; 16: 1366-1376.
- Comings DE, Ferry L, Bradshaw-Robinson S, Burchette R, Chiu C, Muhleman D. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene: a genetic risk factor in smoking. *Pharmacogenetics.* 1996 Feb;6(1):73-9.
- Csontos Z, Nádas E, Csejtei A, Illényi L, Kassai M, Lukács L, Kelemen D, Kvarda A, Zólyomi A, Horváth OP, Ember I. Oncogene and tumor suppressor gene expression changes in the peripheral blood leukocytes of patients with colorectal cancer. *Tumori.* 2008; 94: 79-82.
- Deffie A, Wu H, Reinke V, Lozano G. The tumor suppressor p53 regulates its own transcription. *Mol Cell Biol.* 1993; 13: 3415-3423.
- Demokan S, Suoglu Y, Gözeler M, Demir D, Dalay N. N-acetyltransferase 1 and 2 gene sequence variants and risk of head and neck cancer. *Mol Biol Rep.* 2010; 37: 3217-3226.
- Dumont P, Leu JI, Della Pietra AC, George DL, Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nature Genet.* 2003; 33: 357-365.
- Economopoulos KP, Sergentanis TN. GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and colorectal cancer risk: a comprehensive meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2010; 46: 1617-1631.
- Eisenberg DT, Campbell B, Mackillop J, Lum JK, Wilson DS. Season of birth and dopamine receptor gene associations with impulsivity, sensation seeking and reproductive behaviors. *PLoS One* 2007;2(11):e1216.
- Ember I, Kiss I, Gombkötő G, Müller E, Szeremi M. Oncogene and suppressor gene expression as a biomarker for ethylene oxide exposure. *Cancer Detect Prev.* 1998; 22: 241-245.
- Ember I, Kiss I, Málovics I. Oncogene and tumour suppressor gene expression changes in persons exposed to ethylene oxide. *Eur J Cancer Prev.* 1998; 7: 167-168.
- Evans DA. N acetyltransferase. In: Kalow W. ed *Pharmacogenetics of Drug Metabolism*. New York, Pergamon Press. 1992; 95 178.
- Fang JL, Lazarus P. Correlation between the UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1) TATAA box polymorphism and carcinogen detoxification phenotype: significantly decreased glucuronidating activity against benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol(--) in liver microsomes from subjects with the UGT1A1*28 variant. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13: 102-109.
- Farshid M, Tabor E. Expression of oncogenes and tumor suppressor genes in human hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma cell lines. *J Med Virol.* 1992; 38: 235-239.
- Fernandez PC, Frank SR, Wang L, Schroeder M, Liu S, Greene J, Cocito A, Amati B. Genomic targets of the human c-Myc protein. *Genes Dev.* 2003; 17: 1115-1129.
- Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res.* 2009; 19: 92-105.

- Funaki NO, Tanaka J, Kasamatsu T, Ohshio G, Hosogami R, Okino T, Imamura M. Identification of carcinoembryonic antigen mRNA in circulating peripheral blood of pancreatic carcinoma and gastric carcinoma patients. *Life Sci.* 1996; 59: 2187-2199.
- Gao LB, Pan XM, Li LJ, Liang WB, Bai P, Rao L, Su XW, Wang T, Zhou B, Wei YG, Zhang L. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to risk of cervical neoplasia: an evidence-based meta-analysis. *PLoS One.* 2011; 6: e20157.
- Gebhardt AC, Lucas D, Menez JF, Seitz HK. Chlormethiazole inhibition of cytochrome P450 2E1 as assessed by chlorzoxazone hydroxylation in humans. *Hepatology.* 1997; 26: 957-961.
- Gsur A, Zidek T, Schnattinger K, Feik E, Haidinger G, Hollaus P, Mohn-Staudner A, Armbruster C, Madersbacher S, Schatzl G, Trieb K, Vutuc C, Micksche M. Association of microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and lung cancer risk. *Br J Cancer.* 2003; 89: 702-706.
- Gunes A, Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics.* 2008; 9: 625-637.
- Guo H, Wang K, Xiong G, Hu H, Wang D, Xu X, Guan X, Yang K, Bai Y. A functional variant in microRNA-146a is associated with risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han. *Fam Cancer.* 2010; 9: 599-603
- Gyöngyi Z, Ember I, Kiss I, Varga C. Changes in expression of onco- and suppressor genes in peripheral leukocytes-as potential biomarkers of chemical carcinogenesis. *Anticancer Res.* 2001; 21: 3377-3380.
- Hamajima N, Saito T, Matsuo K, Kozaki K, Takahashi T, Tajima K. Polymerase chain reaction with confronting two-pair primers for polymorphism genotyping. *Jpn J Cancer Res.* 2000; 91: 865-868.
- He JR, Qin H, Ren ZF, Cui C, Zhang Y, Ranatunga D, Zeng YX, Jia WH. MMP-9 expression in peripheral blood mononuclear cells and the association with clinicopathological features and prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49: 705-710.
- Hebels DG, Jennen DG, van Herwijnen MH, Moonen EJ, Pedersen M, Knudsen LE, Kleinjans JC, de Kok TM. Whole-genome gene expression modifications associated with nitrosamine exposure and micronucleus frequency in human blood cells. *Mutagenesis.* 2011; 26: 753-761.
- Herkert B, Eilers M. Transcriptional repression: the dark side of myc. *Genes Cancer.* 2010; 1: 580-586.
- Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Karjalainen A, Anttila S, Vainio H. Point-mutational MspI and Ile-Val polymorphisms closely linked in the CYP1A1 gene: lack of association with susceptibility to lung cancer in a Finnish study population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1992; 1: 485-489.
- Hishida A, Matsuo K, Goto Y, Naito M, Wakai Y, Tajima K, Hamajima N. Combined Effect of miR-146a rs2910164 G/C Polymorphism and Toll-like Receptor 4 +3725 G/C Polymorphism on the Risk of Severe Gastric Atrophy in Japanese. *Dig Dis Sci.* 2011; 56: 1131-1137.
- Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, Zeng Y, Miao R, Jin G, Ma H, Chen Y, Shen H. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest.* 2008; 118: 2600-2608.
- Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105: 7269-7274.
- Jeronimo C, Varzim G, Henrique R, Oliveira J, Bento MJ, Silva C, Lopes C, Sidransky D. I105V Polymorphism and promoter methylation of the GSTP1 gene in prostate adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 445-450.
- Jiang Z, Li C, Wang X. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and bladder cancer risk: a meta-analysis involving 33 studies. *Exp Biol Med.* 2011; 236: 723-728.
- Juhász K, Gombos K, Szirmai M, Göcze K, Wolher V, Révész P, Magda I, Sebestyén A, Németh A, Ember I. Very early effect of DMBA and MNU on microRNA expression. *In Vivo.* 2013; 27: 113-117.
- Juhász K, Gombos K, Szirmai M, Révész P, Magda I, Gocze K, Ember I. DMBA induces deregulation of miRNA expression of let-7, miR-21 and miR-146a in CBA/CA mice. *In Vivo.* 2012; 26: 113-117.

Jussila T, Mäkinen M, Stenbäck F. Oncogenes and growth factors as indicators of carcinogen exposure. *Exp Toxicol Pathol.* 1996; 48: 145-153.

Kawajiri K, Fujii-Kuriyama Y. P450 and human cancer. *Jpn. J. Cancer Res.* 1991; 82: 1325-1335.

Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Watanabe J, Hayashi S.-I. The CYP1A1 gene and cancer susceptibility. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1993; 14: 77-87.

Keller A, Leidinger P, Borries A, Wendschlag A, Wucherpfennig F, Scheffler M, Huwer H, Lenhof HP, Meese E. miRNAs in lung cancer - studying complex fingerprints in patient's blood cells by microarray experiments. *BMC Cancer.* 2009; 9: 353.

Kiyohara C, Yoshimasu K, Takayama K, Nakanishi Y. EPHX1 polymorphisms and the risk of lung cancer: a HuGE review. *Epidemiology.* 2006; 17: 89-99.

Knockaert L, Fromenty B, Robin MA. Mechanisms of mitochondrial targeting of cytochrome P450 2E1: physiopathological role in liver injury and obesity. *FEBS J.* 2011; 278: 4252-4260.

Kosaka M, Iwai SA, Nishina Y, Sumi T, Nishimune Y. c-myc and p53 gene expression in the differentiation of temperature-sensitive mutants of teratocarcinoma F9 cells. *Oncogene.* 1992; 7: 2455-2460.

Kumar V, Murthy AK, Suresh K. Glutathione S-transferase M1 and T1 Status and the Risk of Laryngeal Cancer: a Meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12: 2221-2226.

Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science.* 2001; 294: 853-858

Langevin SM, Ioannidis JP, Vineis P, Taioli E. Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens group (GSEC). Assessment of cumulative evidence for the association between glutathione S-transferase polymorphisms and lung cancer: application of the Venice interim guidelines. *Pharmacogenet Genomics.* 2010; 20: 586-597.

Lau NC, Lim le EP, Weinstein EG, Bartel VP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science.* 2001; 294: 858-862

Le Marchand L, Sivaraman L, Franke AA, Custer LJ, Wilkens LR, Lau AF, Cooney RV. Predictors of N-Acetyltransferase activity: Should caffeine phenotyping and NAT2 genotyping be used interchangeably in epidemiological studies? *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* 1996; 5: 449-455.

Lee HC, Kim JG, Chae YS, Sohn SK, Kang BW, Moon JH, Jeon SW, Lee MH, Lim KH, Park JY, Choi GS, Jun SH. Prognostic impact of microRNA-related gene polymorphisms on survival of patients with colorectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2010; 136: 1073-1078.

Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993; 75: 843-854.

Leidinger P, Keller A, Borries A, Huwer H, Rohling M, Huebers J, Lenhof HP, Meese E. Specific peripheral miRNA profiles for distinguishing lung cancer from COPD. *Lung Cancer.* 2011; 74: 41-47.

Li MJ, Wang WW, Chen SW, Shen Q, Min R. Radiation dose effect of DNA repair-related gene expression in mouse white blood cells. *Med Sci Monit.* 2011; 17: BR290-297.

Liang D, Meyer L, Chang DW, Lin J, Pu X, Ye Y, Gu J, Wu X, Lu K. Genetic variants in microRNA biosynthesis pathways and binding sites modify ovarian cancer risk, survival, and treatment response. *Cancer Res.* 2010; 70: 9765-9776.

Liao JD, Adsay NV, Khannani F, Grignon D, Thakur A, Sarkar FH. Histological complexities of pancreatic lesions from transgenic mouse models are consistent with biological and morphological heterogeneity of human pancreatic cancer. *Histol Histopathol.* 2007; 22: 661-676.

Lin DX, Tang YM, Peng Q, Lu SX, Ambrosone CB, Kadlubar FF. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, P1, and M1 and cytochrome P450 2E1. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7: 1013-1018.

Lozano G, Levine AJ. Tissue-specific expression of p53 in transgenic mice is regulated by intron sequences. *Mol Carcinog.* 1991; 4: 3-9.

- Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CE, Bell DA. XPC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Res.* 1999; 59:2557-2561
- McNeil CM, Sergio CM, Anderson LR, Inman CK, Eggleton SA, Murphy NC, Millar EK, Crea P, Kench JG, Alles MC, Gardiner-Garden M, Ormandy CJ, Butt AJ, Henshall SM, Musgrove EA, Sutherland RL. c-Myc overexpression and endocrine resistance in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006; 102: e147-155.
- Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res.* 2003; 1: 882-891.
- Mishra PJ, Bertino JR. MicroRNA polymorphisms: the future of pharmacogenomics, molecular epidemiology and individualized medicine. *Pharmacogenomics.* 2009; 10: 399-416.
- Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review. *Prostate.* 2009; 69: 662-688.
- Mo Z, Gao Y, Cao Y, Gao F, Jian L. An updating meta-analysis of the GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and prostate cancer: a HuGE review. *Prostate.* 2009; 69: 662-688.
- Murata M, Tagawa M, Kimura M, Kimura H, Watanabe S, Saisho H. Analysis of a germ line polymorphism of the p53 gene in lung cancer patients; discrete results with smoking history. *Carcinogenesis.* 1996; 17: 261-264.
- Nawa A, Nishiyama Y, Kikkawa F, Kawai M, Mano H, Goto S, Suganuma N, Tomoda Y, Nakashima N. Detection of human papillomaviruses from histologically normal lymph nodes of Japanese cervical cancer patients by nested polymerase chain-reaction assay. *Int J Cancer.* 1993; 53: 932-937.
- Noble EP, Syndulko K, Fitch RJ, Ritchie T, Bohlman MC, Guth P, Sheridan PJ, Montgomery A, Heinzmann C, Sparkes RS, et al. D2 dopamine receptor TaqI A alleles in medically ill alcoholic and nonalcoholic patients. *Alcohol Alcohol.* 1994 Nov;29(6):729-44.
- Noble EP. D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 2003;116B:103–125.
- Oesch F. Mammalian epoxide hydrolases: inducible enzymes catalysing the inactivation of carcinogenic and cytotoxic metabolites derived from aromatic and olefinic compounds *Xenobiotica.*1973; 3: 305-340.
- Okkels H, Sigsgaard T, Wolf H, Autrup H. Arylamine Nacetyltransferase 1 (NAT1) and 2 (NAT2) polymorphisms in susceptibility to bladder cancer: the influence of smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997; 6: 225-231.
- Osman I, Bajorin DF, Sun TT, Zhong H, Douglas D, Scattergood J, Zheng R, Han M, Marshall KW, Liew CC. Novel blood biomarkers of human urinary bladder cancer. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 3374-3380.
- Persson I, Johansson I, Lou YC, Yue QY, Duan LS, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolizing enzymes among Chinese lung cancer patients. *Int J Cancer.* 1999; 81: 325-329.
- Pool-Zobel BL, Bub A, Liegibel UM, Treptow van Lishaut S, Rechkemmer G. Mechanism by which vegetable consumption reduces genetic damage in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7: 891-899.
- Potter JD, Bigler J, Fosdick L, Bostick RM, Kampman E, Chen C, Louis TA, Grambsch P. Colorectal adenomatous and hyperplastic polyps: smoking and N acetyltransferase 2 polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999; 8: 69-75.
- Qiu LX, He J, Wang MY, Zhang RX, Shi TY, Zhu ML, Mao C, Sun S, Lv FF, Zheng CL, Zhu XD. The association between common genetic variant of microRNA-146a and cancer susceptibility. *Cytokine.* 2011; 56: 695-698.
- Rivenbark AG, Coleman WB. Field cancerization in mammary carcinogenesis - Implications for prevention and treatment of breast cancer. *Exp Mol Pathol.* 2012; 93: 391-398.
- Rochlitz CF, Herrmann R, de Kant E. Overexpression and amplification of c-myc during progression of human colorectal cancer. *Oncology.* 1996; 53: 448-454.
- Sachse C, Bhambra U, Smith G, Lightfoot TJ, Barrett JH, Scollay J, Garner RC, Boobis AR, Wolf CR, Gooderham NJ. Polymorphisms in the cytochrome P450 CYP1A2 gene (CYP1A2) in colorectal cancer patients and controls: allele frequencies, linkage disequilibrium and influence on caffeine metabolism. *Br J Clin Pharmacol.* 2003; 55: 68-76.

- Saini D, Shelke S, Mani Vannan A, Toprani S, Jain V, Das B, Seshadri M. Transcription profile of DNA damage response genes at G(0) lymphocytes exposed to gamma radiation. *Mol Cell Biochem.* 2012; PMID:22258824
- Seidegard J, Ekstrom G. The role of human glutathione transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics *Environ Health Perspect.* 1997; 105: 791-799
- Sergentanis TN, Economopoulos KP. GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 121: 195-202.
- Sharma P, Sahni NS, Tibshirani R, Skaane P, Urdal P, Berghagen H, Jensen M, Kristiansen L, Moen C, Sharma P, Zaka A, Arnes J, Sauer T, Akslen LA, Schlichting E, Børresen-Dale AL, Lønneborg A. Early detection of breast cancer based on gene-expression patterns in peripheral blood cells. *Breast Cancer Res.* 2005; 7: R634-644.
- Showe MK, Vachani A, Kossenkova AV, Yousef M, Nichols C, Nikonova EV, Chang C, Kucharczuk J, Tran B, Wakeam E, Yie TA, Speicher D, Rom WN, Albelda S, Showe LC. Gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells can distinguish patients with non-small cell lung cancer from patients with nonmalignant lung disease. *Cancer Res.* 2009; 69: 9202-9210.
- Showe MK, Vachani A, Kossenkova AV, Yousef M, Nichols C, Nikonova EV, Chang C, Kucharczuk J, Tran B, Wakeam E, Yie TA, Speicher D, Rom WN, Albelda S, Showe LC. Gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells can distinguish patients with non-small cell lung cancer from patients with nonmalignant lung disease. *Cancer Res.* 2009; 69: 9202-9210.
- Siddique M, Sabapathy K. Trp53-dependent DNA repair is affected by the codon 72 polymorphism. *Oncogene.* 2006; 25: 3489-3500.
- Sims P. The metabolic activation of chemical carcinogens. *Br Med Bull.* 1980; 36: 11-18
- Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer.* 1953; 6: 963-968.
- Smith K, Dalton S. Myc transcription factors: key regulators behind establishment and maintenance of pluripotency. *Regen Med.* 2010; 5: 947-959.
- Sorensen M, Autrup H, Olsen A, Tjønneland A, Overvad K, Raaschou-Nielsen O. Prospective study of NAT1 and NAT2 polymorphisms, tobacco smoking and meat consumption and risk of colorectal cancer. *Cancer Lett.* 2008; 266: 186-193.
- Spurdle AB, Fahey P, Chen X, McGuffog L; kConFab, Easton D, Peock S, Cook M. Pooled analysis indicates that the GSTT1 deletion, GSTM1 deletion, and GSTP1 Ile105Val polymorphisms do not modify breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122: 281-285.
- Stevens GL, Scheer WD, Levine EA. Detection of tyrosinase mRNA from the blood of melanoma patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5: 293-296.
- Sullivan A, Syed N, Gasco M, Bergamaschi D, Trigiante G, Attard M, Hiller L, Farrell PJ, Smith P, Lu X, Crook T. Polymorphism in wild-type p53 modulates response to chemotherapy in vitro and in vivo. *Oncogene.* 2004; 23: 3328-3337.
- Szanyi I, Bauer M, Gerlinger I, Járαι T, Gobel G, Lujber L, Szabadi E, Fehér K, Émber A, Ember I, Kiss I. Changes in expression of oncogenes and TP53 tumour suppressor gene as biomarkers in head and neck cancers. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2011; 268: 1041-1046.
- Szanyi I, Lujber L, Gerlinger I, Pytel J, Bauer M, Csejtei A, Szele E, Gombos K, Kiss I, Seredenin S, Yarkova M, Ember I. In vivo effects of afobazole (2-mercaptobenzimidazole derivative) on the 7,12-dimethylbenz [alpha]anthracene-induced oncogene and suppressor gene expression. *In Vivo.* 2007; 21: 1059-1063.
- Szele E, Gombos K, Juhász K, Wohler V, Kovács A, Ember I. Effects of purified glycerol from biodiesel on miRNAs compared to the expression profile of selected mRNAs in Balb/c mice. *In Vivo.* 2013; 27: 107-111.
- Tebbs RS, Flannery ML, Meneses JJ, Hartmann A, Tucker JD, Thompson LH, Cleaver JE, Pedersen RA. Requirement for the Xrcc1 DNA base excision repair gene during early mouse development. *Dev. Biol.* 1999; 208: 513-529.

- Templin T, Paul S, Amundson SA, Young EF, Barker CA, Wolden SL, Smilenov LB. Radiation-induced micro-RNA expression changes in peripheral blood cells of radiotherapy patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011; 80: 549-557.
- Thompson LH, Brookman KW, Dillehay LE, Carrano AV, Mazrimas JA, Mooney CL, Minkler JL. A CHO-cell strain having hypersensitivity to mutagens, a defect in DNA strand-break repair, and an extraordinary baseline frequency of sister-chromatid exchange. *Mutat. Res.* 1982; 95: 427-440.
- To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Pique E, Borrego N, Corbella J. Lung cancer susceptibility in relation to combined polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase P1. *Cancer Lett.* 2001; 173: 155-162.
- Twine NC, Stover JA, Marshall B, Dukart G, Hidalgo M, Stadler W, Logan T, Dutcher J, Hudes G, Dorner AJ, Slonim DK, Trepicchio WL, Burczynski ME. Disease-associated expression profiles in peripheral blood mononuclear cells from patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 2003; 63: 6069-6075.
- Twine NC, Stover JA, Marshall B, Dukart G, Hidalgo M, Stadler W, Logan T, Dutcher J, Hudes G, Dorner AJ, Slonim DK, Trepicchio WL, Burczynski ME. Disease-associated expression profiles in peripheral blood mononuclear cells from patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 2003; 63: 6069-6075.
- van Leeuwen DM, Gottschalk RW, Schoeters G, van Larebeke NA, Nelen V, Baeyens WF, Kleinjans JC, van Delft JH. Transcriptome analysis in peripheral blood of humans exposed to environmental carcinogens: a promising new biomarker in environmental health studies. *Environ Health Perspect.* 2008; 116: 1519-1525.
- Walker K, Ginsberg G, Hattis D, Johns DO, Guyton KZ, Sonawane B. Genetic polymorphism in N-Acetyltransferase (NAT): Population distribution of NAT1 and NAT2 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009; 12: 440-472.
- Wang J, Bi J, Liu X, Li K, Di J, Wang B. Has-miR-146a polymorphism (rs2910164) and cancer risk: a meta-analysis of 19 case-control studies. *Mol Biol Rep.* 2011; PMID: 21947843
- Yan H, Lu D, Xu L, Xie Q, Dong X, Wu Y. Increased expression level of Olfactomedin4 in peripheral blood mononuclear cells of pancreatic adenocarcinoma patients. *Hepatogastroenterology.* 2011; 58: 1354-1359.
- Yin L, Pu Y, Liu TY, Tung YH, Chen KW, Lin P. Genetic polymorphisms of NAD(P)H quinone oxidoreductase, CYP1A1 and microsomal epoxide hydrolase and lung cancer risk in Nanjing, China. *Lung Cancer.* 2001; 33: 133-141.
- Yin L, Pu Y, Liu TY, Tung YH, Chen KW, Lin P. Genetic polymorphisms of NAD(P)H quinone oxidoreductase, CYP1A1 and microsomal epoxide hydrolase and lung cancer risk in Nanjing, China. *Lung Cancer.* 2001; 33: 133-141.
- Zhang ZJ, Hao K, Shi R, Zhao G, Jiang GX, Song Y, Xu X, Ma J. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and glutathione S-transferase T1 (GSTT1) null polymorphisms, smoking, and their interaction in oral cancer: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2011; 173: 847-857.
- Zhang ZJ, Hao K, Shi R, Zhao G, Jiang GX, Song Y, Xu X, Ma J. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and glutathione S-transferase T1 (GSTT1) null polymorphisms, smoking, and their interaction in oral cancer: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2011; 173: 847-857.
- Zhou ZQ, Walter CA. Expression of the DNA repair gene XRCC1 in baboon tissues. *Mutat. Res.* 1995; 348: 111-116.
- Zhu Y, He Q, Wang J, Pan HF. The association between GSTM1 polymorphism and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2012 ;39: 685-691.
- Zimniak P, Nanduri B, Pikula S, Bendorowicz-Pikuła J, Singhal SS, Srivastava SK, Awasthi S, Awasthi YC. Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position

A disszertációban felhasználott, a PhD értekezésben nem szereplő publikációk

Nemzetközi folyóiratban

1. I Ember, Zs Pusztai, Z Gyongyi, **I Kiss**. 1-Nitropyrene induces elevated expression of oncogenes and tumor suppressor genes 24 hours after treatment in CBA/Ca mice. *Anticancer Research* 20: pp. 1563-1566. (2000). IF: 1.331 Független idéző: 9
2. **I Kiss**, J Sándor, I Ember. Regional Differences of Cancer Mortality in Hungary. *Central European Journal Of Occupational And Environmental Medicine* 8:(2-3) pp. 235-244. (2002).
3. **I Kiss**, Á Németh, B Bogner, G Pajkos, Zs. Orsós, J. Sándor, A Csejtej, Zs Faluhelyi, I Rodler, I Ember. Polymorphisms of glutathione-s-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer. *Anticancer Research* 24: pp. 3965-3970. (2004). IF: 1.395 Független idéző: 36
4. I Ember, Á Németh, Cs Varga, P Perjési, I Arany, K Fehér, K Németh, Zs Dombi, **I Kiss**. Molecular epidemiologic markers: A new concept in the preventive medicine with special attention to the prevention of cancer. *Central European Journal Of Public Health* 11:(1) pp. 3-15. (2005).
5. **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 polymorphisms of metabolizing enzymes (CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 2E1, mEH) and occurrence of colorectal cancer in Hungary. *Anticancer Research* 27: pp. 2931-2937. (2007). IF: 1.414 Független idéző: 21
6. A Csejtej, A Tibold, Zs Varga, K Koltai, Á Ember, Zs Orsós, G Fehér, ÖP Horvath, I Ember, **I Kiss**. GSTM, GSTT and p53 polymorphisms as modifiers of clinical outcome in colorectal cancer. *Anticancer Research* 28:(3B) pp. 1917-1922. (2008). IF: 1.390 Független idéző: 19
7. A Csejtej, A Tibold, K Koltai, Zs Varga, I Szanyi, Gy Göbel, I Prantner, D Steffler, G Fehér, A De Blasio, i Ember, **I Kiss**. Association between XRCC 1 polymorphisms and head and neck cancer in Hungarian population. *Anticancer Research* 29:(10) pp. 4169-4173. (2009). IF: 1.428 Független idéző: 7
8. F Budán, T Varjas, G Nowrasteh, I Prantner, Zs Varga, Á Ember, J Cseh, K Gombos, E Pázsit, Gy Göbel, M Bauer, T Gracza, I Arany, P Perjési, I Ember, **I Kiss**. Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by chemical carcinogens (DMBA, MNU). *In Vivo* 23:(4) pp. 591-598. (2009). IF: 1.171 Független idéző: 1
9. J Cseh, E Pázsit, Z Orsós, E Marek, A Huszar, S Balogh, I Ember, **I Kiss**. Effect of Glutathione-S-Transferase M1 and T1 Allelic Polymorphisms on HPV-induced Cervical Precancer Formation. *Anticancer Research* 31:(9) pp. 3051-3055. (2011). IF: 1.725
10. Á Ember, F Budán, G Nowrasteh, T Varjas, I Prantner, Gy Göbel, 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* 16:(2) pp. 99-104. (2011). IF: 0.531
11. **I Kiss**, Zs Orsós, K Gombos, B Bogner, A Tibold, A Csejtej, I Szanyi, Zs Varga, G Rébék-Nagy, I Ember. Interaction between allelic polymorphisms in the modification of the risk of colorectal cancer in the Hungarian population. *European Journal Of Oncology* 16:(4) pp. 203-210. (2011). IF: 0.531
12. I Szanyi, M Bauer, I Gerlinger, T Járai, G Göbel, L Lujber, E Szabadi, K Fehér, A Ember, I Ember, **I Kiss**. Changes in expression of oncogenes and TP53 tumour suppressor gene as biomarkers in head and neck cancers. *European Archives Of Oto-Rhino-Laryngology* 268:(7) pp. 1041-1046. (2011). IF: 1.287
13. J Cseh, Zs Orsós, E Pázsit, E Marek, A Huszár, I Ember, **I Kiss**. Effect of DRD2/ANKK1 TaqIA allelic polymorphism on the risk and prognosis of cervical precancer and cancer. *European Medical, Health And Pharmaceutical Journal* 4: pp. 25-29. (2012).

14. I Szanyi, G Rath, P Moricz, K Schlegel, P Revész, I Gerlinger, Z Orsos, I Ember, **I Kiss**. Effects of cytochrome P450 1A1 and uridine-diphosphate-glucuronosyltransferase 1A1 allelic polymorphisms on the risk of development and the prognosis of head and neck cancers. *European Journal Of Cancer Prevention* 21:(6) pp. 560-568. (2012). IF: 2.130*
15. 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 Research* 33:(1) pp. 341-346. (2013). IF: 1.725**

Hazai folyóiratban

1. Sándor J., Búcs G., Szücs M., Brázay L., **Kiss I.**, Ember I.: Méhnyakrákos halálozás területi különbségei a Dél-Dunántúli régióban. *Népegészségügy*. 2000. 81. (4): 16-19.
2. Sándor J., Németh Á., **Kiss I.**, Kvarda A., Bujdosó L., Ember I.: Kistérségek halálozási viszonyainak változása. *Egészségtudomány*. 2003. 47: 29-44.
3. Ember I., **Kiss I.**, Sándor J., Fehér K., Németh K., Lukács P.: Korai biomarkerek használata a prevencióban. *Lege Artis Medicinae* 2003. 13.évf. 7.szám 547-554.
4. Ember I., **Kiss I.**, Sándor J., Varga Cs., Gyöngyi Z., Németh K., Fehér K., Lukács P., Dombi Zs.: A daganatok és a daganatmegelőző állapotok molekuláris epidemiológiája. *Orvosi Hetilap*. 2004. 145 (10): 507-514.
5. **Kiss I.**, Béres J., Orsós Zs., Sándor J., Ember I.: Daganatok iránti egyéni érzékenységet befolyásoló allélpolimorfizmusok vizsgálata magyarországi roma populációban. *Magyar Epidemiológia*. 2004. I. 1: 69-74.
6. **Kiss I.**, Sándor J., Nagymajtényi L., Ember I.: A főbb daganatos betegségek által okozott halálozások alakulása Magyarországon. *Magyar Epidemiológia*. 2005. II. 1: 37-50.
7. Budán F., Varjas T., Nowrasteh G., De Blasio A., Prantner I., Gombos K., Varga Zs., Cseh J., Gőbel Gy., Polyák É., Perjési P., Ember I., **Kiss I.**: Kémiai karcinogének korai hatása a c-myc, Ha-ras és p53 gének expressziójára. *Magyar Epidemiológia*, V. évf. 3-4 szám: 201-212, 2008.
8. Fehér K., Prantner I., **Kiss I.**, Varjas T., Gyöngyi Z., Perjési P., Németh K., Nowrasteh G., Dombi Zs., Ember I.: Molekuláris epidemiológiai biomarkerek a preventív és prediktív medicinában, különös tekintettel a daganatkemoprevencióra. *Orvostudományi értesítő*, 81(3):163-168, 2008
9. Ember Á., Budán F., Nowrasteh G., Varjas T., Gőbel Gy., Horváth Ö. P., Illényi L., Cseh J., Perjési P., Gergely P., Ember I., **Kiss I.**: Molekuláris biomarkerek alkalmazása kolorektális karcinómás betegekben, a műtéti hatás monitorozása követéses vizsgálattal. *Egészségtudomány*, 53(2):50-60, 2009.
10. Csejtej A., Tibold A., Ember I., **Kiss I.**: Allélpolimorfizmusok vizsgálata colorectalis és fej-nyak táji daganatos betegekben. *Orvosi Hetilap*, 150(33): 1545-1549, 2009.
11. Bérczi B, **Kiss I.**, Ember I.: A mikro-RNS polimorfizmus és a daganatos betegségek kockázatbecslése. *Magyar Epidemiológia*. 2011. 8:(2): 97-107.
12. Orsós Zs., Szanyi I., Ember I., **Kiss I.**: A Mir146A RS2910164 G/C allélpolimorfizmus hatása a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatára. *Magyar Epidemiológia*, VIII. évf. 4. szám: 201-206., 2011.

Köszönetnyilvánítás

Hálás vagyok Morava Endre Professzor Úrnak, aki Intézetébe hívott és megismertette velem a közegészségstanban rejlő szépségeket és lehetőségeket.

Köszönetemet szeretném kifejezni Ember István Professzor Úrnak, aki az Intézet igazgatójaként 20 éven keresztül támogatta munkámat.

Köszönöm intézeti kollégáimnak és munkatársaimnak a segítségét, támogatását és munkáját, Különösen Kiss Zsuzsanna és Déri Tiborné folyamatos és kitartó erőfeszítése kötelez hálára.

Hálás vagyok a klinikus kollégáknak, mivel segítőkész együttműködésük nélkül munkám nagyobb része nem valósulhatott volna meg.

Családom türelme, szeretete segített át a nehéz időszakokon, amit nem tudok eléggé megköszönni.