

dc_324_11

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Génexpressziók és allélpolimorfizmusok, mint a daganatmegelőzés molekuláris epidemiológiai biomarkerei

Dr. Kiss István

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Népegészségtani Intézet



Pécs, 2013

dc_324_11

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
BEVEZETÉS	5
METABOLIZÁLÓ ENZIMEK	13
X-RAY REPAIR CROSS COMPLEMENTING 1 (XRCC1) DNS-REPARÁCIÓS ENZIM	26
P53 TUMORSZUPPRESSZOR GÉN	29
MIR 146-A	32
SZEMÉLYISÉG, PSZICHÉS KOCKÁZATI TÉNYEZŐK	34
GÉNEXPRESSZIÓ-VÁLTOZÁSOK, MINT BIOMARKEREK	37
CÉLKITŰZÉSEK	40
ANYAG ÉS MÓDSZER	42
GÉNEXPRESSZIÓ VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA	42
GENOTIPIZÁLÁS	43
HPV-VIZSGÁLAT	49
VIZSGÁLATI ELRENDEZÉS, BETEGEK ÉS KONTROLLCSOPORTOK	50
STATISZTIKAI MÓDSZEREK	56
EREDMÉNYEK	57
GÉNEXPRESSZIÓ-VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	57
ALLÉLPOLIMORFIZMUS-VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	64
FEJ-NYAKI DAGANATOKRA VONATKOZÓ EREDMÉNYEK	64
KOLOREKTÁLIS DAGANATOKRA VONATKOZÓ EREDMÉNYEK	80
MÉHNYAK-DAGANATOKRA VONATKOZÓ EREDMÉNYEK	95
A HAZAI ROMA POPULÁCIÓRA VONATKOZÓ EREDMÉNYEK	101
MEGBESZÉLÉS	105
GÉNEXPRESSZIÓ-VÁLTOZÁSOKKAL KAPCSOLATOS ÁLLATKÍSÉRLETEK EREDMÉNYEI	105
A GENETIKAI POLIMORFIZMUSOKRA VONATKOZÓ VIZSGÁLATOK	112
GYAKORLATI ALKALMAZÁS, TÁVLATOK	137
ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA	139

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	141
IRODALOMJEGYZÉK	142
A DISSZERTÁCIÓBAN FELHASZNÁLT, A PHD ÉRTEKEZÉSBEN NEM SZEREPLŐ PUBLIKÁCIÓK	172

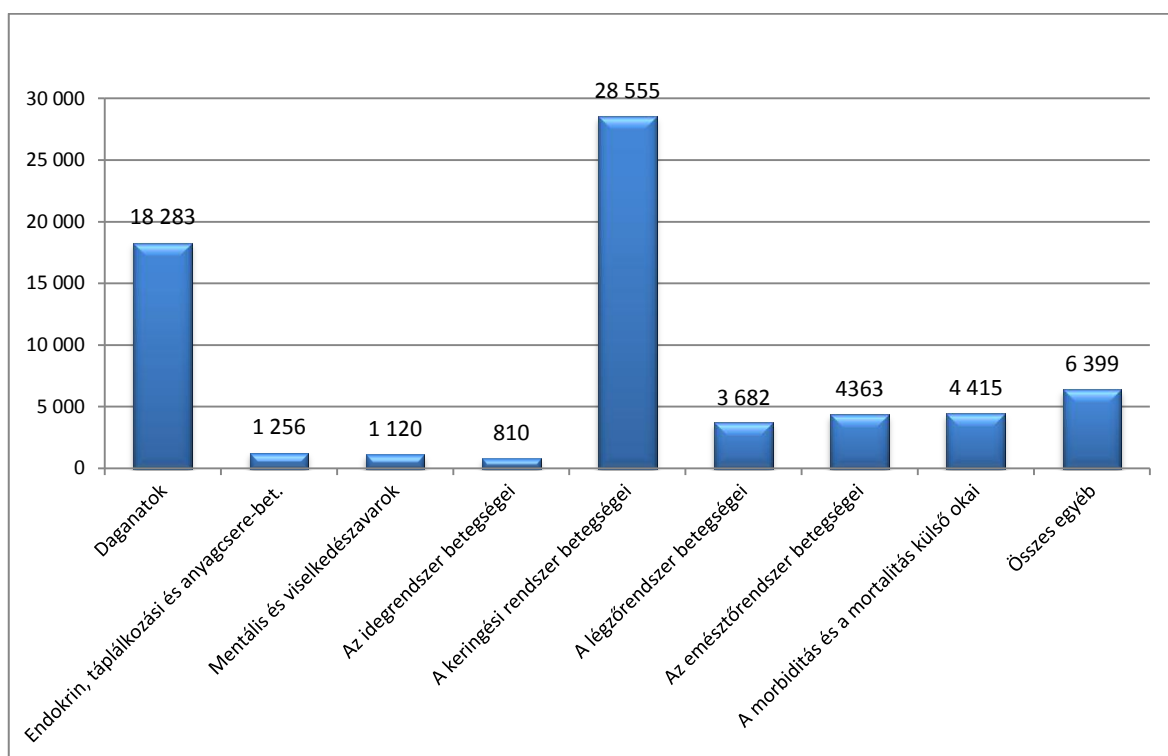
dc_324_11

Rövidítések jegyzéke

1-NP	1-nitropirén
ANKK1	Ankyrin repeat and kinase domain containing 1
AHH	Aril-hidrokarbon-hidroxiláz
BP	Benz[a]pirén
BRCA1	Breast Cancer 1
CYP1A1	Citokróm P450 1A1
CYP1A2	Citokróm P450 1A2
CYP2E1	Citokróm P450 2E1
DMBA	7,12-Dimetilbenz(a)antracén
EGFR	Epidermális növekedési faktor receptor
GSTM1	Glutation-S-transzferáz M1
GSTP1	Glutation-S-transzferáz P1
GSTT1	Glutation-S-transzferáz T1
IARC	International Agency for Research on Cancer
IRAK1	Interleukin-1 receptor asszociált kináz 1
KSH	Központi Statisztikai Hivatal
mEH v. EPHX1	Mikroszomális epoxi-hidroláz
MNU	Metilnitrozourea
NAT1, NAT2	N-acetiltranszferáz 1, N-acetiltranszferáz 2
NNK	4-(metilnitrózamino)-1-(3-piridil)-1-butanon
PARP	Poli(ADP-ribóz)polimeráz
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin
RFLP	Restrikciós fragment hosszúság-polimorfizmus
RISC	RNA induced silencing complex
SNP	Single nucleotide polymorphism
TGF-β	Transforming growth factor β
UGT1A1	Uridin-difoszfát-glukuroniltranszferáz 1A1
XRCC1	X-ray repair cross complementing 1

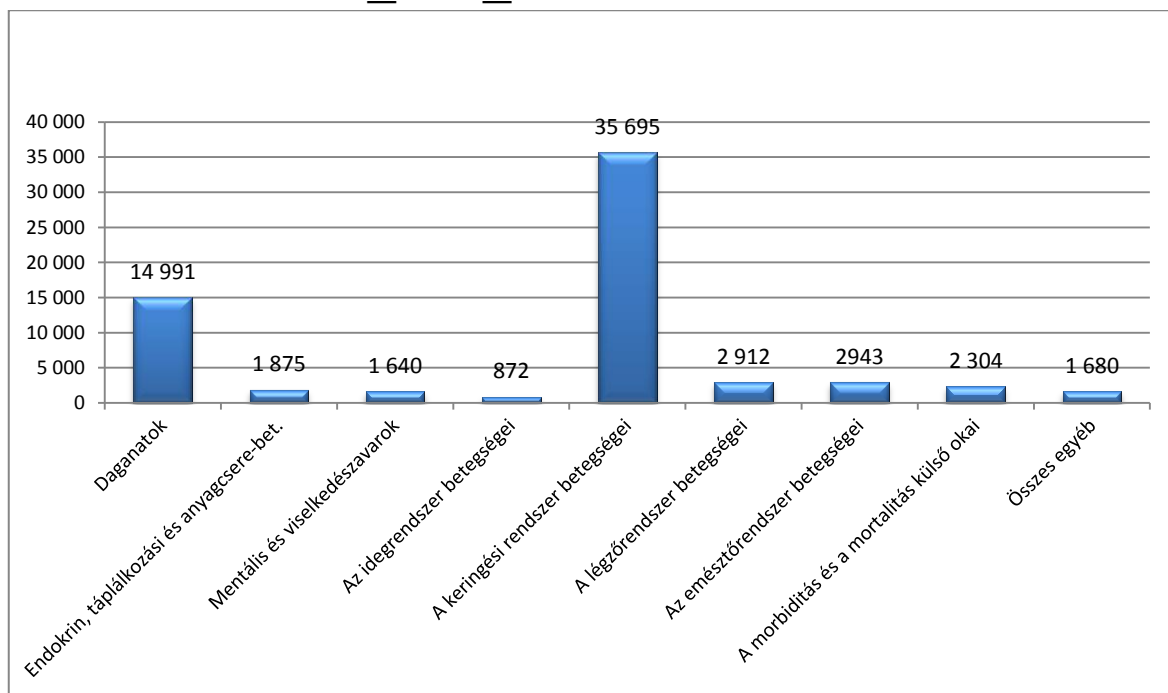
Bevezetés

A daganatok fejlett országokban a második legfontosabb halálokot képezik. Ez Magyarországon sincs másképp, a 2011-es halálozási adatok szerint az első helyen levő szív- és érrendszeri halálozások után a daganatos betegségek okozzák az összes halálozás 25%-át (1-2. ábra). Valójában a daganatok még ennél is fontosabb helyet foglalnak el a haláloki struktúrában, hiszen ha nemcsak a halálozások számát tekintjük, hanem azt is megvizsgáljuk, hogy milyen életkorban következik be az adott betegség által okozott haláleset, akkor már egész más lesz a helyzet. Így – vagyis a potenciálisan elvesztett éveket tekintve – hazánkban már a legfontosabb haláloki csoportot képezik a daganatos betegségek, ugyancsak hasonlóan a legtöbb fejlett országhoz (3. ábra). Ennek oka, hogy a szív- és érrendszeri betegségeknél a halálozás általában idősebb korban történik, míg a daganatok – bár itt is egyértelmű az életkor szerepe a mortalitás és morbiditás alakulásában – már fiatalabb korban is számottevően több halálesetért felelősek.

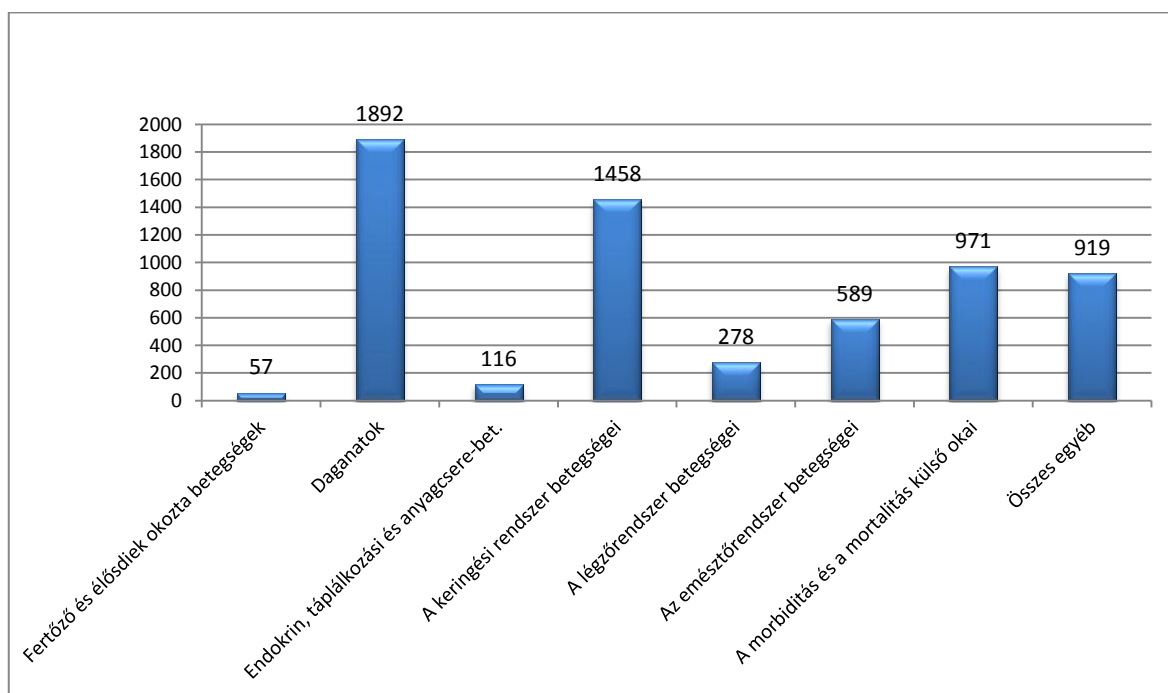


1. ábra: A főbb haláloki főcsoportok szerinti halálozások száma, férfiak, 2011, Magyarország
(Forrás: KSH, Demográfiai évkönyv, 2011)

dc_324_11



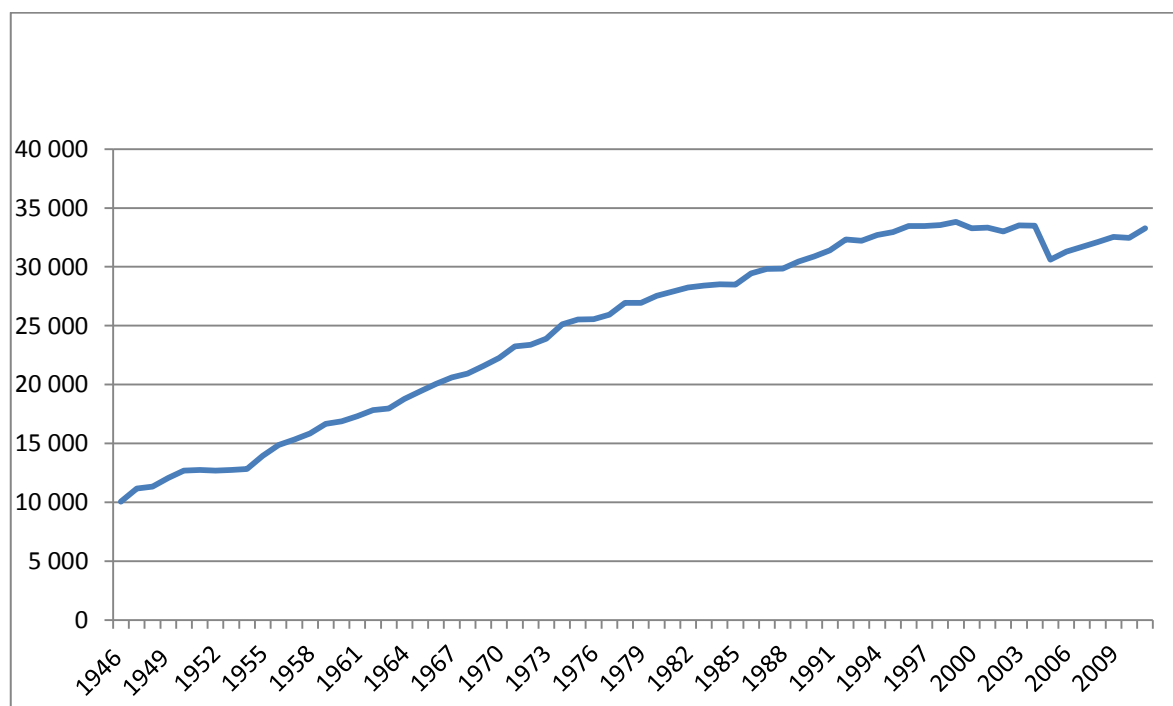
2. ábra: A főbb halálteki főcsoportok szerinti halálozások száma, nők, 2011, Magyarország (Forrás: KSH, Demográfiai évkönyv, 2011)



3. ábra: A százezer főre jutó elvesztett életévek a potenciális 70 évből halálokok szerint, mindkét nem együtt, 2011. (Forrás: KSH, Demográfiai évkönyv, 2011)

dc_324_11

Az utóbbi évtizedek halálozási adatait áttekintve láthatjuk, hogy igazán nagy áttörés nem következett be ezen a téren (4. ábra). Magyarországon a XX. század második felében a daganatos halálozás folyamatosan emelkedett. A trend látszólagos megtörése 2004/2005-nél a halálóki kódolás megváltozásának köszönhető, az elmúlt években továbbra is enyhe növekedést láthatunk. Remélhetőleg a nem túl távoli jövőben a trend megfordul, és csökkenni fog a mortalitás, de hogy erre mennyit kell várni, azt nehéz lenne megjósolni. Meg kell továbbá jegyezni, hogy abszolút számokat és nem életkor szerint standardizált adatokat láthatunk, vagyis a népesség előregedésének a hatása is tükröződik a grafikonon. Mindazonáltal az értekezésnek nem célja a hazai daganatepidemiológiai helyzet elemzése, az abszolút számok viszont a betegségek népegészségügyi jelentőségét jól érzékeltetik.

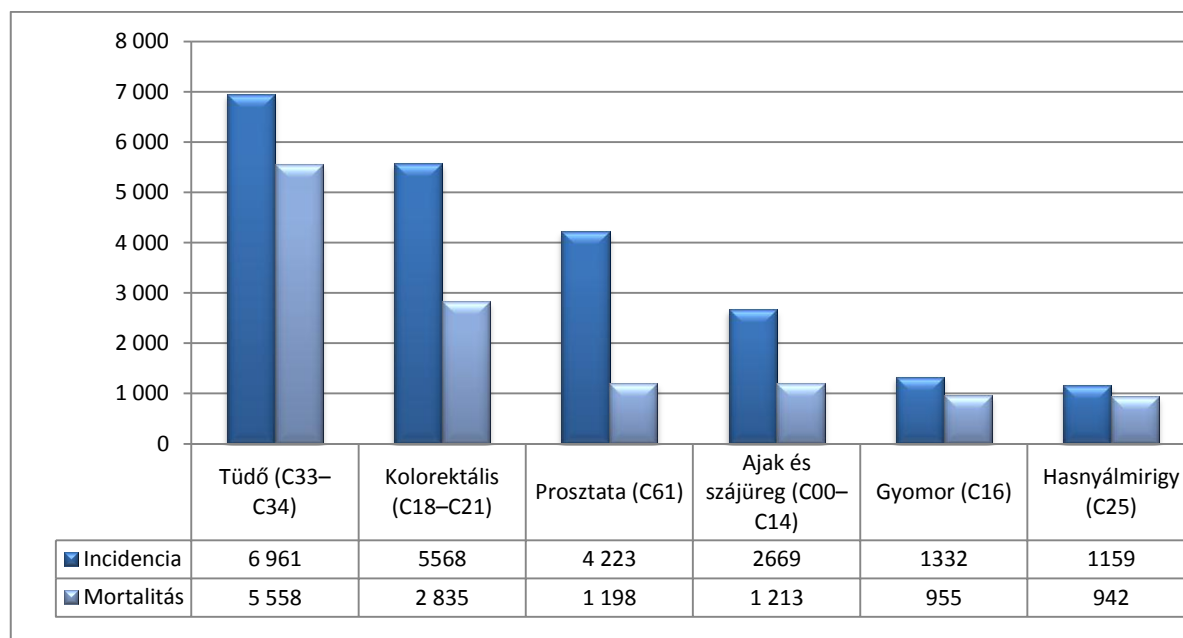


**4. ábra: Daganatok okozta halálozások Magyarországon, 1955-2011,
(Forrás: KSH, Demográfiai évkönyv, 2011)**

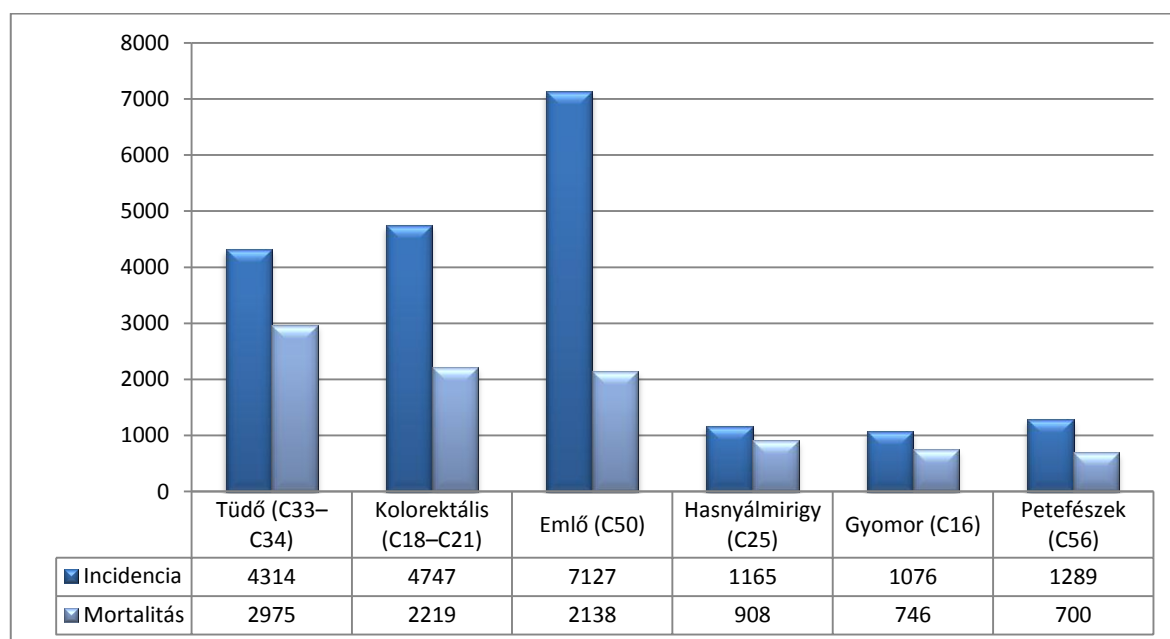
A daganatos halálozási struktúrán belül férfiaknál a tüdőrák képezi a vezető halálokot, második helyen a kolorektális daganatok állnak, míg harmadikként a prosztatarákot láthatjuk (5. ábra). Nőknél a vezető daganatos halálok a tüdőrák, ezt követi az emlőrák és harmadik a kolorektális daganatok csoportja (6. ábra). A kolorektális daganatok azért is szerepelnek a disszertáció alapjául szolgáló vizsgálatokban, mert a magyarországi daganatos halálozás jelentős részét adó, mindkét nemből kiemelten fontos daganatról van szó. A fej-nyaki régió tumorainak

dc_324_11

népegészségügyi jelentősége a 60-as évektől kezdődően nőtt meg, a szájüregi daganatos halálozások 30 év alatt mintegy hétszeresre emelkedtek. A cervixtumorok pedig annak ellenére, hogy szűrhető daganatok, még mindig ezer körüli éves incidenciával és majdnem 400 főt elérő éves halálozással illusztrálják a hazai egészségügy problémáit.



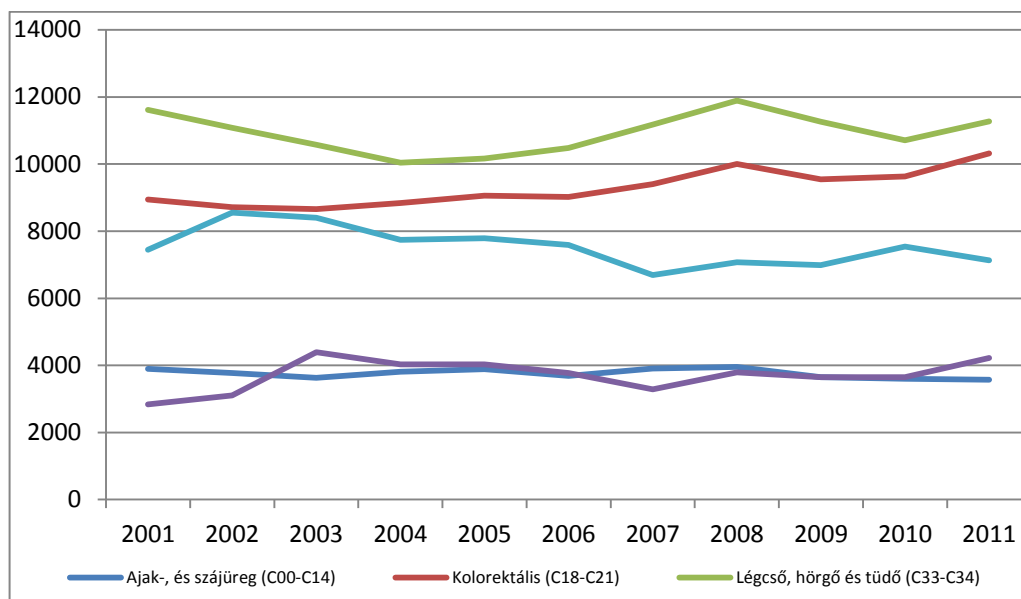
5. ábra: A vezető daganatos megbetegedések és halálokok, férfiak, 2011
(Forrás: KSH, Demográfiai évkönyv, 2011)



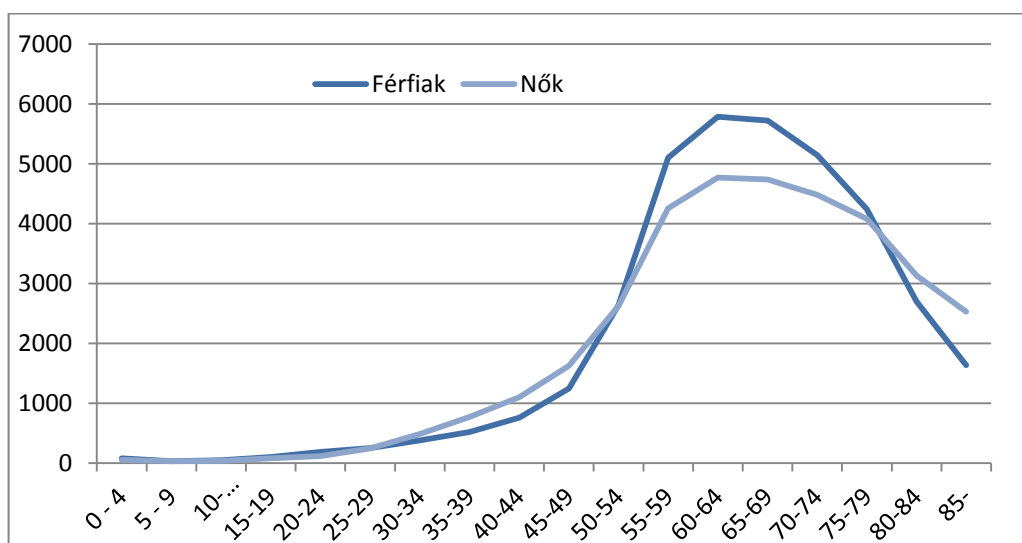
6. ábra: A vezető daganatos megbetegedések és halálokok, nők, 2011
(Forrás: KSH, Demográfiai évkönyv, 2011)

dc_324_11

A daganatokkal kapcsolatos trendek és tendenciák megítélésénél ugyancsak fontos a mortalitás mellett az új daganatos esetek számának vizsgálata. Szerencsére a Nemzeti Rákregiszter felállítása óta erre is van lehetőség, így még pontosabban megítélhetjük ezen betegségcsoport népegészségügyi jelentőségét. Sajnos a hazai adatok az új esetek számát illetően is kedvezőtlen képet mutatnak (7-8. ábra). Míg ugyanis az utóbbi időben a halálozás terén legalábbis csökkenő tendenciák kezdtek mutatkozni, az incidencia az utóbbi 10 évben ezzel ellentétben a legtöbb vezető daganattípusnál nem csökkent számottevően, sőt néhány esetben továbbra is növekedés volt tapasztalható.



7. ábra: Néhány fontosabb daganat incidenciája az elmúlt 10 évben hazánkban (mindkét nem)
(Forrás: Nemzeti Rákregiszter)

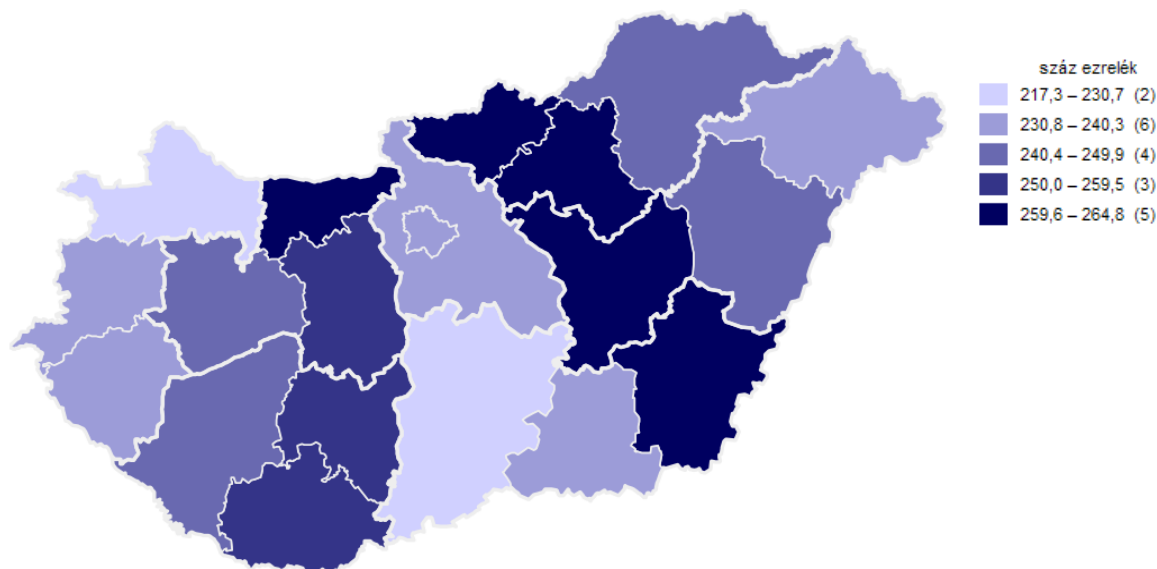


8. ábra: Az új daganatos megbetegedések száma nemenként, korcsoportonként, 2011
(Forrás: Nemzeti Rákregiszter)

dc_324_11

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.

Az országon belül további jelentős eltérések vannak a daganatos halálozások terén, például egyes földrajzi régiókra vonatkozóan (9. ábra) vagy egyes társadalmi csoportokat illetően (Kiss, 2002). Mivel számos epidemiológiai vizsgálat igazolta a gazdasági-szociális helyzet szerepét, mint a daganatos betegségek rizikófaktorát, nem meglepő, hogy a magyarországi adatok szerint is magasabbak a daganatos halálozások az alacsonyabb gazdasági-szociális státuszú népesség körében.



9. ábra: Daganatok következtében meghaltak európai népesség kormegoszlására standardizált halálozási arányszáma, 2011
(Forrás: KSH, Demográfiai Évkönyv)

Az alacsonyabb gazdasági-szociális státusz egybeeshet más demográfiai jellemzőkkel. Például a hazai roma népesség vonatkozásában azt láthatjuk, hogy szociodemográfiai adataik eltérnek a nem roma népességétől, többek között magasabb körükben a munkanélküliség, rosszabbak a jövedelmi viszonyaik és az életkörülményeik. A sérülékenyebb társadalmi csoportok – így a romák is – fokozottabb egészségügyi kockázatnak vannak kitéve, körükben általában rosszabbak az egészségügyi mutatók is.

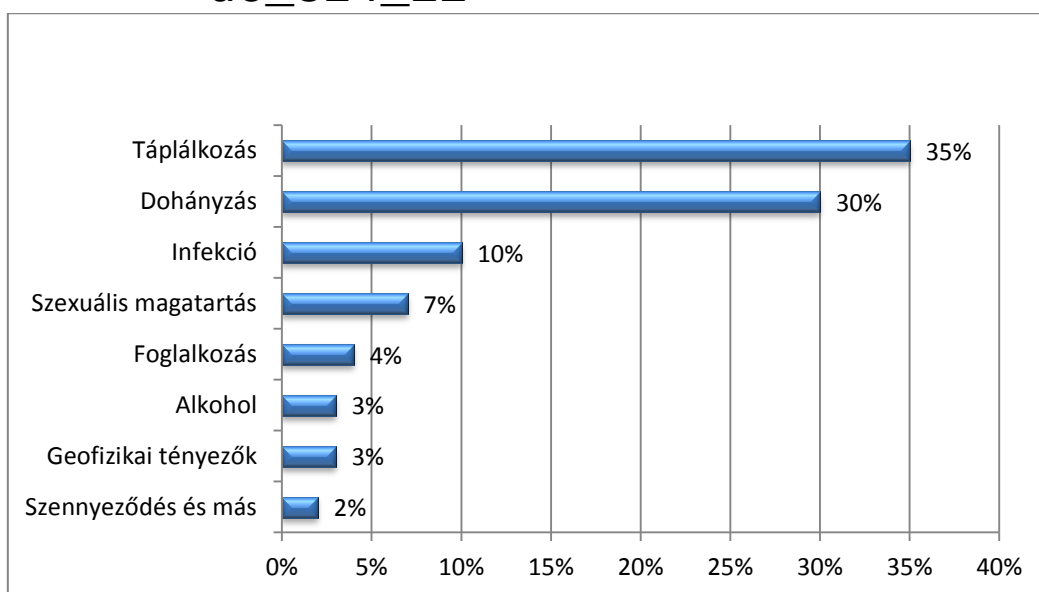
A roma népesség lélekszámát illetően a legpontosabb adatokat Kemény és mtsai reprezentatív vizsgálataiból kaphatjuk, akik 1971-ben, 1993-ban és 2003-ban vizsgálták a romák demográfiai, szociokulturális és egyéb jellemzőit (Kemény, 2004). Eszerint 1971-ben 270 000 és 370 000, 1993-ban 420 000 és 520 000, 2003-ban pedig 520 000 és 650 000 közötti volt a roma népesség nagysága Magyarországon.

A magyarországi cigányok három legnagyobb csoportja az alábbi: A magyar cigányok (muzsikus cigányok v. romungrók), akik magyarul beszélnek, az oláh cigányok, akik cigányul (és mellette magyarul) beszélnek, magukat romának ill. romnak nevezik, valamint a beás cigányok, akik beásul (és mellette ugyancsak magyarul) beszélnek, amely tulajdonképpen egy sajátos és archaikus román dialektus. A három csoportból legrégebben a magyar cigányok élnek hazánk területén, majd ezt követően az oláh cigányok érkeztek a XIX. században. Romák az országban mindenütt élnek, de arányuk a teljes népességen belül jelentős regionális eltéréseket mutat. A legmagasabb a romák aránya az északi- északkeleti területeken, a magyarországi romák mintegy egyharmad ebben a régióban él. Az országos átlaghoz képest a romák közül kevesebben élnek Budapesten, viszont többen községekben, kistelepüléseken. A korösszetétel jellemzője, hogy közöttük jóval magasabb a 15 év alatti gyermekek száma, mint a teljes hazai populációban (37% vs. 16,8%), és alacsonyabb az idősek aránya (60 év felettiekénél 3,9% vs. 20,2%) (Kemény, 2004).

A roma népesség egészségi állapotát illetően nincsenek minden betegségcsoportra ill. betegségre kiterjedő részletes, a teljes cigányságra kiterjedő vizsgálati eredmények. Mindazonáltal a kérdéssel foglalkozó tanulmányok egyöntetűen rámutatnak arra, hogy a roma népesség egészségi mutatói rosszabbak, mint a teljes népesség hasonló adatai. A roma népességben a várható átlagos élettartam mintegy 10 évvel rövidebb, mint az országos átlag (Hablicsek, 2000, Delphoi Consulting, 2004). Vizsgálták a tüdőrák előfordulását a roma népességben, és magasabbnak találták, mint a nem romák között, illetve a Delphoi Consulting tanulmánya alapján a daganatos betegségek (összességében) prevalenciája romák körében 1,8-szerese volt a teljes népesség átlagának (Delphoi Consulting, 2004).

Nemcsak a romák demográfiai, szociológiai jellemzésére illetve a fő halálokokat képező betegségekre vonatkozóan zajlottak vizsgálatok Magyarországon, hanem olyan ritka betegségekre vonatkozóan is, amelyek a roma népesség genetikai jellemzőire szolgáltatott adatokat. Az a tény, hogy egyes, jellegzetesen örökletes betegségek a romák körében gyakoribbak (pl. laktóz-intolerancia, fenilketonuria, dongaláb, kongenitális primér glaukoma, kongenitális myasthenia) mások pedig ritkábbak (pl. sclerosis multiplex), mint a magyarországi átlag, a genetikai háttér kérdését veti fel (Béres, 2002a; Béres, 2002b). Sikerült is a roma népességben gyakrabban előforduló genetikai tényezőket azonosítani, például a Leiden-mutáció gyakoribb előfordulása (az V. faktor génjének egy variánsa, ami fokozott véralvadékonysággal, trombózishajlammal jár együtt, Balogh, 1999) vagy a felsorolt betegségek közül pl. a kongenitális myasthenia okozójaként a 1267 delG alapító mutáció az acetilkolin receptor epszilon alegységében. Gyakoribb továbbá a romák között a B vércsoport, ritkább viszont az Rh negativitás, mint az átlagos magyar népességben, illetve bizonyos HLA-antigének és komplement-antigének is eltérő prevalenciát mutatnak (Kramer, 1990).

A daganatok kialakulásáért környezeti és genetikai tényezők felelősek, természetesen egymással való kölcsönhatásban. A külső faktorok szerepét illetően Doll és Peto 1981-es becslése lényegében mindmáig érvényesnek tekinthető, eszerint táplálkozási tényezők és a dohányzás felelősek a daganatok mintegy kétharmadáért (10. ábra), (Doll és Peto, 1981). 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. Mivel maga a családi halmozódás felhívja a figyelmet e betegségek genetikai jellegére, természetes, hogy az ezeket okozó genetikai tényezőket régóta vizsgálják és többnyire már sikerült is őket azonosítani. Ezzel ellentétben az alacsony penetranciájú genetikai tényezők csak kisebb mértékben befolyásolják a daganatkialakulás kockázatát, vizsgálatukhoz nagyobb népességen végzett molekuláris/genetikai epidemiológiai vizsgálatokra van szükség.



10. ábra: A daganatok kialakulásáért felelős tényezők (Doll és Peto, 1981)

Az alacsony penetranciájú genetikai tényezők tipikusan olyan gének allélpolimorfizmusai, amelyek szerepet játszanak a malignus transzformáció folyamatában. Nyilvánvalóan ilyen gének például az onkogének, tumorsuppresszor-gének, a DNS-reparációban részt vevő enzimek génjei, illetve a karcinogén anyagokat metabolizáló enzimeket kódoló gének. Ezeken kívül azonban számos más genetikai tényező fejthet ki direkt vagy indirekt hatást a daganatkialakulás kockázatára.

Metabolizáló enzimek

A szervezetünkbe kerülő karcinogén anyagok legnagyobb része prokarcinogén formájában kerül szervezetünkbe, és itt válik definitív karcinogénné, különböző metabolikus átalakulási folyamatok során. Az ilyen folyamatokban részt vevő enzimek – azaz metabolizáló enzimjeink – két nagy csoportba sorolhatók. A karcinogén vegyületeket első lépésben átalakító enzimeket I-es fázisú enzimeknek nevezzük, és ezek a szervezetbe jutott vegyületeket elektrofil, reaktív intermedierekké alakítják – ezek a molekulák kötődnek a DNS-hez, hogy aztán pl. pontmutációkat okozva kifejtsék karcinogén hatásukat. Az aktivált karcinogén molekulák a szubsztrátjai az úgynevezett II-es fázisú enzimeknek, amelyek valamilyen konjugációs reakcióval inaktíválják azokat, illetve a vízzoldhatóság növelésével elősegítik a szervezetből való kiválasztásukat. Eszerint

tehát nemcsak a karcinogén-expozíció, hanem különböző metabolizáló enzimeink aktivitása egyaránt lényeges az aktív karcinogének mennyiségének alakításában. Metabolizáló enzimeink aktivitását számos tényező befolyásolhatja, ezen enzimek egy része az indukálható enzimek közé tartozik. A különböző enziminduktor és –gátló molekulák jelenlététől függetlenül is nagy egyéni variabilitást mutathat ezen enzimek aktivitása, és ez az illető gén polimorfizmusán alapul. Metabolizáló enzimeink jelentős része polimorf, és ezen allélpolimorfizmusok általában az enzimaktivitás vagy génexpresszió szintjén is megmutatkozó különbségeket eredményeznek

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; Guengerich, 1991; Omura, 1993). Az enzim által végzett hidroxiláció ezen molekulák szervezeten belüli metabolizmusának általában az első lépése. Az enzim legtöbbet vizsgált és legfontosabb szubsztrátja a benz[a]pirén (BP), amely ismert, bizonyítottan karcinogén vegyület. A BP metabolizációjának első lépése a CYP1A1-oxidáció, amely BP-7,8-epoxiddá konvertálja molekulát, amit majd az epoxid-hidroláz által katalizált dihidrodiolektézis követ. A benz[a]pirén egyike a dohányfüst számos kémiai karcinogén anyagának, továbbá a közlekedési eredetű – kipufogógázokból származó – expozíció is jelentős, valamint grillezett, füstölt élelmiszerek fogyasztása kapcsán táplálkozási úton is jut a szervezetünkbe. Az enzim génje a 15q22-24 régióban helyezkedik el (Hildebrandt, 1985). Annak ellenére, hogy korábban a citokróm P450 enzimrendszert leegyszerűsítve a „máj méregtelenítő enzimeiként” volt szokás említeni, a CYP1A1 emberben mégis inkább különböző extrahepatikus szövetekben expresszálódik. A CYP1A1 az indukálható enzimek közé tartozik, és érdekes, induktorai között magának az enzimnek a szubsztrátjai is megtalálhatók, például a már említett benz[a]pirén.

A CYP1A1 gén polimorf gén, két funkcionális polimorfizusa a legfontosabb. Mindkét polimorfizmus egy nukleotidnyi eltérésben nyilvánul meg az egyes allélek között, vagyis úgynevezett SNP-ről (single nucleotide polymorphism) beszélünk. Egyrészt az rs1048943 azonosítójú Ile462Val polimorfizmus, amely egy DNS-szintű A/G szubsztitúciónak köszönhető, másrészt pedig a 3' nem kódoló régió területére eső T/C polimorfizmus (rs4646903), amelyet a detektálásra általában alkalmazott restrikciós endonukleáz után általában csak *MspI* RFLP-ként szokás említeni. Az Ile/Val polimorfizmusnál az alléleket Ile ill. Val alléleknek nevezzük, a gyakori allél az Ile, míg a Val-homozigóták kaukázusi populációkban meglehetősen ritkák. Az egyes allélvariánsok prevalenciáját illetően jelentős különbségek vannak különböző népcsoportok között: Ázsiában a Val allél előfordulása jóval gyakoribb (30-40%), mint például Európában (~10%).

dc_324_11

(Hirvonen, 1992; Kawajiri, 1993a). Az *MspI* allélek nevezéktana vegyes, itt m1 illetve m2 allélekről beszélünk (az m1 allél a gyakoribb), de az egyes genotípusokat A-B-C genotípusként nevezzük (A: m1 homozigóták, B: heterozigóták, C: m2 homozigóták). A feltételezett kapcsolatot a daganatkialakulás kockázatával az adja, hogy a Val allél által kódolt fehérje fokozottabb enzimaktivitást mutat, illetve az m2 allél pedig emelkedett génexpressziót, illetve fokozott indukálhatóságot eredményez (Kawajiri, 1993b).

Mivel a policiklusos aromás szénhidrogének a dohányzás-tüdőrák kapcsolatban játszanak döntő szerepet, a CYP1A1 allélpolimorfizmusokat is elsősorban e tumorról kapcsolatban vizsgálták legelőször (Kawajiri, 1990) és legtöbbször. Az első japán vizsgálatok szerint mindkét polimorfizmus összefüggésben van a dohányzás-indukálta laphámrákok kialakulásával, mégpedig úgy, hogy az elméleti magyarázatnak megfelelően a ritkább allélek jelentenek fokozott kockázatot (Kawajiri, 1993b). Érdekes módon több más korai vizsgálat nem talált ilyen összefüggést, feltehetően azért, mert ezekben a populációkban (különböző európai és amerikai népcsoportok) a ritka allélek előfordulása jóval alacsonyabb, mint Ázsiában (Hirvonen, 1992; Drakoulis, 1994). Későbbi, nagyobb elemszámú, kaukázusi populációkon végzett vizsgálatok is megerősítették azonban a Val ill. az m2 allél kockázatemelő szerepét. A nagy számú vizsgálat ellenére Zhan és mtsai 2011-es meta-analízisükben úgy találták, hogy e polimorfizmusok kétségtelenül hatással vannak a tüdőrák kockázatára, de ez a hatás csak egyes alcsoportokban mutatható ki (az elemzés fő szempontjai az alábbiak voltak: genotípus, etnicitás, nem, dohányzási szokások, daganat szövettani típusa) (Zhan, 2011). 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. Fej-nyaki tumorok esetén az eredmények a tüdőráknál találtakhoz hasonlóak, a vizsgálatok nagyobb része találta az említett alléleket kockázati tényezőnek, főként ázsiai népegekben (Gronau, 2003; Reszka, 2008). Vizsgálták természetesen a CYP1A1 polimorfizmusok szerepét más daganatok kockázatára vonatkozóan is, többek között vastagbél-, emlő-, gyomor- és hasnyálmirigy-tumoroknál, ugyancsak nem százszázalékosan egyértelmű eredményekkel.

dc_324_11

Citokróm P450 1A2 (CYP1A2)

A CYP család 1A2 névvel jelölt enzimje szoros kapcsolatot mutat a CYP1A1-gyel. Mindkét enzim génje a 15-ös kromoszómán helyezkedik el, sőt a rokonság olyan fokú, hogy a két génnek közös az 5' nem transzlálódó régiója, illetve nagyfokú homológia mutatható ki a 2-es, 4-es, 5-ös és 6-os exonjaik között. A CYP1A2 515 aminosavból álló protein, a máj citokróm enzimjeinek egyik legnagyobb mennyiségben jelen levő tagja (13-15%) (Shimada, 1994). Az enzim szubsztrátjai közé számos gyógyszer (haloperidol, tamoxifen, fenacetin, paracetamol) és egyéb xenobiotikum mellett néhány fontos karcinogén molekula (4-(metilnitrózamino)-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. Ezt támasztja alá az is, hogy egyes rasszok között is különbségeket találtak a CYP1A2-aktivitás terén: Ázsiai és afrikai populációkban alacsonyabb aktivitást írtak le, mint kaukázusi rasszban (Relling, 1992), bár ebben a genetikai különbségek mellett szerepet játszhat az inhibitor/induktor molekulák eltérő felvétele is. A génnek több, mint 40 polimorfizmusa ismeretes, többségükben SNP-ek, amelyek közül az exonok területén levők a fehérje enzimatisz aktivitását, a szabályozó régiókban levők pedig az expressziót vagy indukálhatóságot befolyásolják. A vad típusú allél *1A allélhez képest csökkent enzimatisz aktivitást mutat például a *1C (Nakajima, 1999) vagy *1K (Naklillu, 2003) allél, illetve az expresszió alacsonyabb a *3 és *4 allélnél (Chevalier, 2001; Zhou, 2004). A legerősebb hatása valószínűleg mégis a promóter régióra eső *1F allélnek van, amely fokozott indukálhatóságot okoz (Sachse, 1999; Chida, 1999; Han, 2002).

Mivel a CYP1A2 részt vesz a táplálékkal a szervezetünkbe jutó heterociklusos aminok metabolizmusában, polimorfizmusainak szerepét leginkább ezzel kapcsolatosan vizsgálták. Sikerült igazolni, hogy ez a polimorfizmus kapcsolatban van a kolorektális adenomák kialakulásával (Moonen, 2005), illetve egyes közlemények szerint a kolorektális daganatok kialakulásával is, legalábbis a dohányzással illetve táplálkozási expozícióval kölcsönhatásban (Saebø, 2008). Ugyancsak kapcsolatot találtak hasnyálmirigy-daganatok kockázatára vonatkozóan is (Li, 2006; Suzuki, 2008), illetve a tüdőrák tekintetében is publikáltak már ilyen összefüggést (Pavanello, 2008).

dc_324_11

Citokróm P450 2E1 (CYP2E1)

A CYP2E1 a többi citokróm P450 enzimhez hasonlóan ugyancsak az I-es fázisú enzimek közé tartozik. A 10-es kromoszómán elhelyezkedő, 9 exonból álló gén (Umeno, 1998) számos szövetben és szervben expresszálódik (pl. tüdő, bél, nyelőcső, vese, hasnyálmirigy) (Subramanian, 1995), a májban pedig mennyiségét illetően az összes CYP enzim 5-10%-át adja (Shimada, 2004). 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. A katalizált reakció típusosan monooxygenáció, bár elektronfelvétellel járó reakciókat is katalizálhat, amikor a szubsztrát egy kisebb csoport leadásával szabadgyökké alakul. 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; Parsian, 1998; Iwahashi, 1998).

A génnek több, mint 10 polimorfizmusát írták le, amelyek a szabályozó régiók-, intronok- illetve exonok területén helyezkednek el. Az intronikus polimorfizmusok jelentőségét nehéz értelmezni vagy magyarázni, hiszen nem okoznak változást a protein szerkezetében, ennek ellenére relatíve gyakran vizsgálták a 6-os intron területén található *DraI* T/A polimorfizmust (C és D allélek), a daganatok kockázatával kapcsolatban. Kefu és mtsai meta-analízise alapján ez a polimorfizmus szignifikánsan befolyásolja például a fej-nyaki daganatok előfordulásának kockázatát (Kefu 2010), a ritkább C allél kockázatemelő tényezőnek bizonyult. Ugyancsak több tanulmány foglalkozott az 5' szabályozó régió területére eső *PstI* és *RsaI* polimorfizmusokkal. Ez a két polimorfizmus teljesen kapcsoltnak öröklődik egymással (Uematsu, 1991a; Uematsu, 1991b), ezért mindegy, hogy melyiket vizsgáljuk. Az *RsaI* vagy *PstI* RFLP-vel kapott alléleket c1 és c2 alléleknek nevezzük, a c2 előfordulása ritkább. Ázsiai és kaukázusi populációk között eltérés van a ritka allél gyakoriságában (ez egyébként a *DraI* alléleknél is így van), a ritka allél az európai/amerikai népességben 2-3% gyakoriságúak, míg az ázsiai vizsgálatok 20-30% körüli allélprevalenciát találtak. A ritka allél fokozottabb génexpressziót, indukálhatóságot eredményez, amit például azzal magyarázható, hogy a polimorfizmus érinti a HNF-1 (hepatic nuclear factor) transzkripció faktor kötőhelyét (Watanabe, 1990).

A *PstI/RsaI* polimorfizmus és a daganatok kockázata közötti kapcsolatot illetően az eredmények finoman fogalmazva sem egyértelműek. Egyes vizsgálatok szerint a c1 allél fokozza például a szájüregi- (Bouchardy, 2000; Liu, 2001), gége- (Bouchardy, 2000), garat- (Kongruttanachok, 2001), nyelőcső- (Lin, 1998; Tan, 2000), máj- (Yu, 1995) és tüdődaganatok (Wu, 1997) kockázatát, ugyanakkor más szerzők pedig a c2 allél kockázatemelő hatásáról számolnak be gyomor- (Cai, 2001; Wu, 2002), nasopharyngealis- (Hildesheim, 1997; Kongruttanachok, 2001), hepatocelluláris- (Ladero, 1996), tüdő- (Oyama, 1997) és szájüregi (Hung, 1997) daganatoknál, megint más vizsgálatok pedig nem találtak ilyen összefüggéseket (Kato, 1992; Kato, 1995; Persson, 1993; London, 1996; Lee, 1997; Morita, 1997; Matthias, 1998; Nishimoto, 2000; Wong, 2000; Gao, 2002; Tsukino, 2002; Colombo, 2004). Elméletileg egyébként 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.

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 ez 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. Emlősökben ezeknek az enzimeknek különféle csoportjai vannak, más-más lokalizációval és szubsztrátspecifitással. Némely más epoxi-hidrolázzal ellentétben (pl. leukotrién A4 hidroláz) az EPHX1 széles szubsztrátspecifitással rendelkezik, és bár leírták endogén szubsztrátjait is (pl. egyes szteroidokat) fő feladata a xenobiotikumok metabolizálása. Bizonyos esetekben ezek a szubsztrátok származhatnak direkt expozícióból pl. sztirénoxid (Rappaport, 1996), többségükben mégis a szervezetben képződnek, I-es fázisú reakciók termékeként. A gén az 1-es kromoszómán helyezkedik el (1q42.1), minden szövetben expresszálódik, különösen magas szinten a tüdőben, májban, vesében, gonádokban és epitheliális sejtekben (Oesch, 1973; Seidegard, 1997).

dc_324_11

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 (Hassett, 1994). 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.

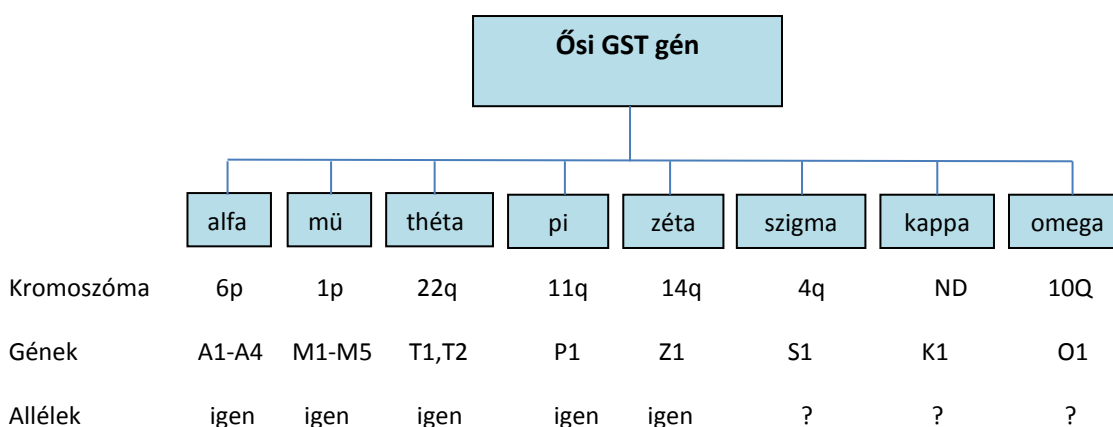
Figyelembe véve, hogy az EPHX1 a cigarettafüstben levő benz[a]pirént aktiválja, nem meglepő, hogy a 113His homozigóták – akiknél tehát az enzimaktivitás alacsony – kaukázusi populációkban alacsonyabb tüdőrák-kockázatúnak bizonyultak (London, 2000; To-Figueras, 2001; Gsur, 2003). Érdekes viszont, hogy ázsiai népességben pontosan az ellenkezője látszik bebizonyosodni (Kiyohara, 2006) az eddigi vizsgálatok meta-analíziséből, vagyis itt a 113His allél enyhén kockázatemelő hatású. A His139Arg allélpolimorfizmust tekintve a kaukázusi népességben történt vizsgálatok egy része a magasabb aktivitású allélt kockázati tényezőnek találta (Wu, 2001; Cajas-Salazar, 2003), mások nem találtak összefüggést az allélgyakoriságok és a tüdőrák kockázata között (London, 2000; Gsur, 2003), és az ázsiai vizsgálatok ugyancsak ellentmondásosak (Persson, 1999; Yin, 2001). Kiyohara és mtsai meta-analízisükben végül az Arg allélt enyhe rizikótényezőnek találta (Kiyohara, 2006).

Fej-nyaki daganatokat vizsgálva a publikációk többsége fokozott kockázatról számol be, általában dohányzással kombinálva (Jourenkova-Mironova, 2000; Amador, 2002; To-Figueras, 2002; Park, 2003; Wenghoefer, 2003). A kockázatemelő hatást ezekben a vizsgálatokban akkor sikerült kimutatni, ha azt nem egy polimorfizmushoz kötötték, hanem a polimorfizmus-kombinációkból számított EPHX1-aktivitást vették alapul.

Az emlőrák (de Assis, 2002) kockázata valószínűleg nincs kapcsolat az EPHX1 polimorfizmusokkal, kolorektális prekancerózus állapotokra vonatkozóan egyes szerzők igen (Skjelbred, 2007), mások pedig nem találtak összefüggést (Burnett-Hartman, 2011). Kolorektális rákokra vonatkozóan is születtek pozitív (Tranah, 2005) és negatív (Hlavata, 2010) eredmények is.

Glutation-S-transzferáz M1 (GSTM1)

A glutation-S-transzferáz enzim-szupercsalád rendkívül heterogén, számos fehérjéből áll, amelyeket családokba (vagy másképp szólva osztályokba) sorolunk (11. ábra). Emberben az alfa, kappa, mü, pi, théta, zéta, szigma és omega osztályok ismeretesek, illetve létezik néhány olyan GST-fehérje, amelyeket nem ezekbe az osztályokba sorolnak. Ezen enzimek jelentős része fontos szerepet tölt be a reaktív karcinogén intermedier molekulák inaktiválásában, ami – nevüknek megfelelően – glutationnal való konjugáció útján történik. Mindazonáltal a katalizált reakciók rendkívül sokfélék, néhány esetben még – ebben az esetben nevükkel ellentétben – glutation sem szükséges hozzájuk. Sőt, néhány GST-protein valószínűleg nem is enzimatis aktivitást fejt ki, hanem strukturális fehérjeként funkcionál.



11. ábra: A glutation-S-transzferáz enzimcsalád (Strange, 2001)

A szupercsalád legjobban ismert családja az 1-es kromoszóma 1p13.3 régiójában található mü osztály; tagjai közül kétségkívül a GSTM1 enzimet vizsgálták legalaposabban. Ez annak is köszönhető, hogy a GSTM1 szubsztrátjai közé tartozik számos policiklusos aromás szénhidrogén (pl. benz[a]pirén), amelyek például közlekedési eredetű expozíció kapcsán vagy cigarettafüstből juthatnak szervezetünkbe. A GSTM1 a glutationnal való konjugáció révén fontos feladatot lát el szervezetünk e vegyületek elleni védekező rendszerében. A *GSTM1* gén polimorf, mégpedig kétféle típusú polimorfizmusát is leírták. A legtöbb metabolizáló enzimmel ellentétben, amelyeknél a jellemző polimorfizmusok az egy bázisnyi eltérések az egyes allélek között, és általában valamelyest eltérő aktivitású fehérjét kódolnak, a *GSTM1* gén 0/+ polimorfizmusa sokkal erőteljesebben érinti a fehérje funkciót. A 0/+ polimorfizmus valójában egy Ins/Del

dc_324_11

polimorfizmus, a Del allélt hordozókban a gén egy része nincs jelen, a deléció 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.

A 0/+ polimorfizmushoz képest csekély a jelentősége a GSTM1-ben leírt SNP típusú polimorfizmusnak, amely egy exonikus G/C polimorfizmus (*A és *B allélek), ami az enzimfehérje struktúráját igen kis mértékben befolyásolja.

Sok különféle daganatos betegcsoportot vizsgáltak, hogy tisztázzák, vajon kockázati tényező-e az adott daganat kialakulása szempontjából a GSTM1 0 genotípus, vagyis az egészséges kontrollokhoz képest daganatos betegekben gyakoribb-e a homozigóta deléció. A vizsgálatok egy része kockázati tényezőnek találta a 0 genotípust, más részük nem talált ilyen kapcsolatot. Figyelemre méltó, hogy általában az ázsiai populációkról publikált tanulmányok közöltek pozitív eredményeket, így aztán több daganatra vonatkozóan a témában végzett meta-analízisek is gyakran jutottak arra következtetésre, hogy a GSTM1 0 genotípus ázsiaiakban kockázati tényező, míg kaukázusi populációkban nem: Cervixtumork (Gao, 2011), gyomorrák (Zhu, 2012), szájüregi daganatok (Zhang, 2011). Más tumoroknál, így például prosztaták (Mo, 2009) és hólyagtumork (Jiang, 2011) vonatkozásában mind ázsiai mind kaukázusi populációkban kockázati tényezőnek bizonyult a GSTM1 0 genotípus, és a legtöbb vizsgálat tüdőrákra is ezt az eredményt adta, bár a hatás erősségét tekintve különbségek voltak az egyes népcsoportok között (Langevin, 2010).

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).

Glutation-S-transzferáz P1 (GSTP1)

Az enzim szupercsalád pi osztályának tagja, és a gyakorló orvos számára azért különösen érdekes, mert szubsztrátjai között – a glutation-S-transzferázokra jellemző sokszínűség és karcinogén szubsztrátok, például policiklusos aromás szénhidrogének és halogénezett aromás vegyületek mellett – számos citosztatikus gyógyszer is megtalálható (melphalan, ciklofoszfamid, vinkrisztin, adriamicin, ciszplatin, etopozid, thiotepa, klorambucil, and buszulfan) (Ranjit, 2003). Két funkcionális polimorfizmusa közül (Ile105Val és Ala114Val) az előbbi 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 (krónikus myeloid leukémia (Sailaja, 2010), 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 (Ranjit, 2003) vagy a terápia-indukálta daganatok kockázatára vonatkozóan (Allan, 2001) sikerült igazolni.

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. Míg a korábban említett metabolizáló enzimek esetében a helyzet egyszerű volt, mivel vagy I-es vagy II-es fázisú reakciókat katalizáltak, 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 (Butler, 1992; Evans, 1992).

A polimorfizmusok és a daganatok kockázatát illetően a legegységelműbb eredmények a húgyhólyagrák vonatkozásában születtek, ahol a lassú acetilálók kockázata szignifikánsan magasabbnak bizonyult, főként erős dohányosokban (Garcia-Closas, 2005; Sanderson, 2007; Moore, 2011). Foglalkozásuknál fogva erős benzidin-expozíciónak kitett személyeket vizsgálva viszont pontosan az ellenkezőjét találták, vagyis a lassú acetilálók hólyagtumor-kockázata volt alacsonyabb. Ez arra utal, hogy a benzidin metabolizmusa eltérő a cigarettafüstben található karcinogén anyagokétól, illetve egyéb foglalkozási expozícióként előforduló vegyületekétől (pl. 2-naftilamin vagy 4-aminobifenil) (Carreón, 2006). Más daganatok tekintetében az acetilációs aktivitás hatása nem egyértelmű, az elvégzett meta-analízisek többnyire negatív eredményt mutattak (Ye, 2002; Cui, 2011).

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).

Érdekesség, 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 funkciót (mikroRNS-ekhez kapcsolódhatnak, amivel lényegében a mikroRNS-szabályozást befolyásolják, regulálják).

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, és bizonyos mértékben – hasonlóan például a GST enzimekhez – átfedés van szubsztrátjaik között. Az UGT1 enzimek egyes izoformái egyébként úgy jönnek létre, hogy különböző promoter/első exon szekvenciák kapcsolódnak a közös exon 2-5 részhez (Ritter, 1992; Gong, 2001). Az 1-es exon felelős a szubsztrátspecifitásért (az átfedéseket a különböző izoformák első exonja közötti homológia mértéke határozza meg), 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, policiklusos aromás szénhidrogének metabolitjai, irinotecan és egyéb xenobiotikumok – mellett az enzimcsaládból egyedülként ez az enzim felelős a bilirubin UDP-glukuronsavval történő konjugációjáért. Ennek a glukuronidációnak a zavara okozza ugyanis a hiperbilirubinaemiával és az esetek egy részében sárgasággal is járó Crigler-Najjar szindrómát és a Gilbert-kórt.

Az UGT1A1-nek számos polimorfizmusa ismeretes – ebben a tekintetben pedig inkább a NAT enzimekhez hasonlít. A több, mint 60 eddig leírt polimorfizmus vagy mutáció többsége SNP, de más típusú genetikai változások, például deléciók is előfordulnak a génben. A fehérje funkcióképtelenségét okozó vagy azt nagymértékben csökkentő mutációk felelősek az említett, bilirubin-konjugációs defektussal járó betegségekért, míg egyes polimorfizmusok pedig az enzimaktivitás ennél 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 (Lyer, 1998). A legtöbbet vizsgált polimorfizmus a gén promoter 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. E helyütt ugyanis a népesség nagyobb részében egy 6 TA dinukleotidból álló TA-repeat szekvencia található, ritkábban viszont az említett inszerciónak köszönhetően ez 7 TA-dinukleotid hosszúságú. A hosszabb variáns a génexpresszió csökkenésével jár, ami ilyenkor mintegy harmada a gyakoribb allélnél tapasztaltnak (Karatzas, 2010). A vad típusú allélt *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. Így például

dc_324_11

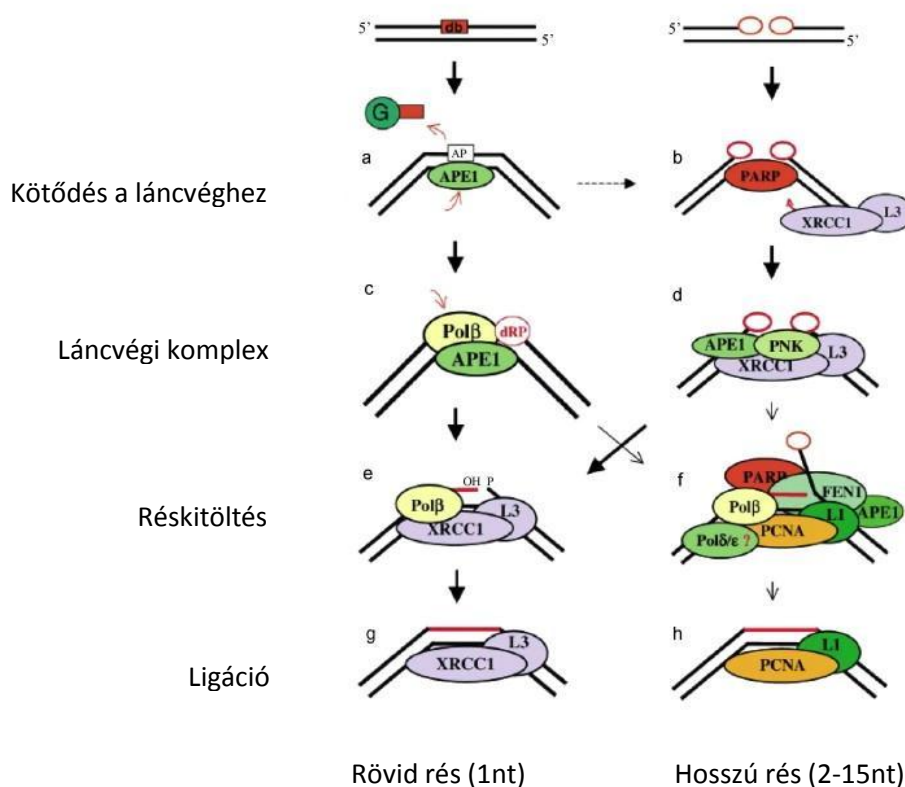
prosztrák esetén (Tang, 2011) vagy emlőráknál is kockázati tényezőnek találták a *28 allélt (Adegoke, 2004), amit emlőrák vonatkozásában kaukázusi populációkra egy metaanalízis is megerősített (Yao, 2010). A vizsgálatok más típusú tumorokra is kiterjedtek, bár egyelőre kevés ilyen eredményről számoltak be. kolorektális daganatok vonatkozásában Girard és mtsai a *28 allél kockázatemelő hatását igazolták (Girard, 2008), míg egy közlemény pedig a fej-nyaki tumoroknál a *1 allélt találta rizikófaktornak (Lacko, 2010).

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 lánctörések, amelyek lehetnek egyes szálú vagy kettős szálú törések. Ezek közül az XRCC1 fehérje a gyakoribb egyes lánccú törések kijavításában vesz részt, ami különösen lényeges az ionizáló sugárzások vagy egyes citosztatikumok (alkilálószer, például ciklofoszfamid) által okozott károsodásoknál, de számos más vegyület is okozhat egyes lánccú töréseket. A csak az egyik láncot érintő további hibák kijavításának fő útjai a báziskivágásos reparáció, a nukleotidkivágásos reparáció és a mismatch reparáció. A báziskivágásos hibajavítás akkor történik, amikor a károsodás egy bázist érint (pl. oxidáció, dezamináció). A károsodott bázis eltávolítása után a foszfodiészter-kötés bontása, majd a rés kitöltése és ligáció következik. A báziskivágásos reparáció során tehát tulajdonképpen egyes lánccú „törések” keletkeznek, vagyis a két reparációs mechanizmus itt összekapcsolódhat. A nukleotidkivágásos repair a kettős spirált torzító, nagyobb léziók javítására szolgál, míg a mismatch reparáció pedig a hibás bázispárosodás következményeit küszöböli ki. Az XRCC1 a lánctörések javításán kívül a fenti mechanizmusok közül még a báziskivágásos reparációban vesz részt.

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 fehérjével (Brem, 2005), és velük együtt vesz részt a hibajavítás bonyolult és precízen koordinált mechanizmusában (12. ábra). Az XRCC1-mutáns sejtvonalak különösen érzékenyek például a szabadgyökök-, ionizáló sugárzások- vagy alkiláló szerek DNS-károsító hatásaira, genetikai instabilitást mutatnak (Thompson, 1982), az XRCC1 knock-out egerek életképtelenek (Tebbs, 1999; Tebbs, 2003). Az olyan transzgén egerek viszont, amelyekben az XRCC1 expresszió igen alacsony szintű, látszólag normálisan fejlődnek, és a belőlük származó fibroblasztok is csak alig érzékenyebbek az alkilálószerre, mint a normál fibroblasztok (Tebbs, 2003).

Indirekt egyes láncú törések (BER) Direkt egyes láncú törések



12. ábra: Az XRCC1 fehérje szerepe a láncgörések reparációjában (Brem, 2005)

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. A legalaposabban ezek közül 2 polimorfizmust tanulmányoztak, az Arg399Gln (rs25487, exon 10 G/A,) és az Arg194Trp (rs1799782, exon 6 C/T,) polimorfizmusokat, illetve viszonylag sok adat van még az Arg280His (rs25489, exon 9, G/A,) SNP-ről is. Mindhárom polimorfizmus más

dc_324_11

fehérjékkel kapcsolatos interakciók szempontjából fontos területre esik: az Arg194Trp a hOGG1, az Arg280His az APE1, illetve az Arg399Gln pedig a BRCA fehérjékkel illetve a PARP-pal való kapcsolódási régiókra. Különösen az utóbbi polimorfizmus tűnik érdekesnek, mivel a BRCA gén karboxi terminális doménjében (BRCT, ez a régió kapcsolódik az XRCC1 proteinhez) leírt pontmutációk a tumor szuppresszor gén funkciójának változásához vezetnek. *In vitro* vizsgálatok azt mutatták, hogy az Arg194Trp polimorfizmus viszonylag kis mértékben (Wang, 2003) vagy egyáltalán nem (Tuimala, 2002) befolyásolta a reparációs aktivitást, különböző DNS-károsító ágensekkel történő expozíció után. Az Arg399Gln polimorfizmust vizsgáló tanulmányok is általában mérsékelt, de statisztikailag szignifikáns hatásról számoltak be, bár itt egyes szerzők a Gln-homozigóta sejtek gyengébb reparációs aktivitására vonatkozóan már két- (Abdel-Rahman, 2000) illetve háromszoros (Slyskova, 2007) különbségeket is találtak.

Az eddigi humán genetikai epidemiológiai vizsgálatok elsősorban az Arg399Gln polimorfizmusra nézve hoztak pozitív eredményeket. Emlőrák tekintetében több vizsgálat is úgy találta, hogy a Gln allél kockázatemelő tényező (Patel, 2005, Silva, 2007), bár metaanalízisek ezt inkább csak ázsiai populációkra erősítették meg (Zhang, 2006). A tüdőrák kockázatával inkább a Arg194Trp polimorfizmus mutatott összefüggést, amikor is a Trp allél védő faktornak bizonyult (David-Beabes, 2001; Hung, 2005). Szájüregi daganatok vonatkozásában a 399Gln allélre vonatkozóan publikáltak pozitív eredményt (Hsieh, 2003), míg az Arg194Trp polimorfizmusnál ellentmondásosak a rendelkezésre álló adatok (Cao 2006; Yang, 2007).

p53 tumorszuppresszor gén

A 17-es kromoszómán elhelyezkedő (17p13.1) p53 tumor szuppresszor gén talán a legismertebb gén a daganatkialakulással, daganatokkal kapcsolatosan. Kulcsszerepét illusztrálja, hogy egyes humán tumoroknak akár 50%-ában is találunk valamilyen p53 mutációt (leggyakrabban pontmutációt vagy deléciót), habár ez nem azt jelenti, hogy minden egyes 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, például a cervixtumorokban a humán papillomavírus E6 fehérjéje vezet degradációjához. Számos celluláris stressz-szignál aktiválhatja a p53 fehérjét, például DNS-károsodás, hypoxia, a mitotikus orsó károsodása, a ribonukleozid-trifoszfát pool depléciója, vagy onkogén-aktiváció (Levine, 1997; Vogelstein, 2000). Az aktiváció különböző protein-kinázokon keresztül történik, és a foszforiláció hatására a p53 fehérje stabilizálódik, és valószínűleg konformációja is megváltozik (Jayaraman, 1999). A p53 sajátos autoregulációs mechanizmussal rendelkezik: indukálja az MDM-2 protein szintézisét, ami viszont ubikvitináción keresztül a p53 fehérje degradációját idézi elő.

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 tumorszuppresszor 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 tumorszuppresszor gén – más génekkel együttműködve – apoptózist indukál, hogy a sérült génállományú sejtek ne szaporodhassanak tovább, mert az daganatkialakulás alapját képezhetné. Más tumor szuppresszor génekkel ellentétben, ahol gyakoriak a nonszensz-, a fehérje megrövidülésével, szerkezetének durva megváltozásával és teljes funkciókiesésével járó mutációk, 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 kifejthesse. 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. Tüdőrákokban például gyakoriak a 248-as és 273-as kodon területére eső pontmutációk, de még ennél is sokkal jellegzetesebb a hepatocelluláris karcinomákban a 249-es kodon érintő mutációk magas aránya

dc_324_11

(majdnem 40%). Emberben a p53 örökletes mutációja áll a Li-Fraumeni szindrómának nevezett örökletes daganatos szindróma hátterében.

Az International Agency for Research on Cancer (IARC) p53-adatbázisa (<http://www-p53.iarc.fr/PolymorphismView.asp>) szerint a génnek több, mint 80 különböző allélpolimorfizmusa ismeretes. Ezek közül 18 esik exonok területére, és 4 változtatja meg – kisebb mértékben – a fehérje transzaktivációs kapacitását (Kato, 2003). Érdekes, hogy ezek közül egyet (139C→T) kizárólag afrikai populációkban tudtak megtalálni (Felley-Bosco, 1993), mintegy 5%-os gyakorisággal. A p53 allélpolimorfizmusok molekuláris epidemiológiai vizsgálata szinte kizárólag a 72-es kodon területére eső Arg/Pro polimorfizmusra (215C→G) koncentrált. Újabb elnevezése szerint a Pro allélt P72-nek, az Arg allélt R72-nek is szokás nevezni. Ez a polimorfizmus 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 (Shi, 2009). Főemlősök körében végzett vizsgálatok szerint az ősi forma a Pro allél, de északi területeken valamilyen szelekciós előny miatt gyakoribbá válhatott a másik allél (Puente, 2006). Újabb adatok azt mutatják, hogy az Arg forma hatékonyabban emeli a leukémia-inhibitor faktor expresszióját, ami a blasztociszta implantációjánál fontos, és talán ezért csökkenti az beágyazódási rendellenességek előfordulását a hidegebb területeken (Kang, 2009). A polimorfizmus nem a p53 mutációk által gyakran érintett régióra esik, hanem az úgynevezett poliprolin doménre, amelynek a pontos szerepe a p53 fehérje működésében nem teljesen tisztázott. Annyi bizonyos, hogy ez a domén szükséges a stressz-szignálokra adott apoptotikus válasz indukciójához (Sakamuro, 1997). 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 sejttípusban 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 megállítására kifejtett hatás terén, a DNS-reparációval kapcsolatosan, illetve egyes kemoterápiás szerek hatékonyságának befolyásolásában) mennyire jellemzőek és általános érvényűek-e (Pim, 2004; Sullivan, 2004; Siddique, 2006).

A daganatos rizikóval kapcsolatos vizsgálatok közül egy daganat mindenképpen kilóg a sorból, ez pedig a méhnyakrák. Itt ugyanis Storey és mtsai az Arg allél nagyon erős kockázatemelő hatásáról számoltak be (Storey, 1998), ami hosszú vizsgálatsorozatot és vitát indított el a kérdést illetően. Először is: Miért viselkedne másképp a cervixrák, hiszen a többi daganatnál az eredmények általában a korábban említett várakozásnak feleltek meg, vagyis a Pro allélt enyhe

dc_324_11

rizikófaktornak találták (már azok a vizsgálatok, amelyek egyáltalán találtak összefüggést; többségben voltak azonban az összefüggés hiányát megállapító tanulmányok). A méhnyakráknál talált paradox eredményre azt a magyarázatot adták, hogy a humán papillomavírus E6 fehérjéje hatékonyabban tudja előidézni a p53 Arg variáns degradációját, mint a Pro variánsét, és így az előbbi esetben a működő p53 mennyisége kisebb lesz, fokozottabb daganatrizikót eredményezve. Érdekes, hogy a későbbi vizsgálatok során egymástól mennyire eltérő eredmények születtek a cervixrák és a p53 72-es kodon polimorfizmusának kapcsolatáról (Rosenthal, 1998; Agorastos, 2000). Két nagy metaanalízis is szerint is – szintén meglehetősen furcsa módon – az Arg/Arg homozigóta csak a heterozigótákhoz képest jelentett fokozott kockázatot, míg a Pro/Pro genotípus kockázata nem különbözött szignifikánsan az Arg-homozigótákétól (Yee, 2004; Klug, 2009). Klug és mtsai több szempontból is csoportosították a metaanalízisbe bevont tanulmányokat, és végül úgy találták, hogy a gyengébb minőségű vizsgálatok eredményeit külön elemezve volt kapcsolat (Arg – kockázatemelő hatás), míg az „erős” vizsgálatok poolja pedig nem mutatott semmiféle összefüggést.

Sok vizsgálat foglalkozott más daganatokkal is, általában a Pro allél kockázatemelő hatást vagy az összefüggés hiányát leírva. A metaanalízisek azonban többnyire azt mutatták, hogy önmagában a p53 Arg/Pro allélpolimorfizmusnak nincs statisztikailag szignifikáns hatása a vizsgált daganatok kockázatára (emlőrák: Breast Cancer Association Consortium, 2006, gyomorrák: Zhou, 2007, tüdőrák: Matakidou, 2003), vagy csak bizonyos népességekben vagy alcsoportokban (kolorektális daganatok: Liu, 2011).

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; Lee, 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 szekvenciaspecifikusan csökkenti a szabályozott gének expresszióját. Az expressziócsökkenés nem transzkripció szinten valósul meg, hanem vagy a messenger RNS degradációján vagy a transzláció represszióján keresztül. A miRBase (www.mirbase.org) adatbázis aktuális adatai szerint emberben összesen 2154 érett mikroRNS-t ismerünk, amelyek 1527 prekursor szekvenciából képződnek. Egy mikroRNS számos célgén expresszióját szabályozza, így aztán génjeink jelentős része áll mikroRNS-szabályozás alatt (Friedman, 2009). A miR-15a/16-1 cluster például direkt vagy indirekt módon a humán gének mintegy 14%-át regulálja (Calin, 2008). A mikroRNS-célgéneket illetően szintén több adatbázist vagy szoftvert ismerünk, amelyek egyrészt a szekvencia alapján elméleti alapon határozzák meg a valószínű célgéneket (a legismertebb a miRanda, www.microrna.org), vagy pedig a már kísérletesen igazolt targeteket tartalmazzák (TarBase, <http://diana.cslab.ece.ntua.gr>).

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; Takamizawa, 2005; Yanaihara, 2006; Akao, 2006). A daganatos betegek vizsgálata mellett molekuláris biológiai vizsgálatok és elméleti megfontolások is megerősítették a mikroRNS-ek lehetséges szerepét a daganatkialakulásban. Több olyan molekuláris mechanizmust sikerült találni, ami alátámasztja a kapcsolatot, például a let-7 mikroRNSek (a családjukba 12, egymással szoros rokonságban levő mikroRNS tartozik) Ras-génekre kifejtett represszálo hatását, a miR-21 PTEN tumorszuppresszor

génre kifejtett gátló hatását (Tao, 2011) vagy a miR-15 és miR-16 mikroRNS-ek által okozott a Bcl-2-downregulációt (Cimmino, 2005).

A funkcionális génekhez hasonlóan, a mikroRNS-eknél is adódott a feltételezés, hogy nemcsak over- vagy downregulációjuk, illetve az őket tartalmazó kromoszómarégiók deléciója, hanem – ha létezik – allépolimorfizmusok is befolyásolhatják az általuk szabályozott gének expresszióját (Mishra, 2009). Sikerült is allépolimorfizmusokat találni számos mikroRNS-ben, részben olyan régióban, ami az érett mikroRNS-ben is megtalálható, részben az érés során kivágódó területeken (Saunders, 2007; Wu, 2008). Ez utóbbiak közül is jó néhányról bebizonyosodott, hogy befolyásolja a pre-mikroRNS érését, stabilitását, tehát közvetetten szintén szerepe van a target gének regulációjában (Duan, 2007; Wu, 2008).

Bár a mikroRNS polimorfizmusok irodalma még messze nem akkora, mint a funkcionális génekben található variánsoké, jó néhány munkacsoport vizsgálta már különböző mikroRNS polimorfizmusok hatását egyes daganatok kialakulásának kockázatára (Hu, 2008; Hu, 2009; 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 egyik célgénje a Smad4 gén, ami pedig a TGF- β út egyik effektor fehérjéje (Zhong, 2010). A TGF- β mechanizmusnak pedig szerepe lehet a leukémiák kialakulásában (Isufi, 2007). Ugyancsak a miR-146a targetjei közé tartozik egy olyan, a sejtek migrációjában szerepet játszó protein kináz gén, a ROCK1 (Lin, 2008), amelynek aktiváló mutációit leírták humán daganatokban (Lochhead, 2010). A miR-146a szabályozza továbbá az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) és az interleukin-1 receptor asszociált kináz 1 (IRAK1) expresszióját (Li, 2010), amelyek úgyszintén kapcsolatban vannak a daganatkialakulással. A nukleáris faktor $\kappa\beta$ (NF $\kappa\beta$), amelynek regulációs zavarait szintén leírták humán daganatokban (Morais, 2011), hatásainak egy részét a miR-146a expressziójának szabályozása útján fejt ki (Ghose, 2011). A miR-146a génjében leírt G/C allépolimorfizmus (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- (Zeng, 2010) 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 szív- és érrendszeri betegségekkel kapcsolatos megfigyelések például az úgynevezett A-típusú személyiség (vagy A-típusú viselkedésmintázat) és a szívinfarktus kockázatának összefüggését mutatták (Abbott, 1984). Hasonló, kezdeti vizsgálatok a daganatok fokozott gyakoriságával kapcsolatban írtak le bizonyos személyiségvonásokat, amelyek jelenléte esetén C-típusú személyiségről beszélünk (Temoshok, 1987). A daganatok területén a kezdeti „lelkessedés” után, amikor is nagyon nagy jelentőséget tulajdonítottak a személyiségjellemzőknek, stressznek, pszichés faktoroknak a daganatkialakulás kapcsán (Cox, 1982; Baltrusch, 1985), számos olyan eredmény született, amelyek nem találták lényeges rizikófaktornak az általuk vizsgált pszichés tényezőket (Nakaya, 2003; Hansen, 2005). Mindazonáltal a lelki tényezők szerepével, például a stresszel kapcsolatban ma is intenzív kutatások folynak, mind az epidemiológiai összefüggés (Lemogne, 2013), mint az esetleges hatásmechanizmusok (Dhabhar, 2012) feltárását célozva.

Az bizonyosra vehető, hogy személyiségvonásaink befolyásolhatják viselkedésünket, szokásainkat, életmódunkat. Ez utóbbi tényezők pedig már könnyen kapcsolatba hozhatók a daganatkialakulás kockázatával, hiszen a legfontosabb ismert daganatos kockázati tényezők ebbe a csoportba tartoznak (pl. táplálkozási szokások, dohányzás, szexuális élettel kapcsolatos rizikófaktorok). Kérdés, hogy genetikai tényezők befolyásolják, befolyásolhatják-e személyiségvonásainkat olyan mértékben, hogy akár a fent említett életmódi tényezőkön keresztül, akár más mechanizmusokkal hatással legyenek egyes daganatok kockázatára.

Dopaminerg rendszerek, dopamin receptorok

Ha ilyen genetikai tényezőket keresünk, logikus, hogy olyan központi idegrendszeri folyamatokban szerepet játszó tényezőket vizsgáljunk, amelyek például kapcsolatban lehetnek az érzelmekkel, örömezéssel, addikciókkal. A nagy központi pályarendszereket, illetve neurotranszmitter mechanizmusokat vizsgálva ezért elsőként a dopaminerg rendszer kerül figyelmünk középpontjába. Emberben ez négy fő pályát foglal magába, a nigrostriális 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 örömezés kialakításában, addikciók létrejöttében van szerepe. A 2000. évi

dc_324_11

orvosi Nobel-díjat egyébként pontosan a dopamin központi idegrendszeri szerepének, illetve a Parkinson-kórnak a kutatásáért ítelték Avid Carlsson svéd kutatóorvosnak. A dopaminerg neurotranszmitter rendszerekben a dopamin, mint ingerületátvivő molekula specifikus receptorain keresztül fejt ki hatását. Ezen receptorok általában a posztzinaptikus neuronokon találhatók, de a szabályozás finom egyensúlya érdekében egyes preszinaptikus neuronok is rendelkeznek dopamin-receptorokkal.

A dopamin-receptorok öt típusát különíthetjük el, amelyeket D1-D5-ig számozunk, és ezek működésük alapján két csoportba sorolhatók, a D1 és a D2 típusú receptorok csoportjába. A dopamin-receptorok mindannyian transzmembrán fehérjék, amelyek G-proteinekhez kapcsolódnak. A D1 típusú receptorok esetében a kapcsolódó G-protein adenilcikláz-aktiváló hatású, míg a D2-receptorok pedig gátló hatású G-proteinhez kapcsolódnak. Az intraceluláris cAMP szintet fokozó – tehát D1 típusú – receptorok egyébként kizárólag posztzinaptikusan találhatók, míg a D2 típusú receptorok mind pre- mind posztzinaptikus neuronok sejtmembránjában is elhelyezkedhetnek.

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 (Noble, 1996; Hou, 2009; Arias-Carrión, 2010; Sullivan, 2013). A dopamin-receptorok közül a DRD2 a legfontosabb autoregulációs receptor (preszinaptikusan elhelyezkedő receptor, amely a dopaminszintézis és felszabadulás feed-back-szabályozásának fontos eleme). A génről alternatív splicing miatt kétfajta mRNS is keletkezik, a kódolt receptorfehérjék hosszúsága 29 aminosavnyit tér el egymástól.

A 11-es kromoszómán elhelyezkedő DRD2 génnek a TaqIA allélpolimorfizmusát (rs1800497, A1/A2 allélek) már viszonylag rövid idővel a gén leírása (Bunzow, 1988) után megismerték (Blum, 1990). A gén 3' nem kódoló régiójára eső egy pontos nukleotid polimorfizmusról később kiderült, hogy valójában nem is a DRD2 gén polimorfizmusáról van szó, a kérdéses régió a nem DRD2-höz, hanem a vele szomszédos ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (ANKK1) génhez tartozik (Neville, 2004). Ezt a gént, illetve az általa kódolt fehérjét pontosan még nem ismerjük, számos tulajdonságára, illetve funkcióira vonatkozóan csak feltételezések ismeretesek. Eszerint az ANKK1 fehérje egy protein kináz, ami az úgynevezett RIP-kinázok (receptor interacting protein kinase) közé tartozva szignáltranszdukciós folyamatokban játszik szerepet. Nem véletlen, hogy hosszú ideig az rs1800497 polimorfizmust a DRD2 génhez tartozónak gondolták, ugyanis a különböző alléljeit hordozó személyekben például az agyi dopamin-receptorok számát eltérőnek találták (Thompson, 1997), vagyis az allélpolimorfizmus funkcionális kapcsolatot mutatott a dopaminerg rendszerrel. A jelenség lehetséges magyarázata

lenne, hogy a kérdéses polimorfizmus kapcsolatosan öröklődhet más, valóban funkcionális DRD2 polimorfizmusokkal, vagy pedig az ANKK1 gén a fizikai közelség mellett funkcionálisan is kapcsolatban van a DRD2-vel (Ponce, 2008). Érdekes, hogy az irodalomban az rs1800497 polimorfizmust vizsgáló közlemények jó része nem is törődik azzal, hogy a polimorfizmus ténylegesen az ANKK1 gén területén van, hanem – a pontos kapcsolat, illetve mechanizmus ismerete és vizsgálata nélkül – „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 említi a jelenséget (Cho, 2012; Kwak, 2013; Sullivan, 2013)– bár ma már a leggyakrabban használt megnevezés a két gén közötti szoros kapcsolatot is tükröző „DRD2/ANKK1 polimorfizmus”.

A DRD2/ANKK1 TaqIA allélpolimorfizmust több szerző is vizsgálta különböző dependenciákra való hajlammal kapcsolatban (például alkohol-, nikotin- vagy opioidok iránti függőség), és többnyire találtak is ilyen összefüggéseket (Blum, 1990; Pato, 1993; Noble, 1994; Comings, 1996; Gorwood, 2000; Batra, 2000; Hamajima, 2002; Noble, 2003; Huang, 2009; Sullivan, 2013). Az addikciókon kívül ez a polimorfizmus még más mentális betegségekkel, stressz által kiváltott hatásokkal is kapcsolatot mutatott (Comings, 2000; Noble, 2003; Eisenberg, 2006). A daganatokkal való lehetséges összefüggést mindeközéig kevés szerző vizsgálta. Ezen vizsgálatok egy része –emlő-, kolorektális- és tüdőrák esetén – úgy találta, hogy az A1 allélt hordozók kockázata valamivel magasabb (Comings, 2003; Gemignani, 2005; Campa, 2007), más vizsgálatok viszont nem találtak ilyen kapcsolatot (Bierut, 2000; Johnstone, 2004).

A fent leírt megfontolások, illetve az eddigi irodalmi adatok alapján érdekes kérdésnek tűnt a DRD2/ANKK1 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 (pl. orális leukoplákiák kezelése retinoidszármazékokkal (Gorsky 2002)). 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 a karcinogén-expozíció külső méréséhez képest, 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, például 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 terciér prevenciók kérdés, de elképzelhető, hogy ugyanezek a biomarkerek felhasználhatók a betegség stádiumainak és a terápia hatékonyságának monitorozására, a relapsusnak vagy metasztázisok kialakulásának jelzésére.

c-myc

A Myc géncsalád három tagja (a c-myc, N-myc és L-myc gének) regulátor szerepet játszanak a sejtek alapvető életfunkcióiban, mint például a növekedés, osztódás, motilitás, differenciáció és apoptózis (Smith, 2010). A c-myc egy transzkripció faktor, amelynek

dc_324_11

overexpresszióját vagy amplifikációját számos daganatban megtalálták (Rochlitz, 1996; McNeil, 2006; Hawksworth, 2010), 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 transzkripció 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; Harney, 1996; Hong, 1997; Bai, 2000; Achanzar, 2000; Chen, 2001; Liu, 2006; Németh, 2006), felvetve ezzel a c-myc gén biomarkerként való alkalmazásának lehetőségét.

Ha-ras

A Ras-onkogéneket eredetileg virális onkogénekként azonosították, a Harvey illetve a Kirsten egér-szarkóma 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-

dc_324_11

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. Különösen magas a Ras-mutációk előfordulási gyakorisága vastagbél- (Bos, 1987), tüdő- (Rodenhuis, 1987) és hasnyálmirigydaganatokban (Smit, 1988). Érdekes, hogy a daganatokban talált Ras-mutációk 97-99%-a a 12-es, 13-as és 61-es kodonok területére esik. A COSMIC mutációs adatbázis (<http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/>) szerint a három Ras gén közül a mutációs frekvencia a Ha-ras génben a legalacsonyabb, mindössze 3%, míg N-Ras mutációk a daganatok 8%-ában, K-ras mutációk pedig 21%-ban fordulnak elő. Úgy tűnik, a Ha-ras gén aktiválódásához nem feltétlenül szükséges a mutációk jelenléte, számos esetben írták már le a vad típusú Ha-ras-gén overexpresszióját is különböző sejtekben (Black, 1990; Xue, 1993; Kolettas, 1994).

p53

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 (Mezentsev, 2011; 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:

dc_324_11

- 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 népekségeksben 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 prognózist a GSTM1, GSTT1 és p53 genotípus?
 - b. Befolyásolja-e a fej-nyaki daganatok prognózist a CYP1A1, UGT1A1 és XRCC1 genotípus?
 - c. Befolyásolja-e a méhnyakrákok prognózist a GSTM1, GSTT1 és DRD2 genotípus?
- VIII. 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?

Anyag és módszer

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 $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$ 1-NP-t, dimetil-szulfoxidban oldva. A kontrollcsoport 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 (fiziológias 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 kontrollcsoport 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.

Minták előkészítése az RNS-izoláláshoz

Az állatkísérleteknél a génexpresszió-változásokat a kísérleti állatok különböző szerveiből mértük. A szervek eltávolítása után azokat steril, fiziológias NaCl oldattal öblítettünk át.

A humán génexpressziós vizsgálatoknál az expressziókat perifériás vérből izolált fehérvérsejtekből mértük. A vvt-mentesítést 15 ml teljes vér azonos térfogatú 0,84%-os NH_4Cl -dal történő ismételt centrifugálásával végeztük, majd az így tisztított fehérvérsejtekből izoláltunk RNS-t.

RNS-izolálás

A génexpresszió-változások vizsgálatához az RNS-izolálás (össz-RNS) standard guanidin-izotiocianát-fenol-kloroformos (TRIzol; Invitrogen, Paisley, UK) módszerrel történt (Chomczynski, 1987). Az RNS tisztaságát a 260/280 nm-en mért fényelnyelés hányadosával teszteltük.

Slot-blot hibridizáció

Hoefer slot-blotter segítségével 10 µg nukleinsavat vittünk Hybond N+ (Amersham) nitrocellulóz membránra, majd kemilumineszcensen jelölt (Amersham ECL,) próbával 42 °C-on, egy éjszakán át hibridizáltuk, a gyártó által megadott protokoll szerint. A kemilumineszcens jelet a membránra helyezett röntgenfilmen fogtuk fel, előhívás után digitalizáltuk, majd a Quantiscan 2.0 (Biosoft) programmal értékeltük. Minőségi kontrollként a konstitutívan expresszáldó *β-aktin* génnel végeztünk rehibridizációt. A *Ha-Ras*, *c-myc*, *p53* és *β-aktin* gének plazmidba illesztett klónozott génpróbáit (American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA) intézetünkben *E. coli* HB 101 baktériumtörzsben tartottuk fenn, és a kísérlet előtt onnan izoláltuk.

Genotipizálás**Minták előkészítése DNS-izoláláshoz**

A minták a paraffinos blokkok széli részéből származtak, és minden esetben törekedtünk rá, hogy a feldolgozott anyagba minél több peritumorális, ép szövet kerüljön. A blokkból, metszetből történő DNS-izoláláshoz a mintát mechanikus aprítás után deparaffináltuk. A deparaffinálás Xilol segítségével történt, majd leszálló alkoholsorban rehidráltuk a mintákat az alábbiak szerint: 2x3 per xilol, 3 perc xilol és 100%-os etanol 1:1 arányú keveréke, 2x3 perc 100%-os etanol, 3 perc 95%-os etanol, 3 perc 70%-os etanol, 3 perc 50%-os etanol, 1 perc vizes mosás.

A vérből történő izoláláshoz az RNS-izolálásnál leírt módon fehérvérsejteket izoláltunk.

DNS-izolálás PCR-hez

A DNS izolálás a fent leírt előkészítés után a vizsgálatok egy részében fenol-kloroformos módszerrel (Blin, 1976), később pedig GenomicPrep (Pharmacia, Uppsala, Svédország) DNS-izoláló kittel, a gyártó protokollja alapján történt.

CYP1A1 Ile462Val polimorfizmus

Az Ile/Val polimorfizmust eredményező SNP-re vonatkozó genotipizálás a p53-nál alkalmazott módszerhez hasonlóan ugyancsak allélspecifikus amplifikáció volt (Hirvonen, 1992). A PCR-reakcióelegy a p53-nál leírtakkal egyezett meg, a reakció paraméterei az alábbiak voltak: 30 ciklus: 60 sec 94°C, 45 sec 59 °C, 90 sec 72 °C.

Primer-szekvenciák: 3': GAAAGGCTGGGTCCACCCTCT
 5': AAGACCTCCCAGCGGGCAAT
 AAGACCTCCCAGCGGGCAAC

CYP1A2 *1A/*1F polimorfizmus

PCR-RFLP segítségével vizsgáltuk a CYP1A2 enzim genotípusait (Sachse, 2003), az alábbi PCR programmal: 35 ciklus, 30 sec 94 °C, 10 sec 58 °C, 60 sec 72 °C (primerek: TGAGGCTCCTTCCAGCTCTCA AGAAGCTCTGTGGCCGAGAAGG). Az emésztés *Bsp120I* restrikciós enzimmel történt, egy éjszakán át. A keletkezett termékeket 2%-os agaróz gélben való elektroforézissel detektáltuk. A *1A homozigótáknál a minta egy 265 bp szakaszt tartalmazott, míg a *1F allélnél két fragmentum keletkezett (211 és 54 bp).

CYP2E1 PstI/RsaI polimorfizmus

A genotipizálást PCR-RFLP segítségével végeztük (Maezawa, 1994), a már leírt reakcióelegyben, a következő primerekkel: CCAGTCGAGTCTACATTGTCA ill. TTCATTCTGTCTTCTAACTGG, 35 cikluson keresztül: 60 sec 94 °C, 60 sec 55 °C, 60 sec 72 °C. Ezután 2 U *PstI* restrikciós endonukleázzal (SIGMA) emésztettünk egy éjszakán át, majd a keletkezett terméket 2%-os agaróz gélben elektroforetizáltuk. A c1 allél jelenléte esetén nem volt emésztés (410 bp fragmentum), a c2 allél pedig egy 290 és egy 120 bp fragmentum mutatta. Heterozigótáknál mindhárom DNS-fragmentum jelen volt.

EPHX1 Tyr113His és His139Arg polimorfizmus

Mind a 3-as, mind a 4-es exon polimorfizmusokat PCR-RFLP-vel vizsgáltuk (Yin, 2001). A 3-as exonnál (Tyr113His) az alábbi paraméterekkel: 30 sec 94 °C, 10 sec 51°C, 60 sec 72 °C (GATCGATAAGTTCCGTTTCACC, ATCCTTAGTCTTGAAGTGAGGAT), majd *EcoRV*-emésztés éjszakán át (162/140 és 22 bp fragmentumok).

A 4-es exon-polimorfizmusnál (His139Arg) pedig a következő paraméterekkel végeztük a PCR-t illetve az azt követő emésztést: 30 sec 94 °C, 10 sec 51°C, 60 sec 59 °C (ACATCCACTTCATCCACGT, ATGCCTCTGAGAAGCCAT), *RsaI* endonukleáz éjszakán át (210/164 és 46 bp fragmentumok).

GSTM1 és GSTT1 +/-0 polimorfizmus – szimultán genotipizálás

A Pool-Zobel és munkatársai által közölt módszer (Pool-Zobel, 1998) a két polimorfizmus egyidejű genotipizálását teszi lehetővé, egy belső kontroll jelenlétében (amely a β -globin génnek egy 268 bp hosszúságú szakasza). A reakcióelegy a korábbiaktól eltérően 15 μ l össztérfogban tartalmazott 0,5 U Taq DNS polimerázt (Go Taq, Promega) a hozzá illő Promega PCR-puffert, 2 μ l DNS templátot, 200 μ M dNTP-keveréket és 1,5 mM $MgCl_2$ -ot. A primereket az alábbiak szerint adtuk a reakcióelegyhez (GSTM1, 30-30 pmol: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC és GTTGGGCTCAAATATACGGTGG; GSTT1, 50-50 pmol: TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC és TCACCGGATCATGGCCAGCA; β -globin, 20-20 pmol: CAACTTCATCCACGTTCCACC és GAAGAGCCAAGGACAGGTAC).

A reakció 35 ciklust foglalt magába, mégpedig 60 sec 94 °C, 60 sec 60 °C, 60 sec 72 °C. Az agaróz-gélelektroforézis során a GSTM1 + genotípust 215 bp hosszúságú sáv jelezte, a GSTT1 + genotípus pedig 480 bp hosszúságú sávot adott. A kérdéses sáv hiánya a 0 genotípust jelezte. A PCR-reakció működését a minőségi kontrollként használt β -globin 268 bp hosszúságú fragmentuma mutatta.

GSTP1 Ile105Val polimorfizmus

Az Ile105Val polimorfizmus detektálása PCR-RFLP segítségével történt (Jeronimo, 2002). A polimeráz-lánreakció paraméterei: 30 ciklus, 30 sec 94°C, 30 sec 55°C, and 30 sec 72°C (primerek: ACCCCAGGGCTCTATGGGAA és TGAGGGCACAAGAAGCCCCT). A keletkezett 176 bp fragment emésztése *Bsm*AI restrikciós endonukleázzal a Val allél jelenléte esetén eredményezett 91 és 85 bp hosszúságú fragmentumokat.

NAT2 Lassú/rapid acetiláló polimorfizmus

A NAT2 allélpolimorfizmusokat RFLP alkalmazásával vizsgáltuk, amelyet egy beágyazott (nested) PCR előzött meg (Okkels, 1997). Az amplifikációs reakciót először egy külső (AATTAGTCACACGAGGA és GCAGAGTGATTCATGCTAGA), majd a keletkezett termék egy, valamivel rövidebb fragmentumát tovább amplifikáló belső primerpárral (GCTGGGTCTGGAAGCTCCTC és TTGGGTGATACATACACAAGGG) végeztük. Mindkét PCR-reakció ugyanazokkal a paraméterekkel futott (30 sec 94°C, 30 sec 59°C, 45 sec 72°C), de a külső amplifikáció 25-, a belső pedig 35 ciklusban. Mivel a NAT2 enzimnek számos allélvariánsa létezik, a keletkezett 547 bp hosszúságú terméket különböző restrikciós endonukleázokkal (*Kpn*I, *Taq*I, *Dde*I, *Bam*HI) is emésztettük, és az így kapott mintázat mutatta meg a genotípust. Ez a vizsgálat nem alkalmas az összes létező NAT2 allél azonosítására, de a gyakorlatban mégis jól bevált, hiszen a nem vizsgálható allélek csak nagyon ritkán fordulnak elő. A leírt módszer a NAT 2*4 (vad típusú),

dc_324_11

NAT2*5, NAT2*6 és NAT2*7 alléleket tudja azonosítani. Lassú acetilálónak tekintettük azokat, akiknél a NAT2*4 allél akár homo- akár heterozigóta formában jelen volt.

NAT1 Lassú/rapid acetiláló polimorfizmus

A NAT1 genotipizálás is két egymásba ágyazott PCR-amplifikáció segítségével történt, ami után még az *MbolI* restrikciós enzimmel is emésztést végeztünk (Okkels, 1997). Első lépésben amplifikációt végeztünk az alábbi primerekkel: GATCAAGTTGTGAGAAGAAATCGG, CTAGCATAAATCACCAATTTCCAAG (külső primerek), majd ezután a keletkezett terméket templátként használtuk további amplifikációhoz (belső primerek: GACTCTGAGTGAGGTAGAAAT, CCACAGGCCATCTTTAGAA). Mindkét amplifikáció 25 ciklusból állt (30 sec 94°C, 30 sec 59°C, 45 sec 72°C). A belső primernél aláhúzott bázis egy további, a génben magában jelen nem levő *MbolI* restrikciós emésztési helyet hozott létre a *4 allél amplifikációjánál. A vizsgálat a *10 és *11 alléleket tudja még azonosítani, de nem alkalmas a ritkán előforduló (pl. *3 vagy *14) allélek vizsgálatára. Rapid acetilálónak tekintettük a vizsgált személyt, ha jelen volt nála a NAT1*10 vagy NAT1*11 allél.

*UGT1A1 *1/*28 polimorfizmus*

Az *UGT1A1* gén polimorfizmusa az eddig leírtak többségétől eltérően nem SNP, hanem a TA-repeat szekvenciában található hosszúsági polimorfizmus, amelyet PCR-reakció után elvégzett nagy felbontású, 8%-os (37:1) poliakrilamid gélen történő elektroforézissel detektáltunk. A PCR-reakció paraméterei: 30 ciklus, 60 sec 95°C, 60 sec 60°C, 60 sec 72°C. Az alkalmazott primerek: (GTCACGTGACACAGTCAAAC és TTTGCTCCTGCCAGAGGTT) 100 bp hosszúságú fragmentumot amplifikáltak, amelynek hossza az Ins/Del polimorfizmus kapcsán 2 bázispárral változott (Fang, 2004).

XRCC1 Arg194Trp polimorfizmus

Primerek: 5'-GCC AGG GCC CCT CCT TCA A -3', 3'-TAC CCT CAG ACC CAC GAG T -5'.

PCR-reakció: 2 perc 95°C-on, majd 35 ciklus: 30 sec 94°C, 30 sec 57°C és 45 sec 72°C, és végül 7 perc 72°C. Az amplifikálódott 485 bp hosszú terméket *PvuII* restrikciós endonukleázzal (2 U enzim/minta) 12 órát emésztettük. Mivel *PvuII* hasítási helyet csak a Trp allél tartalmazza, ezért az emésztés során a Trp allél esetén egy 396 bp és 89 bp hosszúságú fragment keletkezik. A keletkezett termékeket 2 %-os ethidium-bromidot tartalmazó agaróz gélben elektroforézissel tettük láthatóvá, amikor az Arg homozigótákat egyetlen egy 485 bp hosszúságú fragment, a Trp homozigótákat két fragment (396 bp és 89 bp), a heterozigótákat pedig három fragment (485 bp, 396 bp, 89 bp) azonosított (Xing, 2002)

dc_324_11

XRCC1 Arg399Gln polimorfizmus

Primerek: 5'- TTG TGC TTT CTC TGT GTC CA -3', 3'- TCC TCC AGC CTT TTC TGA TA -5'.

PCR reakció: 5 perc 94°C-on, majd 35 ciklus: 30 sec 94°C, 35 sec 61°C, és 45 sec 72°C, és végül 7-perc 72°C-on. Az amplifikáció során keletkező 615 bp hosszúságú terméket *MspI* restrikciós endonukleázzal emésztettünk. Az *MspI* hasítási helyet csak az Arg allél tartalmazza, ezért az Arg allél esetén egy 374 bp és egy 221 bp hosszúságú fragment képződik. Az inkubáció után 2 %-os ethidium-bromidot tartalmazó agaróz gélben megfuttattuk a mintákat és az egy 645 bp hosszúságú fragment a Gln allélt hordozókat, a 2 sáv az Arg allélt hordozókat, míg a három sáv a heterozigótákat azonosította (Lunn, 1999).

p53 Arg72Pro polimorfizmus

A 72-es kodon Arg/Pro genotipizálás allélspecifikus polimeráz-lánreakció (PCR) segítségével történt (Murata, 1996), melynek során a reakciót két csőben párhuzamosan végeztük, úgy, hogy az 5' primerek az utolsó bázisukban különböztek egymástól. Amplifikáció abban a csőben történt, ahol az 5' primer szekvenciája teljes egészében komplementer volt az adott allél bázissorrendjével (ill. heterozigótáknál mindkét csőben). A PCR reakcióelegy: 20 µl ösztérfogatban az alábbi volt: 5 µl templát DNS oldat (0,1 µg/µl DNS-koncentráció) 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0,1% Triton X-100, 2 µg/ml bovin szérumalbumin, 4x0,2 mM dNTP, 0,5 U *Taq* DNS-polimeráz (PROMEGA), 1-1 µM primer. A reakció további paraméterei: 30 ciklus: 30 ciklus: 60 sec 94 °C, 60 sec 60 °C, 60 sec 72°C. A primerek szekvenciája az alábbi volt:

3': GCAACTGACCGTGCAAGTCA

5': ATGCCAGAGGCTGCTCCCCG

ATGCCAGAGGCTGCTCCCCG

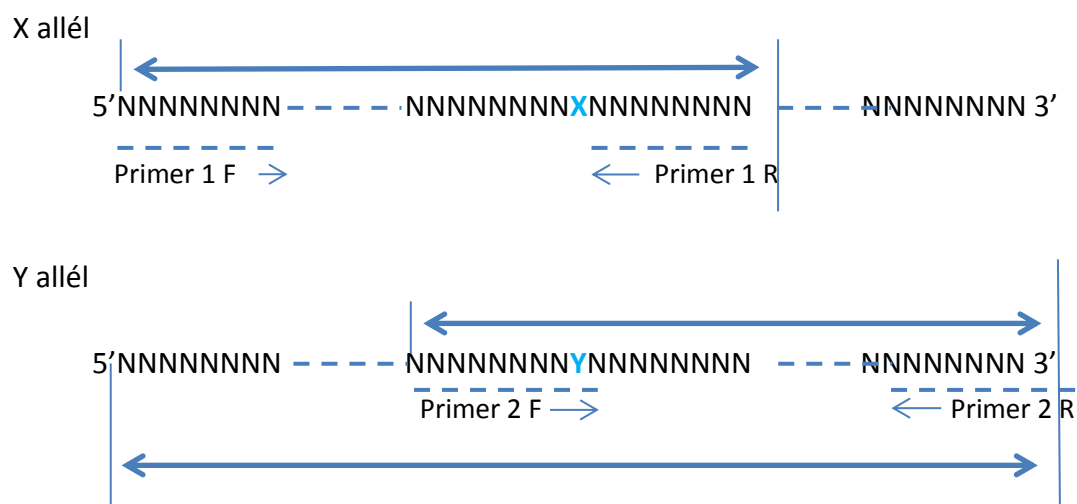
Az amplifikáció után 2%-os agaróz gélben történő elektroforézissel ellenőriztük, hogy melyik 5' primer eredményezett amplifikációt.

miR-146a rs2910164

A miR-146a genotipizálás a konfrontálódó primer-párok módszerével történt (Hamajima, 2000; Hishida, 2011). A módszer lényegét az 13. ábra illusztrálja. A két primer-pár úgy lett megtervezve, hogy az 1. párnál a reverz primer utolsó bázisa, míg a másik primer párnál pedig a forward primer essen a vizsgált SNP helyére. Az első primer az egyik, a második primer a másik alléllal teljesen komplementer, így jelen esetben az alábbi amplifikációs változatokat kapjuk: Mindenképpen keletkezik egy közös, 261 bp hosszúságú fragmentum (1. pár forward és 2. pár reverz primere), a C

dc_324_11

allélt hordozóknál emellett egy 128 bp fragmentum is jelen lesz (1. primer pár), míg a G allél pedig egy 182 bp hosszúságú terméket generál (2. primer pár). A PCR-reakciót 15 µl össztérfogatban végeztük, a következő reakcióelegyben: 1,5 mM MgCl₂, 200 pM dNTP, 1 pM primer, 0,5 U Taq DNS polimeráz (Go Taq, Promega), 1X puffer (Promega), 0,5 µg DNS templát. További paraméterek: 35 ciklus, 60 sec 95 C°, 60 sec 63 C°, 60 sec 72 C°.



13. ábra: A konfrontálódó primer-párok módszerével történő miR-146a genotipizálás
(Hamajima, 2000; Hishida, 2011)

DRD2/ANKK1 TaqIA polimorfizmus

A genotipizálást PCR-RFLP segítségével végeztük (Eisenberg, 2008). A PCR reakcióelegy összetétele a GSTM1-GSTT1 genotipizálásnál leírttól annyiban tért el, hogy 2,5 mM MgCl₂-ot alkalmaztunk, és az alábbi primereket használtuk (0,5-0,5 µM): 5'CACGGCTGGCCAAGTTGTCTA3', 5'CACCTTCCTGAGTGTCATCAA3'. A reakció paraméterei a következők voltak: kezdeti denaturáció 5 percre, 95°C-on, majd ezután 40 ciklus a alábbiak szerint: 30 sec 94 C°, 30 sec 55 C°, 60 sec 72 C°. Hét perces, 72°C-on történő végső extenzió és TaqI restrikciós endonukleázzal történő emésztés után a keletkezett fragmentumokat 1,4%-os agaróz-gélelektroforézissel választottuk el. Az A1 homozigóták esetén egy fragmentum (300 bp), az A2 homozigótáknál pedig 2 fragmentum (125 és 175 bp) volt látható, míg a heterozigótáknál mindhárom DNS-fragmentum jelen volt.

HPV-vizsgálat

A cervixkarcinoma vagy diszplázia kialakulási kockázatának tisztázását célzó vizsgálatokban a résztvevők egy részére vonatkozóan a kórtörténeti adatokból rendelkezünk a HPV-státuszra vonatkozó információval. Azoknál a résztvevőknél, akiknél ilyen adatok nem voltak, de archív anyagok rendelkezésre álltak, ezekből magunk végeztük el a HPV-genotipizálást. Ez a tipizálás a HPV 16-os és 18-as típusának kimutatására alkalmas beágyazott (nested) PCR metodika (Nawa, 1993). A külső primerekkel a vírus-nukleinsav egy nagyobb szakaszát amplifikáltuk, majd a belső, típus-specifikus primerek segítségével azonosítottuk a 16-os vagy 18-as genotípust, illetve azok hiányát. Külső primerek: ACCGAAAACGGTTGAACCGAAAACGGT, AATAATGTCTATATTTACTAATT, belső primerek: HPV16: ATGTTTCAGGACCCACAGGA, CCTCACGTCGCAGTAACTGT, HPV18: ATGGCGCGCTTTGAGGATCC, GCATGCGGTATACTGTCTCT. A HPV 16-os típus esetén 124 bp, a 18-as típus jelenlétekor pedig 188 bp hosszúságú termék képződött. A reakciót 15 µl össztérfogatban végeztük, az alábbi elegyben: 1,5 mM MgCl₂, 200 pM dNTP, 1-1 pM primer, 0,5 U Taq DNS polimeráz (Go Taq, Promega), 1X puffer (Promega). Az első amplifikációhoz 0,5 µg DNS templátot használtunk, majd a második reakcióhoz az első mixből vett 0,3 µl mintát tettünk templátként. A PCR-reakciók paraméterei (40-40 ciklus): külső: 90 sec 94 C°, 90 sec 40 C°, 120 sec 60 C°; belső: 30 sec 94 C°, 30 sec 55 C°, és 120 másodperc 70 C°, illetve mindegyik ciklus-sorozat végeztével 10 perc végső elongáció 70 C°-on.

Az amplifikációs reakció saját kontrolljaként a β-globin gén egy szakaszát szimultán amplifikáltuk, amihez a következő primereket használtuk: GAAGAGCCAAGGACAGGTAC, CAACTTCATCCACGTTACC.

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 Helsink 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. 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 recidívamentes volt, 1 betegnél lépett fel recidíva. A génexpresszió-változásokat ennek megfelelően a 17 beteg kezdeti illetve két év utáni értékeit alapul véve hasonlítottuk össze.

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 vizsgálathoz 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 öt éves túléléseiket össze tudjuk vetni a genotípusokkal (vagyis a vizsgálatunk kezdetétől számítva legalább öt évvel korábbi időszakból származzanak).

A 2. csoporton végzett fej-nyaki tumoros vizsgálathoz 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.

dc_324_11

A nem daganatos kontrollcsoportot a szombathelyi fej-nyaki tumoros vizsgálatához hasonlóan a kórház más osztályain kezelt betegekből, ambuláns vizsgálatra jelentkezőkből és egészséges önként vállalkozókból 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 hatásait elemeztük.

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-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 hányánál 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 pozitivitással. 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 – homogenitásra 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 résztvevőkéétől. Ez a csoport nem egy földrajzi régiót képviselt, hanem a résztvevők több régióból, 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.

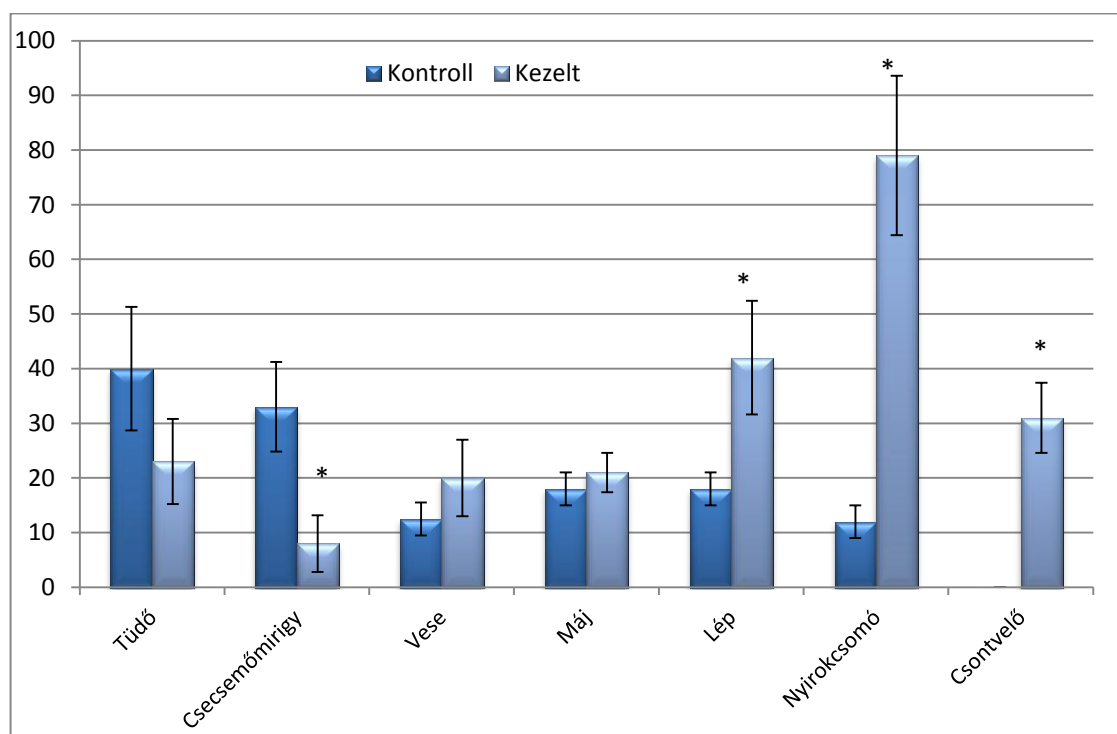
A statisztikai számításokat az SPSS program aktuális verzióival végeztük (jelenleg IBM SPSS ver 20).

Eredmények

Génexpresszió-vizsgálatok eredményei

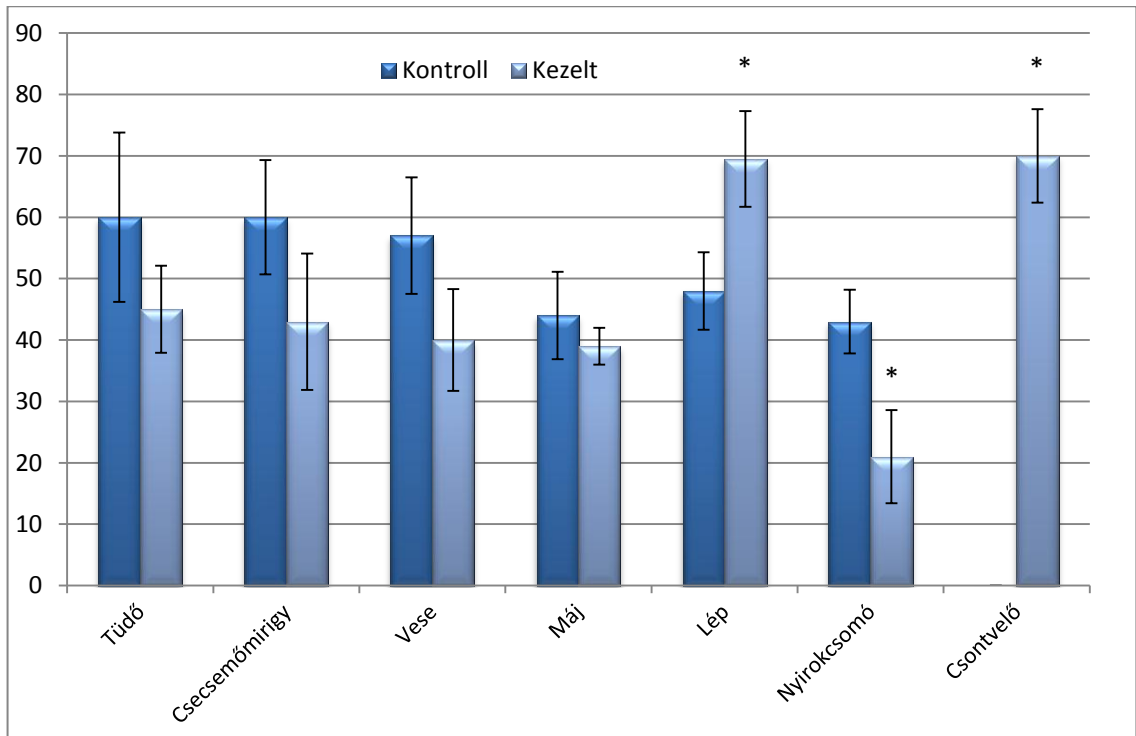
Állatkísérletes vizsgálatok kémiai karcinogénnel

Az 1-NP kezelés hatására bekövetkezett génexpressziókat a 14-16. ábrák mutatják, a kezelt és a kontroll állatoknál egyaránt. A c-myc gén esetén statisztikailag szignifikáns emelkedést (a kezelt állatok értékei magasabbak a kontrolloknál) találtunk 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 összes génexpressziós ábránál *-gal jelöltük a kntrolltól statisztikailag szignifikáns eredményeket ($p < 0,05$).

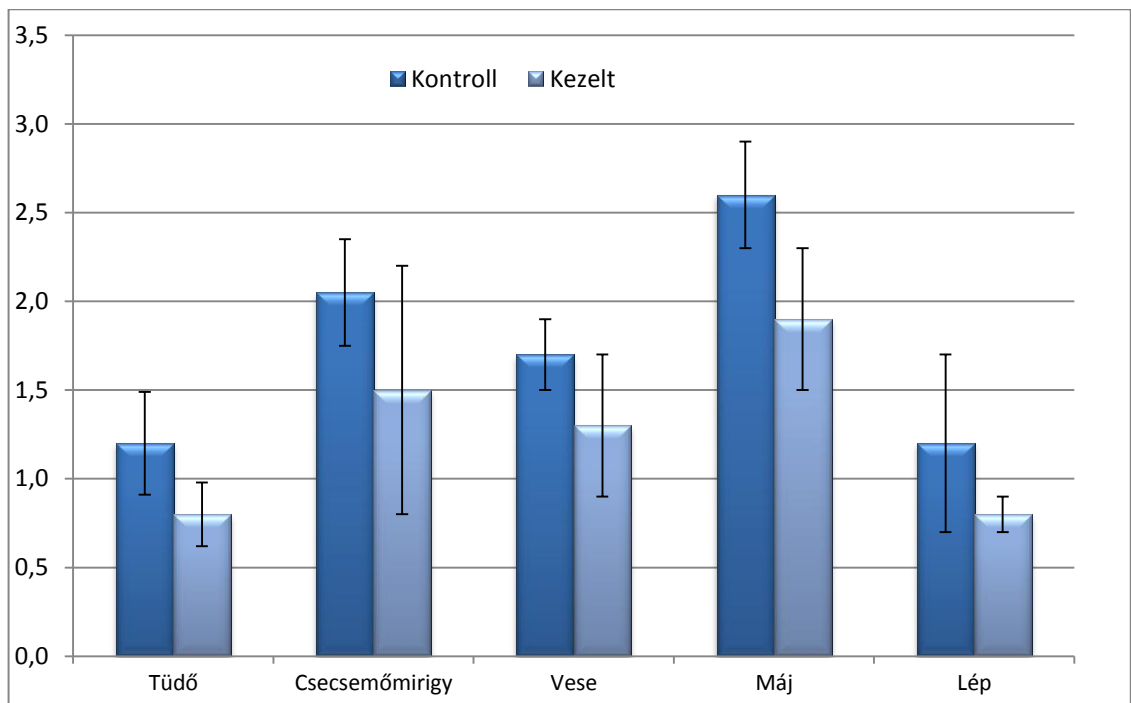


14. ábra: 1-Nitropirén kezelés hatása a c-myc gén expressziójára (24 óra)

dc_324_11



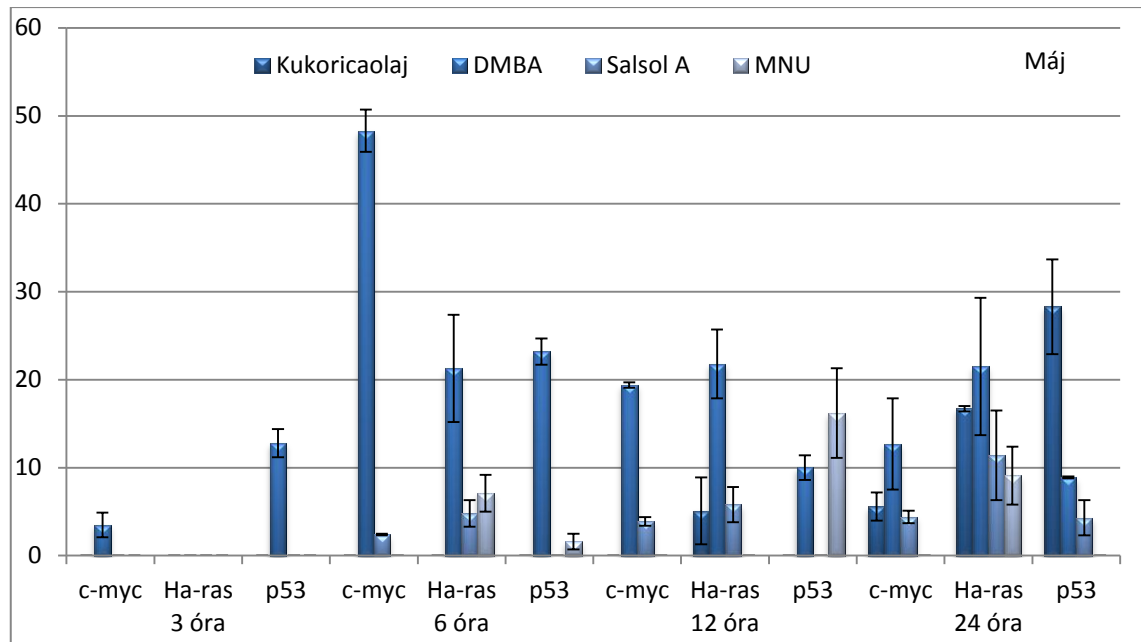
15. ábra: 1-Nitropirén kezelés hatása a p53 gén expressziójára (24 óra)



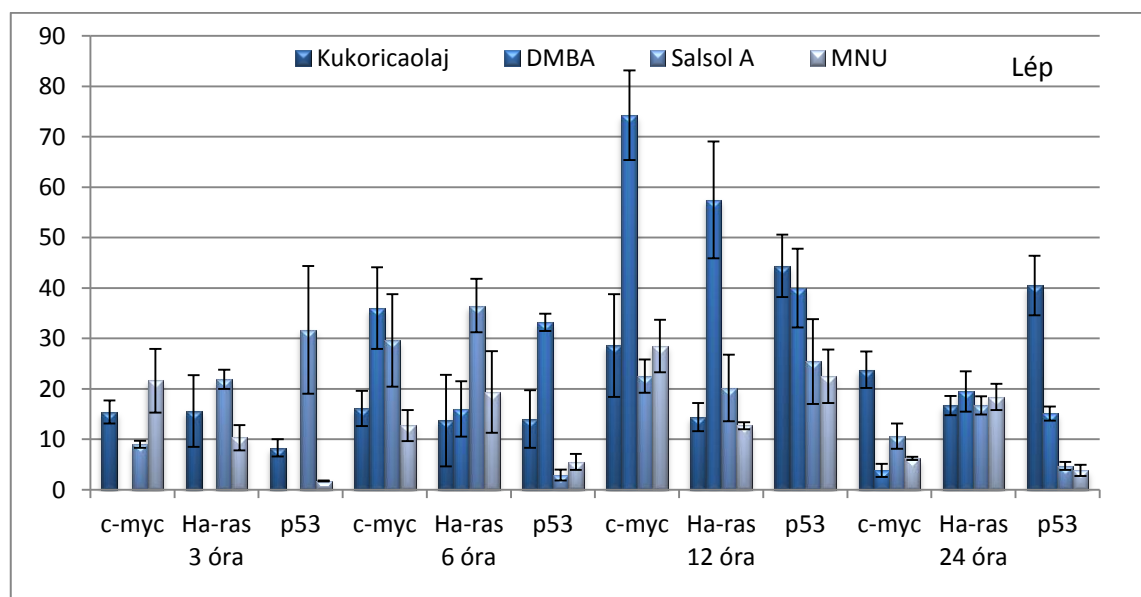
16. ábra: 1-Nitropirén kezelés hatása a Ha-ras gén expressziójára (24 óra)

dc_324_11

Az MNU és DMBA kezelés után mért 3-, 6-, 12- és 24 órás géneexpressziókat szervenként láthatjuk a 17-23. ábrákon. A kukoricaolaj a DMBA kontrolljaként szolgált, míg a Salsol A-t pedig az MNU feloldására és bejuttatására használtuk.

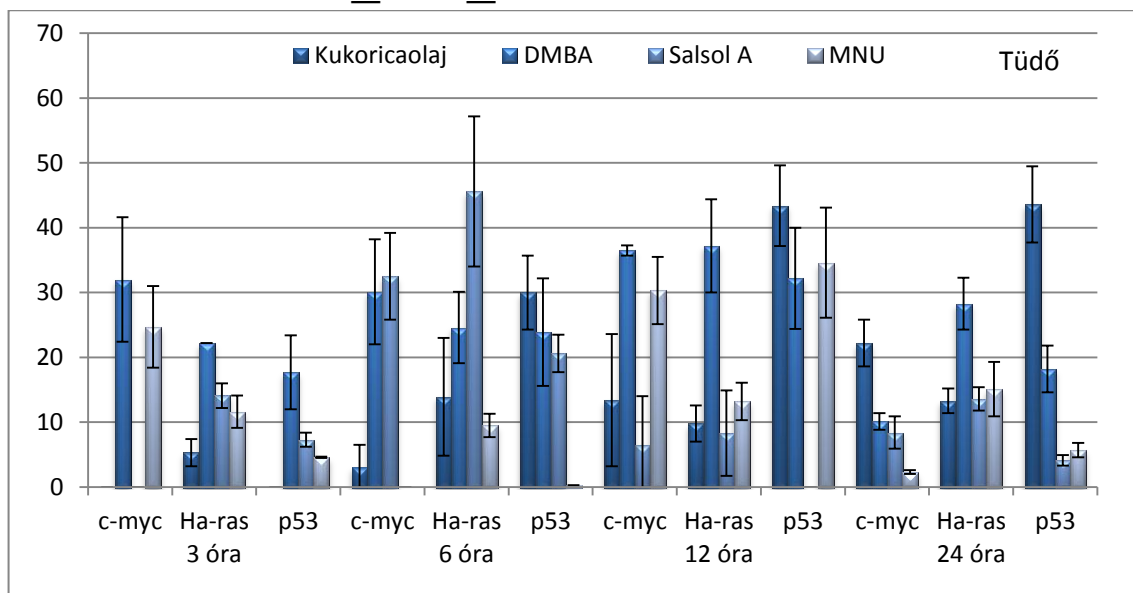


17. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziós mintázata CBA/CA egér májban 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után

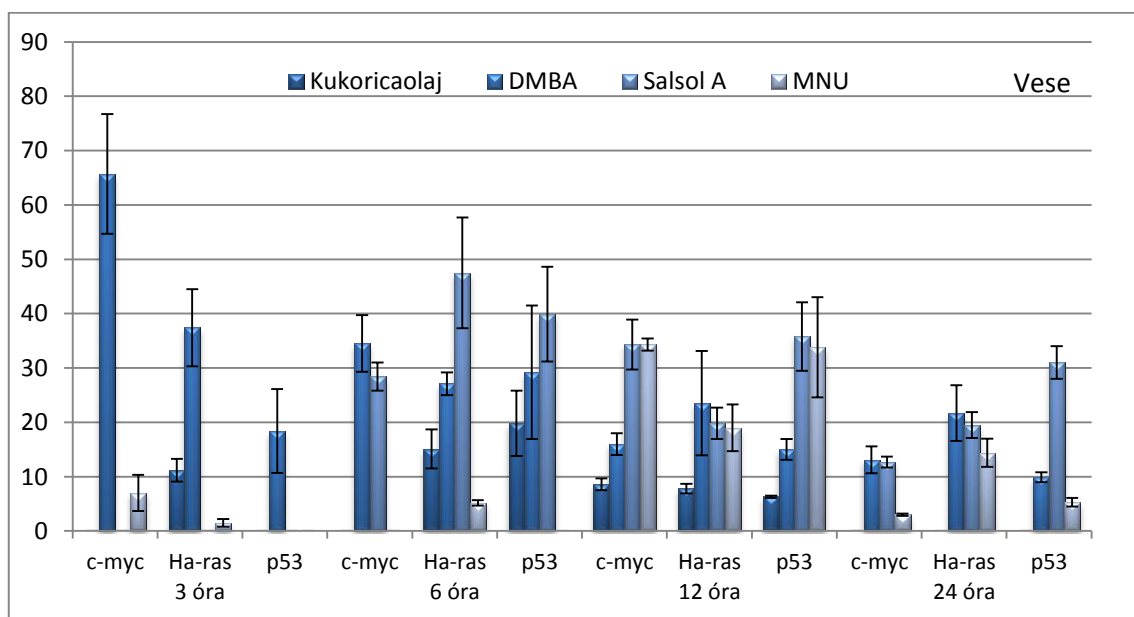


18. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziós mintázata CBA/CA egér lépben 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után

dc_324_11

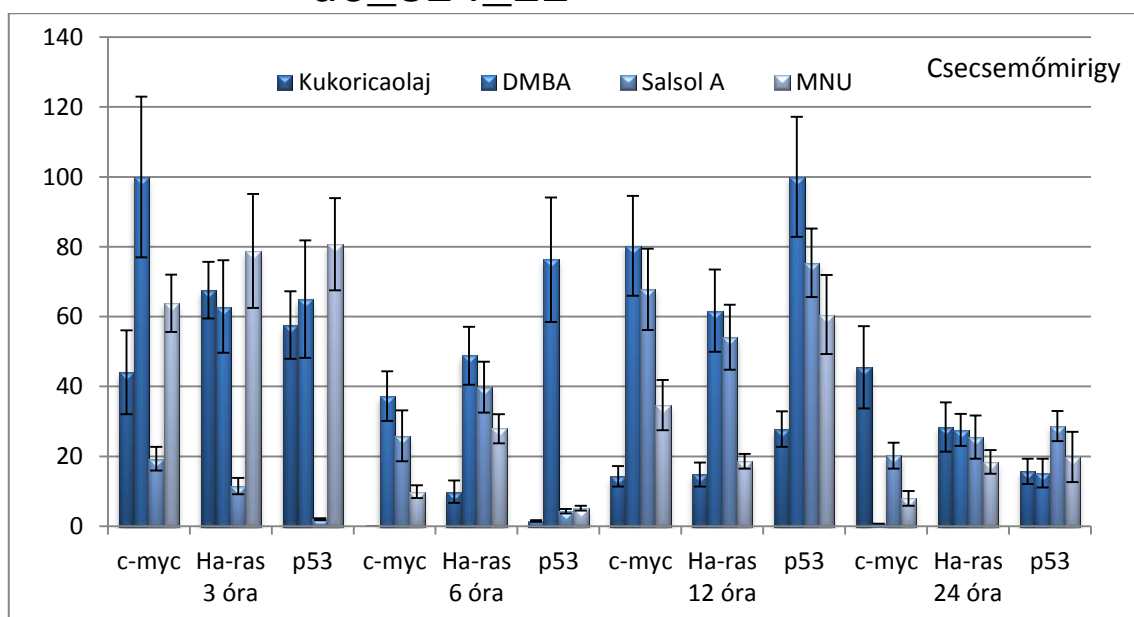


19. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziós mintázata CBA/CA egér tüdőben 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után

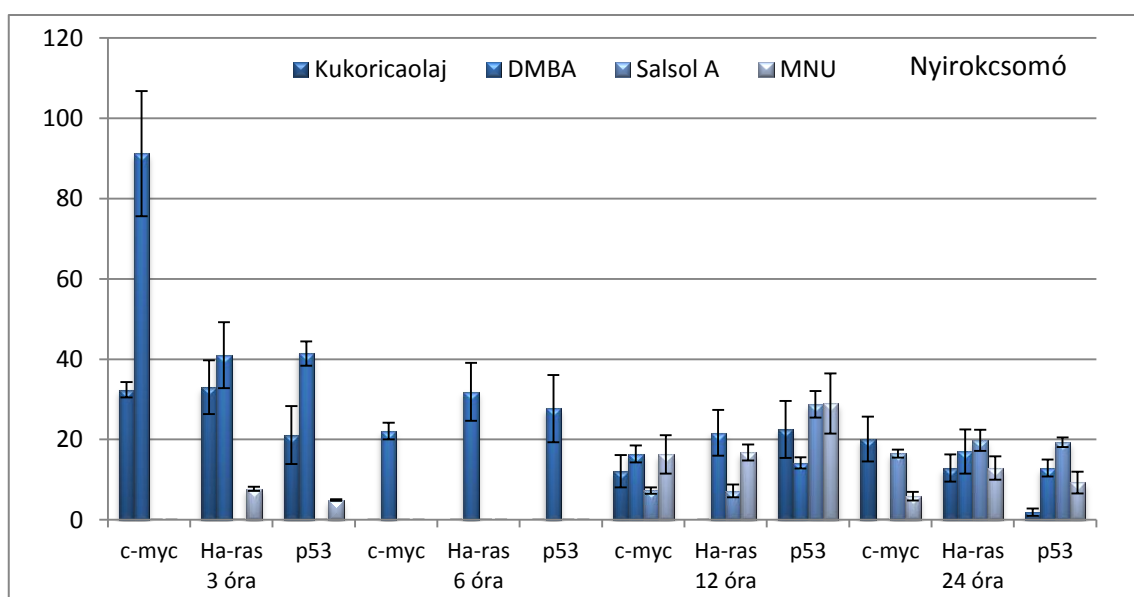


20. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziós mintázata CBA/CA egér vesében 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után

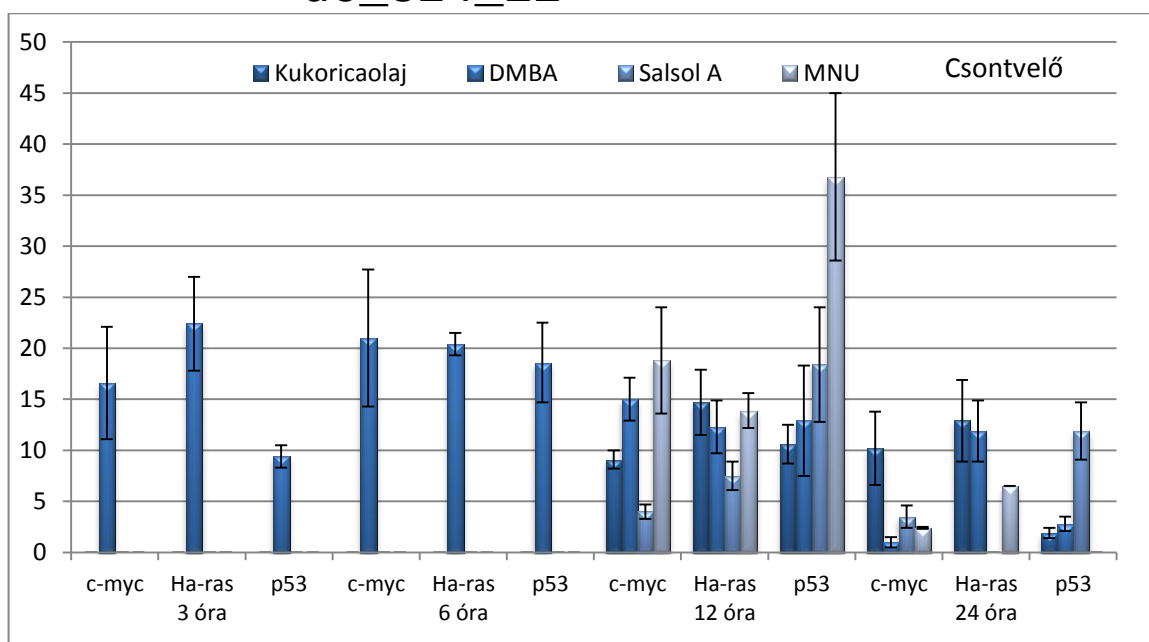
dc_324_11



21. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziós mintázata CBA/CA egér csecsemőmirigyben 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után



22. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziós mintázata CBA/CA egér nyirokcsomóban 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után



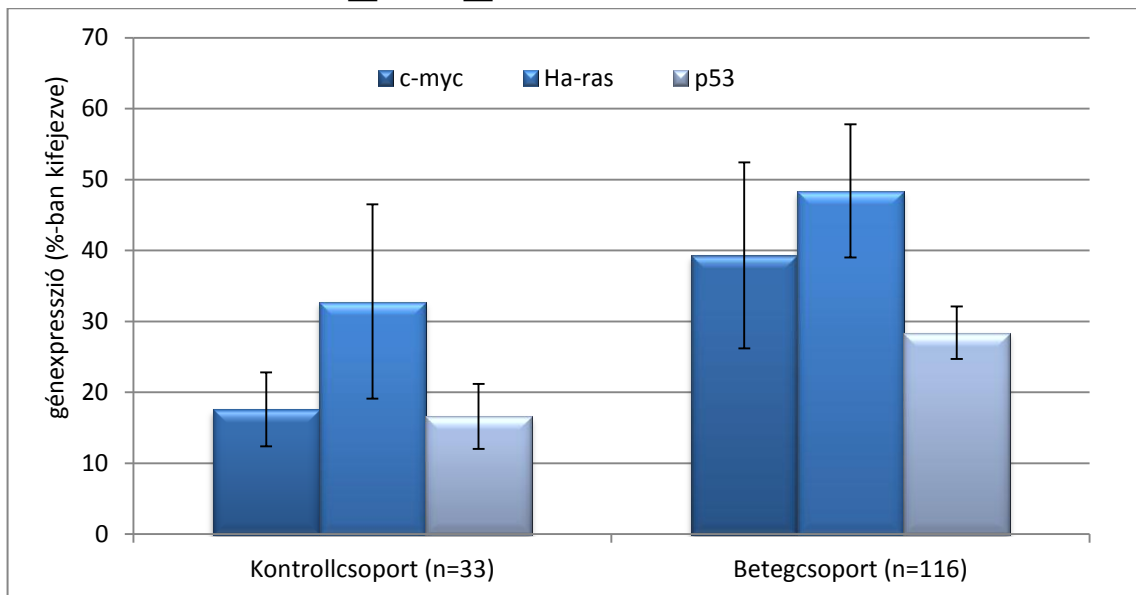
23. ábra: A *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gén expressziós mintázata CBA/CA egér csontvelőben 3, 6, 12 és 24 órával a karcinogén kezelés után

Humán génexpressziók

1. vizsgálati csoport: *Ha-ras*, *c-myc* és *p53* expressziók fej-nyaki daganatos betegekben

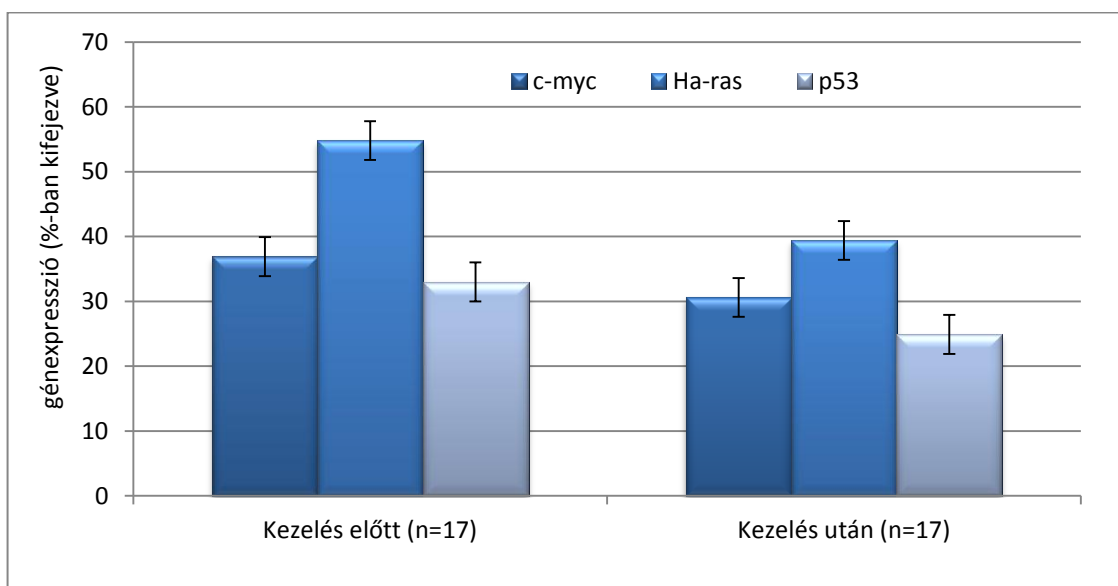
A humán génexpresszió-vizsgálatot fej-nyaki daganatos betegeken végeztük. Első lépésben a betegeken kezelés előtt mért génexpressziókat vetettük össze nem daganatos kontrollcsoport génexpresszióival (24. ábra). Mindhárom vizsgált gén expressziója statisztikailag szignifikánsan magasabb volt a daganatos 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%).

dc_324_11



24. ábra: A fej-nyaki daganatos betegek és a kontrollcsoport génexpressziós mintázata

Azoknál a betegeknél, akiknél lehetőségünk 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, eredményeik a 25. ábrán láthatók. 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 ($p < 0,05$).



25. ábra: A génexpressziós mintázat változása kezelést követően

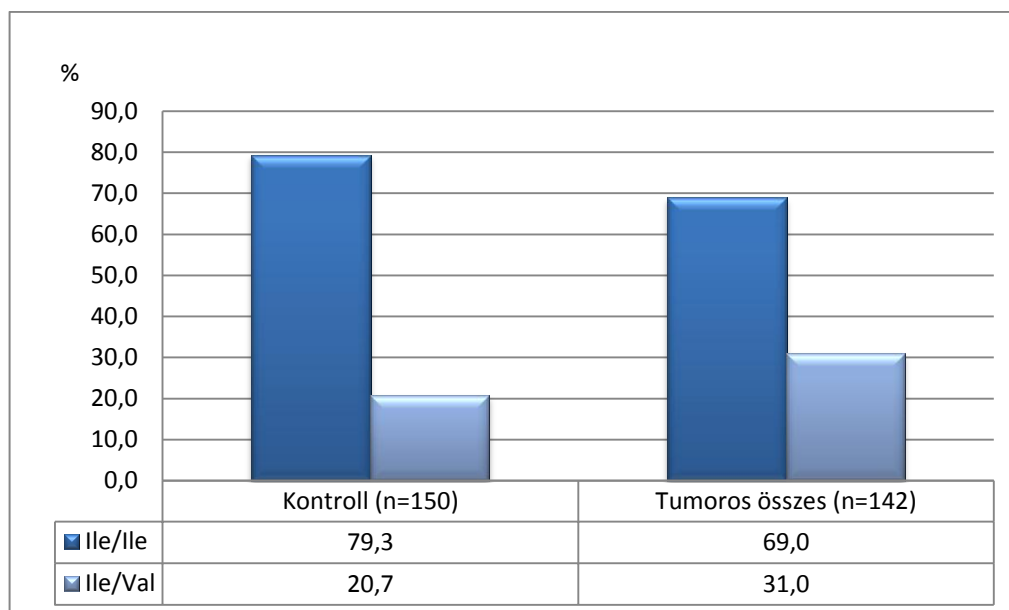
Allélpolimorfizmus-vizsgálatok eredményei

Fej-nyaki daganatokra vonatkozó eredmények

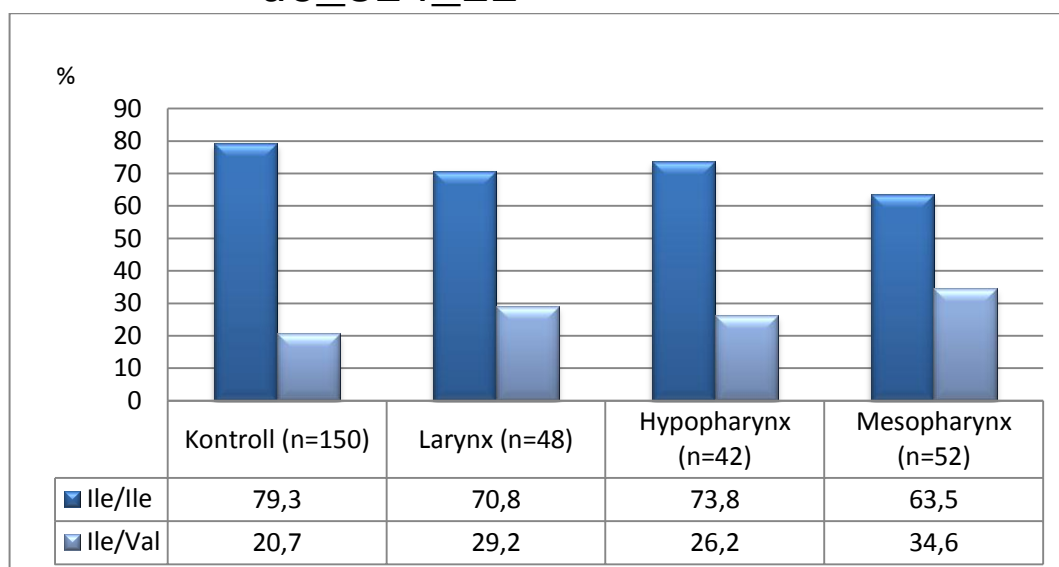
2. populáció: CYP1A1, UGT1A1

A Pécsi Tudományegyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikájának betegein a CYP1A1 és az UGT1A1 allélpolimorfizmusok hatását vizsgáltuk.

A CYP1A1 allélgyakoriságokat az összes betegre nézve a 26. ábra mutatja, míg a tumor-lokalizáció szerinti bontást a 27. ábrán láthatjuk. A daganatos csoportban a 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.

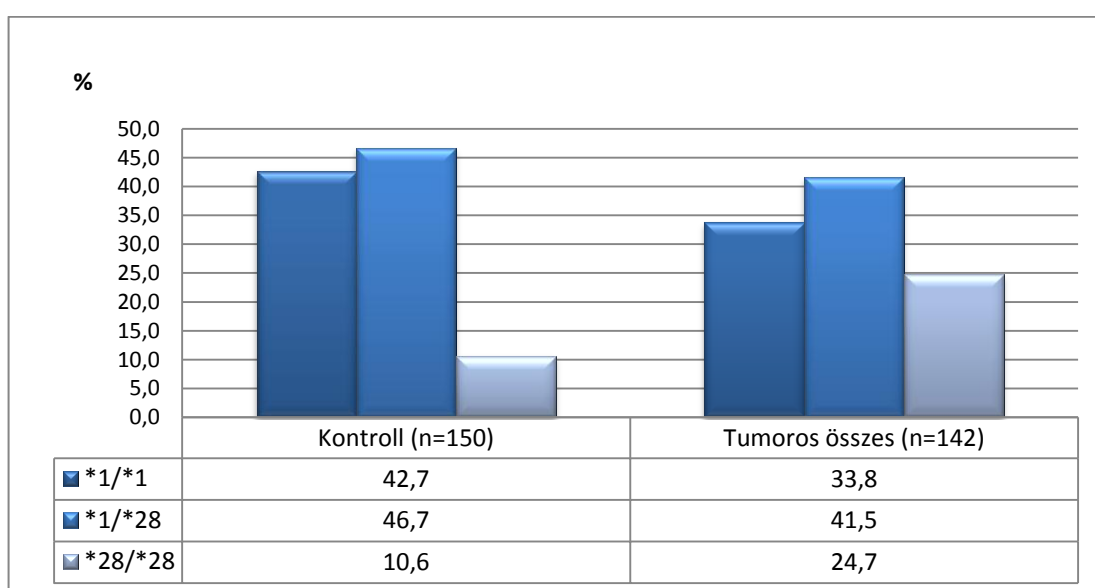


26. ábra: A CYP1A1 genotípusok megoszlása a daganatos betegekben és a kontrollcsoportban

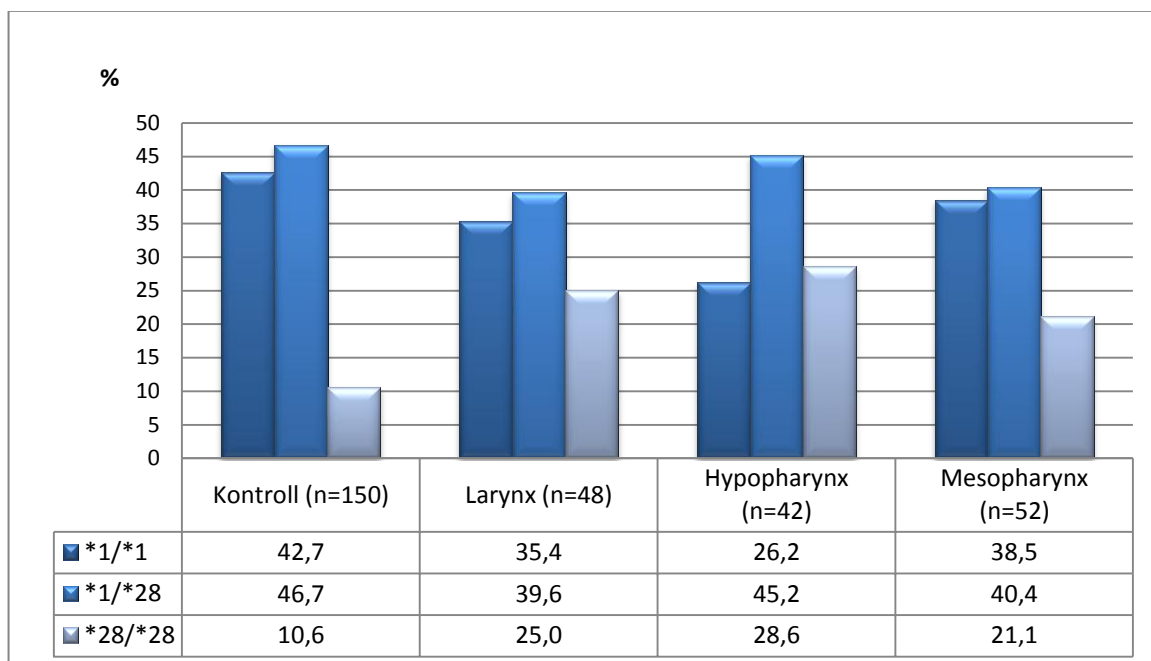


27. ábra: A CYP1A1 genotípusok megoszlása daganatos betegekben (daganattípusonként) és a kontrollcsoportban

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 (28. ábra). 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 (29. ábra). Az UGT1A1*28 homozigóták fej-nyaki daganatos kockázata tehát magasabb, mint a heterozigóták vagy a *1 homozigóták rizikója.



28. ábra: Az UGT1A1 genotípusok megoszlása daganatos betegekben és a kontrollcsoportban



29. ábra: Az UGT1A1 genotípusok megoszlása daganatos betegekben (daganattípusonként) és a kontroll csoportban

Az úgynevezett „dual high-risk” genotípus – azaz mindkét high-risk genotípus egyidejű jelenléte – előfordulását pedig a I. táblázat mutatja. A kettős high-risk genotípus szignifikánsan gyakoribb volt (OR: 2,15, 95% CI: 1,06-4,38) a fej-nyaki daganatos betegek között, mint a kontrollcsoportban.

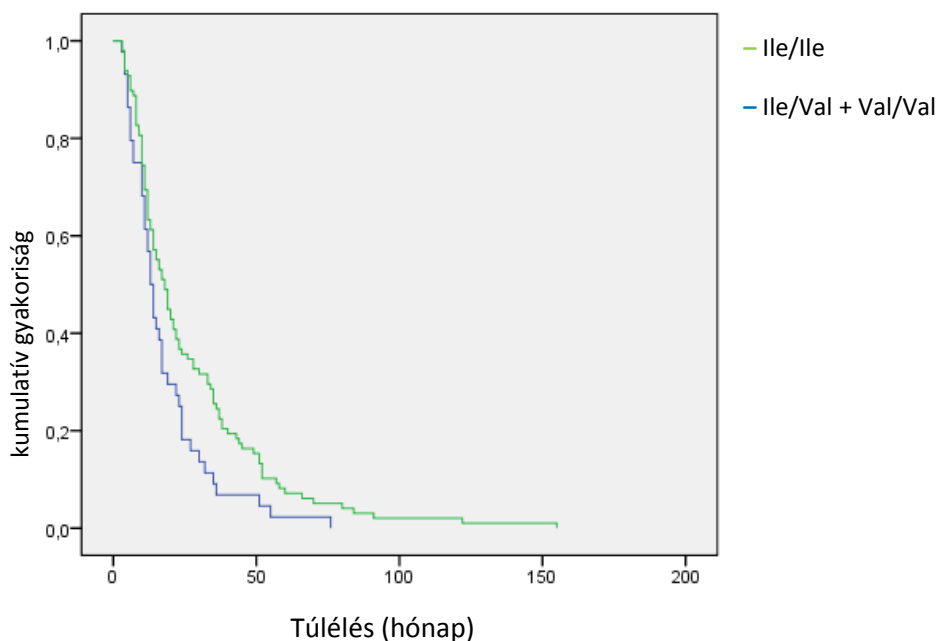
		Kontroll (n=150)	Beteg (n=142)
Mindkét high-risk allél	Igen	16	29
	Nem	134	113

I. táblázat: A kettős high-risk genotípus előfordulási gyakorisága a fej-nyaki daganatos betegek között, illetve 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 30. ábra

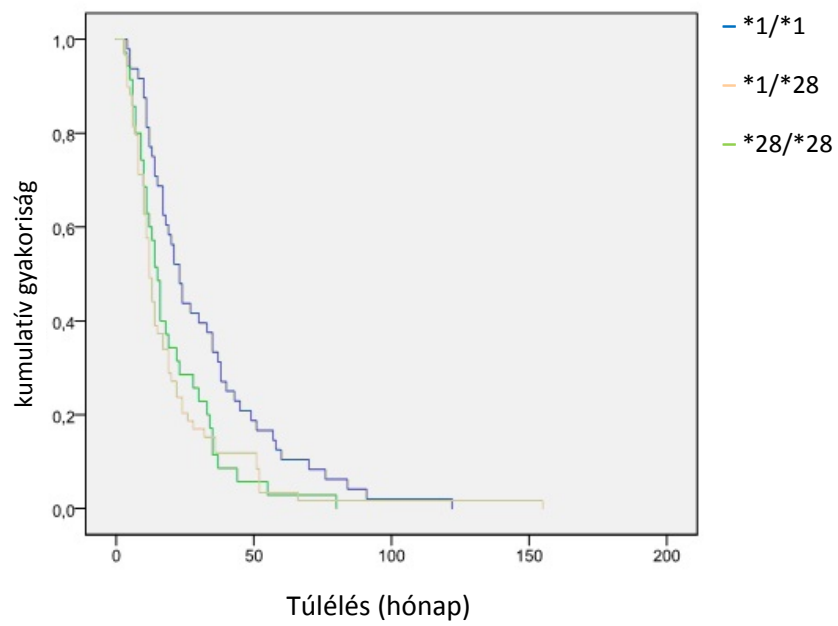
dc_324_11

mutatja, hogy a CYP1A1 Ile-homozigóták túlélési görbéje végig a heterozigóta csoporté felett fut le és ennek megfelelően az Ile-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 (31. ábra). A leghosszabb átlagos túlélést a *1-homozigótáknál találtuk, az ő átlagos túlélésük 31,6 hónap volt, míg a heterozigótáké (19,9 hónap) és a *28-homozigótáké (20,2 hónap) is ennél rövidebb, úgy, hogy e két utóbbi csoport alig különbözött egymástól. 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 összefüggést találtunk, amikor a mindkét high-risk allélt (CYP1A1 Val, UGT1A1 *28) egyaránt hordozók („kettős high-risk genotípus”) túlélését hasonlítottuk össze (32. ábra) a high-risk allélt nem hordozók vagy csak egy high-risk allélt hordozók csoportjával. A kettős high-risk genotípusú betegek (29 személy) átlagos túlélése 14,6 hónap volt, ami statisztikailag szignifikánsan ($p=0,001$) rövidebb volt, mint a csak egy, vagy egy high-risk allélt sem hordozóké (26,4 hónap).

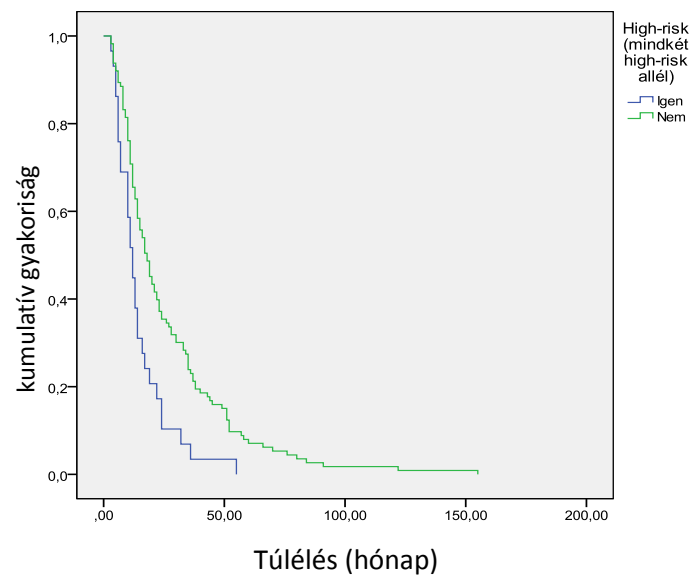


30. ábra: CYP1A1 genotípusok hatása a fej-nyaki daganatos betegek túlélésére

dc_324_11



31. ábra: UGT1A1 genotípusok hatása a fej-nyaki daganatos betegek túlélésére



32. ábra: A CYP1A1/UGT1A1 kettős „high-risk” genotípus hatása a fej-nyaki daganatos betegek túlélésre

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

A kontrollcsoportot 3 tényező alapján illesztettük a betegekhez, mégpedig az életkor, nem és dohányzási szokások. E tényezők alapján a két csoport között különbség az átlagéletkor tekintetében lehetett, mivel itt az illesztést ± 5 év eltérést megengedve végeztük. Éppen ezért elsőként ellenőriztük, hogy valóban megfelelő volt-e az életkor szerinti illesztés, azaz nem volt-e statisztikailag szignifikáns különbség az eset- és a kontrollcsoport között. A betegek átlagos életkora 65,3 (41-82) év volt, a kontrolloké pedig 64,8 (42-80) év, amelyek szignifikánsan nem tértek el egymástól. A nemi megoszlás és a dohányzási kategóriák tekintetében eltérés nem lehetett, mivel ezek nem folyamatos, hanem kategorikus változók voltak, és az illesztést a kategóriáknak megfelelően végeztük. E tényezők alapján a beteg-csoport paraméterei (és az illesztés miatt a kontrolloké is) az alábbiak voltak:

	Dohányzás intenzitása			Dohányzás időtartama (dohányosok)	
	Nemdohányzó	<20/nap	≥20/nap	<30 év	≥30 év
Férfi	42 (11,6%)	129 (35,6%)	191 (52,8%)	124 (38,8%)	196 (61,3%)
Nő	15 (14,2%)	39 (36,8%)	52 (49,1%)	48 (52,7%)	43 (47,3%)
Együtt	57 (12,2%)	168 (35,9%)	243 (51,9%)	172 (41,8%)	239 (58,2%)

II. táblázat. A vizsgálatban részt vevő fej-nyaki daganatos betegek dohányzási szokásai (az illesztés miatt ugyanezeket az arányokat találjuk a kontrollcsoportban is)

A szájjüregi daganatokkal legszorosabban összefüggő tényezőkön kívül (amelyek alapján az illesztést végeztük), további lehetséges kockázati tényezőkről is gyűjtöttünk adatokat, ezek megoszlását az III. táblázat mutatja.

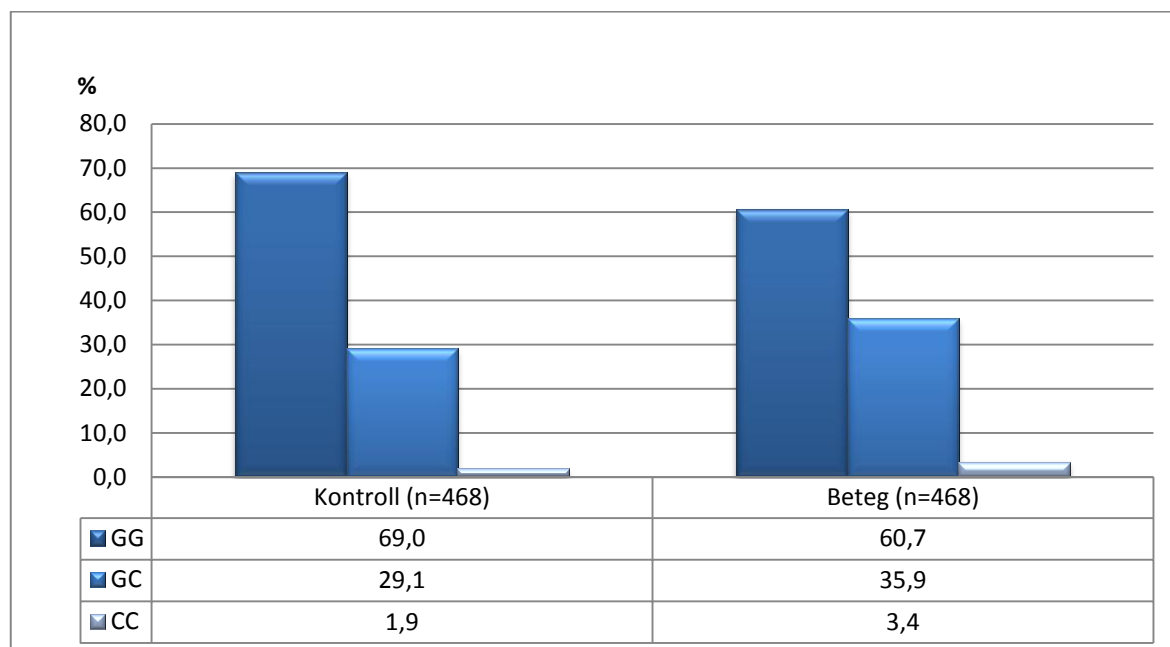
		Kontroll	Beteg
Szájüregi rendellenesség	Nem	305 (65,2%)	239 (51,1%)
	Igen	163 (34,8%)	229 (48,9%)
Alkoholfogyasztás (ital/nap)	Absztinens	142 (30,3%)	68 (14,5%)
	>0 és ≤2	145 (31,0%)	134 (28,6%)
	>2 és ≤5	116 (24,8%)	164 (35,0%)
	>5	65 (13,9%)	102 (21,8%)
Iskolai végzettség	8. osztálynál kevesebb	45 (9,6%)	50 (10,7%)
	Általános iskola, 8 osztály	116 (24,8%)	121 (25,9%)
	Szakiskola, szakmunkásképző	135 (28,8%)	133 (28,4%)
	Gimnázium, szakközépiskola	124 (26,5%)	127 (27,1%)
	Főiskola, egyetem	48 (10,3%)	37 (7,9%)

III. táblázat. A fej-nyaki daganatos betegek és a kontrollok további jellemzői

A táblázatból kitűnik, hogy még a kontrollcsoportban is igen gyakori volt a szájüregi problémák előfordulási gyakorisága (34,8%), ami a hazai szájhyiének szokások elégtelenségére, a szájhyiének elhanyagolására hívja fel a figyelmet. Mivel krónikus szájüregi rendellenességek még gyakrabban fordultak elő a fej-nyaki daganatos betegek között (48,9%), a két csoport közti 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 ($p = 0,21$).

dc_324_11

A pre-miR-146a allélmegoszlások elemzése előtt megvizsgáltuk az allélgyakoriságokat, és megállapítottuk, hogy azok mindegyik csoportban megfeleltek a Hardy-Weinberg egyensúlynak. Az egyes genotípusok megoszlását a betegek és a kontrollok között az alábbi ábra mutatja:



33. ábra: A pre-miR-146a rs2910164 genotípusok megoszlása fej-nyaki daganatos betegek között és a kontrollcsoportban

Vizsgálatunk adatai alapján a magyar népességben a G alléljal 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 (Akkız, 2011). A betegek között a kontrollokénál 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%). A leíró statisztikák után logisztikus regressziószámítással elemeztük a vizsgált tényezők és a fej-nyaki daganatok közötti kapcsolatot (IV. táblázat). Eszerint a daganatkialakulás statisztikailag szignifikáns kapcsolatban volt a szájjüregi 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 szájjüregi 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 kockázatonővelő hatását, mind heterozigóták, mind C/C homozigóták vonatkozásában.

		OR (95% CI)	<i>p</i> -érték
Szájüregi betegség (van vs. nincs)		1,87 (1,43-2,45)	<0,001
Alkoholfogyasztás (ital/nap) (az absztinens csoporthoz viszonyítva)	>0 és ≤2	1,87 (1,28-2,73)	0,001
	>2 és ≤5	2,97 (2,03-4,34)	<0,001
	>5	3,35 (2,18-5,17)	<0,001
Pre-miR-146a (a GG genotípushoz viszonyítva)	GC	1,46 (1,10-1,95)	0,009
	CC	2,37 (1,01-5,60)	0,048
	<i>GC + CC</i>	<i>1,52 (1,15-2,01)</i>	<i>0,004</i>

IV. táblázat. A vizsgált kockázati tényezők és a fej-nyaki laphámrákok közötti kapcsolat elemzése

Miután a vizsgált populáció egészére nézve beigazolódott a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus kockázatmódosító szerepe, rétegzett analízissel (V. táblázat) 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.

		OR (95% CI) (CC + GC vs. GG)	p-érték
Nem	Férfi	1,44 (1,04-1,98)	0,026
	Nő	1,84 (1,01-3,34)	0,045
Dohányzási gyakoriság	Nemdohányos	0,97 (0,41-2,27)	0,944
	<20/nap	1,48 (0,91-2,42)	0,117
	≥20/nap	1,68 (1,14-2,47)	0,009
Dohányzás időtartama (dohányosok)	<30 év	1,29 (0,81-2,06)	0,281
	≥30 év	1,88 (1,26-2,81)	0,002

V. táblázat. A pre-miR146-a rs2910164 polimorfizmus és a fej-nyaki daganatok kockázata közötti kapcsolat nem és dohányzási szokások szerint rétegzett elemzése

4. populáció: XRCC1 allélpolimorfizmus vizsgálatok eredményei

A Szombathelyi Markusovszky Kórház beteganyagán ugyancsak fej-nyaki daganatos betegeket vizsgáltunk, az XRCC1 gén két polimorfizmusára nézve (VI. táblázat). Az Arg194Trp polimorfizmus tekintetében volt ugyan különbség az egyes allélek megoszlását illetően, de ez nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. Amint azt a táblázat illusztrálja, 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, sem Arg/Trp vs. Arg/Arg (OR: 0,55; 95% CI: 0,28-1,07), sem Trp/Trp vs. Arg/Arg (OR: 0,46; 95% CI: 0,04-3,26) összehasonlításban, és akkor sem, ha az összes Trp-hordozót (akár homo- akár heterozigóta) 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.

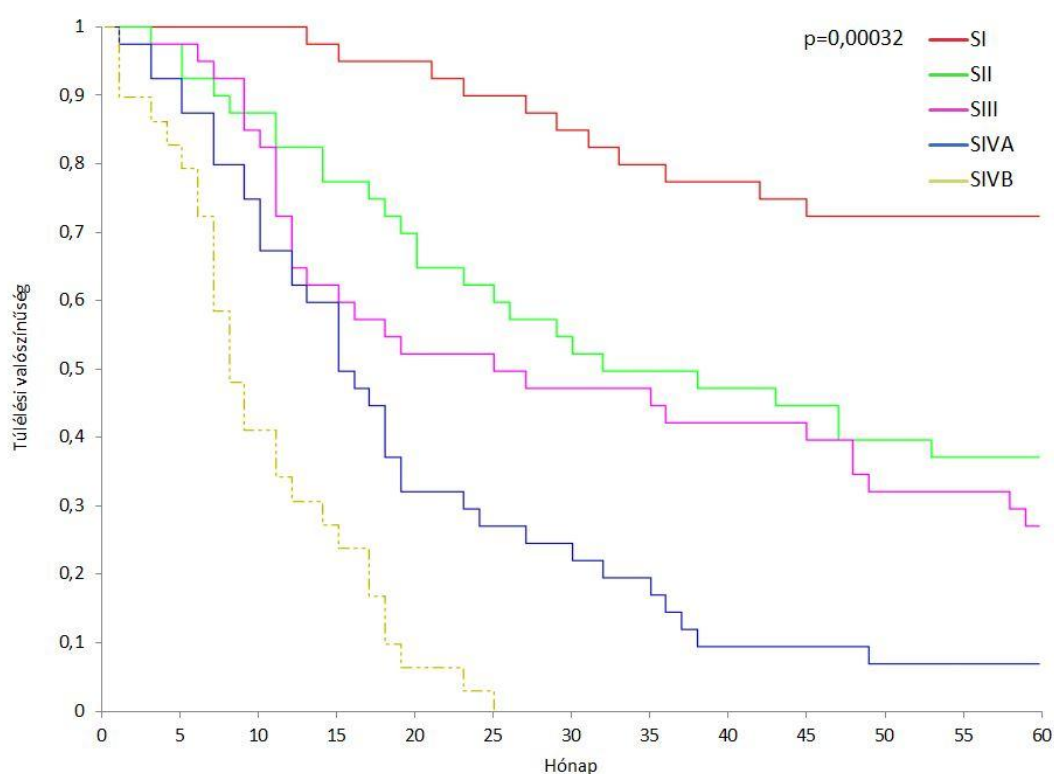
dc_324_11

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 kockázatnövelő hatása a hatás nem volt statisztikailag szignifikáns.

Genotípus		Esetek (n=189)	Kontroll (n=189)	OR (95% CI)
194-es kodon	Arg/Arg	169 (89,4%)	155 (82,0%)	referencia
	Arg/Trp	18 (9,5%)	30 (15,9%)	0,55 (0,28-1,07)
	Trp/Trp	2 (1,1%)	4 (2,1%)	0,46 (0,04-3,26)
	Arg/Trp + Trp/Trp	20 (10,6%)	34 (18,0%)	0,54 (0,71-1,01)
399-es kodon	Arg/Arg	79 (41,8%)	104 (55,0%)	referencia
	Arg/Gln	89 (47,1%)	71 (37,6%)	1,65 (1,05-2,59)
	Gln/Gln	21 (11,1%)	14 (7,4%)	1,97 (0,89-4,40)
	Arg/Gln + Gln/Gln	110 (58,2%)	85 (44,9%)	1,70 (1,11-2,61)

VI. táblázat: XRCC1 Arg194Trp és Arg399Gln allélmegoszlások a fej-nyaki daganatos betegek és a kontrollok között

A másik fej-nyaki daganatos vizsgálatunkhoz hasonlóan a kockázati analízis után itt is elemeztük az egyes allélek esetleges prognosztikus szerepét, vagyis, hogy a különböző genotípusú betegek túlélése eltért-e egymástól. Ezt megelőzően, még genotípusok szerinti bontás nélkül megvizsgáltuk, mintegy ellenőrzésképpen, hogy a túlélést miként befolyásolja a betegség stádiuma (34. ábra). Itt sikerült reprodukálni azt a jól ismert összefüggést, miszerint késői stádiumokban az ötéves túlélési arányok egyre rosszabbak: SI stádium – 72,5%, SII stádium – 37,5%, SIII stádium – 27,5%, SIVA stádium – 7,5%-a, SIVB – 0% (p=0,00032).

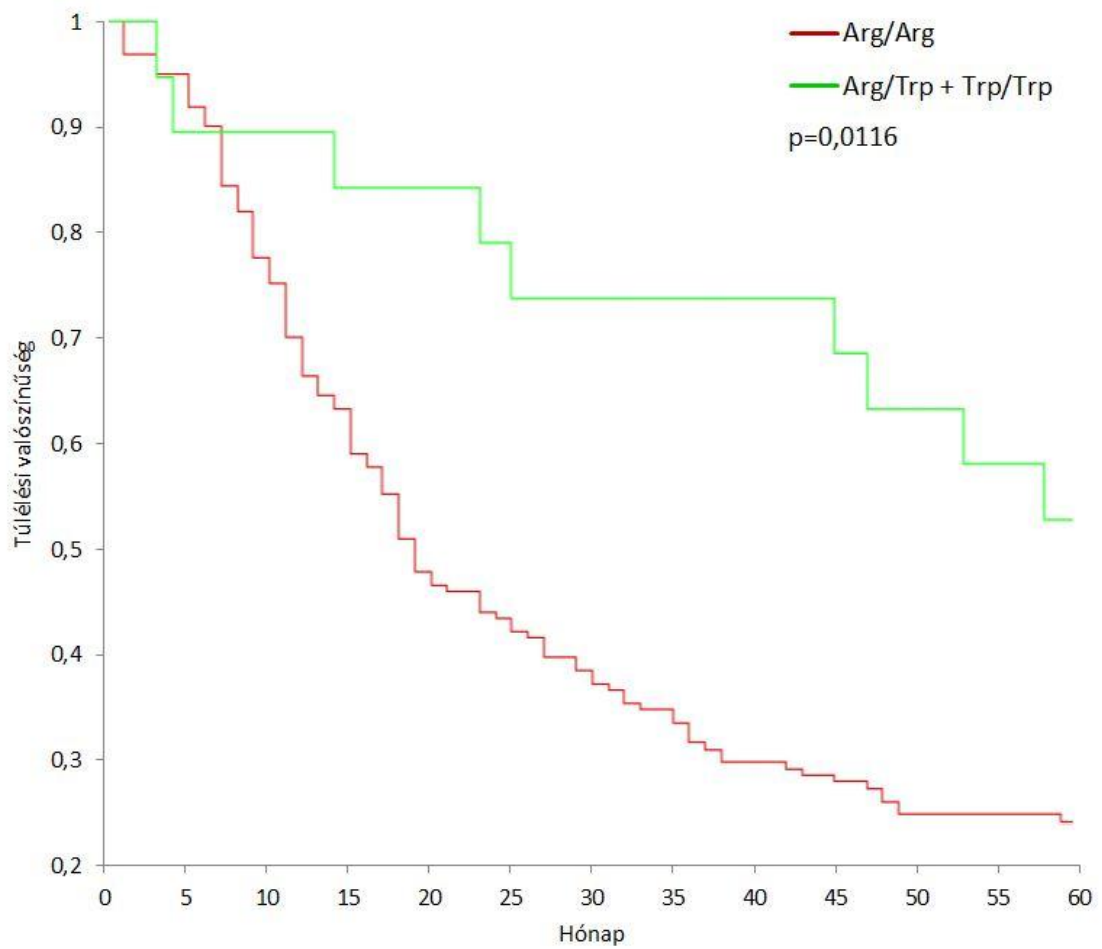


34. ábra: A fej- nyaki daganatos betegek túlélése, a betegség stádiumai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)

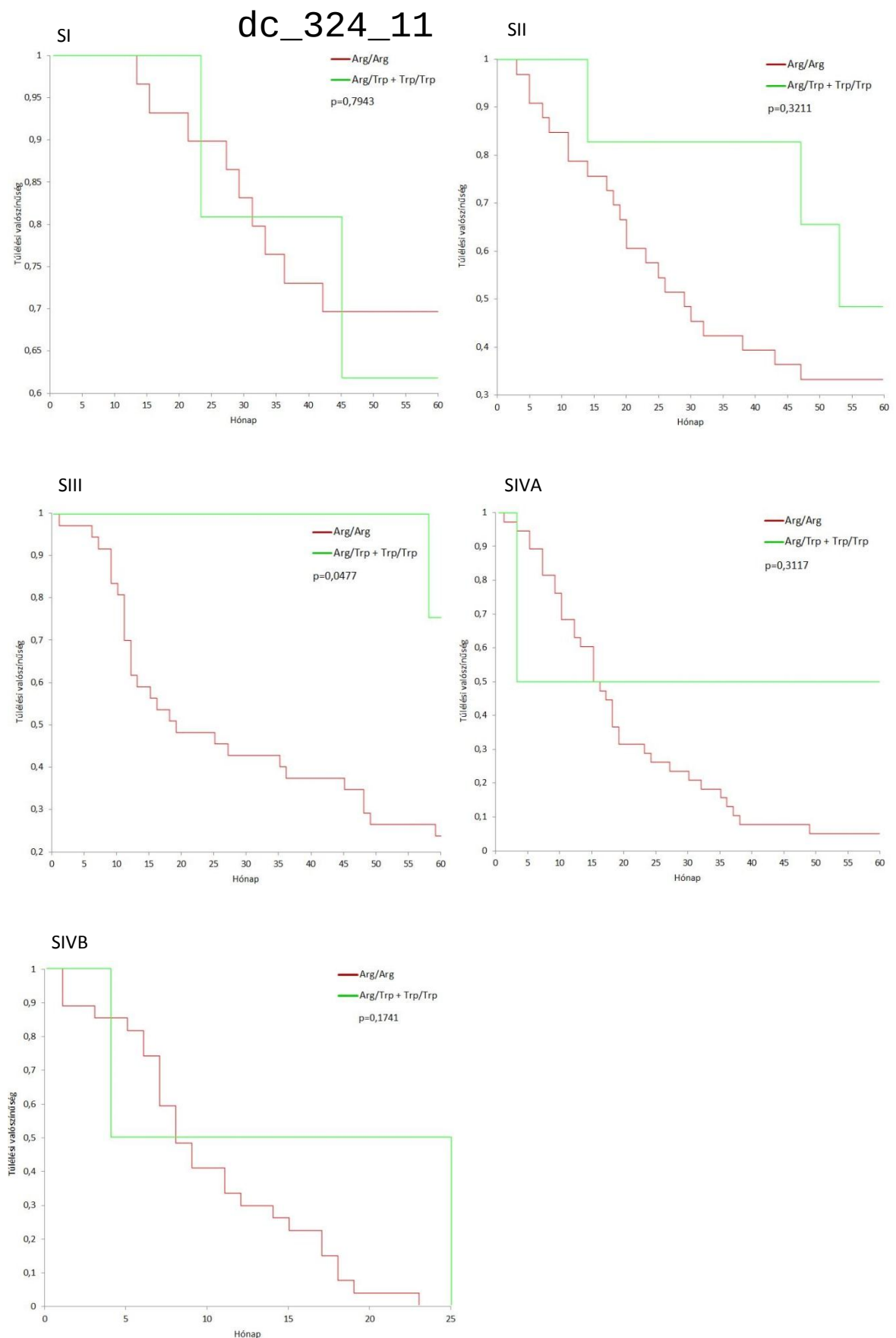
Ezután elsőként a Arg194Trp polimorfizmus túlélésre gyakorolt hatását elemeztük, egyrészt a teljes betegcsoportra (35. ábra), másrészt pedig stádiumonkénti csoportosításban (36. ábra). A teljes beteganyag vonatkozásában statisztikailag szignifikáns összefüggést találtunk ($p=0,0116$), az Arg-homozigóták túlélése rosszabb volt, mint a Trp allélt homo- vagy heterozigóta formában hordozóké.

A stádiumonkénti analízis során úgy találtuk, hogy az SIII stádiumú betegek túlélésére gyakorolt statisztikailag szignifikáns hatást az Arg194Trp genotípus: a teljes betegcsoporthoz hasonlóan itt is az Arg194 homozigóták túlélése volt rosszabb. Bár még az SII stádiumnál is látszólag jelentősen eltér a különböző genotípusú betegek túlélési görbéje, de az összefüggés itt nem bizonyult szignifikánsnak.

dc_324_11



35. ábra: A fej- nyaki daganatos betegek túlélése, a betegek XRCC1 Arg194Trp polimorfizmus genotípusai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)

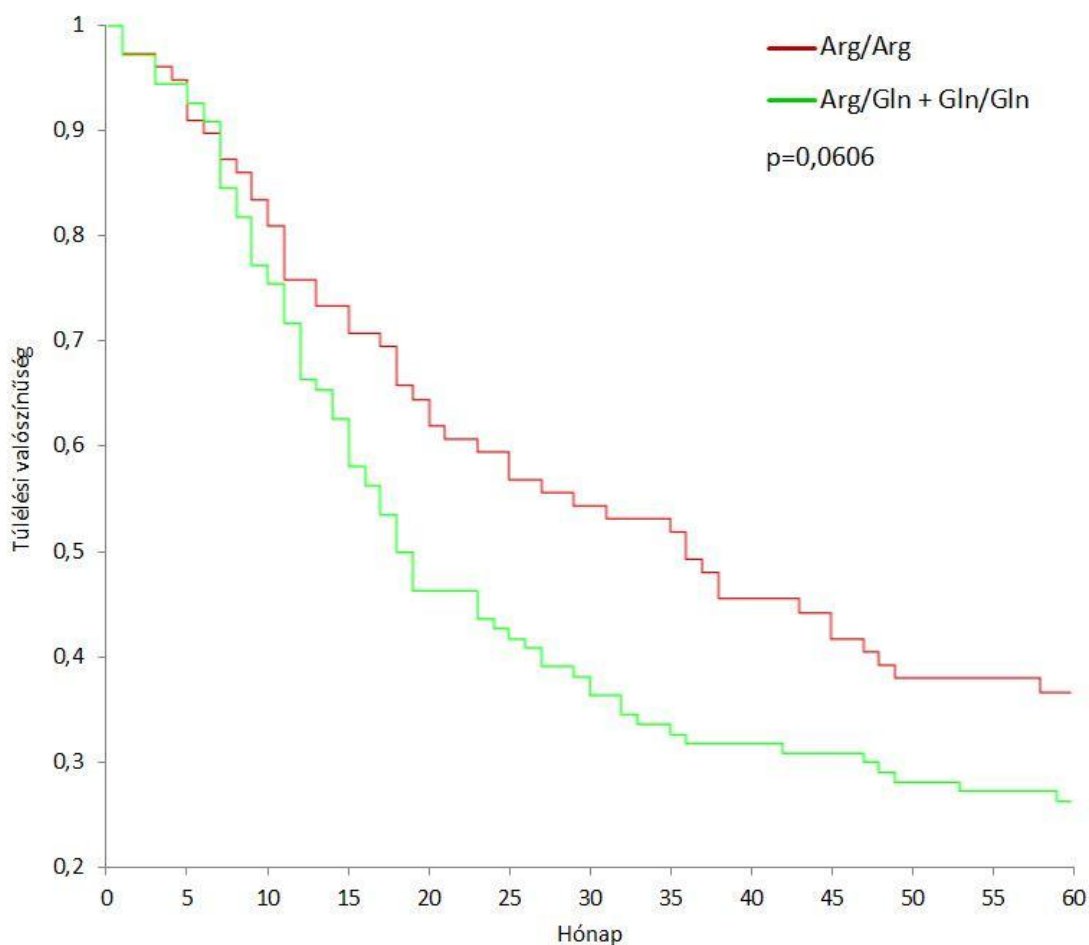


36. ábra: A különböző stádiumú fej- nyaki daganatos betegek túlélése az XRCC1 Arg194Trp polimorfizmus genotípusai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)

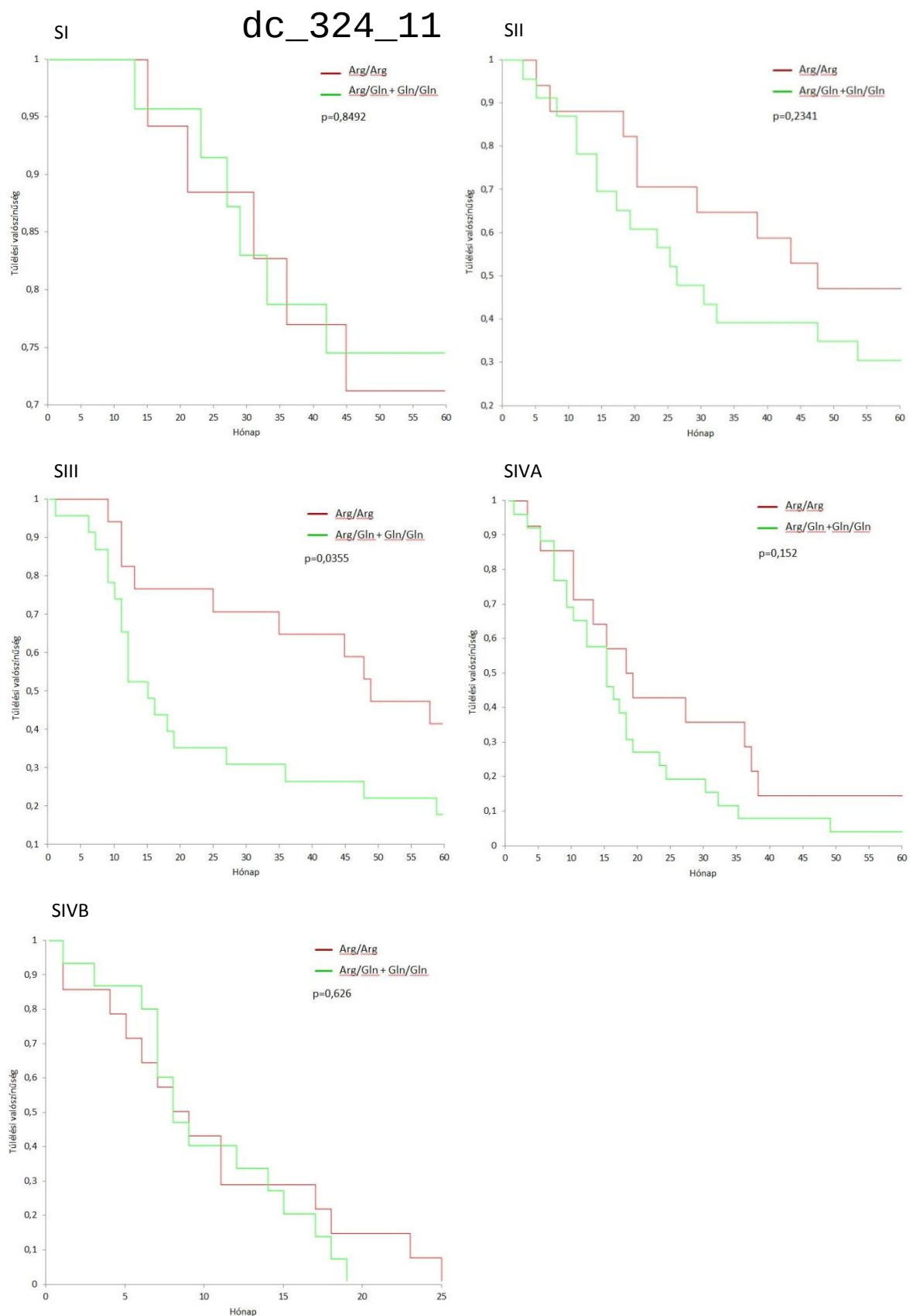
dc_324_11

Az Arg399Gln polimorfizmusnál – bár a Kaplan-Meier túlélési görbéket megtekintve látszik, hogy a túlélés jobb volt az Arg-homozigótáknál – a genotípus hatása nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét ($p=0,0606$) a teljes betegcsoporton (37. ábra).

A stádiumonkénti elemzésben pedig az Arg194Trp polimorfizmushoz hasonlóan csak az SIII stádiumban találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést a genotípus és a prognózis között: az Arg-homozigóták prognózisa jobb volt (38. ábra), mint a Gln allélt hordozóké ($p=0,0355$).



37. ábra: A fej- nyaki daganatos betegek túlélése, a betegek XRCC1 Arg399Trp polimorfizmus genotípusai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)



38. ábra: A különböző stádiumú fej- nyaki daganatos betegek túlélése az XRCC1 Arg399Trp polimorfizmus genotípusai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)

dc_324_11

Említésre méltó, hogy mind az Arg194Trp polimorfizmusnál, mind az Arg399Gln polimorfizmusnál a prognosztikus hatás tekintetében ugyanolyan irányú befolyást fejtettek ki az egyes genotípusok: a 194Trp allélt hordozókban alacsonyabb volt a betegség kialakulásának kockázata, illetve az ilyen betegek túlélése jobb volt; a 399-es kodon Gln-hordozók kockázata magasabb, túlélése pedig rosszabb volt.

Kolorektális daganatokra vonatkozó eredmények

5. populáció: GSTM1, GSTT1 és p53

A Szombathelyi Markusovszky Kórház beteganyagán végzett vizsgálat eredményei szerint A GSTM1 és GSTT1 allélmegoszlásokat illetően a kontrollcsoportban talált gyakoriságok hasonlóak a kaukázusi populációkban leírt és saját korábbi vizsgálatainkban is tapasztalt arányokhoz: GSTM1 + genotípus – 55,5%, GSTT1 + genotípus – 74,7% (VII. táblázat). A daganatos betegek csoportjában a + allél előfordulása ritkább volt, a GSTM1 esetén mindössze 38,5%, a GSTT1-nél pedig 65,4%. A kontroll- és a betegcsoport közti különbség a GSTM1-nél statisztikailag szignifikánsnak bizonyult.

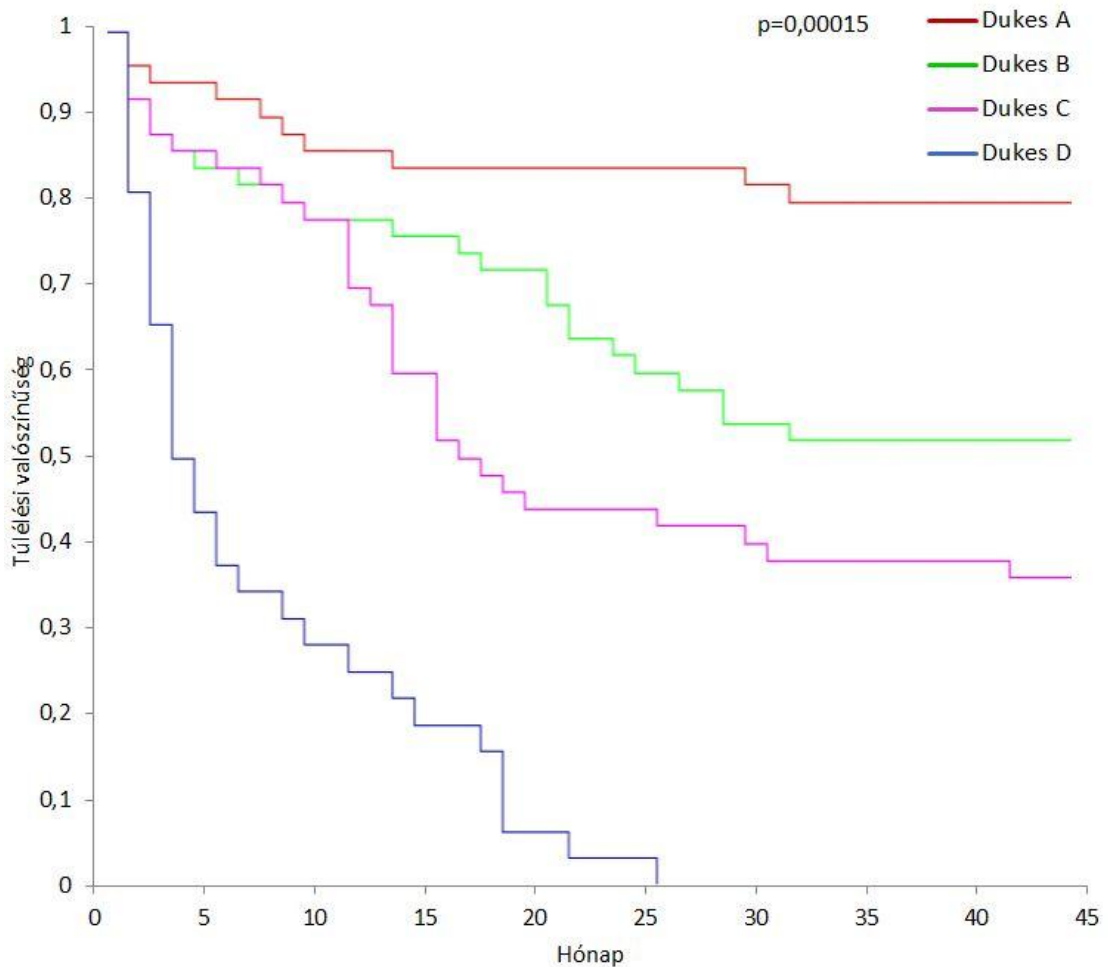
A p53 allélmegoszlás ugyancsak a szokásos gyakoriságokat mutatta a kontrollok között, vagyis a leggyakoribb az Arg/Arg genotípus volt (73,6%), a heterozigóták előfordulása 23,1%-ot tett ki, és a 6 Pro-homozigóta személy adta a minta 3,3%-át. Ettől eltért a daganatos betegek csoportjában talált eloszlás: itt 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 (VII. táblázat).

		Esetek (n=182)	Kontroll (n=182)	OR (95% CI)
GSTM1	+ allél	70 (38,5%)	101 (55,5%)	referencia
	0 allél	112 (61,5%)	81 (44,5%)	2,00 (1,29-3,10)
GSTT1	+ allél	119 (65,4%)	136 (74,7%)	referencia
	0 allél	63 (34,6%)	46 (25,3%)	1,57 (0,97-2,53)
p53	Arg/Arg	110 (60,4%)	134 (73,6%)	referencia
	Arg/Pro	62 (34,1%)	42 (23,1%)	1,80 (1,10-2,94)
	Pro/Pro	10 (5,5%)	6 (3,3%)	2,03 (0,64-7,00)
	<i>Pro-hordozók (Arg/Pro + Pro/Pro)</i>	72 (39,6%)	48 (26,4%)	1,83 (1,14-2,92)

VII. táblázat: GSTM1, GSTT1 és p53 gének allélimorfizmusainak hatása a kolorektális daganatok kockázatára

Ugyanezen betegcsoporton vizsgáltuk a fenti allélimorfizmusok túlélésre gyakorolt hatását is. A 39. ábra illusztrálja, hogy a vizsgált betegek túlélési valószínűsége szoros és statisztikailag szignifikáns kapcsolatban van a Dukes' stádiummal. A legsúlyosabb, Dukes' D stádiumú betegek csoportjában a leghosszabb túlélés 25 hónap volt, míg például a megfigyelési időszak végén a Dukes' A csoport tagjainak még 80%-a életben volt.

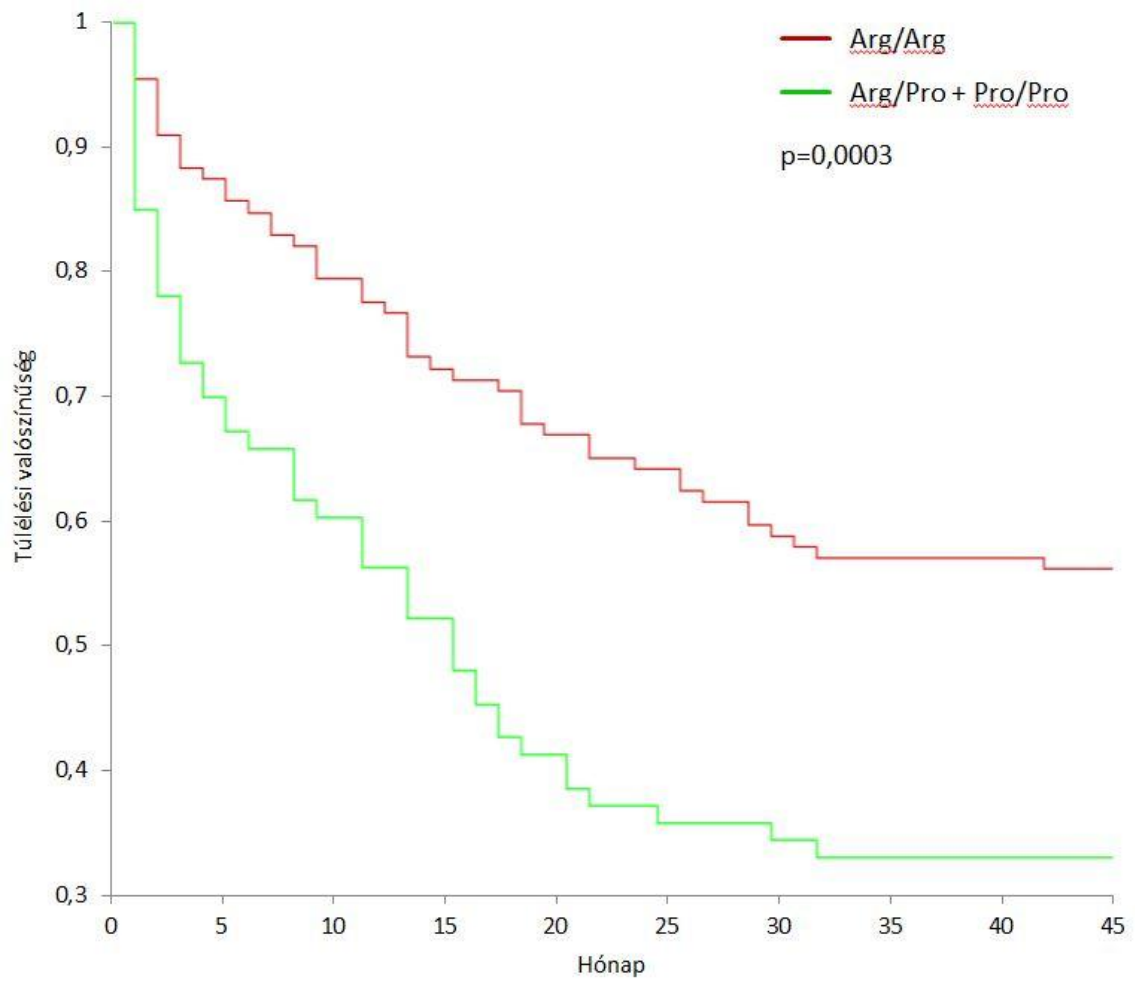
dc_324_11



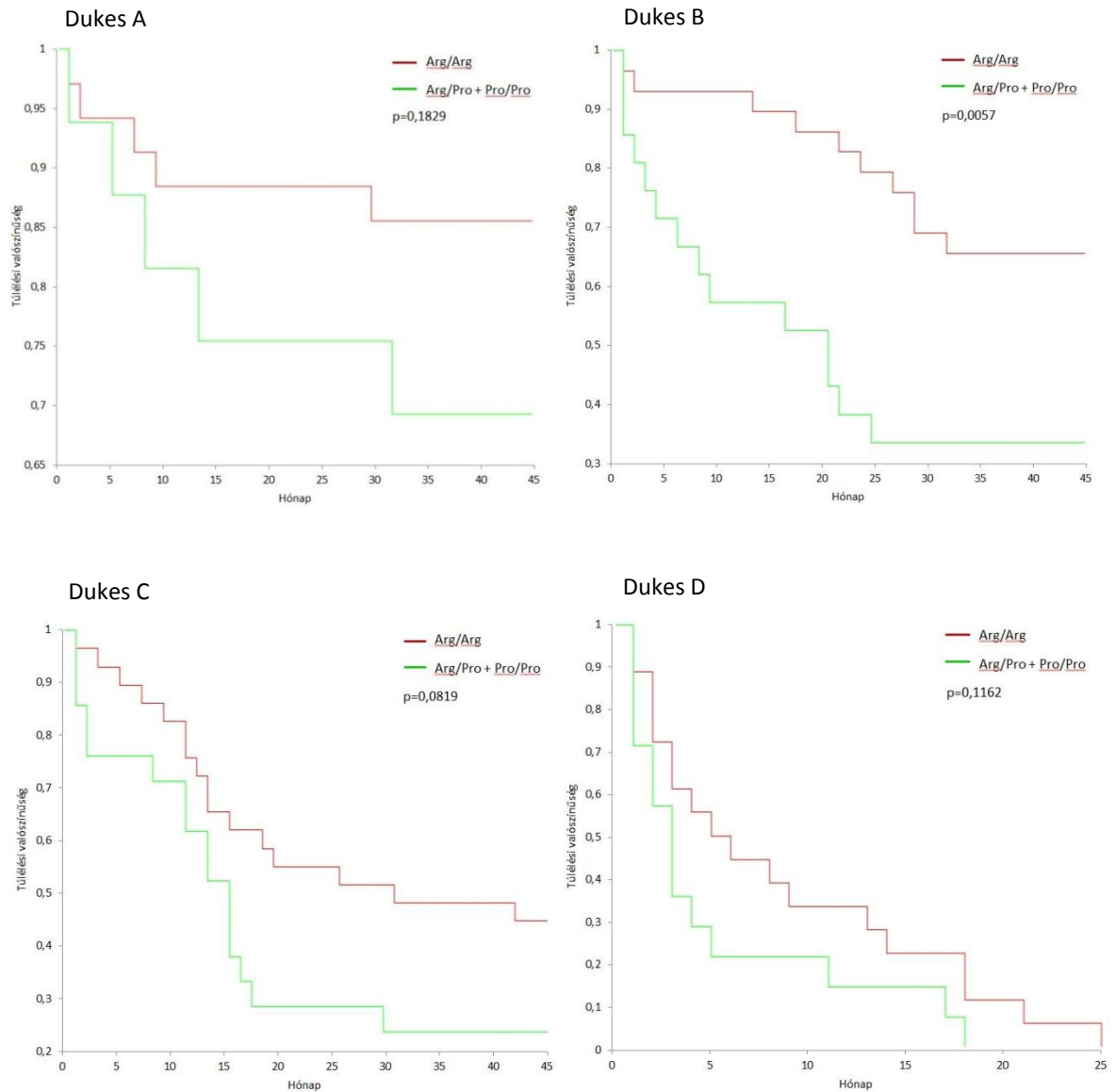
39. ábra: A kolorektális daganatos betegek túlélése, a daganatos betegek Duke's' stádiumai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)

A 40. ábra szerint a p53 Arg-homozigóták túlélése szignifikánsan hosszabb a Pro-allélt hordozók túlélésénél ($p=0,0003$). A 41. ábra mutatja a p53 genotípusok szerinti túléléseket a Duke's' A-, B-, C- illetve D stádiumok szerint csoportosítva. Az Arg-homozigóták túlélési görbéje a Pro-hordozóké felett van mindegyik grafikonon, de az A- és a D- stádiumban a különbség csekély, és statisztikailag nem szignifikáns. Már valamivel nagyobb, de szintén nem szignifikáns a különbség Duke's' C stádiumban, a Duke's' B stádiumú betegknél viszont statisztikailag szignifikáns ($p=0,0057$) túlélési előny látszik az Arg/Arg genotípusú betegek javára.

dc_324_11



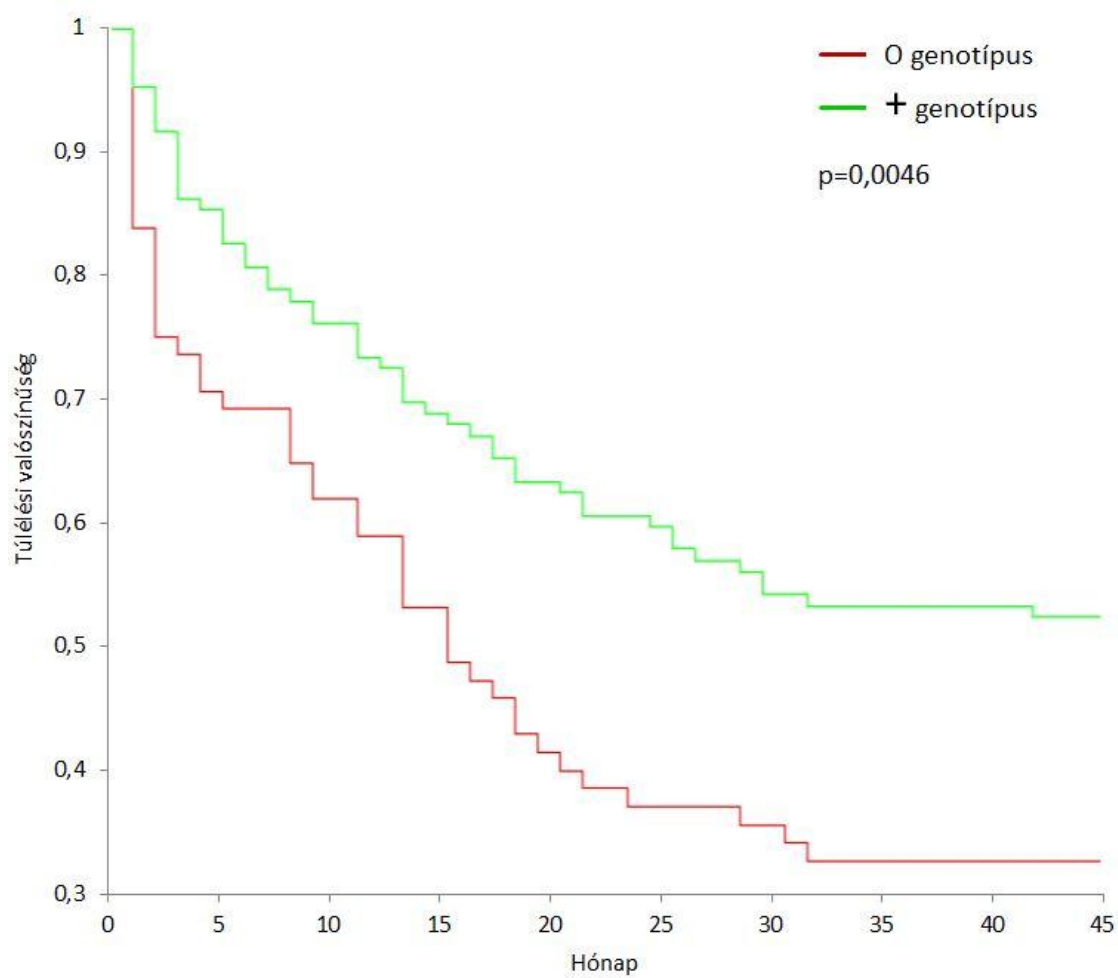
40. ábra: A kolorektális daganatos betegek túlélése, a betegek p53 Arg72Pro polimorfizmus genotípusai szerint csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)



41. ábra: A különböző Dukes stádiumú kolorektális daganatos betegek túlélése az Arg72Pro polimorfizmus genotípusai szerint csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbéi)

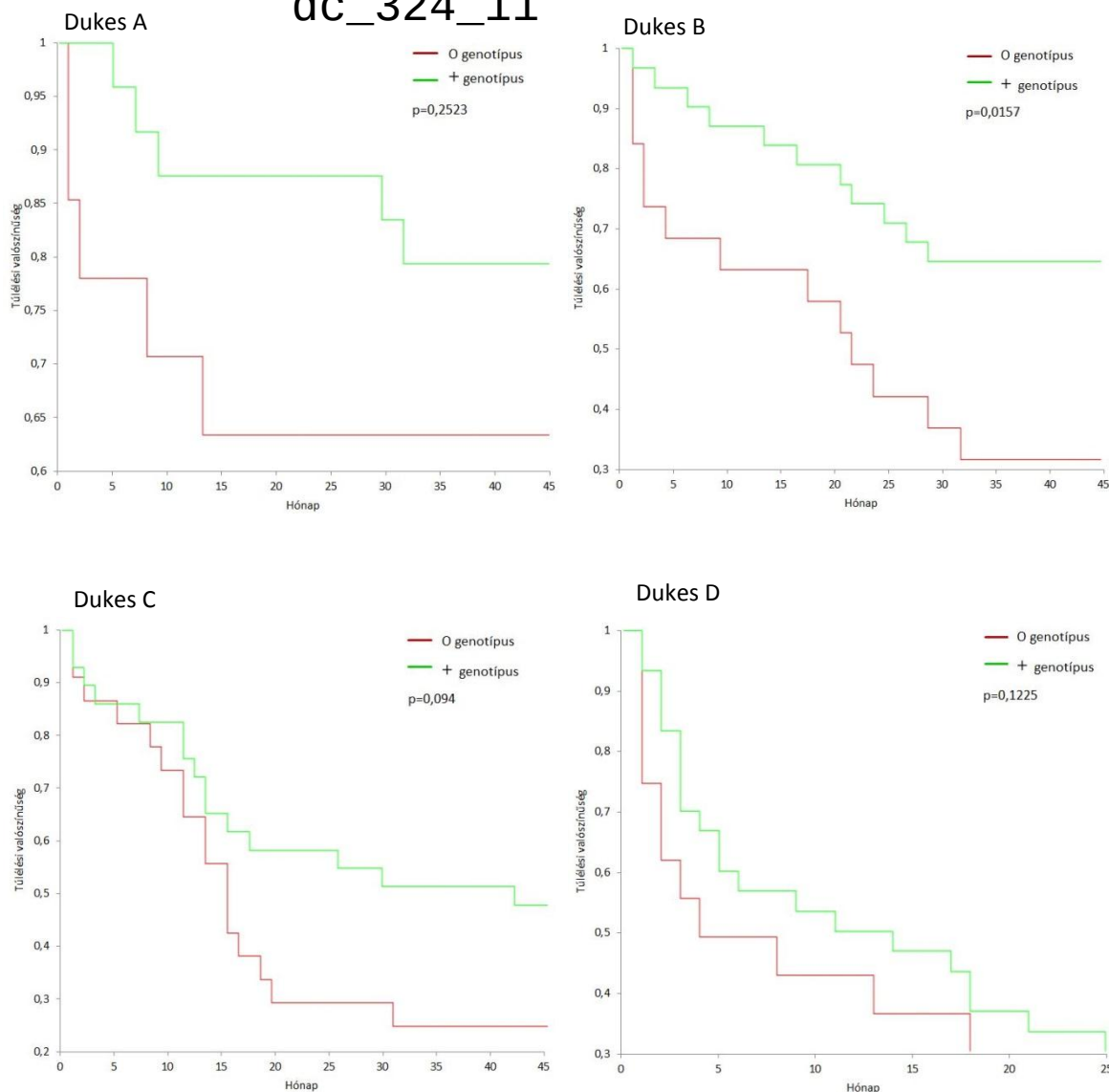
A 42. ábra statisztikailag szignifikáns túlélési különbséget illusztrál a GSTM1 + genotípusúak javára, a 0 genotípussal szemben. A Dukes' stádiumok szerinti elemzésénél is rosszabb prognózissal társult 0 genotípus (43. ábra), de a különbség csak Dukes' B stádiumban volt statisztikailag szignifikáns ($p=0,0157$).

dc_324_11



42. ábra: A kolorektális daganatos betegek túlélése, a betegek GSTM1 +/-0 polimorfizmus genotípusai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)

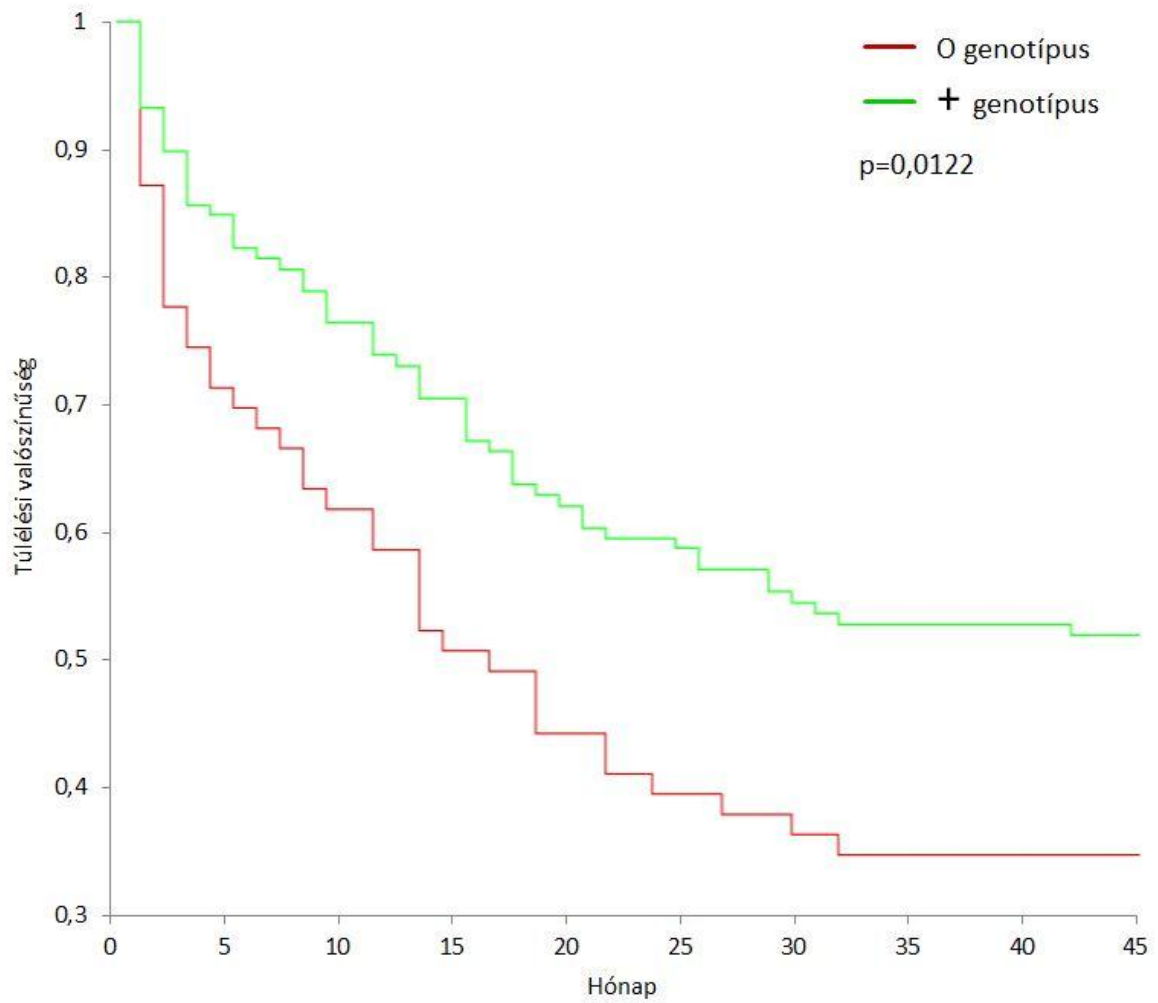
dc_324_11



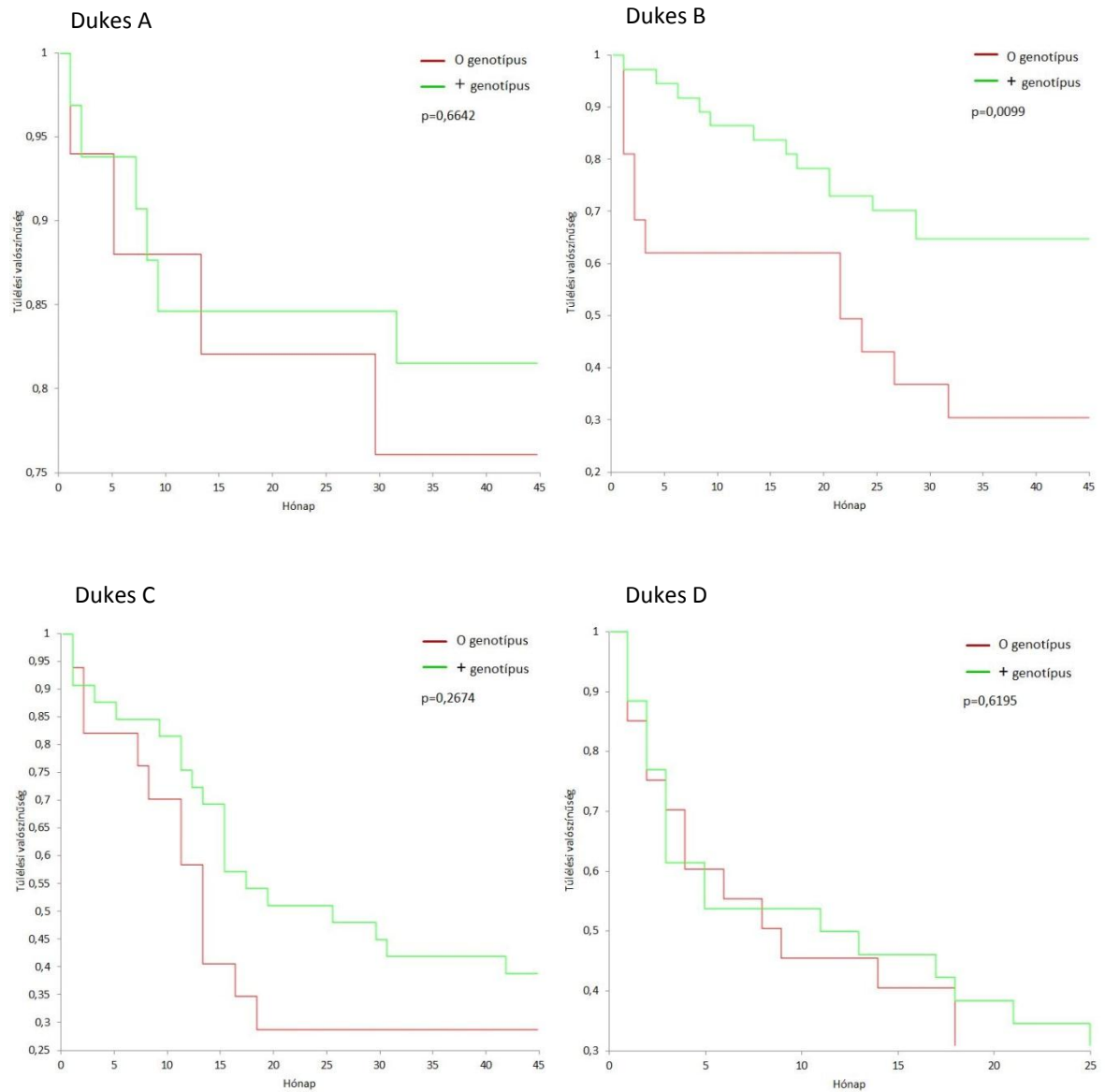
43. ábra: A különböző Dukes stádiumú kolorektális daganatos betegek túlélése a GSTM1 +/-0 polimorfizmus genotípusai szerint csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbéi)

A GSTM1-hez hasonló irányú különbséget láthatunk a 44. ábrán a GSTT1 vonatkozásában, mind a teljes betegcsoportra nézve, mind stádiumok szerint elemzve (45. ábra). A + genotípusú betegek túlélése mindegyik Dukes' stádiumban hosszabb volt, mint a 0 genotípusú pácienseké, de az eddigiekhez hasonlóan itt is csak a B stádiumban bizonyult statisztikailag szignifikánsnak ($p=0,0099$) az összefüggés.

dc_324_11



44. ábra: A kolorektális daganatos betegek túlélése, a betegek GSTT1 +/0 polimorfizmus genotípusai szerinti csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbék)



45. ábra: A különböző Dukes stádiumú kolorektális daganatos betegek túlélése a GSTT1 +/- polimorfizmus genotípusai szerint csoportosításban (Kaplan-Meier túlélési görbéi)

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. A genotípusok megoszlását a kontroll- és a betegcsoportban az VIII-IX. táblázatokon láthatjuk. 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 beteg-csoportban, 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 (X. táblázat) 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.

	GSTM1	GSTT1	GSTP1	NAT1	NAT2	XRCC1	p53
+ allél	258	392	-	-	-	-	-
0 allél	242	108	-	-	-	-	-
Ile/Ile	-	-	214	-	-	-	-
Ile/Val	-	-	212	-	-	-	-
Val/Val	-	-	74	-	-	-	-
Lassú	-	-	-	305	318	-	-
Rapid	-	-	-	195	182	-	-
Arg/Arg	-	-	-	-	-	219	-
Arg/Gln	-	-	-	-	-	216	-
Gln/Gln	-	-	-	-	-	65	-
Arg/Arg	-	-	-	-	-	-	349
Arg/Pro	-	-	-	-	-	-	123
Pro/Pro	-	-	-	-	-	-	28

VIII. táblázat: A GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53 és XRCC1 génekre vonatkozó genotípusok megoszlása az egészséges populációban (n=500)

	GSTM1	GSTT1	GSTP1	NAT1	NAT2	XRCC1	p53
+ allél	209	369	-	-	-	-	-
0 allél	291	131	-	-	-	-	-
Ile/Ile	-	-	200	-	-	-	-
Ile/Val	-	-	212	-	-	-	-
Val/Val	-	-	88	-	-	-	-
Lassú	-	-	-	289	267	-	-
Rapid	-	-	-	211	233	-	-
Arg/Arg	-	-	-	-	-	186	-
Arg/Gln	-	-	-	-	-	236	-
Gln/Gln	-	-	-	-	-	78	-
Arg/Arg	-	-	-	-	-	-	259
Arg/Pro	-	-	-	-	-	-	188
Pro/Pro	-	-	-	-	-	-	53

IX. táblázat: A GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT1, NAT2, p53 és XRCC1 génekre vonatkozó genotípusok megoszlása a kolorektális daganatos populációban (n=500)

Genotípus	OR (95% CI)
GSTM1 (0 vs +)	1,48 (1,15-1,92)
GSTT1 (0 vs. +)	1,29 (0,95-1,74)
GSTP1 (Val/Val + Ile/Val vs. Ile/Ile)	1,11 (0,85-1,43)
NAT1 (rapid vs. lassú)	1,14 (0,88-1,48)
NAT2 (rapid vs. lassú)	1,52 (1,17-1,98)
P53 Pro allél-hordozók (Pro/Pro + Arg/Pro vs. Arg/Arg)	2,15 (1,66-2,79)
XRCC1 Gln allél-hordozók (Gln/Gln + Arg/Gln vs. Arg/Arg)	1,32 (1,02-1,69)

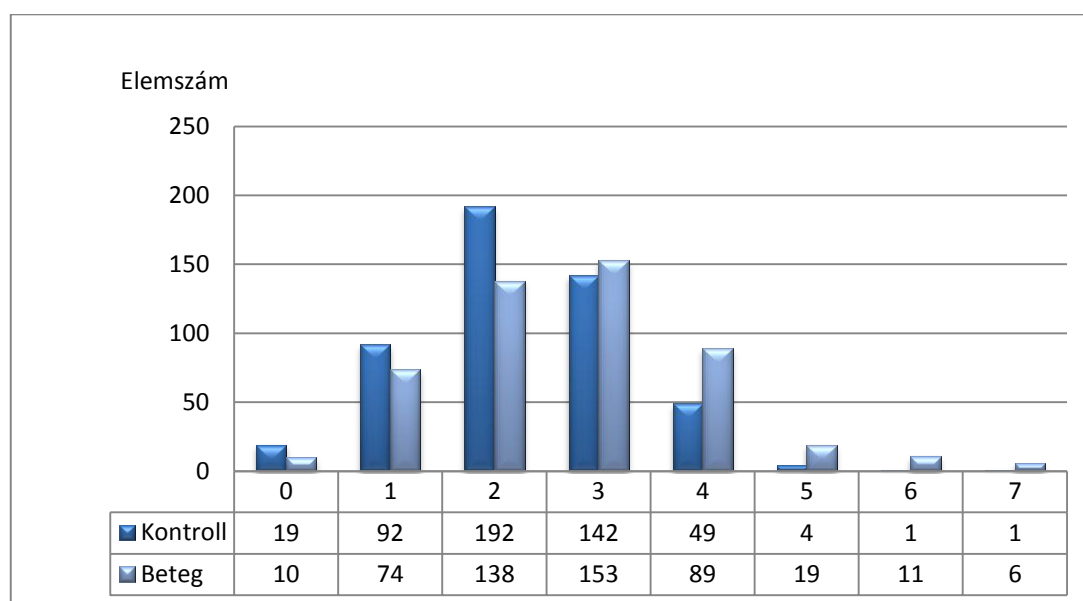
X. táblázat: A vizsgált allélpolimorfizmusok hatása a vastag- és végbéldaganatok kockázatára

Ahhoz, hogy az enyhe populációs szintű kockázatemelkedéstől az egyéni szinten is felhasználható adatok irányába tudjunk elmozdulni, a különböző egyéni érzékenységi tényezőket egymással való kölcsönhatásukban érdemes vizsgálni. Feltételezhető, hogy az okozott kockázatemelkedések ekkor – a kölcsönhatások eredményeképpen – már akár egyéni szinten is értelmezhető rizikóemelkedést hoznak létre.

A fentiek értelmében úgy csoportosítottuk a vizsgálatban részt vevőket, hogy hány high-risk allélt találtunk náluk a genotipizálás során, és a kapott megoszlásokat összevetettük a betegek és a kontrollok között (46. ábra). Amint az ábra illusztrálja, a betegek és a kontrollok allélmegoszlásai nem fedik egymást, hanem el vannak csúszva egymáshoz képest. A kontrollcsoportnál a képzetes görbe csúcsa a 2 szimultán high-risk allélnél van, míg a daganatos betegeknél a 3-nál. A kontrollcsoport görbéje egészében véve balra – a kevesebb egyidejű high-risk allél felé – csúszott a daganatos betegekhez képest. A két csoport megoszlásai közötti különbség statisztikailag szignifikáns ($p < 0,001$, chí-négyzet illeszkedésvizsgálattal). Hogy még

dc_324_11

szemléletesebben lássuk a több high-risk allél egyidejű jelenlétéből adódó kockázatemelkedést, összevetettük a legalább 6 high-risk allélt hordozók számát a daganatos és a kontrollcsoportokban. A kolorektális daganatos betegek között 17 ilyen személy találtunk (11-nél 6, 6-nál mind a 7 high-risk allél), míg a kontrolloknál mindössze két ilyen résztvevő (1-nél 6, 1-nél 7 high-risk allél) volt, az összefüggés erős és statisztikailag szignifikáns (OR: 6,39, 95% CI: 2,73-14,92).



46. ábra: A magas kockázatú allélek együttes jelenléte a vizsgált populációkban

7. vizsgálati csoport: CYP1A1, CYP2E1, EPHX1

Másik, szintén 500-500 elemszámú csoportokon végzett vizsgálatunkban a CYP1A1, 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 talált allélmegoszlásokat az XI. táblázatban láthatjuk. 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 (XII. táblázat), míg a CYP1A2-nél és az EPHX1 exon 4 polimorfizmusnál pedig nem. A 3 szignifikánsnak talált kapcsolat

dc_324_11

esetén a high-risk allélek egyidejű jelenléte kifejezetten erős kockázatemelkedést okozott (OR: 3,35, 95% CI: 1,61-7,08).

Genotípus		Eset	Kontroll
CYP1A1	<i>Ile/Ile</i>	386 (71,2%)	415 (83,0%)
	<i>Ile/Val</i>	110 (22,0%)	83 (16,6%)
	<i>Val/Val</i>	4 (0,8%)	2 (0,4%)
CYP1A2	<i>*1A/*1A</i>	219 (43,8%)	228 (45,6%)
	<i>*1A/*1F</i>	212 (42,4%)	207 (41,4%)
	<i>*1F/*1F</i>	69 (13,8%)	65 (13,0%)
CYP2E1	<i>c1/c1</i>	428 (85,6%)	456 (91,2%)
	<i>c1/c2</i>	65 (13,0%)	42 (8,4%)
	<i>c2/c2</i>	7 (1,4%)	2 (0,4%)
EPHX1 exon 3	<i>Tyr/Tyr</i>	220 (44,0%)	248 (49,6%)
	<i>Tyr/His</i>	227 (45,4%)	221 (44,2%)
	<i>His/His</i>	53 (10,6%)	31 (6,2%)
EPHX1 exon 4	<i>His/His</i>	337 (67,4%)	329 (65,8%)
	<i>His/Arg</i>	157 (31,4%)	161 (32,0%)
	<i>Arg/Arg</i>	6 (1,2%)	10 (2,0%)

XI táblázat: A különböző allélpolimorfizmusok megoszlása a kolorektális daganatos és a kontrollcsoportban

Genotípus	OR (95% CI)
CYP1A1 (<i>Val/Val + Ile/Val</i>)	1,44 (1,04-2,00)
CYP1A2 (<i>*1F/*1F + *1A/*1F</i>)	1,08 (0,83-1,39)
CYP2E1 (<i>c2/c2+c1/c2</i>)	1,74 (1,15-2,65)
EPHX1 exon 3 (<i>His/His</i>)	1,79 (1,10-2,92)
EPHX1 exon 4 (<i>Arg/Arg</i>)	0,60 (0,18-1,82)
CYP1A1 + CYP2E1 + EPHX1 exon 3	3,35 (1,61-7,08)

XII. táblázat: A különböző allélpolimorfizmusok hatásának statisztikai elemzése, kiegészítve a 3 magas kockázatúnak talált genotípus együttes hatásának vizsgálatával

Méhnyak-daganatokra vonatkozó eredmények

8/a. vizsgálati csoport: GSTM1, GSTT1

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 (tehát cervixtumor/diszplázia tekintetében egészséges) 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 fejnyaki vagy a kolorektális daganatokétól, itt másfajta zavaró tényezők jelenlétével kellett számolni, illetve hatásukat ki kellett zárni. A XIII. táblázatban a vizsgálat csoportjainkra vonatkozóan láthatjuk azokat a demográfiai ill. biológiai tényezőket, amelyek befolyásolhatják a cervixrák-kockázatot. Bár kisebb eltérések voltak a regisztrált paramétereket illetően, de statisztikailag szignifikáns különbség egyik változónál sem volt a két csoport között.

Demográfiai jellemzők		HSIL vagy CIN II/III	Nincs diszplázia
Életkor	a követéses vizsgálat kezdetekor	40,56 ($\pm$ 13,61)	42,54 ($\pm$ 13,21)
	az első menstruációkor	13,11 ($\pm$ 1,05)	13,01 ($\pm$ 1,00)
	az első szexuális együttlétkor	17,88 ($\pm$ 1,65)	17,63 ($\pm$ 1,80)
Kihordott terhességek száma	0 vagy 1	75 (64,1%)	80 (58,8%)
	2 vagy több	42 (35,9%)	56 (41,2%)
Abortuszok száma	0 vagy 1	106 (90,6%)	121 (89,0%)
	2 vagy több	11 (9,4%)	15 (11,0%)

XIII. táblázat: A cervixrák kialakulásának kockázatával kapcsolatba hozható tényezők megoszlása a vizsgált csoportokban

Ezután táblázatba foglaltuk a GST-allélgyakoriságokat a két csoportban (XIV. táblázat). 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, és a kettős 0 genotípusú nőkben a kockázat fokozottan érvényesült.

Genotípus		HSIL vagy CIN II/III	Nincs diszplázia	OR (95% CI)	p-érték
GSTM1	+	54 (46,2%)	83 (61,0%)	1,00 (referencia)	-
	0	63 (53,8%)	53 (39,0%)	1,78 (1,06-2,97)	0,028
GSTT1	+	70 (59,8%)	101 (74,3%)	1,00 (referencia)	-
	0	47 (40,2%)	35 (25,7%)	1,89 (1,10-3,26)	0,022
Kettős high risk genotípus (GSTM1 és GSTT1 0)	nem	90 (76,9%)	121 (89,0%)	1,00 (referencia)	-
	igen	27 (23,1%)	15 (11,0%)	2,35 (1,17-4,73)	0,017

XIV. táblázat: *GSTM1* és *GSTT1* genotípusok megoszlása a cervikális preblasztomás, illetve a diszpláziát nem mutató résztvevők körében

8/b. vizsgálati csoport: a *DRD2/ANKK1* allélpolimorfizmus hatása

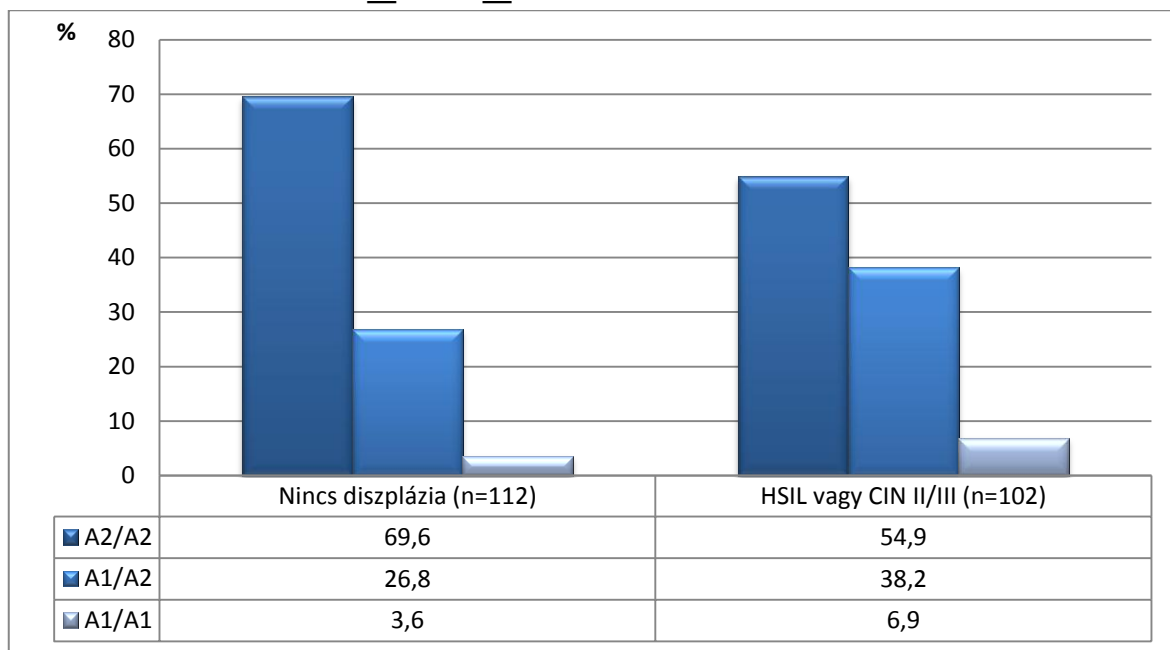
A DRD2-vizsgálatba 214 résztvevőt sikerült bevonni. Az ő demográfiai adataik a XV. táblázatban láthatók.

		Nincs diszplázia	HSIL vagy CIN II/III
Életkor	a követéses vizsgálat kezdetekor	40,05 ($\pm$ 13,71)	41,16 ($\pm$ 13,05)
	az első menstruációkor	13,21 ($\pm$ 1,06)	13,10 ($\pm$ 1,00)
	az első szexuális együttlétkor	17,86 ($\pm$ 1,67)	17,66 ($\pm$ 1,83)
Kihordott terhességek száma	0 vagy 1	66 (64,6%)	68 (60,7%)
	2 vagy több	36 (35,3%)	44 (39,3%)
Abortuszok száma	0 vagy 1	91 (89,2%)	99 (88,4%)
	2 vagy több	11 (10,8%)	13 (11,6%)

XV. táblázat. A DRD2 vizsgálatban részt vevő nők kockázati tényező-státusza, illetve demográfiai jellemzői

A részt vevő nők valamivel kevesebb, mint felében (47,7%) alakult ki high-grade diszplázia, azaz a két összehasonlítható csoport létszáma 102 (high-grad diszplázia), illetve 112 (kontroll) volt. Amint a táblázat illusztrálja, a GSTM-vizsgálati részhez hasonlóan itt sem volt statisztikailag szignifikáns eltérés a kontroll, illetve a high-grade diszpláziás csoport között a genotípusok mellett regisztrált egyéb tényezők tekintetében. A genotípusok megoszlását, illetve az egyes csoportok közötti különbségek statisztikai összehasonlításának eredményeit pedig az 47. ábra tartalmazza.

dc_324_11



47. ábra: DRD2/ANKK1 allélgyakoriságok high-grade diszpláziát mutató, illetve nem mutató nők körében

Amint az ábra illusztrálja, a high-grade diszpláziás csoportban az DRD2/ANKK1 A1 allélek gyakorisága magasabb volt, mint a kontrollok között (A1-homozigóták: 6,9% vs. 3,6%; heterozigóták: 38,2% vs. 26,8%). A statisztikai analízis szerint a különbség szignifikáns volt (A1/A2+A1/A1 vs. A2/A2 OR: 1,87, 95% CI: 1,05-3,33, $p=0,034$), vagyis az A1 allél jelenléte fokozta a diszplázia kialakulásának kockázatát.

8/c. vizsgálati csoport: a DRD2/ANKK1 allélpolimorfizmus prognosztikus vizsgálata

A DRD2/ANKK1 allélpolimorfizmus prognosztikus értékét 239, CIN III fokozatú elváltozást mutató, vagy I-es stádiumú cervixrák diagnózisú résztvevővel kezdtük meg, akiknek demográfiai és egyéb paramétereit az XVI. táblázat mutatja.

Demográfiai jellemzők		Rossz prognózis	Jó prognózis
Életkor	a követéses vizsgálat kezdetekor	42,18 (± 12,92)	42,92 (± 12,53)
	az első menstruációkor	13,04 (± 1,03)	13,17 (± 1,15)
	az első szexuális együttlétkor	17,37 (± 1,70)	17,77 (± 1,89)
Kihordott terhességek száma	0, 1	29 (50,9%)	101 (55,5%)
	2 vagy több	28 (49,1%)	81 (44,5%)
Abortuszok száma	0, 1	52 (91,2%)	158 (86,8%)
	2 vagy több	5 (8,8%)	24 (13,2%)

XVI. táblázat: A DRD2/ANKK1 prognosztikus vizsgálat résztvevőinek fontosabb adatai

A vizsgálat záró időpontjában 182 résztvevő volt tumor- és panaszmentes, és a vizsgálati eredmények sem utaltak recidíva jelenlétére. A másik csoportot az az 57 beteg képezte, aki a vizsgálat időtartama alatt elhalálozott (25 beteg), a betegség progrediált, vagy a vizsgálat végén nem volt tumormentes (32 személy). A DRD2/ANKK1 genotípusok megoszlása (XVII. táblázat) azt mutatta, hogy az A1 allél gyakoribb volt a rossz prognózisú betegek között (A1/A1 – 8,8% vs. 5,0%), A1/A2 – 43,8% vs. 30,2%), amely összefüggés statisztikailag szignifikánsnak bizonyult: (OR: 2,00, 95% CI: 1,07-3,74, p=0,030). Mivel a vizsgálat kezdetén a DRD2/ANKK1 A1 allélt hordozók közötti preblasztoma/karcinoma arány nem különbözött statisztikailag szignifikánsan az A2-homozigótákétól (vagyis az A1-csoportokban prognózis nem azért volt rosszabb, mert már a kezdetnél itt gyakoribbak lettek volna a későbbi stádiumú betegek), feltételezzük, hogy az eredményeink szerint a DRD2/ANKK1 A1 allélt hordozók cervixrák-prognózisa rosszabb az A2-homozigótákénál.

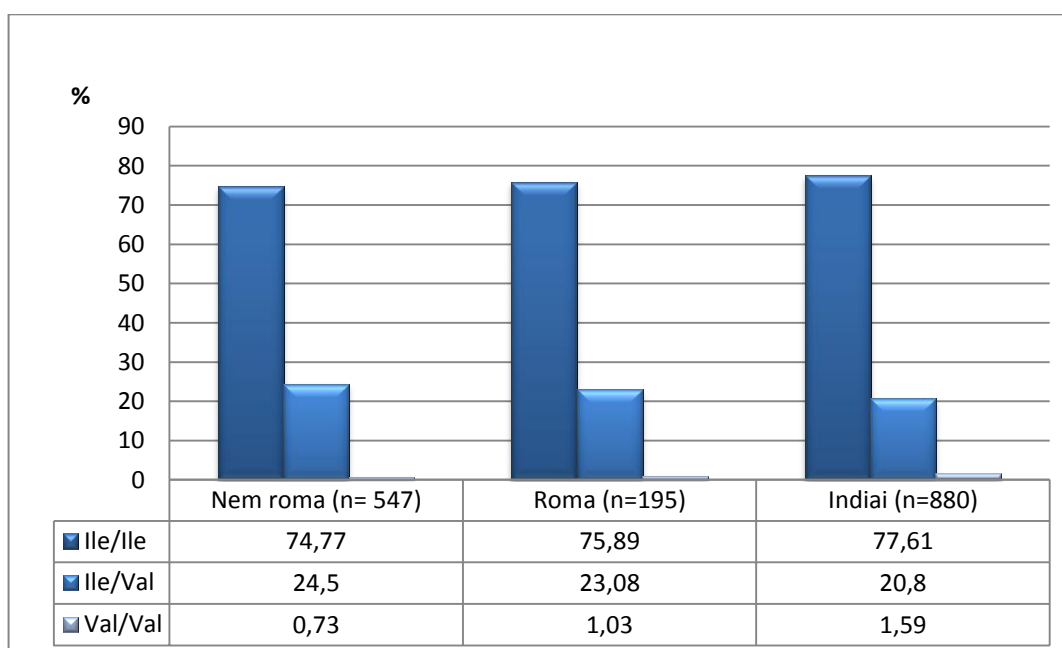
Genotípus	Rossz prognózis	Jó prognózis	OR (95% CI)	p-érték
A2/A2	27 (47,4%)	118 (64,8%)	1,00 (referencia)	-
A1/A2	25 (43,8%)	55 (30,2%)	2,00 (1,07-3,74)	p=0,030
A1/A1	5 (8,8%)	9 (5,0%)		

XVII. táblázat. DRD2/ANKK1 genotípusok megoszlása a rossz és a jó prognózisú betegek között

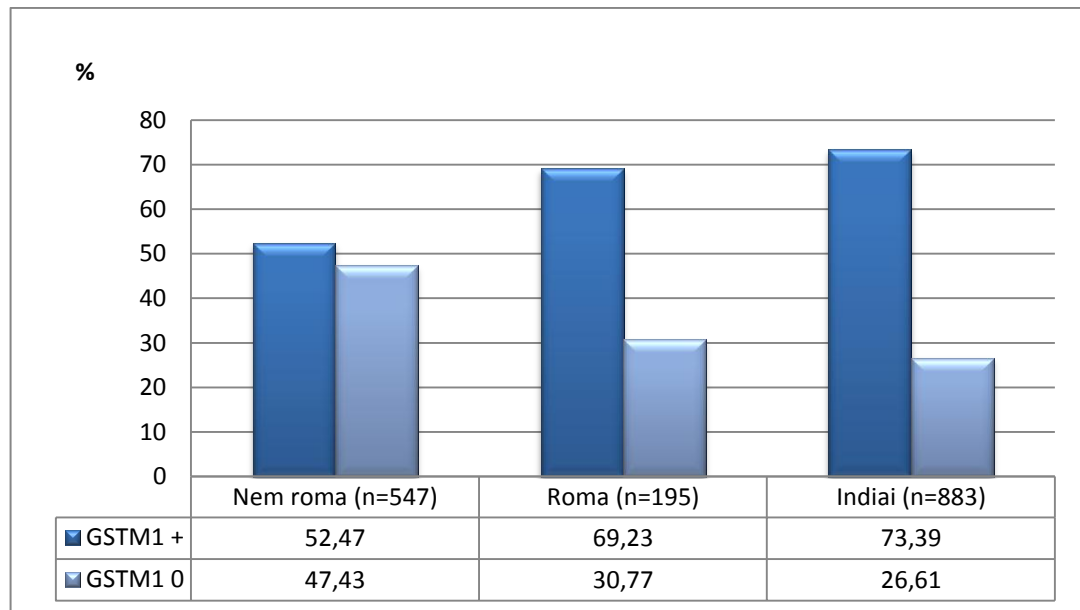
A hazai roma populációra vonatkozó eredmények

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

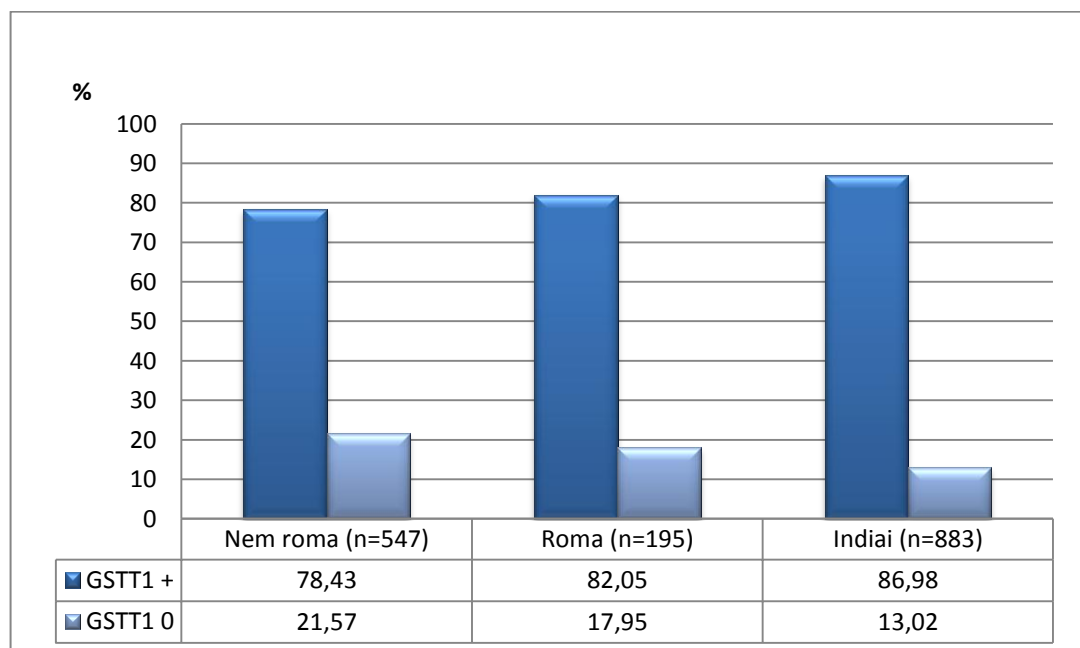
A magyarországi roma (pontosabban oláh cigány) és nem roma népesség összehasonlítását CYP1A1, GSTM1, GSTT1, NAT2 és p53 polimorfizmusokra végeztük el. A romák indiai származása miatti összehasonlítás érdekében célszerűnek tartottuk harmadikként minden esetben egy indiai populáció adatainak közlését is (ezek irodalmi adatok). Az eredményeket a 48-52. ábrák mutatják.



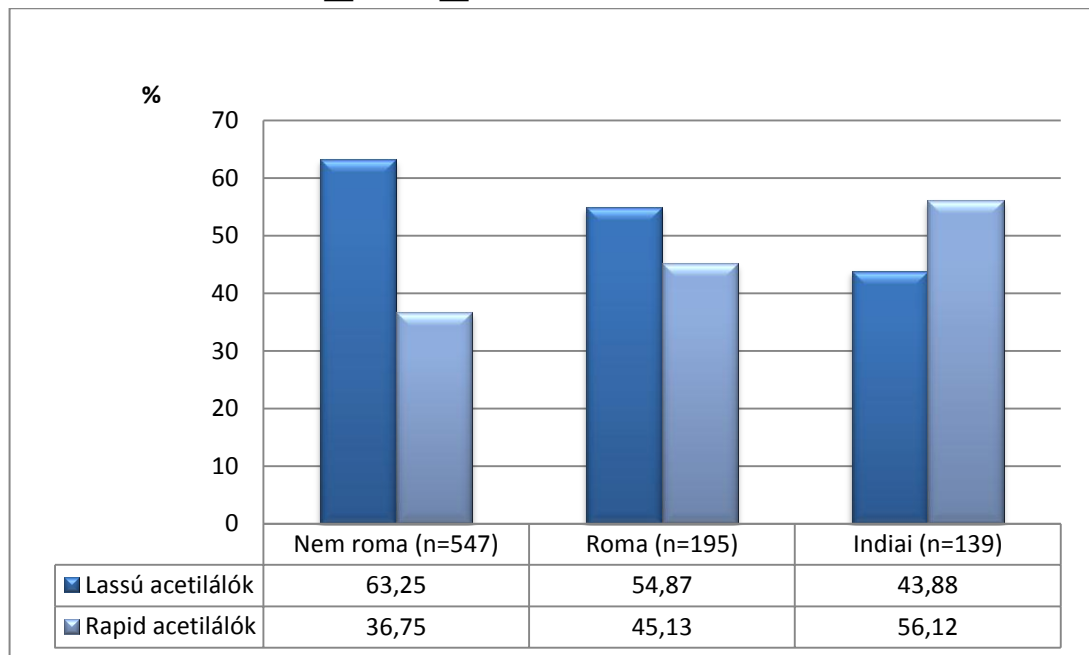
48. ábra: CYP 1A1 allélek megoszlása a három összehasonlított populációban



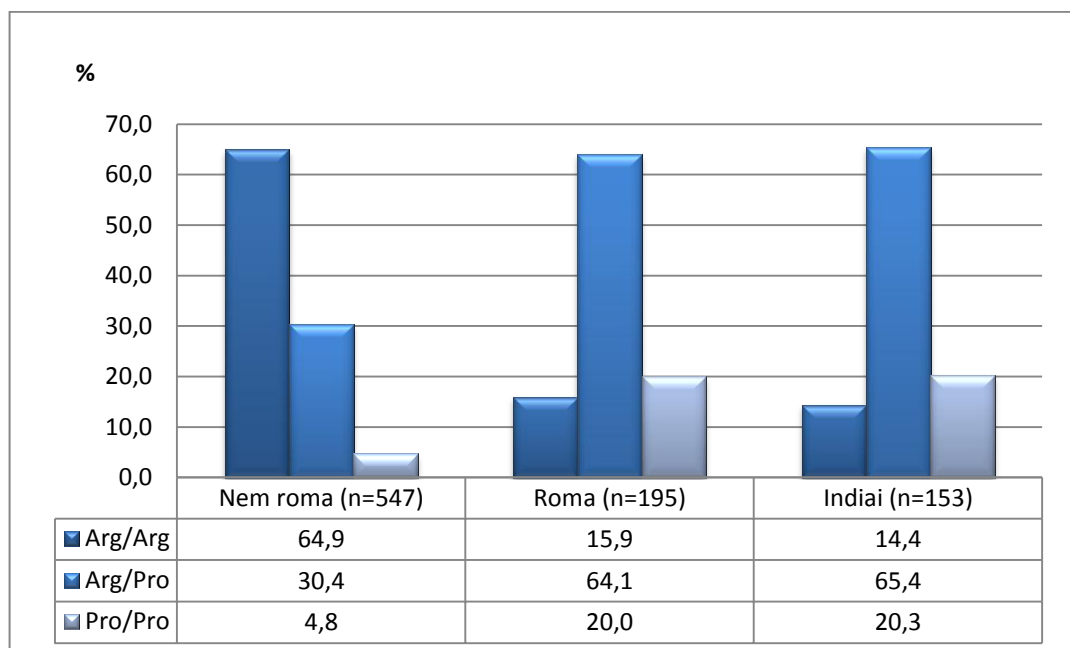
49. ábra: GSTM1 allélek megoszlása magyarországi a három összehasonlított populációban



50. ábra: GSTT1 allélek megoszlása a három összehasonlított populációban



51. ábra: NAT2 allélek megoszlása a három összehasonlított populációban



52. ábra: p53 allélek megoszlása a három összehasonlított populációban

A CYP1A1 allélmegoszlások nem mutattak statisztikailag szignifikáns különbséget a három összehasonlított populáció között, így természetesen a hazai roma és nem roma csoportok között sem. Ugyancsak nem volt szignifikáns különbség a GSTT1 allélek gyakoriságát illetően sem.

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

dc_324_11

megoszláshoz álltak közel, és így tehát szignifikánsan eltértek a magyarországi nem roma csoportétól (+ 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 az Arg allél jóval gyakoribb volt, a népesség 64,9%-át Arg-homozigóták tették ki, ennek a genotípusnak a gyakorisága 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.

Megbeszélés

Génexpresszió-változásokkal kapcsolatos állatkísérletek eredményei

Előzetes, korábbi vizsgálataink szerint (Ember, 1998) megfelelően kiválasztott gének expresszió-változásai a karcinogén expozíció korai biomarkerei lehetnek. Ennek a hipotézisnek a létjogosultságát igyekeztünk a disszertációban leírt további állatkísérletekkel megerősíteni vagy elvetni, illetve kiterjeszteni.

Az 1-nitropirén kezelés hatására korábbi vizsgálatunk szerint – amikor is a karcinogén kezelés után 48 órával mértük a génexpressziókat – a Ha-ras gén expressziója egyes szervekben jelentősen megemelkedett (Pusztai, 1998). Ennek ismeretében kezdtünk el rövidebb időtartamokat is vizsgálni. A jelen eredményünk, miszerint 24 órával az 1-NP kezelés után nincs érdemi különbség a kezelt és a kontroll állatok között a Ha-ras expressziók tekintetében, felhívja a figyelmet az expozíció után eltelt idő jelentőségére, a mérések megfelelő időpontban történő elvégzésének szükségességére.

Ismeretes, hogy kémiai karcinogénnel indukált daganatokban – vagy már korai léziókban is – a Ras-onkogének pontmutációi kimutathatók (Makino, 1992, Shirai, 1997, Bai, 1998, Bai, 2003). Ez összhangban van azzal a ténnyel, hogy emberi daganatokban is gyakori molekuláris genetikai elváltozások a Ras-pontmutációk. Saját vizsgálatunkban nem határoztuk meg a Ras-pontmutációk bekövetkeztének gyakoriságát ezen állatkísérletekben, és az alkalmazott génexpresszió-mérési módszer sem tett különbséget mutáns vagy vad típusú Ha-ras expressziók között. Éppen ezért elképzelhető, hogy a korábban talált, 48 órás elváltozások mögött esetleg Ras-pontmutációk állnak. Annak ellenére, hogy – ahogy a bevezetésben korábban írtuk – a Ha-ras gén pontmutációi ritkábbak, mint a Ki-ras vagy N-ras pontmutációk, bizonyított, hogy a Ha-ras pontmutációk többféle daganatot – így tüdőtumort is – indukálhatnak. Ezt illusztrálja például Doi és mtsai kísérlete, ahol humán Ha-ras transzgént hordozó egerekben bizonyították, hogy a kémiai karcinogénnel indukált Ha-ras mutáció daganatkialakuláshoz vezetett a kísérleti állatokban (Doi, 1994).

Ugyanakkor a másik oldalon – a kezelés után rövidebb időszakban mérve – tovább finomítva a vizsgálatokat, kiderült, hogy a Ha-ras gén expresszió-változásai a kezelés után meglehetősen rövid idő múlva is megfigyelhetők voltak szinte minden vizsgált szervben (Budán, 2009), egy másik policiklusos aromás szénhidrogén (DMBA) hatására. A Ha-ras gén expressziójának fokozódása (a

kontrollhoz képest) általában 6 óra múlva volt detektálható, és legtöbbször 12 óra múlva még jelen volt, a 24. órában pedig már nem. Sajátos kivételt jelentett a tüdő, ahol az emelkedett Ha-ras expressziót már három órával a kezelés után mértük, és ez szinte konstans módon egészen a 24. óráig jelen volt. Az irodalomból jól ismert, hogy – elsősorban dohányosokban – a tüdőrákok jelentékeny részében találhatunk Ras – elsősorban Ki-Ras - pontmutációkat (Husgafvel-Pursiainen, 1993). Ez arra utal, hogy a cigarettafüstben levő kémiai karcinogén anyagok bizonyos mértékig szelektíven okoznak pontmutációkat a Ras-génekben. Mivel az 1-NP jelenlétét igazolták a cigarettafüstben, ez megerősíti a nitropirén-expozíció és a tüdő, mint érzékeny szerv kapcsolatát. Másrészt elképzelhető viszont, hogy a tüdő nemcsak Ras-mutagenesis vonatkozásában érzékeny célszerv, hanem – mint ahogy jelen eredményeink illusztrálják – a Ras-mediált celluláris szabályozó mechanizmusok tekintetében is. Kevésbé valószínű ugyanis, hogy az igen rövid idő múlva, akár mindössze 3 órával a kezelés után tapasztalt Ha-ras expresszió-változások mutációk következtében jöttek volna létre. Természetesen a pontmutációk kialakulásához nem kell hosszú idő, de egy *in vivo* rendszerben az egész szerv szintjén megnyilvánuló expresszió-változások hátterében mindössze három órával az ip. injekció után nem ezt feltételeztük, hanem inkább regulációs mechanizmusokra gyakorolt korai hatást/hatásokat. Ezt támasztja alá továbbá, hogy a DMBA genotoxikus hatásainak kifejtéséhez előzetes metabolikus aktivációt igényel, amely elsősorban a CYP1A1 és CYP1B1 enzimek működése következtében történik. Irodalmi adatok alapján szervspecifikus eltéréseket láthatunk más tekintetben, például a mutációkat illetően. A tüdőben talált Ras-pontmutációk ugyanis gyakrabban transzverziók, míg a kolorektális daganatokban inkább tranzícióval találkozunk (Pfeifer, 2009).

A 24 órás adatok vonatkozásában összefoglalóan azt kell mondanunk, hogy a két leírt kísérletben vizsgált 3 kémiai karcinogén tekintetében szinte egyik szervben (kivétel volt például az NMU hatása a vesében) sem voltak szignifikáns expresszió-különbségek a kontrollok és a kezelt állatok között. A korai időszakban pedig – ugyancsak összefoglalóan – az szögezhető le, hogy a DMBA általában inkább vezetett Ha-ras overexpressziókhoz, az MNU kevesebb Ras-expresszióváltozást okozott.

Meg kell még említeni, hogy korábbi vizsgálataink közül némelyikben – illetve a disszertációban is említett 24 órás 1NP-expozíciós vizsgálatban is mértük az N-ras és Ki-ras gének expresszióit is. Összességükben elemezve ezeket az adatokat, arra jutottunk azonban, hogy a Ras-géncsaládból a Ha-ras gén a legalkalmasabb mRNS-expressziós biomarker, amit elméleti szinten megerősítenek azok a tények is, hogy a másik két Ras génnek a mutációi sokkal gyakoribbak, ezért ott az epigenetikus szabályozás helyett, inkább a genotoxikus hatások vizsgálatára kell koncentrálni.

A c-myc gén expresszió-változásait illetően a Ha-rashoz hasonlóan korai overexpressziókat láttunk, ami szinte minden szervben már 3 óra múlva jelen volt, és a 24. órára pedig nemcsak

eltűnt, hanem – ugyancsak szinte minden szervben – megfordult, és a kezelt állatokban mért expressziók alacsonyabbak voltak a kontrollokénál. A DMBA és az NMU hatásait azért is érdekes összehasonlítani, mert az NMU direkt ható, vízdékony karcinogén – ezzel összhangban iniciátor hatásai ismertek –, míg a DMBA pedig zsírban oldódó, komplett, indirekt karcinogén, ami tehát iniciátor és promoter szerepet is betölthet a daganatkialakulás folyamatában. Ezzel összhangban van az a tény, hogy a DMBA gyakrabban okozott génexpresszió-változásokat, mint az MNU, és ezek a változások gyakran későbbi időpontban – vagy hosszabb ideig – jelentkeztek. A hatások értékeléséhez azt is tudnunk kell, hogy az MNU viszonylag gyorsan degradálódik, félétideje 15 perc körül van (Smith, 2000). A c-myc expresszió-változások is azt mutatják, hogy itt is sokkal valószínűbben (a DMBA hatására mindenképpen) epigenetikus változásokat detektálunk, és nem mutációknak a következményeit.

A P53 tumorsuppresszor gén expresszió-változásainak értelmezése azért nem egyszerű, mert egyrészt a sejt számos kulcsfontosságú folyamatának szabályozásában részt vesz (sejtciklus regulációja, DNS-reparáció, apoptózis), másrészt pedig a poszttranszlációs szabályozó mechanizmusok komoly szerepet játszanak a P53-funkciók fehérjeszintű modulálásában.

Az említett poszttranszlációs szabályozás ellenére vizsgálatainkban úgy találtuk, hogy a p53 tumorsuppresszor gén mRNS szintű expressziója is jelentős változást mutathat egyes szervekben, a karcinogén kezelés után. Az MNU és DMBA kezelés hatása közötti különbség a vizsgált három gén közül a p53 esetében mutatkozott meg legszembetűnőbben. Majdnem minden vizsgált szervnél másként hatottak a különböző karcinogén kezelések, a vesében például a DMBA különböző mértékű overexpressziót okozott, az MNU pedig kifejezetten csökkent génexpressziókhoz vezetett. A két karcinogén eltérő szerkezete, oldékonysága itt is bizonyára szerepet játszik ezen eltérések magyarázatában. Irodalmi adatok szerint (Hoivik, 2005) az MNU számos szervben idézett elő daganatokat vagy prekancerózus elváltozásokat p53^{+/-} egerekben. Ez arra utal, hogy a p53 tumorsuppresszor génnek fontos szerepe van az MNU által okozott malignus transzformációs folyamatok kivédésében. Ugyanakkor Yamamoto és mtsai csak viszonylag kis különbséget találtak a p53^{+/+} és a p53^{+/-} egerek tumor-incidenciái között (MNU-indukálta gyomortumoroknál), ellentétben a jóval magasabb daganatelőfordulási gyakoriságot mutató p53^{-/-} egerekkel (Yamamoto, 2000). A szerzők szerint tehát a p53 tumorsuppresszor gén nem tartozik az MNU direkt targetjei közé, hanem inkább fontos gatekeeper funkciót tölt be az MNU-karcinogenezis kapcsán. Az MNU által okozott tumorokban nem feltétlenül következik be a p53 inaktiváció, illetve ezen esetek hátterében sem feltétlenül áll p53-mutáció: Matsumoto és mtsai MNU-indukálta patkány gasztrointesztinális daganatokat vizsgálva úgy találták, hogy a P53 mutációk gyakorisága tumortípustól függően 30-80% között volt (Matsumoto, 1997), más szerzők más daganattípusban (MNU-indukálta emlőtumor vagy glioma) pedig egyáltalán nem találtak p53

mutációt (Ogawa, 1996, Rushing, 1998). p53-mutációk egyébként a DMBA-indukálta tumorok esetén sem túl gyakoriak (Jerry, 1994).

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 szervekben 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 kiszorítanák 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-erekre, illetve újabb kémiai karcinogén anyagra (NMU) is kiterjesztették (Juhász, 2013). A gyakorlati alkalmazások irányába továbblépve pedig Szele és mtsai például kukorica-alapú biodízelből tisztított glicerín 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 (van Leeuwen, 2008; Hebels, 2011; Hochstenbach, 2012) 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; Wu, 2006), 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 (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; Ember, 2011). Leidinger és Keller pedig mikroRNS-mintázatok alapján tudták megkülönböztetni a tüdőrákos betegektől 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 alkalmas a cervix-tumörök 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 fehérvérsejtekben. 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 fehérvérsejtekben 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 szájüregi 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”, ami az újabb primér tumor képződését magyarázhatja. Az elméletre vonatkozóan jelenleg is intenzív kutatások folynak, és

számos bizonyíték áll rendelkezésre, amelyek alátámasztják azt (Chai, 2009; Graham, 2011; 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.

Ellentétben a kifejezett családi halmozódást mutató daganatos kórképekkel, az általunk vizsgált polimorfizmusok az úgynevezett alacsony penetranciájú genetikai tényezők közé tartoznak. Mivel önmagukban a daganatkialakulás kockázatát csak viszonylag kis mértékben változtatják meg, ezért nem családfaelemzéssel, hanem molekuláris epidemiológiai vizsgálatokkal elemezhetők, amelyek ebben az esetben tipikusan retrospektív, eset-kontroll vizsgálatok. Igaz ugyan, hogy főleg az utóbbi években már prospektív vizsgálatokban is tanulmányozták a genetikai polimorfizmusok daganatos kockázatra gyakorolt hatását, elsősorban beágyazott eset-kontroll (nested case control) vizsgálatokban (Ferrari, 2012; Ungerback, 2012; Fava, 2012; Lan, 2013; Chen, 2013), de ezek száma egyelőre töredéke a retrospektív vizsgálatokénak.

A különböző allélpolimorfizmusok szerepével foglalkozó közlemények döntő többsége egy konkrét hatásmechanizmuson alapuló hipotézisre építve vizsgálja egy vagy néhány – esetleg néhány tucat – genetikai tényező szerepét. Az utóbbi években azonban számos közlemény próbált meg a teljes genomra kiterjedő asszociációs vizsgálatokkal találni új genetikai érzékenységi tényezőket (Maciejewski, 2008; Yang, 2008; Castellví-Bel, 2012). E megközelítésnek az előnye, hogy olyan tényezőket is megtalálhat, amelyre korábban nem gondoltunk, célzottan nem

vizsgáltuk a hatását, egyelőre hátránya viszont, hogy a nagy elemszámú csoporton végzett vizsgálatok még mindig meglehetősen drágák, illetve a viszonylag kis kockázatemelkedést okozó tényezők azonosítása ilyen vizsgálatokkal nagyon nehéz (a statisztikailag szignifikáns eredményekre való törekvés miatt a gyengébb hatású tényezőket a vizsgálat nem képes kimutatni). A két stratégia alkalmazásával kapott eredmények nem minden esetben megegyezők, például a teljes genomra kiterjedő módszerek gyakran nem reprodukálják a célzott vizsgálatokban kockázatot befolyásoló tényezőnek talált polimorfizmusokra vonatkozó eredményeket (Schoof, 2011; Tomlinson, 2012). Történtek kísérletek a vizsgálandó SNP-ek számának redukálására, ami talán majd megfelelő kompromisszum lehet a célzott és a „mindenre kiterjedő” vizsgálatok között (Bhatti, 2006; Liu, 2006; George Priya Doss, 2010 Schoof, 2011; Castellví-Bel, 2012; Tomlinson, 2012).

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, mint azt a következőkben bizonyítani fogjuk, 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.

Ha a daganatok kockázatát befolyásoló tényezőket szeretnénk találni, akkor logikus választás a karcinogén anyagokat metabolizáló gének tanulmányozása. A szervezetünkbe került karcinogén anyagok aktiválása vagy éppen inaktiválása a külső expozíció mértéke mellett döntően befolyásolja a daganatos kockázatot. Az e folyamatokat katalizáló enzimek – szokásos összefoglaló nevükön metabolizáló enzimek – nagyon gyakran indukálhatóak, másrészt pedig általában polimorfak is. Működésüket alapvetően befolyásolja tehát a genotípusunk, de lényeges szerepet játszik az enziminduktor vagy inhibitor molekulák jelenléte is. Az enzimaktivitást befolyásoló külső tényezők hatása ráadásul nem minden genotípusnál érvényesül egyformán. Ha még azt is figyelembe vesszük, hogy gyakran maguk a szubsztrátok lehetnek enziminduktorok vagy inhibitorok, illetve az egyik enzim szubsztrátja például egy másik enzim induktora lehet, láthatjuk, hogy milyen bonyolult kölcsönhatások alapján dől el, hogy egy adott enzim-polimorfizmus egy adott népességben milyen hatást is gyakorol valamilyen betegség kockázatára.

A metabolizáló enzimek közé tartoznak a glutathion-S-transzferáz gének, amelyek különböző aktivált karcinogén molekulákat konjugálnak glutathionnal, és ezzel vízzoldékonnyá teszik illetve inaktiválják azokat. A különböző GST-polimorfizmusok azért kerültek viszonylag korán a figyelem középpontjába, mert az enzim-szupercsalád legismertebb képviselői, a GSTM1 és GSTT1 enzimek – pontosabban az őket kódoló gének – inszerciós/deléciós polimorfizmusa az

úgynevezett 0 genotípusú (homozigóta Del) személyeknél az adott enzim működésének teljes kieséshez vezet. Itt tehát az genotípusok markáns fenotípusos különbségekhez vezetnek, ami elvileg a daganatos kockázatban is meg kell, hogy nyilvánuljon. A glutation-S-transzferáz enzimek szubsztrátspektruma meglehetősen széles (nagyon sokféle, elektrofil funkciós csoportot tartalmazó molekulához tudnak glutationt kapcsolni), beletartoznak például különböző aflatoxin B1 metabolitok, 2-amino- 1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridin (PhIP), benz[a]pirén, 7,12-dimetilbenz[a]antracén, metilparation, akrolein, oxidált zsírsavszármazékok, nitrozourea-származékok, ciklofoszfamid (Hayes, 1992). A kolorektális daganatokban azért különösen releváns a GST enzimek tanulmányozása, mert a felsorolt vegyületek – illetve még továbbiak is – a táplálékban előforduló karcinogén anyagok fontos képviselői közé tartoznak. A policiklusos aromás szénhidrogéneknek pedig a táplálkozási eredetű bevitel mellett (füstölt, grillezett ételek) nem szabad megfeledkezni a dohányzók direkt expozíciójáról sem, amely a nyállal lenyelt karcinogén molekulákra vezethető vissza.

Mindkét, e daganat vonatkozásában végzett újabb vizsgálatunkban (Kiss, 2004; Csejtej, 2008) úgy találtuk, hogy a GSTM1 statisztikailag szignifikánsan fokozta a kolorektális daganatok kialakulásának kockázatát, míg a GSTT1 nem bizonyult szignifikáns kockázati tényezőnek. A két vizsgálat alanyai között nem volt átfedés, az első vizsgálat nagyobb elemszámú volt, a másodikkal viszont az volt az előnye, hogy a különböző Dukes-stádiumú betegek – a Dukes' D stádium kivételével, amely csoport kissé alacsonyabb elemszámot takart – egyenletesen oszlottak meg az eset-csoportban. Ezáltal demonstráltuk, hogy a GSTM1 kockázatemelő hatása nem csak egyes tumoros alcsoportokra, típusokra, hanem a kolorektális adenokarcinomás betegekben általában érvényesül. Meg kell azonban említeni, hogy még korábbi, kisebb elemszámot magába foglaló vizsgálatunkban, ami lényegében elővizsgálatnak tekinthető (Kiss, 2000) – bár a GSTM1 0 genotípus gyakrabban fordult elő a vastagbél-daganatos betegek között, mint a kontroll csoportban – nem volt szignifikáns kapcsolat a GSTM1 polimorfizmus és a kolorektális daganat kockázata között. Ez megerősíti, hogy a molekuláris epidemiológiai vizsgálatokban megfelelő nagyságú csoportok szükségesek ahhoz, hogy bizonyos összefüggéseket kimutathassunk, illetve az előzetes elemszámbecslés, valamint a statisztikai erő kalkulációjának fontosságát hangsúlyozza.

Az utóbbi években több nagy metaanalízis is foglalkozott a kolorektális daganatok és a GST-polimorfizmusok kérdésével (Raimondi, 2009; Economopoulos, 2010; Gao, 2010; Wang, 2012). Ezek a közlemények megállapították, hogy a GSTM1 0 genotípus kaukázusi népességben statisztikailag szignifikánsan fokozta a daganatkialakulás kockázatát (Economopoulos: OR:1,15 95% CI: 1,06-1,25, illetve Gao: OR:1,14, 95% CI: 1,01-1,27), míg az ázsiai népességben nem volt ilyen összefüggés (ezt megerősítette, hogy a kínai adatokat külön elemezve Wang és mtsai sem találtak kapcsolatot a GSTM1 0 genotípus és a kolorektális daganatok között). Raimondi és mtsai metaanalízise pedig azt mutatja, hogy a GSTM1 és T1 polimorfizmusok valószínűleg nem

befolyásolják a dohányzás – egyébként bizonyított – hatását a kolorektális karcinogenezisre, így tehát feltehetően a táplálkozási eredetű karcinogén anyagok metabolizmusán keresztül fejtik ki hatásukat.

A GSTT1 0 genotípus ugyancsak szignifikáns kockázati tényezőnek bizonyult (Economopoulos: OR: 1,31 95% CI: 1,12-1,54) kaukázusi rasszban, ellentétben az ázsiai populációkkal. Az összefüggés hiányát megerősített Wang és mtsai közleménye is (OR: 1,10, 95% CI: 0,94-1,29). Meg kell említeni azonban egy olyan metaanalízist is (Liao, 2010), amely úgy vélte, hogy a GSTT1 0 genotípus ázsiaiakban is szignifikáns kockázati tényező, bár ezzel a tanulmánnyal kapcsolatban felmerülhetnek kritikai észrevételek – elsősorban egy iráni vizsgálat (Saadat, 2001) poolozása a földrajzi helyzet okán a kínai tanulmányokkal, pedig a perzsákat származásuk okán nem célszerű ebbe a csoportba vonni.

Saját adataink a GSTM1 hatását tekintve illeszkednek a többi kaukázusi populációban talált összefüggésekhez, bár mindkét vizsgálatunknál valamivel szorosabb összefüggést láttunk, mint a metaanalízisek eredményei. A metaanalíziseket, illetve az ezekbe bevont vizsgálatokat áttekintve úgy látjuk, hogy ezek az eltérések megfelelnek a különböző népcsoportok genetikai heterogenitásából, életmódjából adódó különbségeknek, és ezért úgy gondoljuk, hogy a magyar népességre vonatkozóan meggyőzően sikerült bizonyítani a GSTM1 0 genotípus kockázati szerepét. Saját vizsgálatunk (Kiss, 2004) erőssége többek között a viszonylag magas elemszám, a 2010-es metaanalízis adatai (Gao, 2010) szerint az addig publikált, megfelelő minőségűnek tartott 36 közlemény közül azon 4-be tartozik, amelyben legalább 500-as nagyságú betegcsoportot sikerült vizsgálni. A Medline adatbázis szerint más hazai adatok nem állnak rendelkezésre a vastagbél-daganatok vonatkozásában, amikkel eredményeinket összevethetnénk. A GSTM1 és GSTT1 polimorfizmusokat néhány más szerző vizsgálta, más betegségek illetve tulajdonságok vonatkozásában. Ki kell emelni Schocket és munkacsoportja vizsgálatait, akik elsőként végeztek Magyarországon GSTM-genotipizálásokat, tüdőrák, dohányzás illetve DNS-adukkt-szinteket illetően (Schocket, 1998; Schocket, 2001). Ugyancsak Schocket munkacsoportja publikált adatokat a GSTM1 és a mielodispláziás szindróma közötti összefüggésről (Várkonyi, 2008), egy vizsgálat foglalkozott a genotípusok és a mutagenitás iránti érzékenység összefüggésével (Tuimala, 2002), illetve Kimura és mtsai pedig az epehólyagrák kockázatát vizsgálták (Kimura, 2008). Ezek a vizsgálatok jóval alacsonyabb esetszámúak volt, mint saját munkáink, mindazonáltal az egészséges népességben talált GSTM1 ill. GSTT1 megoszlások tekintetében gyakorlatilag megegyeztek a mi eredményeinkkel (kivéve Kimura és mtsai mindössze 48 női kontroll személyről publikált adatait, ahol a GSTM1 genotípu-megoszlások teljesen eltérőek voltak a kaukázusi rasszról általában publikált adatoktól).

A GSTT1 polimorfizmust vizsgálva saját vizsgálataink nem tudták megerősíteni a metaanalízisek által leírt összefüggést a 0 genotípus és a vastagbél-daganatok kockázata között.

Elképzelhető, hogy fennáll ilyen összefüggés a magyar népességben is, hiszen mindkét vizsgálatunkban magasabb volt a 0 genotípusúak aránya a daganatos csoportban, sőt a nagyobb elemszámú vizsgálatban ez nem állt távol a statisztikailag szignifikáns szinttől. Lehetséges, hogy még nagyobb csoportokat vizsgálva szignifikáns összefüggés mutatkozna, bár természetesen ezt kijelenteni nem lehet. Mindenképpen figyelemre méltó viszont, hogy hazai vizsgálataink a GSTM1-összefüggést találták erősebbnek, mint a GSTT1-kapcsolatot. Ezt az eltérést csak újabb vizsgálatokkal lehet megerősíteni vagy kizárni, bár, amint korábban írtuk is, a GSTM1 vonatkozásában a kockázati szerep már bizonyítottnak tekinthető.

A GSTM1 – illetve esetlegesen a GSTT1 – 0 genotípusok daganatos kockázatot fokozó hatásának magyarázata nem különösebben bonyolult. A GST enzimek klasszikus II-es fázisú metabolizáló enzimek, azaz detoxikáló folyamatokban vesznek részt. Így tehát a 0 genotípus a detoxikáló kapacitás részleges csökkenéséhez vezet – azért nem kiesésről beszélünk, mert a különböző GST-enzimek szubsztrátspecifitása között bizonyos mértékű átfedés tapasztalható, vagyis a kiesett vagy csökkent funkciót más GST-enzimek részben átvehetik. Ráadásul nemcsak a GST szupercsaládon belül létezik az említett átfedés, hanem vannak olyan metabolitok, amelyek alternatív detoxikációs utakon keresztül is inaktíválódhatnak – erre lehet példa a benzpirén-származékok glukuronidációja. Az interetnikai különbségek sokkal érdekesebb problémát vetnek fel, amelynek megoldása valószínűleg magába foglalja az adott daganat kockázatát befolyásoló további allélek gyakorisága közötti különbségeket, illetve az eltérő környezeti-táplálkozási tényezőket. A GSTM1 génnel kapcsolatban például általában csak a 0/+ genotípusokat szokás vizsgálni, pedig az Ins allélen belül egy további polimorfizmus újabb alcsoportokat képezhetünk (GSTM1*A és GSTM1*B allélek). Kimutatták, hogy ezek az allélek kapcsoltan öröklődnek egy másik GST enzim, a GSTM3 különböző alléljeivel mégpedig a GSTM1*A allél kapcsolt a GSTM3*B alléllal, ami pedig alacsonyabb transzkripció aktivitást mutat, egy negatív regulációs faktor (YY1) kötőhelyének jelenléte miatt (Inskip, 1995).

A GSTM1 és T1 szerepét több szerző is vizsgálta a kolorektális daganatok prognózisával kapcsolatban. Stoehlmacher metasztatikus (Stoehlmacher, 2002) vagy előrehaladott (Stoehlmacher, 2004) daganatokban nem talált összefüggést a prognózis és a GSTM1 vagy T1 genotípus között. Holley a GSTM1 0 genotípusú betegek jobb prognózisát írta le, különösen a GSTM3 gén egy genotípusával kombinálva (Holley, 2006). Jones szerint a GSTM1 és T1 polimorfizmusoknak nem volt hatása a túlélésre (Jones, 2009), Funke viszont a GSTM1 + genotípust találta a jó prognózis markerének kemoterápiával kezelt betegekben, míg a T1 genotípus nála sem volt hatással a prognózisra (Funke, 2010). Más szerzők egyes kemoterápiás szerek vagy protokollok hatékonyságát, illetve a toxicitás, a mellékhatások fellépését vizsgálták a genotípusok függvényében. Boige szerint a GSTT1 genotípus befolyásolta az LV5FU2, illetve a FOLFOX kezelések hatékonyságát (Boige, 2010), McLeod pedig a GSTM1 0 genotípusú betegekben

FOLFOX kezelés után gyakrabban talált neutropéniát, mint a + genotípusúakban (McLeod, 2010). A helyzet tehát egyáltalán nem egyértelmű, a GSTM1 és T1 polimorfizmusok prognosztikus hatása feltehetően függ a betegség stádiumától, az alkalmazott kezeléstől és más genetikai polimorfizmusokkal való kölcsönhatásoktól.

A GSTP1 allélpolimorfizmusnál eredményeink megegyeznek a 2010-ben publikált nagy metaanalízis következtetésével, vagyis a magyar népességben sem bizonyult kockázati tényezőnek a GSTP1 105Val allél (Kiss, 2004). Ez azért furcsa, mert ez az allél alacsonyabb aktivitású enzimet kódol, mint allélpárja, az Ile105, tehát a karcinogén-detoxikációs kapacitás így kisebb. Hosszú időn keresztül nem sikerült magyarázatot találni erre az ellentmondásra, bár Adler és mtsai publikációja, amelyben leírták, hogy a GSTP1 fehérjének van egy olyan funkciója, ami teljesen független a II-es fázisú metabolikus aktivitásától (Adler, 1999), sejtetni engedte, hogy itt kell keresni a megoldást. A GSTP1 protein a JNK fehérjéhez való kapcsolódáson keresztül befolyásolja a stressz-indukálta MAP kináz jelátviteli utakat, azaz például az apoptotikus folyamatokat. Mint a közelmúltban tisztázódott, a GSTP1 fehérjének az egyik haplotípusa (amely két polimorfizmus alapján áll össze: Val105/Val114) erősebb gátló hatást fejt ki a JNK fehérjére, mint a vad típusú haplotípus (Ile105/Ala114), és ezáltal antiapoptotikus, sejtproliferatív hatást fejthet ki (Thévenin, 2011). Így tehát elképzelhető, hogy a csökkent detoxikáló hatás és a JNK-jelátviteli úton keresztül kifejtett antiapoptotikus hatás egymást kiegyenlítve eredményezi azt, hogy populációs szinten ennek az allélpolimorfizmusnak nincsen szignifikáns hatása a vastagbél-daganatok kockázatára.

A GSTM1 és GSTT1 polimorfizmusok hatását vizsgáltuk cervikális diszpláziák előfordulási gyakoriságára is (Cseh, 2011), ahol mindkét 0 genotípust statisztikailag szignifikáns kockázati tényezőnek találtuk (GSTM1 0 genotípus: OR: 1,78, 95% CI: 1,06-2,97; GSTT1 0 genotípus: OR: 1,89, 95% CI: 1,10-3,26), és a duál 0 genotípus pedig még erősebben fokozta a kockázatot (OR: 2,35, 95% CI: 1,17-4,73). Mivel a méhnyakrákot az utóbbi időben szinte kizárólag HPV-kontextusban szokás említeni, érdemes röviden áttekinteni, miért is lehet mégis szerepe az egyéni érzékenységi tényezőknek e daganat kialakulásában!

Míg a méhnyakrák egyértelműen legfontosabb kockázati tényezője a magas kockázatú HPV fertőzés, ez önmagában nem magyarázza a méhnyakrák epidemiológiai sajátosságait. Egyrészt nem minden cervixtumorban sikerül HPV DNS-t kimutatni (Munoz, 2000), bár a daganatok mintegy 95%-ában igen. Másrészt még a perzisztens, magas kockázatú HPV fertőzés sem vezet feltétlenül cervixrák vagy preblasztoma kialakulásához (Schiffman, 2005; Khan, 2005; Castle, 2005). Ezek a tények jelzik, hogy továbbra sem feledkezhetünk meg a cervixrák egyéb rizikófaktorairól, amelyeket jelenleg leginkább a HPV okozta daganatos kockázatot moduláló tényezőknek tartunk. Így tehát a cervixrák kockázati modelljébe jól beleilleszthetők az úgynevezett hagyományos kockázati tényezők, mint például a dohányzás is.

A külső módosító tényezők mellett ugyancsak fontos lehet a genetikai kockázatot egyéni érzékenység jelleggel befolyásoló allélpolimorfizmusok tanulmányozása. E gondolat jegyében vizsgáltuk egyes allélpolimorfizmusok hatását a HPV-indukálta cervix-preblasztomák kockázatára.

Alaposan áttekintve a korábbi vizsgálatokat, látható, hogy azok meglehetősen heterogének, és nem pusztán a vizsgálatok területi eloszlására, hanem az eredményeket lényegesen befolyásoló tényezők figyelembe vételére vonatkozóan is. Mi fontosnak tartottuk, hogy kizárólag magas kockázatú HPV fertőzött nőket vonjunk be a vizsgálatba, hiszen így biztosíthattuk, hogy a HPV fertőzés ne confounderként (illetve a DRD2 vizsgálatoknál esetleges köztes változó) jelentkezzen. A legfontosabb tényező szempontjából tehát homogén csoportokat állítottunk össze azzal, hogy perzisztens HPV 16 vagy 18 fertőzött nőket vizsgáltunk. A hazai gyakoriságok (Kónya, 2000) esetleg indokolhatták volna a HPV 31 bevonását is, de a csoportok homogenitását fontosabbnak tartottuk. A HPV 16-os és 18-as típusának magas onkogenitása további érv volt a szűkebb szelekció mellett (Khan, 2005; Meijer, 2006). Ezeknek a típusoknak a szerepét az említett nemzetközi adatokon túl hazai vizsgálatok is megerősítették (Szőke, 2003, Hernádi, 2004; Hernádi, 2006). Mivel a HPV fertőzés fennállásának időtartama ugyancsak kritikus szerepet játszik a malignus transzformáció létrejöttében (Hernádi, 2006), úgyszintén fontosnak tartottuk, hogy nemcsak egyszeri HPV pozitivitás, hanem perzisztens HPV fertőzöttség volt a beválasztási kritérium. Természetesen tisztában vagyunk vele, hogy ezt teljes bizonyossággal csak folyamatos nyomon követés bizonyíthatta volna, és a mi megközelítésünk (ugyanannak a típusnak a két vagy több alkalommal történő kimutatása nem garantálja a fertőzés perzisztáló voltát. A rendelkezésre álló adatok, minták azonban ennél többet nem tettek lehetővé, és így is jóval messzebbre mentünk, mint az irodalomban fellelhető vizsgálatok döntő többsége. Ezt bizonyítja, hogy anyagunkban meglepően magas, bár az irodalomban nem egyedülálló volt a preblasztomák kialakulásának aránya (46,2%), amit a kifejezetten hosszú időtartamú perzisztens fertőzés fennállásának tudunk be. Ebben természetesen a rendszeres orvosi ellenőrzésnek és megfelelő diagnosztikának is fontos szerepe volt, hiszen enélkül a regisztrált esetek száma feltehetően lényegesen alacsonyabb lett volna.

A GSTM1 és T1 enzimek polimorfizmusait – karcinogén anyagok metabolizmusában betöltött szerepük miatt – számos szerző vizsgálta a cervixrák kockázatával kapcsolatban is, de az eredmények lényeges eltéréseket mutattak egymástól. Ezt jól mutatják a témában az utóbbi időben publikált meta-analízisek is (Economopoulos, 2010; Gao, 2011; Wang, 2011; Zhang, 2012; Liu, 2012). Míg a teljes népességben mind az öt meta-analízis statisztikailag szignifikáns összefüggést talált a GSTM1 0 genotípus és a fokozott cervixrák-kockázat között, a GSTT1 vonatkozásában csak Gao és mtsai találtak statisztikailag szignifikáns kapcsolatot, a másik négy meta-analízis szerint a GSTT1 polimorfizmus nem befolyásolta a kockázatot. Gao szerint a GSTT1 0 genotípus a teljes vizsgálatba vont népesség analízisekor kockázati tényező, de önmagában sem

az ázsiai sem a kaukázusi populációk vizsgálatánál nem bizonyult annak. Ez az eredmény egyértelműen az elemszámok hatását valószínűsíti, vagyis a teljes populáció poolozása esetén lett csak elegendő a csoportok nagysága ahhoz, hogy az eredményt ki lehessen mutatni. Ez jól illusztrálja az egyes külön vizsgálatok mintanagyságból adódó korlátait. Népcsoportonkénti analízis alapján GSTM1 vonatkozásában Zhang valamint Liu szerint összefüggés csak kínai és indiai populációkra nézve áll fenn, ezzel állnak összhangban Gao és Wang eredményei (ázsiai népességben igen, máshol nem szignifikáns a kapcsolat), viszont lényegében az ellenkezőjét találta Economopoulos (a szignifikáns kapcsolat csak a nem kínai népeiségekre, de a kínai populációra nem áll fenn). Ez a vizsgálat egyébként sokkal kevesebb tanulmányt vont be a metaanalízisbe, mint például Gao és mtsai. Economopoulos továbbá igen erős kapcsolatot talált a GSTT1 polimorfizmus tekintetében latin népeiségekben (OR:4,58, 95% CI:2,04-10,28). A metaanalízisek jól mutatják az eddigi vizsgálatok említett heterogenitását, akár a vizsgált népesség, akár zavaró tényezők figyelembe vétele vagy a vizsgálat végpontja szempontjából. Ez utóbbi, vagyis jelen esetben az, hogy cervixkarcinómákat vizsgálunk-e avagy cervikális diszpláziát, illetve milyen kritériumrendszer alapján azonosítjuk a betegnek tekintett résztvevőket, erősen befolyásolhatja, illetve módosíthatja a kapott eredményeket. Ez utóbbit illusztrálja, hogy például egyes szerzők a cervixkarcinómát (Singh, 2008; Settheetham-Ishida, 2009; Kirán, 2010), mások preblasztomás állapotokat (Ueda, 2005; Sierra-Torres, 2006), megint mások pedig a két kategóriát vegyesen (Nishino, 2008; Palma, 2010) használták kimeneti változóként. Számunkra két fő érv szólt a súlyosabb diszplázia, mint végpont alkalmazása mellett. Egyrészt a diszplázia-karcinóma átalakulás már sokkal inkább a prognosztikus, mint a kockázati elemzéshez tartozik (cervixrákos vizsgálatunk második részében ilyen elemzést magunk is végeztünk). Ha ezt a végpontot választjuk, prognosztikus elemek keverednének a kockázatot befolyásoló tényezőkkel, ami a rizikófaktorok tiszta elemzését megnehezíti. Mivel vizsgálatunk (az eddig publikált vizsgálatok döntő többségével ellentétben, amelyek egyszerű eset-kontroll vizsgálatok voltak), retrospektív kohorsz vizsgálat volt, lehetőségünk nyílt végpontként korai malignus ill. premalignus állapotokat választani, esetünkben a HSIL illetve CIN II/III stádiumokat. A jelenleg érvényes ajánlások szerint ilyenkor már célszerű az orvosi beavatkozás, vagyis a karcinoma kialakulását csak rendszeres szűrés vagy nőgyógyászati ellenőrzésen részt nem vevő nőknél tudtuk volna végpontként használni. Ezt egyébként nem is tartottuk volna célszerűnek, hiszen az orvosi beavatkozás szükségessége a gyakorlati szempontból fontos végpontokat egyértelműen azonosítja. Másrészt a diszplázia gyakorlati szempontból is lényeges, hiszen a súlyos cervikális diszplázia ma mindenképpen orvosi beavatkozást indikál, és nem várjuk meg, hogy vajon progrediál-e a folyamat az invazív rák fejlődése irányába. Természetesen elgondolkodhatunk azon, hogy nem minden premalignus állapot fejlődik tovább százszázalékos bizonyossággal daganattá, de a jelen orvostudomány nem vállalhatja a kezelés nélkül hagyásnak a kockázatát ilyen esetekben.

Vizsgálatunk lehetséges gyenge pontja, hogy a dohányzás, mint kockázati tényező lehetséges hatását nem vettük figyelembe, nem illesztettünk vagy stratifikáltunk. Miután a dohányzás és a GSTM1 polimorfizmus cervixrák-kockázatra gyakorolt hatásának elemzése során a legtöbb ilyen vizsgálat (Goodman, 2001; Agorastos 2007; Nishino, 2008; Settheetham-Ishida, 2009; Palma, 2010) nem talált kölcsönhatást a két tényező között, ezt a hiányosságot nem tartjuk súlyosnak. Az adott elemszám mellett további tényezők szerinti csoportosítás vagy elemzés már nem is lett volna lehetséges.

Az eddigi, meglehetősen bizonytalan és ellentmondásos adatokkal szemben tehát úgy gondoljuk, hogy erős érvet tudunk felmutatni amellett, hogy a GSTM1 és T1 0 genotípusok kaukázusi populációban is fokozzák a cervix-premalignus léziók gyakoriságát. A duál 0 genotípus kifejezetten erős kockázatemelő hatása pedig jól jelzi a két enzim együttes működéskiesésének hiányát a karcinogén vegyületek metabolizmusában.

A következőként tárgyalt p53 allélpolimorfizmus és a vastagbél-daganatok vonatkozásában viszonylag könnyű volt előzetes hipotézisünket felállítani. Mint azt korábban bizonyították, a 72-es kodon Arg/Pro allélpolimorfizmus a fehérje funkciójában jól mérhető eltéréseket okoz, amelyek a p53-protein kulcsfontosságú szerepe miatt a eltérésekhez vezethetnek a sejtciklus szabályozásával, a sejtek apoptózis-készségével kapcsolatosan (Dumont, 2003; Pim, 2004; Sullivan, 2004; Siddique, 2006;). Mivel e vizsgálatok a Pro allélt találták a kevésbé hatékonyan apoptózist indukáló variánsnak (Dumont, 2003), természetes, hogy a p53 72-es kodon allélpolimorfizmusát vizsgáló szerzők abból az alaphipotézisből indultak ki, hogy ez az allél fokozottabb daganatos kockázatot eredményez.

Saját vizsgálataink ezt az elméleti megközelítést megerősítve statisztikailag szignifikáns kockázati tényezőnek találták a p53 Pro-allélt, kolorektális daganatok esetében. Más szerzők eredményeit, illetve a közölt metaanalíziseket áttekintve már nem ilyen egyszerű a helyzet, ugyanis a metaanalízisek a teljes vizsgált populációra nézve, illetve a kaukázusi rasszon végzett vizsgálatok tekintetében sem találták ezt az összefüggést statisztikailag szignifikánsnak (Tang, 2010; Economopoulos, 2010; Wang, 2011; Liu, 2011). Liu és mtsai ázsiai populációkban ugyan kockázatnövelő tényezőnek találta a Pro-homozigóta genotípust (OR: 1,79, 95% CI: 1,37-2,35) de a többi analízis nem mutatta ezt az összefüggést.

Más hazai vizsgálatok kolorektális daganatokra vonatkozóan nem történtek. Hasonlóságot leginkább Szőke és mtsai közleményével lehet felfedezni, akik a p53 genotípusok kapcsolatát vizsgálták gyomorban kialakuló intesztinális metapláziával, a *Helicobacter pylori* fertőzöttség függvényében (Szőke, 2009). Vizsgálatuk szerint az Arg/Arg homozigótáknál szignifikánsan ($p=0,0087$) alacsonyabb volt a metaplázia kialakulásának kockázata, mint a Pro-allélt hordozóknál. Az eredmény összhangban van saját adatainkkal és következtetésünkkel, vagyis ez a

munkacsoport is – bár jóval kisebb elemszámú vizsgálatban – a hazai népességben a Pro-allélt találta egy gasztrointesztinális premalignus folyamat kockázati tényezőjének. Magyarországon még Hernádi valamint Szarka és munkacsoportja (Szarka, 1999; Hernádi, 2003) foglalkozott p53 Arg/Pro polimorfizmussal, de ezek a vizsgálatok – lévén, hogy a cervixrákkal kapcsolatban végezték őket, és a p53 fehérjének a HPV-indukálta karcinogenezisben játszott speciális szerepe miatt ez nem összevethető saját eredményeinkkel – számunkra csak annyiban használhatók fel, hogy az egészséges kontroll népességben talált allélmegoszlásokat összevessük. Vizsgálataink között nem volt lényeges eltérés az egyes allélek megoszlását illetően – az általuk közölt megoszlás 60%, 36% illetve 4% (Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro). A fenti vizsgálatok eredményeit is figyelembe véve valószínűnek tartjuk, hogy a p53 Pro allél a hazai népességben kockázati tényező lehet, ennek további vizsgálatát és a hátterének feltárását fontosnak tartjuk.

A p53 tumorsuppresszor gén ugyanakkor statisztikailag szignifikáns prognosztikus tényezőnek is bizonyult eredményeink szerint kolorektális daganatok esetén. Katkoori és mtsai afro-amerikai és kaukázusi csoportokon végzett vizsgálata ezt az afro-amerikaiak esetében tudta megerősíteni (Katkoori, 2009), bár ők nem publikáltak adatokat a stádium-specifikus összefüggésekről (további eltérés, hogy ebben a vizsgálatban a Pro-homozigótákat állították szembe az Arg allélt hordozókkal). Míg a p53 tumor suppresszor gén mutációinak etiológiai és prognosztikus szerepével igen sok közlemény foglalkozik már mintegy két évtizede (Hamelin, 1994), többek között a kolorektális daganatok vonatkozásában is, tudomásunk szerint elsőként közöltük, hogy a p53 72-es kodon Arg/Pro polimorfizmus befolyásolja a vastag- és végbéldaganatos betegek túlélését (Csejtej, 2008). Az Arg72Pro polimorfizmus molekuláris szintű hatásaival kapcsolatban viszont több publikáció is napvilágot látott, elsősorban a p53 pontmutációkkal való kapcsolatot, illetve a mutáns p53 működését vizsgálva a különböző genotípusú személyekben/sejtekben (Lung, 2004; Schneider-Stock, 2004; Katkoori, 2009, Tominaga, 2010).

A p53 Arg72 allél, mint korábban írtuk, jobb apoptózis-indukáló képességgel rendelkezik a Pro-allélnál. Ez egyrészt összhangban van a Pro allél kockázati szerepével, másrészt magyarázhatja, hogy miért reagál jobban az Arg-homozigóta sejt a citosztatikus terápiára. Ez utóbbira egyértelmű kísérletes bizonyítékok is vannak (Sullivan, 2004), illetve saját vizsgálatunkkal megegyezően más szerzők tüdőtumoros (Nelson, 2005), illetve emlőtumoros (Tommiska, 2005) betegeknél találták úgy, hogy a Pro allél rosszabb prognózist jelent. A prognózisra gyakorolt hatás valószínűleg függ a tumortípustól és az alkalmazott kezeléstől is. Bergamaschi például fej-nyaki daganatok esetében úgy találta, hogy a ciszplatin alapú kemo-radioterápiára jobban reagálnak a 72Pro allélt hordozók, mint az Arg72 genotípusúak (Bergamaschi, 2003). Meg kell jegyezni, hogy ez a vizsgálat mutáns p53 génre vonatkozott (az összefüggés akkor volt igaz, ha a vizsgált személyek p53 génje mutációt szenvedett).

A prognosztikus szerep elméletileg tehát magyarázható a Pro allél gyengébb apoptotikus hatásával, illetve közvetlen bizonyíték van arra nézve is, hogy az Arg/Arg homozigóta tumorsejtek bizonyos esetekben jobban reagálnak az 5-fluorouracil kezelésre (Tominaga, 2010). Fontosnak tartjuk megjegyezni, hogy a Pro allél prognosztikus szerepe gyakorlati szempontból azért is lehet érdekes, mert vizsgálataink szerint pontosan abban a stádiumban (Dukes' B) érvényesült, ahol különösen kritikus szerepe van a hatékony terápia kiválasztásában nyújtott segítségnek. Az A stádiumú betegek túlélése ugyanis relatíve jó (lényegében függetlenül a p53-státustól), a késői stádiumban diagnosztizált betegeknél viszont igen rossz, amin a p53-státusz által okozott különbség nem tud lényegesen változtatni. A Dukes' B stádiumban viszont jelentős különbség lehet túlélést illetően a különböző betegcsoportokban.

A NAT gének polimorfizmusainál, különösen a NAT2 esetében a gyomor-bélrendszeri daganatok képezhetik az elsődleges vizsgálati célpontot, részben a szervspecifikus expresszió, részben ezen enzimek szubsztrátjai (amelyek gyakran a táplálékkal kerülnek szervezetünkbe) miatt. Eredményeink is alátámasztották a NAT2 fontos szerepét a táplálkozási eredetű karcinogének metabolizmusában, ugyanis a rapid acetilálók kolorektális daganatos kockázatát magasabbnak találtuk. Eredményeink összhangban vannak a legújabb meta-analízisekkel (Liu, 2012a; Liu, 2012b), amelyek NAT2 vonatkozásában ugyancsak a rapid acetilálók fokozott kockázatát írták le, NAT1 esetén pedig nem találtak összefüggést. Mindazonáltal az utóbbi években is számos, a NAT 2 hatását tanulmányozó publikáció jelent és jelenik meg, amelyek az eddigi eredmények pontosítása (például expozíció alapján különböző alcsoportokra bontva vagy a hatást az adenoma/karcinóma csoportosításban vizsgálva), a kockázat további kvantifikálása miatt fontosak. Nöthlings például a NAT2 polimorfizmusok és a dohányzási szokások valamint húsfogyasztás/heterociklusos amin-bevitel közti kölcsönhatást vizsgálta, erős kölcsönhatást leírva a NAT2 és a dohányzás között, valamivel gyengébbet pedig a NAT2-húsfogyasztás viszonylatban (Nöthlings, 2009). Shin pedig a NAT2 mellett a NAT1 polimorfizmusára vonatkozó kockázatomódosító hatást is ki tudott mutatni, ha a táplálkozási eredetű expozíciót (húsfogyasztás, heterociklusos aminok) is figyelembe vette (Shin, 2008).

A NAT2-vel kapcsolatban meg kell említeni, hogy – a bevezetésben említett kettős természetével összhangban – húgyhólyagtumorerő esetén a lassú acetilálók kockázata magasabb (Klimčáková, 2011). A kolorektális tumorok és a hólyagrákok kockázatára gyakorolt ellentétes irányú hatást jól magyarázza, hogy más-más típusú vegyületek adják az expozíciót, és emiatt az egyik esetben főként N-, a másik tumorról kapcsolatban pedig inkább O-acetilációs reakciók zajlanak le.

Az EPHX gén polimorfizmusára vonatkozóan Liu nemrégiben készített meta-analízise szerint a Tyr113His a teljes népességben nem volt szignifikáns hatással a kolorektális daganatok kockázatára, mindössze a kórházi alapú eset-kontroll vizsgálatok találták a His-homozigotáságot szignifikáns rizikófaktornak (Liu, 2012). Egyébként saját eredményeink is ilyen összefüggést mutattak. A His139Arg polimorfizmus a meta-analízis szerint viszont összességében is szignifikáns hatást mutatott, az Arg allél jelenléte (elsősorban homozigóta formában – de ez feltehetően az Arg-homozigóták alacsony száma miatt alakult így) volt védő hatású. Saját eredményeink is ezt a tendenciát mutatták, de nálunk az eredmények nem érték el a statisztikai szignifikancia szintjét. Mint szinte mindegyik polimorfizmusnál, itt is az expozíciók, életmód, illetve az egyéb genetikai tényezők különbségére kell utalni, mint lehetséges magyarázatra. Ezt illusztrálja például Nisa közleménye, aki különböző alcsoportok szerinti bontásban vizsgálta az EPHX polimorfizmusok és a vastagbél-daganatok közötti kapcsolatot, és „finomhangolással” ő is statisztikailag szignifikáns összefüggést kapott a 113His allél hatását illetően, ami csak BMI>25 kg/m² résztvevőkre érvényesült, és függött a His139Arg valamint a GSTM1/T1 genotípusoktól is (Nisa, 2012). Említésre méltó még egy utóbbi időben megjelent török közlemény, amely annyiban hasonlított saját analízisünkre, hogy a szerzők erősen és szignifikánsan kockázatemelő hatásúnak találták a 113His-homozigotáságot – bár eltérés, hogy a másik polimorfizmus is szignifikáns hatást fejtett ki (Sahin, 2012). A miR-146a allélmegoszlásokat vizsgálva (lásd a megbeszélés megfelelő részét) is feltűnt, hogy a hazai allélmegoszlások leginkább egy török vizsgálatból származó allélmegoszlásokhoz hasonlítanak.

Az XRCC1 DNS reparációs enzim számos fizikai vagy kémiai ágens által okozott DNS károsodás javításában részt vesz, funkcionális polimorfizmusai esetén ezért feltételezhető egy esetleges daganatrizikót befolyásoló hatás. Ennek a meglétét fej-nyaki daganatok vonatkozásában az eddigi vizsgálatok nem minden XRCC1 polimorfizmus esetén igazoltak, számos vizsgálat zárul „pozitív”, és számos másik pedig „negatív” eredménnyel. Flores-Obando meta-analízisében (Flores-Obando, 2010) az általa vizsgált 3 allélpolimorfizmus (a leggyakrabban tanulmányozott polimorfizmusokat elemezték: Arg194Trp, Arg280His és az Arg399Gln variánsok) közül az Arg194Trp polimorfizmus mutatott statisztikailag szignifikáns összefüggést a kockázattal, kaukázusi populációkban ennél gyengébb, de szignifikáns hatása volt még az Arg399Gln polimorfizmusnak, és nem volt összefüggés az Arg280His polimorfizmus és a fej-nyaki daganatok előfordulása között. Saját eredményeink szerint is statisztikailag szignifikáns volt az összefüggés az Arg399Gln polimorfizmusnál, ahol a Gln allélt találtuk a kockázatot emelő variánsnak. A mi vizsgálatunkban a 194-es kodon polimorfizmusának hatása egyébként igen közel állt a statisztikai szignifikancia szintjéhez, de éppen nem érte el azt. Talán említést érdemel még, hogy Zhou egy évvel korábban publikált, kis számú vizsgálaton alapuló meta-analízisében (Zhou, 2009), ahol

kifejezetten a szájüregi daganatokra gyakorolt hatásokat vizsgálta, az Arg194Trp polimorfizmus hatását találta szignifikánsnak ázsiai populációkban.

Az idézett meta-analízis után, a közelmúltban megjelent közlemények (Jelonek, 2010; Mahjabeen, 2012; Al-Hadyan, 2012; Kostrzewska-Poczekaj, 2013) az általunk is elemzett polimorfizmusok vonatkozásában nem hoztak lényegesen új eredményeket, bár közülük néhány inkább a szignifikáns összefüggések hiányára utalt (Jelonek, 2010; Al-Hadyan, 2012;) a fej-nyaki daganatokat illetően. Huang 2011-es orr-garat-tumorokra szorítkozó meta-analízise az Arg194Trp és Arg280His polimorfizmusokat nem, az Arg399Gln-t viszont rizikómódosító hatásúnak találta (Huang, 2011). Említésre méltó még az Arg280His polimorfizmus és az össz-daganatos kockázat kapcsolatát elemző újabb meta-analízis (Zhang, 2012), amelyik daganattípusonként nem, de összességében szignifikáns kockázatemelő tényezőnek találta a 280His allélt. Új aspektusból vizsgálva az XRCC1 polimorfizmusok szerepét, az XPD reparációs enzim génjével való kölcsönhatást emeli ki Kumar (Kumar, 2012), aki úgy találta, hogy az XRCC1 polimorfizmusok hatása az XPD Lys751Gln polimorfizmussal kölcsönhatásban jelentősen módosulhat. Ez részben magyarázatot adhat az eddigi, nem mindenben egyező eredményekre, és hangsúlyozza, hogy az egyéni érzékenységi tényezőket nem önállóan, hanem egymással való kölcsönhatásukban szükséges tanulmányozni.

Érdekes, hogy – szemben a daganatos kockázat elemzésével – az XRCC1 polimorfizmusok prognosztikus értéket vizsgáló közlemények mennyire alacsony. Itt Azad publikációját kell kiemelni, amely szerint a 399Gln allélt hordozó fej-nyaki daganatos betegek túlélése rosszabb az Arg399-homozigótáénál (Azad, 2012). Ez teljesen összhangban van saját prognosztikus eredményeinkkel (bár nálunk az összefüggés csak az SIII stádiumú betegeknél volt statisztikailag szignifikáns), és a feltételezett kapcsolatot a mechanizmusok oldaláról is alátámasztják irodalmi adatok (Lunn, 1999; Hu, 2001). Ezek eredmény egyébként homlokegyenest az ellenkezője annak, amit Gal szájüregi daganatos betegeknél talált korábban (Gal, 2005), bár ennek a vizsgálatnak az elemszáma Azad tanulmányáénak csak mintegy felét tette ki.

A fej-nyaki daganatos betegek egy csoportján a CYP1A1 és az UGT1A1 gén allélpolimorfizmusainak hatását vizsgáltuk. A két metabolizáló enzim együttes vizsgálatát az indokolja, hogy ugyanabból a vegyületcsoportból (policiklusos aromás szénhidrogének) származó közös szubsztrátjaik is vannak. Az egyik ilyen fontos szubsztrát a benzpirén, amely többek között CYP1A1 aktivációt követően származékai (pl. benzpirén-diol-epoxid) formájában az UGT1A1 szubsztrátja is lesz. Az I-es fázisú CYP1A1 és a II-es fázisú UGT1A1 tehát a vizsgálat szempontjából jól kiegészítik egymást.

Míg a CYP 1A1 irodalma nagyobb, az UGT 1A1 polimorfizmusairól kevesebb publikáció jelent meg. A CYP1A1 legtöbbet tanulmányozott allélpolimorfizmusa az *MspI* polimorfizmus mellett az Ile/Val SNP, az UGT1A1 génnél pedig a vad típusú allélt (*1) a számos variáns közül a *28 alléllal vetik össze leggyakrabban. Ugyancsak közös, hogy mindkét polimorfizmus funkcionális, azaz a kódolt enzim aktivitásának vagy expressziójának megváltozását eredményezi: A CYP1A1 Val allélt hordozók aril-hidrokarbon-hidroxiláz aktivitása magasabb, mint az Ile-homozigótáké; az UGT1A1 variáns allél expressziója alacsonyabb, mint a vad típusú változaté. Előzetes hipotézisünk ennek értelmében az volt, hogy a CYP 1A1 Val allél, illetve az UGT1A1 *28 allél fokozza a fej-nyaki daganatok kockázatát.

Eredményeink mindkét hipotézisünket igazolták. Említésre méltó, hogy a kettős high-risk genotípusú résztvevők magasabb kockázata jól tükrözte a két gén egyazon mechanizmus mentén – bár annak más-más oldalán – történő működését. Ugyanezen polimorfizmusok hatását fej-nyaki daganatos betegek prognózisára nézve is vizsgáltuk, és eredményeink a kockázati hatásnak megfelelően alakultak: A CYP1A1 Val allél és az UGT 1A1 *28 allél társultak rosszabb prognózissal, a kettős high-risk genotípusúakban pedig tovább emelkedett kockázattal.

CYP1A1 tekintetében azonban az irodalomban fellelhető hasonló vizsgálatok nem mindegyike jutott saját eredményeinkhez hasonló következtetésre, amit a témában végzett meta-analízisek mutatnak (Hashibe, 2003; Liu, 2013). A CYP1A1 Ile/Val polimorfizmus hatását mutató eredmények nagyon közel voltak a szignifikanciahatárhoz (pl. Liu vizsgálatában OR: 1,23, 95% CI=0,99-1,53, $p=0,062$), de nem érték el azt, csak egyes alcsoportok vonatkozásában (pl. Liu tanulmányában a garattumoros betegeknél). Itt talán érdemes megemlíteni, hogy tumoros alcsoportok szerinti bontásban saját vizsgálatunkban mesopharynx-tumoroknál volt a legerősebb a hatás. Mivel a CYP1A1 gén szerepe, működése elméleti megfontolásokból fontosnak tűnik (karcinogének metabolikus aktivációja) a fej-nyaki daganatok szempontjából, ráadásul az Ile/Val polimorfizmus az enzimaktivitás változásával jár együtt, magyarázatot kell keresni, hogy az egyszerűnek tűnő összefüggés ellenére számos vizsgálat mégis „negatív” eredményt adott. Ráadásul más típusú vizsgálatok is alátámasztják a CYP1A1 szerepén alapuló magyarázatot, pl. Sharma fej-nyaki daganatos szövetekben vizsgálta többek között a CYP1A1 gén metilációs státuszát, és úgy találta – különösen dohányzással kölcsönhatásban –, hogy a hipermetiláció jóval gyakoribb, mint az egészséges kontroll szövetekben (Sharma, 2010).

Úgy tűnik, hogy több tényező is befolyásolhatja a CYP1A1-et tanulmányozó molekuláris epidemiológiai vizsgálatok eredményeit. Egyrészt egyes vizsgálatok arra utalnak, hogy az Ile/Val polimorfizmus kapcsoltan öröklődik az *MspI* polimorfizmussal (Hirvonen, 1992; Hayashi, 1991), tehát a vizsgálatok nem tisztán az egyik vagy másik polimorfizmus hatását tükrözik. A kapcsoltág mértéke is eltérő lehet különböző népcsoportokban. Másrészt igen fontos, hogy milyen környezeti expozícióknak vannak kitéve a vizsgált személyek: úgy tűnik, hogy erősen exponáltak (pl.

dohányzók) és az expozícióra érzékenyebb szövetek esetében a polimorfizmus hatása erősebb. Harmadrészt pedig további genetikai tényezőkkel kapcsolatos kölcsönhatások is fennállhatnak (saját vizsgálatunkban ezt találtuk az UGT1A1 vonatkozásában), amelyek tovább nehezíthetik a kérdéses polimorfizmus hatásának detektálását. Összességében véve tehát a CYP1A1 Ile/Val polimorfizmus esetében feltehetően további, még részletesebb vizsgálatok szükségesek a hatás pontos tisztázásához.

Az UGT1A1 polimorfizmust illetően saját vizsgálatunk megjelenése előtt egy közlemény foglalkozott a *28 allél fej-nyaki daganatos kockázatot befolyásoló hatásával (Lacko, 2010), majd később ugyanez a munkacsoport még egy publikációt jelentetett meg (Lacko, 2012). Tanulmányaik ellentétes eredményre jutottak a mi vizsgálatunkkal: náluk a *28 allél bizonyult védő hatásúnak. Mivel a *28 allél fokozott expresszióval jár, a fokozott konjugációs aktivitás hatékonyabb karcinogén-detoxikációt eredményez, Lacko eredményei magyarázatra szorulnak. Ehhez tudni kell, hogy az UGT1A1 enzim nemcsak xenobiotikumok metabolizmusában vesz részt, hanem endogén szubsztátjai vannak, közöttük a legismertebb a bilirubin. Lacko feltételezése szerint lehetséges, hogy a konjugált bilirubin antioxidáns hatása erősebb, mint a nem konjugált formáé, és ezen megnövekedett antioxidáns hatás lenne felelős a *28 hordozók alacsonyabb daganatos kockázataért. Hogy ez a teória helytálló-e, illetve, milyen tényezők határozzák meg, hogy az UGT-aktivitás melyik komponense érvényesül erősebben (a fokozottabb detoxikációs hatás vagy a bilirubin-konjugáción keresztül fokozott antioxidáns hatás) egy adott személyben vagy populációban, azt még újabb vizsgálatoknak kell eldönteniük.

A prognosztikus vizsgálati fázisunkban mind a CYP1A1 polimorfizmus, (a Val allél bizonyult gyakoribbnak a rosszabb prognózisú betegekben), mind az UGT1A1 hatása (a *28 allél társult rosszabb prognózissal) teljesen megegyezett az adott tényező kockázati szerepével. Tudomásunk szerint a prognosztikus értékre vonatkozó adatokat elsőként mi közöltük fej-nyaki daganatok vonatkozásában. Ezek az eredmények függetlenek az UGT1A1 polimorfizmus kolorektális daganatos betegek túlélésére gyakorolt, és már számos alkalommal vizsgált hatásától. Ott ugyanis egy specifikus mechanizmusról van szó: az UGT1A1 részt vesz a betegség kezelésében gyakran használt irinotecan metabolizmusában, a polimorfizmus tehát az irinotecan kezelés hatékonyságát befolyásolja (Wang, 2012).

A CYP1A1 Ile/Val, illetve az XRCC1 Arg399Gln polimorfizmusok hatását kolorektális daganatokkal kapcsolatban is vizsgáltuk, a fent említettekhez hasonló eredményekkel: mind a CYP1A1 Val allél, mind az XRCC1 399Gln allél jelenléte statisztikailag szignifikánsan fokozta a kockázatot. Míg a CYP1A1 esetén az irodalmi adatok is az általunk talált tendenciát mutatják (Zheng, 2012), addig az XRCC1 399-es kodon polimorfizmusával kapcsolatban eltérő eredmények láttak napvilágot. Meta-analízisek szerint ennek a polimorfizmusnak a vastagbélrákkal jóval gyengébb kapcsolata van, ami esetleg csak bizonyos csoportokban érvényesül (Jiang, 2010).

Vizsgálatunk nem talált szignifikáns rizikóbefolyásoló hatást a CYP1A2 gén polimorfizmusával kapcsolatban. Habár az enzimről tudott, hogy szubsztrátjai között van számos táplálkozási úton a szervezetbe jutó karcinogén hatású anyag (pl. NNK, MeIQx), és ráadásul az általunk vizsgált polimorfizmus jelentős változást okoz a gén indukálhatóságában, mégsem találtunk összefüggést a kolorektális daganatok kockázatával. Az irodalomban is ellentmondásos eredményeknek feltehetően ismét csak a külső expozíciókkal és más genetikai tényezőkkel való kölcsönhatások adhatják a magyarázatát (Yoshida, 2007; Yeh, 2009; Kobayashi, 2009; Wang, 2011).

A CYP2E1 variánsok közül vizsgálatunkban a c2 allél fokozta szignifikánsan a vastag- és végbéldaganatok kockázatát. Ahogy a bevezetésben is említettük, a CYP2E1 PstI/RsaI polimorfizmusával kapcsolatban az eredmények a lehető legszélesebb skálán mozogtak a különböző vizsgált daganatok vonatkozásában. Ez már önmagában figyelemre méltó, mert elég könnyen állíthatunk fel mechanisztikus teóriát a c2 allél kockázati szerepére: karcinogéneket aktiváló enzimeknél a fokozott expresszióval/indukálhatósággal társuló génvariáns (c2 allél) elvileg magasabb daganatos kockázatot kellene, hogy eredményezzen. Mindensetre saját eredményeink szempontjából kedvező, hogy Jiang egészen friss meat-analízisében statisztikailag szignifikáns vastagbélrák-kockázati tényezőnek találta a CYP2E1 c2 allélt (Jiang, 2013). Az eredmények sokszínűsége azonban még további vizsgálatokat tesz indokolttá.

Az eddig tárgyalt polimorfizmusokkal kapcsolatban a lehetséges hatásmechanizmusok meglehetősen egyértelmű magyarázatot szolgáltatnak a daganatos kockázatot befolyásoló hatás leírásához. A pre-miR-146a polimorfizmus vizsgálatával kapcsolatban már több okból sem ilyen egyértelmű a helyzet. Először is, a miR-146a számos gént regulál, az is elképzelhető, hogy minden célgénjét még nem is ismerjük. Ezen gének egy része jelen ismereteink szerint ráadásul nem is hozható közvetlen összefüggésbe a daganatkialakulással (Jazdzewski, 2009; Labbaye, 2009; Rusca, 2011). Másrészt a miR-146a irodalma, beleértve a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmusra vonatkozó közleményeket is, sokkal kisebb, mint például a metabolizáló enzimekkel foglalkozó tanulmányok köre.

A mikroRNS-ek relatíve rövid idővel ezelőtti felfedezéshez képest mégis számos szerző vizsgálta a különböző mikroRNS-allélpolimorfizmusok lehetséges hatásait, és így többen foglalkoztak a pre-miR-a46a rs2910164 polimorfizmussal is. A közlemények viszonylag alacsony száma ellenére már meta-analízisek is születtek a pre-miR-a46a polimorfizmus daganatos kockázatot befolyásoló hatásáról, más mikroRNS-polimorfizmusokkal együtt (Srivastava, 2012; Yin, 2013) vagy önállóan tanulmányozva azt (Wang, 2012a; Wang, 2012b; Wang, 2012c; Wu, 2013). Az egyes daganattípusokkal kapcsolatos elemzések az alapul szolgáló közlemények alacsony száma miatt kevés kivételtől eltekintve talán kevésbé relevánsak, amit az is alátámaszt, hogy a különböző szerzők többször ellentmondó eredményekre jutnak. Az össz-daganatos kockázatot illetően a fenti

meta-analízisek kaukázusi populációkban statisztikailag szignifikáns összefüggést találtak az rs2910164 polimorfizmussal, míg ázsiai népekre vonatkozóan borderline szignifikanciáról számoltak be.

Fej-nyaki daganatok külön csoportként elemezve ezekben a meta-analízisekben nem szerepelhettek, mivel kaukázusi populációban mindeztidáig egyetlen tanulmány jelent meg a fej-nyaki daganatok és a pre-miR-146a allélpolimorfizmus kapcsolatát illetően (Liu, 2010). Ázsiai népességben ugyancsak egy tanulmány foglalkozott az orr-garat daganatok és a pre-miR146a polimorfizmusának kapcsolatával (Lung, 2012), de ezt magyar vonatkozásban kevésbé tartjuk relevánsnak az orr-garat daganatok speciális epidemiológiai sajátosságai miatt. Éppen ezért tartottuk izgalmas kérdésnek az rs2910164 polimorfizmus és a fej-nyaki daganatok kapcsolatának vizsgálatát. Ráadásul e polimorfizmus tekintetében más betegség vonatkozásában sem történtek még magyarországi vizsgálatok, tehát a pre-miR-146a allélmegoszlása nem volt ismeretes a magyar népességben. Saját közleményünk elfogadását követően még két másik, csak közvetetten releváns közlemény jelent meg a témában, amelyek nem daganatos kockázatot tanulmányoztak, hanem a miR-146a polimorfizmusának hatását a szájüregi, illetve a másik vizsgálatban oropharyngeális daganatos betegek prognózisára (Guan, 2013; Hung 2012).

Eredményeink szerint a C allél statisztikailag szignifikánsan gyakrabban fordult elő a fej-nyaki daganatos betegek között, mint a kontrollcsoportban. Ez ellentétben áll Liu és mtsai amerikai népességben végzett vizsgálatának eredményeivel, ahol a polimorfizmus nem befolyásolta a fej-nyaki daganatos kockázatot (Liu, 2010). Ugyanakkor bizonyos mértékig ellentmondásosan Liu és mtsai szerint is bizonyos mértékig hatással van az rs2910164 genotípus a fej-nyaki daganatok rizikójára. Ha a miR-146a polimorfizmusnál önmagában nem is, de a miR-149, miR-196a2 és a miR-499 mikroRNS-ek allélpolimorfizmusával kölcsönhatásban (négyes high-risk hordozók esetében) már statisztikailag szignifikáns kockázatemelő hatást találtak. Úgy gondoljuk, hogy saját vizsgálatunk – bár az elemszám összességében véve alacsonyabb volt – jóval pontosabb megközelítést alkalmazott a hatás tisztázására (Orsós, 2013). A több tényező szerint (nem, életkor, dohányzási szokások) illesztett eset-kontroll vizsgálat alkalmas a zavaró tényezők hatásának megfelelő kiküszöbölésére. Meg kell még említeni, hogy eltérő volt a két vizsgálatban a dohányosok aránya, úgy gondoljuk, Liu és mtsai vizsgálatában ez alacsonyabb volt, mint amit a jelenlegi epidemiológiai adatok alapján várnánk. Véleményünk szerint saját vizsgálatunk a hazai, illetve az európai populációkra nézve relevánsabb, mint az amerikai vizsgálat. Részben magyarázhatja a különbséget még az egyes genotípusok eltérő aránya a két vizsgálatban, a magyar népességben a GG-homozigóták gyakoribbak voltak, mint Liu és mtsai vizsgálatában. Bár ez a vizsgálat ázsiai népességben történt, említésre méltó, hogy Lung és mtsai orr-garat daganatokkal kapcsolatosan saját vizsgálatunkhoz hasonlóan a C allélt találták kockázatemelő hatásúnak (Lung, 2012).

Más oldalról, közvetve támasztja alá eredményeinket Hung és mtsainak az rs2910164 polimorfizmus és a szájúregi daganatok prognózisa közötti összefüggés kapcsán végzett vizsgálata, ahol a C allél jelenléte gyakrabban társult nyirokcsomó-érintettséggel (Hung, 2012). Guan és mtsai közleménye is a fentieket támasztja alá (Guan, 2013), a GG-homozigóta oropharyngeális daganatos betegek prognózisa szignifikánsan jobb volt a C-allélt hordozókénál. Természetesen egy prognosztikus marker nem szükségszerűen kell, hogy kockázati biomarker is legyen, de az egybehangzó eredmények mégis erősítik egymást.

Mivel a pre-miR-146a polimorfizmus egy G-C báziscsere révén mismatch kialakulását eredményezi a leading és a passenger szál között, a képződött érett mikroRNS mennyisége a C allélt hordozókban alacsonyabb, mint a G allélt hordozók esetén (Jazdzewski, 2008). Úgy tűnik tehát, hogy a miR-146a tumor-szuppresszor jellegű mikroRNS-nek tekinthető. Ezt több más vizsgálat is alátámasztja, amelyek más humán daganatokban vizsgálva találták alacsonyabbnak a miR-146a expresszióját (Lin, 2008; Kogo, 2011; Starczynowski, 2011; Papaconstantinou, 2012). Kevesen, de voltak ugyan daganatos mintákban overexpressziót találó, vagy az overexpressziót proliferatív hatásúnak leíró szerzők is (Lavon, 2010; Hung, 2012). Bár nem minden kérdésre ad választ, de elképzelhető, hogy az overexpresszió a malignus transzformáció kapcsán megváltozott regulációs mechanizmusokra adott válaszként értelmezhető.

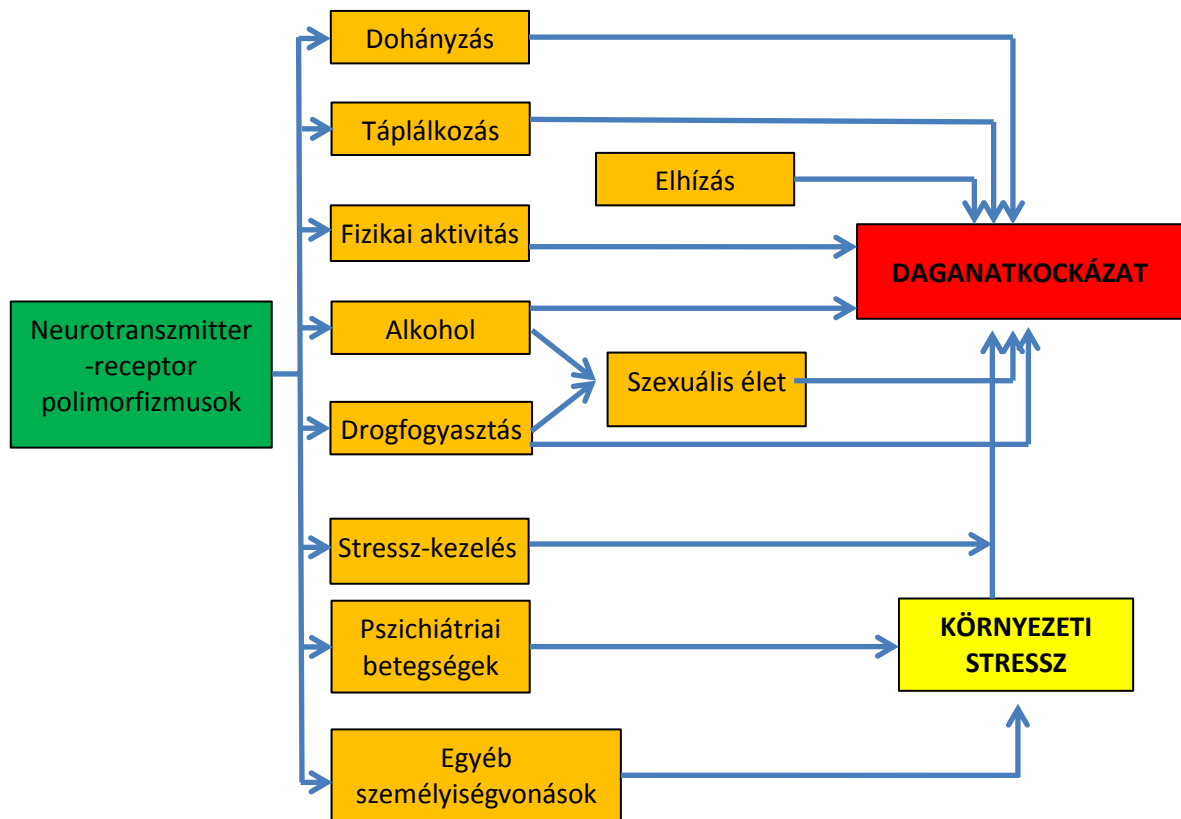
A miR-146a és a daganatoskockázat közötti kapcsolatot többek között magyarázhatja, hogy a miR-146a célgénjei között található például az interleukin-1 receptor-associated kinase-1 (IRAK1), az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) és a SMAD4 gén is. Az IRAK1 az NF- κ B szabályozási mechanizmusokban, a SMAD4 pedig a TGF- β -jelátviteli utakban játszik szerepet. Mivel számos kísérleti eredmény igazolja az NF- κ B, TGF- β , illetve az EGF utak karcinogenezisben betöltött szerepét, amiR-146a hatásmechanizmusa e tekintetben magyarázható.

Hogy a miR-146a polimorfizmus kérdése mennyire nem tisztázott, azt mutatja, hogy Jazdzewski és mtsai úgy találták, hogy a mikroRNS érés tipikus menetével ellentétben (általában a vezető szálról képződő mikroRNS lesz stabil és fejt ki a hatást, míg a passenger szálról képződő pedig degradálódik) a miR-146a esetében ez nem így alakul (Jazdzewski, 2008; Jazdzewski, 2009). A szerzők viszonylag magas koncentrációban találták meg a passenger szálról képződött érett miR-146a-t (jelölése miR-146a* vagy miR-146a-3p). Ez tehát megváltoztatja a korábbi elképzelést, ami szerint a pre-miR-146a rs2910164 polimorfizmus kizárólag a képződött miR-146a mennyiségét befolyásolja. Eszerint a polimorfizmusra homozigóta személyekben kétféle (miR-146a és emellett még miR-146a*C vagy miR-146a*G), heterozigótákban pedig háromféle (miR-146a, miR-146a*C és miR-146a*G) miR-146a is jelen van. Ráadásul a passenger szálról képződött mikroRNS mennyiségét is befolyásolja a polimorfizmus. Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy mindhárom miR-146a (a vezető szálról képződő, illetve a passenger szálról képződő két variáns) más célgénekkel rendelkezik, amelyek között kis mértékű átfedés van (Jazdzewski, 2009).

Habár kevésbé közvetlenül, mint például a p53 tumor szuppresszor génnél, a miR-146a esetében ismerünk a malignus transzformációval kapcsolatba hozható molekuláris mechanizmusokat. A daganatképződéstől jóval „távolabb”, közvetlen molekuláris szintű kapcsolat nélkül találjuk a vizsgált gének közül az utolsót, a DRD2-t. E gén, illetve *TaqIa* polimorfizmusa nagyon jó példája annak, hogy nemcsak az iniciációt, promóciót, vagy a progressziót közvetlenül érintő genetikai tényezők lehetnek daganatos rizikófaktorok, hanem olyan tényezők is, amelyek nincsenek is direkt hatással ezekre a folyamatokra. Ennek bizonyítása azért nagyon fontos, mert ez egyúttal demonstrálja, hogy a daganatkialakulás kockázatát nemcsak néhány tucat, hanem több száz – de lehet, hogy ezer – allélpolimorfizmus is befolyásolhatja. Az összes ilyen genetikai tényező felderítése, hatásának kvantifikálása, sőt a különböző kölcsönhatások tisztázása még egészen biztosan hosszú időt vesz igénybe.

Mivel tudjuk, hogy a dopaminerg rendszerek milyen fontos szerepet töltenek be a központi idegrendszerben, többek között személyiségünk, pszichés tulajdonságaink alakításában, nem meglepő, hogy számos idegrendszeri, illetve mentális betegség (pl. Parkinson-kór) patomechanizmusának alapjait a dopaminerg mechanizmusokban találjuk. Ugyanakkor az elmúlt években számos újabb kórállapotot, pszichés betegséget hoztak kapcsolatba a dopaminerg rendszerekkel (pl. szenvedélybetegségek, egyes viselkedészavarok) (Varga, 2012). A DRD2 gén a dopaminerg neurotransmitter mechanizmusok egyik kulcsszereplője, számos központi idegrendszeri területen megtalálható, mind pre- mind poszt-szinaptikusan is. *TaqIa* allélpolimorfizmusát az imént írottaknak megfelelően számos személyiségvonással, viselkedési jellemzővel, pszichés betegséggel kapcsolatosan vizsgálták, és sok esetben találtak is ilyen összefüggéseket (Pato, 1993; Comings, 2000; Batra, 2000; Gorwood, 2000; Noble, 2003; Emanuele 2007; Eisenberg, 2007; Smillie 2009; Voisey, 2012; Mignini, 2012; Suraj, 2013). Az addikciók számunkra különösen fontosak, mert több olyan káros szenvedélyt ismerünk, ami bizonyítottan és erősen fokozza a daganatkialakulás kockázatát (pl. dohányzás, alkoholizmus). Mivel a dopaminerg neurotransmitter mechanizmusok fontos szerepet játszanak az örömszerző és jutalmazási mechanizmusok működésében, a lehetséges kapcsolat az addikciókkal több, mint valószínű. A DRD2/ANKK1 allélpolimorfizmus vonatkozásában az ilyen kapcsolatok létét ma már számos irodalmi adat is alátámasztja (Voisey, 2012; Mignini, 2012; Suraj, 2013).

A DRD2 receptor *TaqIa* allélpolimorfizmusa tehát többek között befolyásolhatja dohányzási és alkoholfogyasztási szokásainkat, de táplálkozásunkat, külső ingerekre adott reakcióinkat, stresszkezelési mechanizmusainkat, társas kapcsolatainkat, szexuális életünket. Mindezek pedig epidemiológiai adatok alapján bizonyítottan befolyásolják a daganatkialakulás kockázatát (57. ábra).



57. ábra: Neurotransmitter-mechanizmusok kapcsolata a daganatkialakulás kockázatával (Garssen, 2004 alapján, módosítva)

A fentiek részben magyarázhatják a pszichés tényezők és a daganatos betegségek közti kapcsolat témájában ismeretes, meglehetősen ellentmondásos nézeteket és eredményeket. Az eddigi vizsgálatok döntő többsége személyiségvonások vagy konkrét mentális betegségek, illetve pszichés kockázati tényezők (pl. krónikus stressz, kiemelkedő hatást gyakorló életesemények) hatását kereste a daganatos kockázatra. Ezek a tényezők a vázolt rendszer egyes elemei, amelyek önmagukban nem biztosan olyan erős hatásúak, hogy a való élet körülményei mellett (a zavaró tényezőként mindig jelen levő egyéb daganatos kockázati tényezők miatt) megfelelő bizonyossággal kimutathatóak. Ráadásul metodikai problémák is felmerülhetnek ezeknél a vizsgálatoknál, ugyanis az esetleges közös gyökerek miatt például a dohányzási szokások, alkoholfogyasztás, táplálkozás bizonyos mértékű átfedést mutathatnak a vizsgált pszichés tényezőkkel (stressz, munkakörülmények), és ezért ha dohányzás vagy alkoholfogyasztás alapján illesztést végzünk, azzal az aktuálisan vizsgált célváltozóink hatását gyengítjük vagy tüntetjük el.

Fontos, hogy hasonló okokból jelen DRD2 vizsgálatunkban sem végeztünk illesztést, illetve stratifikált analízist például dohányzási kategóriák szerint, hiszen az ábrán feltüntetett modell

szerint ezek a változók a DRD2-daganatos kockázat szempontjából köztes változónak minősülnek, tehát az epidemiológiai vizsgálatok tervezésének szabályai szerint ezeket az elemzésből ki kell hagyni (amennyiben a feltételezett kockázati tényező, azaz a DRD2/ANKK1 genotípusok hatására vagyunk kíváncsiak). Könnyen lehet, hogy a DRD2 polimorfizmusa a feltüntetett köztes változók többségénél csak minimális mértékű befolyást fejt ki, aminek a méréséhez jóval nagyobb elemszámra lenne szükség. Nem is volt azonban célunk e köztes kapcsolatok elemzése, hanem egyelőre a mechanizmusoktól függetlenül a feltételezett genetikai kockázati tényező (DRD2 A1 allél) és a kimenetel (cervikális preblasztoma) közti összefüggés fennállását vizsgálatuk. A cervixkarcinóma okán mindenképpen külön említeni kell a szexuális élet alakulását, szexuális szokásokon keresztül gyakorolt esetleges hatást, bár az egyetlen tényező, amely alapján a résztvevők szelekcióját végeztük, a magas kockázatú HPV fertőzöttség (így tehát a DRD2 polimorfizmus hatásának e komponensét nem tudtuk tanulmányozni). Amennyiben a pszichés tényezőket befolyásoló genetikai polimorfizmusok szerepe későbbi saját vizsgálatainkban, illetve más szerzők által elvégzett újabb vizsgálatokban megerősítést nyer, természetesen érdekes lehet a pontos hatásmechanizmus tisztázása is. Még nem publikált, friss eredményeink szerint egyébként a szerotonin-transzporter gén allélpolimorfizmusa (5HTTLPR s/l polimorfizmus) ugyancsak befolyásolja a cervixtumorok kialakulásának kockázatát.

A DRD2 polimorfizmusok daganatos kockázatra gyakorolt esetleges hatását eddig igen kevés szerző vizsgálta, cervixrák vonatkozásában még ilyen vizsgálat nem történt. Az eddigi vizsgálatok szerint a DRD2/ANKK1 A1/A2 allélpolimorfizmus kis mértékben, de statisztikailag szignifikánsan befolyásolta az emlőrák kockázatát (Comings, 2003), illetve a leiomyoma rizikóját (Hsies, 2009), nem volt viszont szignifikáns hatása a kolorektális daganatok (Gemignani, 2005) és a tüdőrák (Campa, 2007) kockázatára. Egyéb DRD2 polimorfizmusok tekintetében pedig összefüggés volt az rs10891556 polimorfizmus és az emlőrák (Sangrajang, 2010), az rs1799732 és az rs6277 polimorfizmusok valamint a kolorektális daganatok (Gemignani, 2005) között.

Mint a bevezetésben említettük, a DRD2 receptornak több polimorfizmusa is ismeretes, amelyek közül 7 esetében éri el a ritka allél gyakorisága az 5%-ot: rs1799732, rs6276, rs1801028, rs1076560, rs1079597, rs1800497, rs6277 (Campa, 2007). Számunkra a több polimorfizmusnak azért van jelentősége, mert miután kiderült, hogy a *TaqIa* polimorfizmus valójában nem is a DRD2 gén területére esik, az egyik lehetőség a hatás magyarázatára az esetleges kapcsolt öröklődés feltételezése más DRD2 polimorfizmussal/polimorfizmusokkal. Ugyanakkor az is elképzelhető, hogy maga az ANKK1 gén van funkcionális kapcsolatban a dopaminerg rendszerekkel, akár a DRD2 receptorral. Ha a kapcsolt öröklődésen keresztüli mechanizmus a döntő, akkor valószínűleg érdemes lenne tisztázni, hogy a DRD2 polimorfizmusok közül melyik is a funkcionális szempontból leglényegesebb, és a továbbiakban azt a polimorfizmust célszerű legintenzívebben vizsgálni. Ha pedig az ANKK1 gén termékén keresztül érvényesül a hatás, akkor pedig a *TaqIa* polimorfizmus

tanulmányozása célszerű. Mindazonáltal a dolgok jelenlegi állása mellett az irodalomban levő számos adat található a DRD2/ANKK1 *TaqIa* polimorfizmus és egyes addikciók, pszichés betegségek vonatkozásában. Praktikus szempontok is indokolják tehát e polimorfizmus más aspektusokból történő tanulmányozásának szükségességét.

A DRD2/ANKK1 *TaqIa* polimorfizmus vonatkozásában kapott eredményeink értelmezésének új aspektusa lehet a külső stressz által a szervezetben kiváltott biológiai hatások modulálása. Tételezzük fel, hogy két személyt egyforma stressz ér, de az egyik – személyiségének szerencsésebb szerkezete miatt – azt jól fel tudja dolgozni, ezért az ő kockázata nem emelkedik. Ha eleinte konkrét biológiai paraméterekben mérhető különbséget nem is találunk, mégis lehetséges, hogy a kedvezőtlenebb személyiségtípusú emberben a stressz hatása nem múlik el nyomtalanul, és az ismétlődő pszichés megterhelések hatására a daganatok elleni természetes védekező rendszere meggyengül. A fentiekkel összhangban például több vizsgálat is igyekezett – általában sikerrel – az immunrendszer egyes funkciói és a stressz között kapcsolatot találni (Gu, 2012; Stefanski, 2013). A pszichés tényezőket befolyásoló genetikai polimorfizmusok vizsgálata már a mérhető elváltozások kialakulását megelőzően jelezheti az emelkedett „genetikai kockázatot”, mint tipikus egyéni érzékenységi jellegű biomarker.

A pszichés tényezők daganatos kockázatot befolyásoló hatásával ellentétben a prognózisra gyakorolt, vagyis a gyógyulásban betöltött szerepét általában nem szokás kétségbe vonni. Mindazonáltal a fenti állítást igazoló, egzakt, molekuláris szintű vizsgálatokat már ritkábban találkozhatunk. Ezért vizsgálatunkat kiegészítendő, a kockázati hatás analízisén kívül elemeztük a DRD2 polimorfizmus prognózissal fennálló összefüggését is, ami ugyancsak pozitív eredménnyel zárult (az A1 allél statisztikailag szignifikánsan gyakrabban fordult elő a rossz prognózisú betegek között). A DRD2/ANKK1 rs1800497 (*TaqIa*) polimorfizmus általunk talált hatása a cervixtumorok prognózisára még könnyebben érthető, mint a daganatos kockázatra kifejtett hatás. Logikus, hogy minden olyan tényező, amely személyiségünket és ezen keresztül a betegséghez való hozzáállásunkat befolyásolja, hatással lehet a betegség kimenetelére. Ezen túl természetesen ugyanúgy érvényesek a kockázati viselkedésformákról (például dohányzás, táplálkozás) az előbb elmondottak, hiszen ezek nemcsak a daganatkialakulás kockázatát befolyásolhatják, hanem a terápia hatékonyságát is.

Az alacsony penetranciájú genetikai tényezők vizsgálatának sajátos gyakorlati aspektusát adta az oláh cigányok körében végzett vizsgálatunk. Mint a bevezetőben említettük, hazánkban a romákkal kapcsolatos genetikai vizsgálatok elsősorban a jellegzetes „roma” örökletes betegségekért (amelyek romák körében jóval gyakoribbak, mint a többségi populációban) felelős genetikai tényezőkre koncentráltak, továbbá olyan genetikai markereket vizsgáltak, amelyek a

roma népesség genetikai identitását, illetve a nem roma hazai populációtól való eltéréseket írták le. Ezen vizsgálatok eredményeként egyértelművé vált, hogy a romák körében egyes génvariánsok gyakrabban, vagy éppen ritkábban fordulnak elő, mint a többségi népességben, sőt néhány esetben örökletes betegségekért felelős alapító mutációkat is találtak.

Összességükben véve az ily módon romák körében gyakoribbnak talált betegségek népegészségügyi jelentősége mégsem mérhető a fő halálokokat képező krónikus, nem fertőző betegségekhez. Amennyiben tehát valóban népegészségügyi szempontból fontos genetikai eltéréseket szeretnénk vizsgálni, akkor a magas populációs járulékos kockázattal járó genetikai rizikófaktorokat – az egyéni érzékenységi tényezőket, mint például a disszertációban vizsgált allélpolimorfizmusok – kell tanulmányoznunk.

A probléma gyakorlati jelentősége óriási. Tudjuk, hogy a romák egészségi mutatói sokkal rosszabbak a magyarországi átlagnál, ami igaz a daganatos halálozásokra is. A korábbi genetikai vizsgálatok eredményeinek ismeretében óhatatlanul felmerül a kérdés, hogy vajon ezekért a magasabb halálozásokért – legalábbis részben – vajon nem genetikai tényezők felelősek-e? Azt rögtön kijelenthetjük, hogy teljes egészében bizonyosan nem, hiszen a romák körében végzett, életmódra, gazdasági-szociális helyzetre vonatkozó vizsgálatok számos külső kockázati tényezőt azonosítottak már. A genetikai tényezők szerepét, esetleges hozzájárulását viszont nem ismerjük.

Zárójelben kell megjegyezni, hogy Magyarországon az etnikai hovatartozás az egészségügyi intézményekben nem regisztrálható (1993. évi LXXVII. törvény a nemzeti és etnikai kisebbségek jogairól), ellentétben például az Amerikai Egyesült Államokkal, ahol nagyon részletes statisztikák állnak rendelkezésre a különböző etnikai csoportok morbiditási és mortalitási adatairól. Ez a megjegyzés nem a jelenlegi hazai szabályozás kritikájaként fogalmazódott meg, hanem mindössze arra hívja fel a figyelmet, hogy a romák valós egészségi állapotáról csak egyes – gyakran nem reprezentatív – felmérések eredményeiből tájékozódhatunk.

Roma népességben végzett vizsgálatainknak két fő célja volt: egyrészt néhány allélpolimorfizmus vonatkozásában szerettünk volna konkrét összehasonlítást tenni a hazai roma és nem roma népesség között, másrészt pedig szerettük volna felhívni a figyelmet az ilyen vizsgálatok égető szükségességére.

A gyakorlati relevancia miatt tehát olyan allélpolimorfizmusokat választottunk, amelyek irodalmi adatok/saját eredmények alapján elmondható, hogy egyes daganatok kockázatát befolyásolhatják. Amint azt az eredményeknél részleteztük, a vizsgált polimorfizmusok közül kettőnél (CYP1A1 és GSTT1) nem volt lényegi különbség a három összehasonlított népesség között; egynél (NAT2) a hazai nem roma megoszlások tulajdonképpen az indiai, illetve a hazai nem roma megoszlások között helyezkedtek el; két másiknál (GSTM1, p53) pedig a hazai nem roma gyakoriságoktól jelentősen eltértek, az indiai megoszlásokkal szinte megegyezően. Nyilvánvalóan nem szeretnénk mindössze 5 gén allélpolimorfizmusai alapján perdöntő következtetéseket

levonni a romák/nem romák daganatokkal szembeni egyéni érzékenységre vonatkozóan, de az eredményeink alapján annyit mindenképpen kijelenthetünk, hogy azok nem támasztják alá a romák esetlegesen genetikai alapon fokozott daganatos érzékenységét. A különbségek ugyanis nem voltak tendenciaszerűek (két megoszlás tekintetében gyakorlatilag nem is voltak különbségek), hanem a romák körében gyakoribbnak talált egyik allél (p53 Pro) valamelyest fokozhatja, a másik pedig (GSTM1 + genotípus) csökkentheti a daganatok kockázatát. Mivel a vizsgált allélpolimorfizmusok kockázatot befolyásoló hatását egyelőre nem tudjuk pontosan kvantifikálni, csak a tendenciákat hasonlíthatjuk össze, amelyek – mint az előbb említettük – ellentétes irányúak, tehát esetünkben valószínűleg kioltják vagy döntő részben semlegesítik egymás hatását. Akkor tarthattuk volna érdemlegesnek ezen genetikai tényezők kockázatomódosító hatását, ha a vizsgált polimorfizmusok high-risk alléljei egyöntetűen, vagy döntő többségükben a roma népességben lettek volna gyakoribbak.

A daganatok iránti egyéni érzékenységet befolyásoló genetikai tényezők tekintetében tudomásunk szerint ilyen összehasonlító elemzés még nem történt. Talán Sipkey CYP2C19 megoszlásokat tanulmányozó munkáját lehetne említeni (Sipkey, 2009a), mert néhány adat utal rá, hogy a CYP2C19 gén allélvariánsai egyes daganatok kockázatát befolyásolhatják. Ez a kapcsolat azonban egyelőre még nem meggyőző; a CYP2C19 inkább gyógyszerek (pl. tamoxifen) metabolizmusában játszott szerepe miatt hozható kapcsolatba a daganatokkal.

Szív- és érrendszeri kockázati tényezők vonatkozásában egy hazai munkacsoport végzett vizsgálatokat, a metilén-tetrahidrofolát-reduktáz, a plazminogén aktivátor inhibitor, az angiotenzinogén és az angiotenzin konvertáló enzim allélpolimorfizmusait tanulmányozták (László 2006). Nem volt eltérés a hazai roma és nem roma allélgyakoriságokat illetően az angiotenzin konvertáló enzim génvariánsainál, míg a másik három vizsgált génnél a szerzők különbözőnek találták a roma/nem roma allélmegoszlásokat. Ezek az eredmények legjobb tudomásunk szerint nemzetközi folyóiratban nem kerültek publikálásra, az adatok a citált nyilvánosan hozzáférhető OTKA-zárójelentésből származnak.

Hazai roma allélpolimorfizmusok vonatkozásában még néhány vizsgálat említhető, de ezek egyike sem a daganatos kockázatot bizonyítottan befolyásoló tényezőkkel foglalkozott (Sipkey, 2009b, Fehér, 2011).

Más európai roma populációk vonatkozásában sem találtunk a daganatok iránti érzékenység szempontjából figyelembe vehető vizsgálatokat, de ezzel ellentétben néhány vizsgálat közöl allélmegoszlásokat egyes, potenciálisan szív- és érrendszeri kockázatot befolyásoló polimorfizmusokról (obesity associated gene, apolipoprotein E, metilén-tetrahidrofolát-reduktáz) (Mačková, 2012; Zeljko, 2011; Gorgone, 2009; Siváková, 2006).

Eredményeink tehát azt a feltételezést támasztják alá, hogy a magas magyarországi roma daganatos halálozásokért nem alacsony penetranciájú genetikai tényezők tehetők felelőssé. A

romák körében a daganatos morbiditás és mortalitás csökkenése tehát elsősorban a gazdasági-szociális helyzet és az életmódi tényezők megváltoztatásával érhető el.

Ugyanaz a kérdés, ami magyarországi viszonylatban roma – nem roma formában merült fel, feltehető más formában, eggyel nagyobb geográfiai színtérben is: vajon a magyarországi daganatos halálozások alakításában (az európai átlaghoz vagy más európai népeiségekhez viszonyítva) milyen szerepe lehet a vizsgált allélpolimorfizmusok megoszlási gyakoriságának? Állhatnak-e sajátos genetikai rizikótényezők az európai átlagnál magasabb hazai daganatos halálozások hátterében? Eredményeink – ismét csak a hazai roma/nem roma vizsgálataink analógiájára – azt mutatták, hogy ez igen valószínűtlen. Valamennyi vizsgált polimorfizmus esetében összevetettük adatainkat számos kaukázusi populációéval, lehetőség szerint európai népeiségből származó adatokkal. Egyetlen egy polimorfizmust találtunk, ahol a hazai allélmegoszlások kissé „kilógtak a sorból”, és ez a pre-miR-146a allélpolimorfizmus volt. Az összes többi polimorfizmusnál a gyakoriságok jól beleillettek a más kaukázusi populációknál találtak elszólások közé, amit általában a megfelelő közleményekben jeleztünk is. A pre-miR-146a esetén saját vizsgálatunkban a G allél gyakorisága magasabb volt, mint a legtöbb európai/észak-amerikai közleményben leírtak. Az általunk a kontroll csoportban talált allélgyakoriságok (G – 83,55% C – 16,45%) statisztikailag szignifikánsan különböztek például a Liu által leírt amerikai gyakoriságoktól (G – 75,9%, C – 24,1%), jobban hasonlítottak viszont az Akkiz által török népeiségben leírt (G – 79,95%, C – 20,05%) gyakoriságokhoz (Liu, 2010; Akkiz, 2011). Összességében véve tehát az európai átlagnál rosszabb magyarországi daganatos halálozásokért nem tehetünk felelőssé egyéni érzékenység jellegű genetikai tényezőket.

Gyakorlati alkalmazás, távlatok

Ahogy áttekintjük az egyes vizsgált allélpolimorfizmusok hatására kapott esélyhányadosokat, azt látjuk, hogy ezek jellemzően az 1,3-2 közötti tartományban mozognak. Hogy az ilyen, egyéni érzékenység jellegű genetikai tényezők lehetséges populációs szintű hatását érzékeltessük, gondoljuk át a következőket! Ha viszont két 10 milliós populációt összehasonlítunk, akkor a 100 000 főre eső 2011-es magyarországi kolorektális daganatos halálozást (50,6) és a talált mintegy másfélszeres kockázatemelkedést alapul véve, 10%-nyi eltérés a két népesség között a GSTM1 0 genotípusú személyek arányában körülbelül 200 vastag- és végbéldaganatos halálesetért lesz felelős évente.

Ilyen formában ezek a biomarkerek egyéni szintű kockázatbecslésre még nem alkalmasak, rizikószűrő-funkciójuk nincsen. Az adatok, eredmények az epidemiológusok számára nagyon hasznosak, ha egy népesség halálozási viszonyait tanulmányozzák, illetve – mint potenciális zavaró tényezők – figyelembe vételük ma már nélkülözhetetlen a jó minőségű epidemiológiai vizsgálatokban, amelyek külső kockázati tényezők hatásait vizsgálják. Áttörést jelenthetne viszont, ha ezeket a biomarkereket egyéni szintű rizikóbecslésre is alkalmazni lehetne, megfelelő prediktív értékkel bírnának a betegség kialakulásának kockázatát illetően. Eddig ez a fajta alkalmazás egyes speciális környezet-genetikai kölcsönhatások során, vagy egyes metabolizáló enzimek tekintetében a gyógyszerekre adott egyéni reakciók előre jelzésénél jöhetett szóba (Iyer, 2002). Feltételezésünk szerint azonban az alacsony penetranciájú tényezők számosságuknál fogva egyes személyekben jelentős mértékben befolyásolhatják a betegségek – így a daganatok – kialakulásának kockázatát. Aki tehát számos high-risk allélt hordoz, feltehetően jelentősen magasabb kockázatú. Ezt bizonyítottuk a 7 allélpolimorfizmus egyidejű vizsgálatával. Az eredmények jelzik, hogy több tényező együttes vizsgálata esetén jóval magasabb kockázattal találkozhatunk (legalább 6 high-risk allél jelenléte: OR: 6,39, 95% CI: 2,73-14,92), tehát ha ajövőben sikerül kiszélesíteni a vizsgált genetikai tényezők körét, akkor remélhetőleg eljuthatunk az egyéni szintű kockázatbecsléshez is.

Az utóbbi években az irodalomban jól nyomon követhető tendencia, hogy az egyes polimorfizmusok hatását egymással, illetve külső tényezőkkel kölcsönhatásban kezdik el vizsgálni. Amennyiben így valóban sikerül high-risk csoportokat azonosítani, akkor az már az egyéni szintű prevenció alapjainak megteremtését jelenti. Ha például sikerül olyan dohányosokat találni, akiknek a kockázata még az átlag-dohányosoknál is 10-20-30-szor magasabb, akkor az ő esetükben már igen erős intervenció indokolt a leszokás érdekében. Foglalkozási expozíciók esetén pedig végezhetünk előzetes érzékenységi szűrővizsgálatokat. A távolabbi jövőre vetített futurisztikus perspektíva lehet majd, hogy születéskor egyetlen csepp vérből végzett genetikai

elemzés alapján kapunk pontos képet veleszületett kockázatainkról (lényegében amit ma néhány örökletes betegségre nézve kapunk meg). Az információ birtokában szülők már úgy nevelhetik gyermekeiket, hogy távol tartják őket a rájuk különösen veszélyes expozícióktól, szokásaikat, életmódjukat egyéni érzékenységük ismeretében alakíthatják. Mindenképpen említeni kell az ilyen társadalom lehetséges vadhajtasait (lásd pl. Gattaca), de az etikai kérdések boncolgatása meghaladja a disszertáció kereteit.

Kevésbé futurisztikus lehetőség a polimorfizmusok prognosztikus értékének kiaknázása, ami tovább fejlesztheti az onkológiában ma egyébként is tért hódító személyre szabott terápiát. Ez azonban elsősorban klinikus kollégák számára izgalmas. A közegészségtan prevenció szemüvegén keresztül vizsgálva a kérdést, kiváló terciér prevenció lehetőségét kaphatunk. A terciér prevenció lényege a szövődmények, relapsus megelőzése, amihez kiváló eszköztárat biztosíthat a prognózist, szövődményeket befolyásoló allélpolimorfizmusok azonosítása. Akár már a közeli jövőben elképzelhető, hogy egyes betegek gondozási gyakorlatát a genetikai alapon (is) előrejelzett várható szövődmény-kockázat határozza majd meg.

Az epidemiológiai vizsgálatokkal kapcsolatban ma már kulcsfontosságú, hogy feltételezett külső kockázati tényezők vizsgálatánál figyelembe vegyünk a genetikai érzékenységi tényezőket is. Jelenleg is sok példát ismerünk arra nézve, hogy egy meghatározott összefüggés egyik populációban érvényesül, a másokban nem. A mai epidemiológia pedig elsősorban a finomabb kockázati tényezőket vizsgálja, amelyeknél különösen fontos az interakciók, zavaró tényezők figyelembe vétele. Kis túlzással kijelenthetjük, hogy a XXI. századi epidemiológiai vizsgálatokban mindenképpen szükséges a résztvevők releváns genotípusának ismerete.

Az egyéni kockázatbecsléssel kapcsolatban érdemes megemlíteni, hogy már egy ideje üzleti szolgáltatásként különböző genetikával, genomikával, biotechnológiával foglalkozó cégek genotipizálást ajánlanak közvetlenül (egészségügyi intézmény vagy szolgáltató beiktatása nélkül) bárkinek, aki kíváncsi saját kockázataira, genetikai információjára (Bellcross, 2012). Ezen cégek közül talán a legismertebb a 23andme (<https://www.23andme.com/>), amelyik a disszertáció készítésekor 99 \$-os áron kínált komplex genetikai rizikóbecslést. Az ilyen cégek működése, illetve szolgáltatások megjelenése meglehetősen ellentmondásos véleményeket váltott ki az orvosok, genetikusok, egészségügyi intézmények részéről (Bellcross, 2012), hiszen az eredmények megfelelő értelmezése nehezen képzelhető el szakmai ismeretek nélkül. Mindazonáltal úgy tűnik, hogy ezeket a genetikai szolgáltatásokat „betiltani” nem lehet, így arra kell törekedni, hogy megfelelő garanciák legyenek a szolgáltatás minőségére, a genetikai információk biztonságára vonatkozóan, illetve az eredmények tudományosan megalapozottan, érthetően, megfelelő kontextusban kerüljenek közlésre az érintettekkel.

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 gének 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 gének 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 kaukászi 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 allélpolimorfizmusok 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.

dc_324_11

- Igazoltuk, hogy a DRD2 A1/A2 polimorfizmusa statisztikailag szignifikánsan befolyásolja a cervix preblasztomák kialakulásának kockázatát, az A1 allél jelenléte kockázati tényezőnek bizonyult.
- A tercier 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 prevenciós 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.

dc_324_11

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 későbbi 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.

Irodalomjegyzék

A szegénység csapdájában. Cigányok Magyarországon - szociális-gazdasági helyzet, egészségi állapot, szociális, és egészségügyi szolgáltatásokhoz való hozzáférés. Tanulmány. Delphoi Consulting. 2004.

Abdel-Rahman SZ, El-Zein RA. The 399Gln polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK. *Cancer Lett.* 2000; 159: 63-71.

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.

Adegoke OJ, Shu XO, Gao YT, Cai Q, Breyer J, Smith J, Zheng W. Genetic polymorphisms in uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2004; 85: 239-245.

Adler V, Yin Z, Fuchs SY, Benezra M, Rosario L, Tew KD, Pincus MR, Sardana M, Henderson CJ, Wolf CR, Davis RJ, Ronai Z. Regulation of JNK signaling by GSTp. *EMBO J.* 1999; 18: 1321-1334.

Agorastos T, Lambropoulos AF, Constantinidis TC, Kotsis A, Bontis JN. p53 codon 72 polymorphism and risk of intraepithelial and invasive cervical neoplasia in Greek women. *Eur J Cancer Prev.* 2000; 9: 113-118.

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

Akkız H, Bayram S, Bekar A, Akgöllü E, Uskudar O, Sandıkçı M. No association of pre-microRNA-146a rs2910164 polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma development in Turkish population: a case-control study. *Gene.* 2011; 486: 104-109.

Akllilu E, Carrillo JA, Makonnen E, Hellman K, Pitarque M, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphism of CYP1A2 in Ethiopians affecting induction and expression: characterization of novel haplotypes with single-nucleotide polymorphisms in intron 1. *Mol Pharmacol.* 2003; 64: 659-669.

Al-Hadyan KS, Al-Harbi NM, Al-Qahtani SS, Alsbeih GA. Involvement of single-nucleotide polymorphisms in predisposition to head and neck cancer in Saudi Arabia. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012; 16: 95-101.

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.

Amador AG, Righi PD, Radpour S, Everett ET, Weisberger E, Langer M, Eckert GJ, Christen AG, Campbell S Jr, Summerlin DJ, Reynolds N, Hartsfield JK. Polymorphisms of xenobiotic metabolizing genes in oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 93: 440-445.

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

- Azad AK, Bairati I, Samson E, Cheng D, Mirshams M, Qiu X, Savas S, Waldron J, Wang C, Goldstein D, Xu W, Meyer F, Liu G. Validation of genetic sequence variants as prognostic factors in early-stage head and neck squamous cell cancer survival. *Clin Cancer Res.* 2012; 18: 196-206.
- Bai F, Nakanishi Y, Takayama K, Pei XH, Inoue K, Harada T, Izumi M, Hara N. Codon 64 of K-ras gene mutation pattern in hepatocellular carcinomas induced by bleomycin and 1-nitropyrene in A/J mice. *Teratog Carcinog Mutagen.* 2003; S1: 161-170.
- Bai F, Nakanishi Y, Takayama K, Pei XH, Tokiwa H, Hara N. Ki-ras mutation and cell proliferation of lung lesions induced by 1-nitropyrene in A/J mice. *Mol Carcinog.* 1998; 22: 258-264.
- Bai J, Meng Z. Effect of sulfur dioxide on expression of proto-oncogenes and tumor suppressor genes from rats. *Environ Toxicol.* 2010; 25: 272-283.
- Balogh I, Póka R, Losonczy G, Muszbek L. High frequency of factor V Leiden mutation and prothrombin 20210A variant in Romanies of Eastern Hungary. *Thromb Haemost.* 1999; 82: 1555-1556.
- Bellcross CA, Page PZ, Meaney-Delman D. Direct-to-consumer personal genome testing and cancer risk prediction. *Cancer J.* 2012; 18: 293-302.
- Bérczi B, Kiss I, Ember I. A mikro-RNS polimorfizmus és a daganatos betegségek kockázatbecslése. *Magyar Epidemiológia.* 2011; 8: 97-107.
- Béres J. Gyakoribb genetikai betegségek a romák körében I. *Magyar Orvos.* 2002; 10: 30-31.
- Béres J. Gyakoribb genetikai betegségek a romák körében II. *Magyar Orvos.* 2002; 10: 21-22.
- Bergamaschi D, Gasco M, Hiller L, Sullivan A, Syed N, Trigiante G, Yulug I, Merlano M, Numico G, Comino A, Attard M, Reelfs O, Gusterson B, Bell AK, Heath V, Tavassoli M, Farrell PJ, Smith P, Lu X, Crook T. p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis. *Cancer Cell.* 2003; 3: 387-402.
- 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.
- Bhatti P, Church DM, Rutter JL, Struewing JP, Sigurdson AJ. Candidate single nucleotide polymorphism selection using publicly available tools: a guide for epidemiologists. *Am J Epidemiol.* 2006; 164: 794-804.
- Black FM, Wakelam MJ. Desensitization of prostaglandin F2 alpha-stimulated inositol phosphate generation in NIH-3T3 fibroblasts transformed by overexpression of normal c-Ha-ras-1, c-Ki-ras-2 and c-N-ras genes. *Biochem J.* 1990; 267: 809-813.
- 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.
- Blin N, Stafford DW. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acids Res.* 1976; 3: 2303-2308.
- Boige V, Mendiboure J, Pignon JP, Lorient MA, Castaing M, Barrois M, Malka D, Trégouët DA, Bouché O, Le Corre D, Miran I, Mulot C, Ducreux M, Beaune P, Laurent-Puig P. Pharmacogenetic assessment of toxicity and outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with LV5FU2, FOLFOX, and FOLFIRI: FFCD 2000-05. *J Clin Oncol.* 2010; 28: 2556-2564.

- Bos JL, Fearon ER, Hamilton SR, Verlaan-de Vries M, van Boom JH, van der Eb AJ, Vogelstein B. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature*. 1987; 327: 293-297.
- Bouchardy C, Hirvonen A, Coutelle C, Ward PJ, Dayer P, Benhamou S. Role of alcohol dehydrogenase 3 and cytochrome P450 2E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int J Cancer*. 2000; 87: 734-740.
- Brem R, Hall J. XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells. *Nucleic Acids Res*. 2005; 33: 2512-2520.
- Budán F, Varjas T, Nowrasteh G, De Blasio A, Prantner I, Gombos K, Varga Zs, Cseh J, Göbel Gy, Polyák É, Perjési P, Ember I, Kiss I. Kémiai karcinogének korai hatása a c-myc, Ha-ras és p53 gének expressziójára. *Magyar Epidemiológia*. 2008; 3-4: 201-212.
- Budán F, Varjas T, Nowrasteh G, Prantner I, Varga Z, Ember A, Cseh J, Gombos K, Pázsit E, Gobel G, Bauer M, Gracza T, Arany I, Perjési P, Ember I, Kiss I. Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by chemical carcinogens (DMBA, MNU). *In Vivo*. 2009; 23: 591-598.
- 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.
- Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Mandelson MT, Adams SV, Wernli KJ, Shadman M, Wurscher MA, Makar KW. Colorectal polyp type and the association with charred meat consumption, smoking, and microsomal epoxide hydrolase polymorphisms. *Nutr Cancer*. 2011; 63:583-592.
- Cai L, Yu SZ, Zhan ZF. Cytochrome P450 2E1 genetic polymorphism and gastric cancer in Changle, Fujian Province. *World J Gastroenterol*. 2001; 7: 792-795.
- Cajas-Salazar N, Au WW, Zwischenberger JB, Sierra-Torres CH, Salama SA, Alpard SK, Tying SK. Effect of epoxide hydrolase polymorphisms on chromosome aberrations and risk for lung cancer *Cancer Genet Cytogenet*. 2003; 145: 97-102
- 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.
- Calin GA, Cimmino A, Fabbri M, Ferracin M, Wojcik SE, Shimizu M, Taccioli C, Zanasi N, Garzon R, Aqeilan RI, Alder H, Volinia S, Rassenti L, Liu X, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. MiR-15a and miR-16-11 cluster functions in human leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 5166-5171.
- Cao Y, Miao XP, Huang MY, Deng L, Hu LF, Ernberg I, Zeng YX, Lin DX, Shao JY. Polymorphisms of XRCC1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in the Cantonese population. *BMC Cancer*. 2006; 6: 167.
- Carreón T, Ruder AM, Schulte PA, Hayes RB, Rothman N, Waters M, Grant DJ, Boissy R, Bell DA, Kadlubar FF, Hemstreet GP 3rd, Yin S, LeMasters GK. NAT2 slow acetylation and bladder cancer in workers exposed to benzidine. *Int J Cancer*. 2006; 118: 161-168.
- Castellví-Bel S, Ruiz-Ponte C, Fernández-Rozadilla C, Abulí A, Muñoz J, Bessa X, Brea-Fernández A, Ferro M, Giráldez MD, Xicola RM, Llor X, Jover R, Piqué JM, Andreu M, Castells A, Carracedo A.

Seeking genetic susceptibility variants for colorectal cancer: the EPICOLON consortium experience. *Mutagenesis*. 2012; 27: 153-159.

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.

Chai H, Brown RE. Field effect in cancer-an update. *Annals of Clinical and Laboratory Science*. 2009; 39: 331-337.

Chen H, Liu J, Zhao CQ, Diwan BA, Merrick BA, Waalkes MP. Association of c-myc overexpression and hyperproliferation with arsenite-induced malignant transformation. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001; 175: 260-268.

Chen YC, Huang YL, Platz EA, Alderete JF, Zheng L, Rider JR, Kraft P, Giovannucci E, Sutcliffe S. Prospective study of effect modification by Toll-like receptor 4 variation on the association between *Trichomonas vaginalis* serostatus and prostate cancer. *Cancer Causes Control*. 2013; 24: 175-180.

Chevalier D, Cauffiez C, Allorge D, Lo-Guidice JM, Lhermitte M, Lafitte JJ, Broly F. Five novel natural allelic variants-951A>C, 1042G>A (D348N), 1156A>T (I386F), 1217G>A (C406Y) and 1291C>T (C431Y)-of the human CYP1A2 gene in a French Caucasian population. *Hum Mutat*. 2001; 17: 355-356.

Chida M, Yokoi T, Fukui T, Kinoshita M, Yokota J, Kamataki T. Detection of three genetic polymorphisms in the 5'-flanking region and intron 1 of human CYP1A2 in the Japanese population. *Jpn J Cancer Res*. 1999; 90: 899-902.

Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987; 162: 156-159.

Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, Wojcik SE, Aqeilan RI, Zupo S, Dono M, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 13944-13949.

Colombo J, Rossit AR, Caetano A, Borim AA, Wornrath D, Silva AE. GSTT1, GSTM1 and CYP2E1 genetic polymorphisms in gastric cancer and chronic gastritis in a Brazilian population. *World J Gastroenterol*. 2004; 10: 1240-1245.

Cui D, Wang Z, Zhao E, Ma J, Lu W. NAT2 polymorphism and lung cancer risk: a meta-analysis. *Lung Cancer*. 2011; 73: 153-157.

Cseh J, Orsós Zs, Pázsit E, Marek E, Huszár A, Ember I, Kiss I. Effect of DRD2/ANKK1 TaqIA allelic polymorphism on the risk and prognosis of cervical precancer and cancer. *European Medical, Health And Pharmaceutical Journal* 2012; 4: 25-29.

Cseh J, Pázsit E, Orsós Z, Marek E, Huszár A, Balogh S, Ember I, Kiss I. Effect of glutathione-S-transferase M1 and T1 allelic polymorphisms on HPV-induced cervical precancer formation. *Anticancer Res*. 2011; 31: 3051-3055.

Csejtei A, Tibold A, Ember I, Kiss I. Allélpolimorfizmusok vizsgálata colorectalis és fej-nyak táji daganatos betegekben. *Orvosi Hetilap*. 2009; 150: 1545-1549.

Csejtei A, Tibold A, Koltai K, Varga Z, Szanyi I, Gobel G, Prantner I, Steffler D, Feher G, De Blasio A, Ember I, Kiss I. Association between XRCC1 polymorphisms and head and neck cancer in a Hungarian population. *Anticancer Res*. 2009; 29: 4169-4173.

Csejtej A, Tibold A, Varga Z, Koltai K, Ember A, Orsos Z, Feher G, Horvath OP, Ember I, Kiss I. GSTM, GSTT and p53 polymorphisms as modifiers of clinical outcome in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2008; 28: 1917-1922.

Csontos Z, Nádas E, Csejtej 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.

Danko IM, Chaschin NA. Association of CYP2E1 gene polymorphism with predisposition to cancer development. *Exp Oncol.* 2005; 27: 248-256.

Dasgupta RK, Adamson PJ, Davies FE, Rollinson S, Roddam PL, Ashcroft AJ, Dring AM, Fenton JAL, Child JA, Allan JM, Morgan GJ. Polymorphic variation in GSTP1 modulates outcome following therapy for multiple myeloma *Blood.* 2003; 102: 2345-2350.

David-Beabes GL, London SJ. Genetic polymorphisms of XRCC1 and lung cancer risk among African-Americans and Caucasians. *Lung Cancer.* 2001; 34: 333-339.

de Assis S, Ambrosone CB, Wustrack S, Krishnan S, Freudenheim JL, Shields PG. Microsomal epoxide hydrolase variants are not associated with risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 1697-1698.

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.

Doi ST, Kimura M, Katsuki M. Site-specific mutation of the human c-Ha-ras transgene induced by dimethylbenzanthracene causes tissue-specific tumors in mice. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85: 801-807.

Drakoulis ND, Cascorbi I, Brockmöller CR, Roots GI. Polymorphism in the human CYP1A1 gene as susceptibility factors for lung cancer: exon-7 mutation (4889 A to G), and a T to C mutation in the 3'-flanking region. *Clin. Investig.* 1994; 72: 240-248.

Duan R, Pak C, Jin P. Single nucleotide polymorphism associated with mature miR-125a alters the processing of pri-miRNA. *Hum Mol Genet.* 2007; 16: 1124-1131.

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, Choussein S, Vlahos NF, Sergeantanis TN. GSTM1 polymorphism, GSTT1 polymorphism, and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer.* 2010; 20: 1576-1580.

Economopoulos KP, Sergeantanis TN, Zagouri F, Zografos GC. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Onkologie.* 2010; 33: 666-674.

Economopoulos KP, Sergeantanis TN. GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and colorectal cancer risk: a comprehensive meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2010; 46: 1617-1631.

Ember Á, Budán F, Nowrasteh G, Varjas T, Göbel 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.* 2009; 53: 50-60.

- Ember Á, Budán F, Nowrasteh G, Varjas T, Prantner I, Göbel Gy, Horváth ÖP, Illényi L, Cseh J, Perjési P, Orsós Zs, Gergely P, Fehér K, Ember I, Kiss I. Application of molecular epidemiological biomarkers by monitoring the effects of treatment in colorectal cancer during follow-up study. *European Journal Of Oncology*. 2011; 16: 99-104.
- Ember A, 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*. 2011; 16: 99-104.
- 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.
- Ember I, Kiss I, Sándor J, Fehér K, Németh K, Lukács P. Korai biomarkerek használata a prevencióban. *Lege Artis Medicinae*. 2003; 13: 547-554.
- 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: 507-514.
- Ember I, Németh Á, Varga Cs, Perjési P, Arany I, Fehér K, Németh K, Dombi Zs, Kiss I. Molecular epidemiologic markers: A new concept in the preventive medicine with special attention to the prevention of cancer. *Central European Journal Of Public Health*. 2005; 11: 3-15.
- Ember I, Pusztai Z, Gyöngyi Z, Kiss I. 1-Nitropyrene induces elevated expression of oncogenes and tumor suppressor genes 24 hours after treatment in CBA/Ca mice. *Anticancer Res*. 2000; 20: 1563-1566.
- 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.
- Fava C, Montagnana M, Danese E, Sjögren M, Almgren P, Engström G, Hedblad B, Guidi GC, Minuz P, Melander O. The Renalase Asp37Glu polymorphism is not associated with hypertension and cardiovascular events in an urban-based prospective cohort: the Malmö Diet and cancer study. *BMC Med Genet*. 2012; 13: 57.
- Fehér Á, Juhász A, Rimanóczy Á, Álmos P, Béres J, Janka Z, Kálmán J. Dopamine metabolism-related gene polymorphisms in Roma (Gypsy) and Hungarian populations. *J Genet*. 2011; 90: e72-75.
- 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 daganatkemprevencióra. *Orvostudományi értesítő*. 2008; 81: 163-168.
- 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.

- Ferrari P, McKay JD, Jenab M, Brennan P, Canzian F, Vogel U, et al. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphisms, alcohol intake and the risk of colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Eur J Clin Nutr.* 2012; 66: 1303-1308.
- 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, Hosotani 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.
- Funke S, Timofeeva M, Risch A, Hoffmeister M, Stegmaier C, Seiler CM, Brenner H, Chang-Claude J. Genetic polymorphisms in GST genes and survival of colorectal cancer patients treated with chemotherapy. *Pharmacogenomics.* 2010; 11: 33-41.
- Gal TJ, Huang WY, Chen C, Hayes RB, Schwartz SM. DNA repair gene polymorphisms and risk of second primary neoplasms and mortality in oral cancer patients. *Laryngoscope.* 2005; 115: 2221-2231.
- Gao C, Takezaki T, Wu J, Li Z, Wang J, Ding J, Liu Y, Hu X, Xu T, Tajima K, Sugimura H. Interaction between cytochrome P-450 2E1 polymorphisms and environmental factors with risk of esophageal and stomach cancers in Chinese. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 29-34.
- 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.
- Gao Y, Cao Y, Tan A, Liao C, Mo Z, Gao F. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and sporadic colorectal cancer risk: An updating meta-analysis and HuGE review of 36 case-control studies. *Ann Epidemiol.* 2010; 20: 108-121.
- García-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, Kogevinas M, Hein DW, Tardón A, Serra C, Carrato A, García-Closas R, Lloreta J, Castaño-Vinyals G, Yeager M, Welch R, Chanock S, Chatterjee N, Wacholder S, Samanin C, Torà M, Fernández F, Real FX, Rothman N. NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet.* 2005; 366: 649-659.
- 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.
- George Priya Doss C, Rajasekaran R, Arjun P, Sethumadhavan R. Prioritization of candidate SNPs in colon cancer using bioinformatics tools: an alternative approach for a cancer biologist. *Interdiscip Sci.* 2010; 2: 320-346.
- Ghose J, Sinha M, Das E, Jana NR, Bhattacharyya NP. Regulation of miR-146a by RelA/NFkB and p53 in STHdhQ111/HdhQ111 Cells, a Cell Model of Huntington's Disease. *PLoS ONE.* 2011; 6: e23837
- Girard H, Butler LM, Villeneuve L, Millikan RC, Sinha R, Sandler RS, Guillemette C. UGT1A1 and UGT1A9 functional variants, meat intake, and colon cancer, among Caucasians and African-Americans. *Mutat Res.* 2008; 644: 56-63.

- Gorgone G, Ursini F, Altamura C, Bressi F, Tombini M, Curcio G, Chioyenda P, Squitti R, Silvestrini M, Ientile R, Pisani F, Rossini PM, Vernieri F. Hyperhomocysteinemia, intima-media thickness and C677T MTHFR gene polymorphism: a correlation study in patients with cognitive impairment. *Atherosclerosis*. 2009; 206: 309-313.
- Gorsky M, Epstein JB. The effect of retinoids on premalignant oral lesions: focus on topical therapy. *Cancer*. 2002; 95: 1258-1264.
- Graham TA, McDonald SA, Wright NA. Field cancerization in the GI tract. *Future Oncol*. 2011; 7: 981-993.
- Gronau S, Koenig-Greger D, Jerg M, Riechelmann H. Gene polymorphisms in detoxification enzymes as susceptibility factor for head and neck cancer? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 128: 674-680.
- 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.
- Gu HF, Tang CK, Yang YZ. Psychological stress, immune response, and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2012; 223: 69-77.
- Guan X, Sturgis EM, Song X, Liu Z, El-Naggar AK, Wei Q, Li G. Pre-microRNA variants predict HPV16-positive tumors and survival in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Cancer Lett*. 2013; 330: 233-240.
- Guengerich FP, Shimada T. Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes. *Chem. Res. Toxicol*. 1991; 4: 391-407.
- 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.
- Hablicsek L. Kísérlet a roma népesség előreszámítására 2050-ig. In: Horváth - Landau - Szalai (szerk.) *Cigánynak születni*. Budapest: Új Mandátum Könyvkiadó. 2000; 243-275.
- 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.
- Hamelin R, Laurent-Puig P, Olschwang S, Jeco N, Asselain B, Remvikos Y, Girodet J, Salmon RJ, Thomas G. Association of p53 mutations with short survival in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 1994; 106: 42-48.
- Han XM, Ouyang DS, Chen XP, Shu Y, Jiang CH, Tan ZR, Zhou HH. Inducibility of CYP1A2 by omeprazole in vivo related to the genetic polymorphism of CYP1A2. *Br J Clin Pharmacol*. 2002; 54: 540-543.

- Harney JV, Seymour CB, Murphy DM, Mothersill C. Variation in the expression of p53, c-myc, and bcl-2 oncoproteins in individual patient cultures of normal urothelium exposed to cobalt 60 gamma-rays and N-nitrosodiethanolamine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995; 4: 617-625.
- Hashibe M, Brennan P, Stange RC, Bhisey R, Cascorbi I, Lazarus P, Oude Ophuis MB, Benhamou S, Foulkes WD, Katoh T, Coutelle C, Romkes M, Gaspari L, Taioli E, Boffetta P. Meta and pooled analysis of GSTM1, GSST1, GSTP1 and CYP1A1 genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12: 1509-1517.
- Hassett C, Aicher L, Sidhu JS, Omiecinski CJ. Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acid variants *Hum Mol Genet.* 1994; 3: 421-428
- Hawksworth D, Ravindranath L, Chen Y, Furusato B, Sesterhenn IA, McLeod DG, Srivastava S, Petrovics G. Overexpression of C-MYC oncogene in prostate cancer predicts biochemical recurrence. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2010; 13: 311-315.
- Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *J Biochem.* 1991; 110: 407-411.
- Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1995; 30: 445-600.
- 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.
- Hernádi Z, Gazdag L, Szőke K, Sápy T, Krasznai ZT, Kónya J. Duration of HPV-associated risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006; 125: 114-119.
- Hernádi Z, Sápy T, Krasznai ZT. The prevalence of the HPV 16 genome, integrated viral status and p53 genotype in cervical cancer population of north-eastern Hungary, the correlation with the established markers of tumour progression. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004; 113: 83-86.
- Hernádi Z, Szarka K, Sápy T, Krasznai Z, Veress G, Póka R. The prognostic significance of HPV-16 genome status of the lymph nodes, the integration status and p53 genotype in HPV-16 positive cervical cancer: a long term follow up. *BJOG.* 2003; 110: 205-209.
- Hildebrandt CE, Gonzalez FJ, McBride OW, Nebert DW. Assignment of the human 2, 4, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-inducible cytochrome P1-450 gene to chromosome 15. *Nucleic Acids Res.* 1985; 13: 2009-2016.
- Hildesheim A, Anderson LM, Chen CJ, Cheng YJ, Brinton LA, Daly AK, Reed CD, Chen IH, Caporaso NE, Hsu MM. CYP2E1 genetic polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *J Natl Cancer Inst.* 1997; 89: 1207-1212.

- 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.
- Hlavata I, Vrana D, Smerhovsky Z, Pardini B, Naccarati A, Vodicka P, Novotny J, Mohelnikova-Duchonova B, Soucek P. Association between exposure-relevant polymorphisms in CYP1B1, EPHX1, NQO1, GSTM1, GSTP1 and GSTT1 and risk of colorectal cancer in a Czech population. *Oncol Rep.* 2010; 24: 1347-1353.
- Hochstenbach K, van Leeuwen DM, Gottschalk RW, Gmuender H, Stølevik SB, Nygaard UC, Løvik M, Granum B, Namork E, van Loveren H, van Delft JH. Transcriptomic fingerprints in human peripheral blood mononuclear cells indicative of genotoxic and non-genotoxic carcinogenic exposure. *Mutat Res.* 2012; PMID:22269147
- Hoivik DJ, Allen JS, Wall HG, Nold JB, Miller RT, Santostefano MJ. Studies evaluating the utility of N-methyl-N-nitrosourea as a positive control in carcinogenicity studies in the p53 +/- mouse. *Int J Toxicol.* 2005; 24: 349-356.
- Holley SL, Rajagopal R, Hoban PR, Deakin M, Fawole AS, Elder JB, Elder J, Smith V, Strange RC, Fryer AA. Polymorphisms in the glutathione S-transferase mu cluster are associated with tumour progression and patient outcome in colorectal cancer. *Int J Oncol.* 2006; 28: 231-236.
- Hong SW, Park C. The effect of aflatoxin B1 on the expression of early response genes and transforming growth factor-alpha in CCl4 induced rat liver injury. *Yonsei Med. J.* 1997; 38: 167-177.
- Hsieh LL, Chien HT, Chen IH, Liao CT, Wang HM, Jung SM, Wang PF, Chang JT, Chen MC, Cheng AJ. The XRCC1 399Gln polymorphism and the frequency of p53 mutations in Taiwanese oral squamous cell carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12: 439-443.
- Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Mohrenweiser HW, Golden A, Case LD. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis* 2001; 22: 917-922.
- 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.
- Hu Z, Liang J, Wang Z, Tian T, Zhou X, Chen J, Miao R, Wang Y, Wang X, Shen H. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Hum Mutat.* 2009; 30: 79-84.
- Huang GL, Guo HQ, Yu CY, Liu XY, Li BB, Wu JJ, He ZW. XRCC1 polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12: 2329-2333.
- Hung HC, Chuang J, Chien YC, Chern HD, Chiang CP, Kuo YS, Hildesheim A, Chen CJ. Genetic polymorphisms of CYP2E1, GSTM1, and GSTT1; environmental factors and risk of oral cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997; 6: 901-905.

- Hung RJ, Brennan P, Canzian F, Szeszenia-Dabrowska N, Zaride D, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Foretova L, Janout V, Bencko V, Chabrier A, Borel S, Hall J, Boffetta P. Large-scale investigation of base excision repair genetic polymorphisms and lung cancer risk in a multicenter study. *J. Natl. Cancer Inst.* 2005; 97: 56-76.
- Husgafvel-Pursiainen K, Hackman P, Ridanpaa M, Anttila S, Karjalainen A, Partanen T, Taikina-Aho O, Heikkila L, Vainio H. K-ras mutations in human adenocarcinoma of the lung: association with smoking and occupational exposure to asbestos. *Int J Cancer.* 1993; 53: 250-256.
- Inskip A, Elexperu-Camiruaga J, Buxton N, Dias PS, MacIntosh J, Campbell D, Jones PW, Yengi L, Talbot JA, Strange RC, Fryer AA. Identification of polymorphism at the glutathione S-transferase, GSTM3 locus: evidence for linkage with GSTM1*A. *Biochem J.* 1995; 312: 713-716.
- Isufi I, Seetharam M, Zhou L, Sohal D, Opalinska J, Pahanish P, Verma A. Transforming growth factorbeta signaling in normal and malignant hematopoiesis. *J Interferon Cytokine Res.* 2007; 27: 543-552.
- Ito H, Matsuo K, Hamajima N, Mitsudomi T, Sugiura T, Saito T, Yasue T, Lee KM, Kang D, Yoo KY, Sato S, Ueda R, Tajima K. Gene-environment interactions between the smoking habit and polymorphisms in the DNA repair genes. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1395-1401.
- Iwahashi K, Ameno S, Ameno K, Okada N, Kinoshita H, Sakae Y, Nakamura K, Watanabe M, Ijiri I, Harada S. Relationship between alcoholism and CYP2E1 C/D polymorphism. *Neuropsychobiology.* 1998; 38: 218-221.
- Iyer L, Das S, Janisch L, Wen M, Ramírez J, Karrison T, Fleming GF, Vokes EE, Schilsky RL, Ratain MJ. UGT1A1*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J.* 2002; 2: 43-47.
- Iyer L, King CD, Whittington PF, Green MD, Roy SK, Tephly TR, Coffman BL, Ratain MJ. Genetic predisposition to the metabolism of irinotecan (CPT-11). Role of uridine diphosphate glucuronosyltransferase isoform 1A1 in the glucuronidation of its active metabolite (SN-38) in human liver microsomes. *J Clin Invest.* 1998; 101: 847-854.
- Jazdzewski K, Liyanarachchi S, Swierniak M, Pachucki J, Ringel MD, Jarzab B, de la Chapelle A. Polymorphic mature microRNAs from passenger strand of pre-miR-146a contribute to thyroid cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106: 1502-1505.
- 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.
- Jee SH, Won SY, Yun JE, Lee JE, Park JS, Ji SS. Polymorphism p53 codon-72 and invasive cervical cancer: a metaanalysis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2004; 85: 301-308
- Jelonek K, Gdowicz-Klosok A, Pietrowska M, Borkowska M, Korfanty J, Rzeszowska-Wolny J, Widlak P. Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. *J Appl Genet.* 2010; 51: 343-352.
- 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.

- Jerry DJ, Butel JS, Donehower LA, Paulson EJ, Cochran C, Wiseman RW, Medina D. Infrequent p53 mutations in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumors in BALB/c and p53 hemizygous mice. *Mol Carcinog*. 1994; 9: 175-183.
- Jiang O, Zhou R, Wu D, Liu Y, Wu W, Cheng N. CYP2E1 polymorphisms and colorectal cancer risk: a HuGE systematic review and meta-analysis. *Tumour Biol*. 2013; 34: 1215-1224.
- 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.
- Jiang Z, Li C, Xu Y, Cai S. A meta-analysis on XRCC1 and XRCC3 polymorphisms and colorectal cancer risk. *Int J Colorectal Dis*. 2010; 25: 169-180.
- Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, Labourier E, Reinert KL, Brown D, Slack FJ. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*. 2005; 120: 635-647.
- Jourenkova-Mironova N, Mitrunen K, Bouchardy C, Dayer P, Benhamou S, Hirvonen A. High-activity microsomal epoxide hydrolase genotypes and the risk of oral, pharynx, and larynx cancers. *Cancer Res*. 2000; 60: 534-536.
- Juhász A, Szekely G, Remenar E, Kasler M, Gundy S, Csuka O. DNA repair gének polimorfizmusának szerepe a fej-nyak daganatok kialakulásában. *Magyar Epidemiológia*. 2005; 1-2: 51-55.
- Juhász K, Gombos K, Szirmai M, Gőcze 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.
- Kang HJ, Feng Z, Sun Y, Atwal G, Murphy ME, Rebbeck TR, Rosenwaks Z, Levine AJ, Hu W. Single-nucleotide polymorphisms in the p53 pathway regulate fertility in humans. *Proc Natl Acad Sci*. 2009; 106: 9761-9766.
- Karatzas A, Giannatou E, Tzortzis V, Gravas S, Aravantinos E, Moutzouris G, Melekos M, Tsezou A. Genetic polymorphisms in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene and prostate cancer risk in Caucasian men. *Cancer Epidemiology*. 2010; 34: 345-349.
- Katkoori VR, Jia X, Shanmugam C, Wan W, Meleth S, Bumpers H, Grizzle WE, Manne U. Prognostic significance of p53 codon 72 polymorphism differs with race in colorectal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2009; 15: 2406-2416.
- Kato S, Onda M, Matsukura N, Tokunaga A, Tajiri T, Kim DY, Tsuruta H, Matsuda N, Yamashita K, Shields PG. Cytochrome P4502E1 (CYP2E1) genetic polymorphism in a case-control study of gastric cancer and liver disease. *Pharmacogenetics*. 1995; 5: 141-144.
- Kato S, Shields PG, Caporaso NE, Hoover RN, Trump BF, Sugimura H, Weston A, Harris CC. Cytochrome P450 IIE1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk. *Cancer Res*. 1992; 52: 6712-6715.
- 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. Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis*. 1993; 14: 1085-1089.

- 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, Wucherpennig 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.
- Kemény I, Janky B, Lengyel G. A magyarországi cigányság, 1971-2003. Gondolat Kiadó-MTA Etnikai-nemzeti Kisebbségkutató Intézet. Budapest. 2004
- Kimura A, Tsuchiya Y, Lang I, Zoltan S, Nakadaira H, Ajioka Y, Kiyohara C, Oyama M, Nakamura K. Effect of genetic predisposition on the risk of gallbladder cancer in Hungary. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2008; 9: 391-396.
- Kiran B, Karkucak M, Ozan H, Yakut T, Ozerkan K, Sag S, Ture M. GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) polymorphisms in the genetic susceptibility of Turkish patients to cervical cancer. *J Gynecol Oncol.* 2010; 21: 169-173.
- Kiss I, Béres J, Orsós Zs, Sándor J, Ember I. Daganatok iránti egyéni érzékenységet befolyásoló allélpolimorfizmusok vizsgálata magyarországi roma populációban. *Magyar Epidemiológia.* 2004; 1: 69-74.
- Kiss I, Németh A, Bogner B, Pajkos G, Orsós Z, Sándor J, Csejtei A, Faluhelyi Z, Rodler I, Ember I. Polymorphisms of glutathione-S-transferase and arylamine N-acetyltransferase enzymes and susceptibility to colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2004; 24: 3965-3970.
- Kiss I, Orsós Z, Gombos K, Bogner B, Csejtei A, Tibold A, Varga Z, Pázsit E, Magda I, Zolyomi A, Ember I. Association between allelic polymorphisms of metabolizing enzymes (CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 2E1, mEH) and occurrence of colorectal cancer in Hungary. *Anticancer Res.* 2007; 27: 2931-2937.
- Kiss I, Orsós Zs, Gombos K, Bogner B, Tibold A, Csejtei A, Szanyi I, Varga Zs, Rébék-Nagy G, Ember I. Interaction between allelic polymorphisms in the modification of the risk of colorectal cancer in the Hungarian population. *European Journal Of Oncology.* 2011; 16: 203-210.
- Kiss I, Sándor J, Ember I. Regional Differences of Cancer Mortality in Hungary. *Central European Journal Of Occupational And Environmental Medicine* 8:(2-3) pp. 235-244. (2002).
- Kiss I, Sándor J, Nagymajtényi L, Ember I. A főbb daganatos betegségek által okozott halálozások alakulása Magyarországon. *Magyar Epidemiológia.* 2005; 1: 37-50.
- Kiss I, Sándor J, Pajkos G, Bogner B, Hegedüs G, Ember I. Colorectal cancer risk in relation to genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1, 2E1, and glutathione-S-transferase M1 enzymes. *Anticancer Res.* 2000; 20: 519-522.
- Kiss I, Tibold A, Halmosi R, Bartha E, Koltai K, Orsós Z, Bujdosó L, Ember I. Enhancement of organ regeneration in animal models by a stem cell-stimulating plant mixture. *J Med Food.* 2010; 13: 599-604.
- Kiyohara C, Yoshimasu K, Takayama K, Nakanishi Y. EPHX1 polymorphisms and the risk of lung cancer: a HuGE review. *Epidemiology.* 2006; 17: 89-99.
- Klimčáková L, Habalová V, Sivoňová M, Nagy V, Šalagovič J, Židzik J. Effect of NAT2 gene polymorphism on bladder cancer risk in Slovak population. *Mol Biol Rep.* 2011; 38: 1287-1293.

- Klug SJ, Rensing M, Koenig J, Abba MC, Agorastos T, BrennaSMF, et al. TP53 codon 72 polymorphism and cervical cancer: a pooled analysis of individual data from 49 studies *Lancet Oncol.* 2009; 10: 772-784.
- 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.
- Kobayashi M, Otani T, Iwasaki M, Natsukawa S, Shaura K, Koizumi Y, Kasuga Y, Sakamoto H, Yoshida T, Tsugane S. Association between dietary heterocyclic amine levels, genetic polymorphisms of NAT2, CYP1A1, and CYP1A2 and risk of colorectal cancer: a hospital-based case-control study in Japan. *Scand J Gastroenterol.* 2009; 44: 952-959.
- Kolettas E, Gonos E, Spandidos D. Overexpression of ha-ras oncogene transforms rodent fibroblasts with low-frequency but not human-diploid fibroblasts. *Int J Oncol.* 1994; 4: 43-47.
- Kongruttanachok N, Sukdikul S, Setavarin S, Kerekhjanarong V, Supiyaphun P, Voravud N, Poovorawan Y, Mutirangura A. Cytochrome P450 2E1 polymorphism and nasopharyngeal carcinoma development in Thailand: a correlative study. *BMC Cancer* 2001; 1: 4.
- Kónya J, Veress G, Juhász A, Szarka K, Sápy T, Hernádi Z, Gergely L. Additional human papillomavirus types detected by the hybrid capture tube test among samples from women with cytological and colposcopic atypia. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 408-411.
- 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.
- Kostrzewska-Poczekaj M, Gawęcki W, Illmer J, Rydzanicz M, Gajecka M, Szyfter W, Szyfter K. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck in young adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013; 270: 271-276.
- Kumar A, Pant MC, Singh HS, Khandelwal S. Associated risk of XRCC1 and XPD cross talk and life style factors in progression of head and neck cancer in north Indian population. *Mutat Res.* 2012; 729: 24-34.
- 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.
- Labbaye C, Testa U. The emerging role of MIR-146A in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *J Hematol Oncol.* 2012; 5: 13.
- Lacko M, Roelofs HM, Te Morsche RH, Voogd AC, Ophuis MB, Peters WH, Manni JJ. Genetic polymorphism in the conjugating enzyme UGT1A1 and the risk of head and neck cancer. *Int J Cancer.* 2010; 127: 2815-2821.
- Ladero JM, Agundez JA, Rodriguez-Lescure A, Diaz-Rubio M, Benitez J. RsaI polymorphism at the cytochrome P4502E1 locus and risk of hepatocellular carcinoma. *Gut.* 1996; 39: 330-333.
- Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science.* 2001; 294: 853-858
- Lan Q, Cawthon R, Gao Y, Hu W, Hosgood HD 3rd, Barone-Adesi F, Ji BT, Bassig B, Chow WH, Shu X, Cai Q, Xiang Y, Berndt S, Kim C, Chanock S, Zheng W, Rothman N. Longer Telomere Length in Peripheral White Blood Cells Is Associated with Risk of Lung Cancer and the rs2736100 (CLPTM1L-

TERT) Polymorphism in a Prospective Cohort Study among Women in China. PLoS One. 2013; 8:e59230.

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.

László A, Béres J, Karcagi V, Szabó J, Varga T. T/F 038117 számú „Genetikai kórképek hazai roma populációban” című kutatás 2002-2005 közötti beszámoló.2006.
http://real.mtak.hu/482/1/38117_ZI1.pdf

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 HS, Yoon JH, Kamimura S, Iwata K, Watanabe H, Kim CY. Lack of association of cytochrome P450 2E1 genetic polymorphisms with the risk of human hepatocellular carcinoma. Int J Cancer. 1997; 71: 737-740.

Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. Science. 2001; 294: 862-864.

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 D, Jiao L, Li Y, Doll MA, Hein DW, Bondy ML, Evans DB, Wolff RA, Lenzi R, Pisters PW, Abbruzzese JL, Hassan MM. Polymorphisms of cytochrome P4501A2 and N-acetyltransferase genes, smoking, and risk of pancreatic cancer. Carcinogenesis. 2006; 27: 103-111.

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.

Li Y, VandenBoom TG, Wang Z, Kong D, Ali S, Philip PA, Sarkar FH. miR-146a Suppresses Invasion of Pancreatic Cancer Cells. Cancer Res. 2010; 70: 1486-1495.

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 C, Cao Y, Wu L, Huang J, Gao F. An updating meta-analysis of the glutathione S-transferase T1 polymorphisms and colorectal cancer risk: a HuGE review. Int J Colorectal Dis. 2010; 25: 25-37.

- 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.
- Lin SL, Chiang A, Chang D, Ying SY. Loss of mir-146a function in hormone-refractory prostate cancer. *RNA.* 2008; 14: 417-424.
- Liu F, Yuan D, Wei Y, Wang W, Yan L, Wen T, Xu M, Yang J, Li B. Systematic review and meta-analysis of the relationship between EPHX1 polymorphisms and colorectal cancer risk. *PLoS One.* 2012; 7: e43821.
- Liu H, Fu ZX, Wang CY, Qian J, Xing L, Liu YW. A meta-analysis of the relationship between NAT2 polymorphism and colorectal cancer susceptibility. *Medicina (Kaunas).* 2012; 48: 117-131.
- Liu J, Benbrahim-Tallaa L, Qian X, Yu L, Xie Y, Boos J, Qu W, Waalkes MP. Further studies on aberrant gene expression associated with arsenic-induced malignant transformation in rat liver TRL1215 cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006; 216: 407-415.
- Liu J, Ding D, Wang X, Chen Y, Li R, Zhang Y, Luo R. N-acetyltransferase polymorphism and risk of colorectal adenoma and cancer: a pooled analysis of variations from 59 studies. *PLoS One.* 2012; 7: e42797.
- Liu L, Wu G, Xue F, Li Y, Shi J, Han J, Zhang X, Na Y, Zhang H, Tang X, Pu H, Yuan Q, Zhang L, Yang M. Functional CYP1A1 genetic variants, alone and in combination with smoking, contribute to development of head and neck cancers. *Eur J Cancer.* 2013; PMID:23462525
- Liu S, Park JY, Schantz SP, Stern JC, Lazarus P. Elucidation of CYP2E1 5' regulatory RsaI/PstI allelic variants and their role in risk for oral cancer. *Oral Oncol.* 2001; 37: 437-445
- Liu Y, Qin H, Zhang Y, Shi T, Liu B, Sun Y, Ma Y. P53 codon 72 polymorphism and colorectal cancer: a meta-analysis of epidemiological studies. *Hepatogastroenterology.* 2011; 58: 1926-1929.
- Liu Y, Xu LZ. Meta-analysis of association between GSTM1 gene polymorphism and cervical cancer. *Asian Pac J Trop Med.* 2012; 5: 480-484.
- Liu Z, Lin S, Tan M. Genome-wide tagging SNPs with entropy-based Monte Carlo method. *J Comput Biol.* 2006; 13: 1606-1614.
- Lochhead PA, Wickman G, Mezna M, Olson MF. Activating ROCK1 somatic mutations in human cancer. *Oncogene.* 2010; 29, 2591-2598.
- London SJ, Daly AK, Cooper J, Carpenter CL, Navidi WC, Ding L, Idle JR. Lung cancer risk in relation to the CYP2E1 Rsa I genetic polymorphism among African-Americans and Caucasians in Los Angeles County. *Pharmacogenetics.* 1996; 6: 151-158.
- London SJ, Smart J, Daly AK. Lung cancer risk in relation to genetic polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase among African-Americans and Caucasians in Los Angeles County. *Lung Cancer.* 2000; 28: 147-155
- Lozano G, Levine AJ. Tissue-specific expression of p53 in transgenic mice is regulated by intron sequences. *Mol Carcinog.* 1991; 4: 3-9.

- Lung FW, Lee TM, Shu BC, Chang FH. p53 codon 72 polymorphism and susceptibility malignancy of colorectal cancer in Taiwan. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2004; 130: 728-732.
- Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CL, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Res*. 1999; 59:2557-2561
- Mačková S, Bernasovský I, Gabriková D, Bôžiková A, Bernasovská J, Boroňová I, Behulová R, Svíčková P, Petrejčiková E, Soták M, Sovičová A, Carnogurská J. Association of the FTO rs9939609 polymorphism with obesity in Roma/Gypsy population. *Am J Phys Anthropol*. 2012; 147: 30-34.
- Maciejewski JP, Mufti GJ. Whole genome scanning as a cytogenetic tool in hematologic malignancies. *Blood*. 2008; 112: 965-974.
- Maezawa Y, Yamauchi M, Toda G. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450IIE1 gene and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Am. J. Gastroenterol*. 1994; 89: 561-565.
- Mahjabeen I, Baig RM, Masood N, Sabir M, Inayat U, Malik FA, Kayani MA. Genetic Variations in XRCC1 Gene in Sporadic Head and Neck Cancer (HNC) Patients. *Pathol Oncol Res*. 2012; PMID:23055018
- Makinoa H, Ochiaia M, Caignard A, Ishizakaa Y, Ondab M, Sugimuraa T, Nagao M. Detection of a Ha-ras point mutation by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism analysis in 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline-induced mouse forestomach tumors. *Cancer Letters*. 1992; 62: 115-121.
- Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. TP53 polymorphisms and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Mutagenesis*. 2003; 18: 377-385.
- Matsumoto K, Iwase T, Hirono I, Nishida Y, Iwahori Y, Hori T, Asamoto M, Takasuka N, Kim DJ, Ushijima T, Nagao M, Tsuda H. Demonstration of ras and p53 gene mutations in carcinomas in the forestomach and intestine and soft tissue sarcomas induced by N-methyl-N-nitrosourea in the rat. *Jpn J Cancer Res*. 1997; 88: 129-136.
- Matthias C, Bockmuhl U, Jahnke V, Jones PW, Hayes JD, Alldersea J, Gilford J, Bailey L, Bath J, Worrall SF, Hand P, Fryer AA, Strange RC. Polymorphism in cytochrome P450 CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1 and glutathione S-transferase, GSTM1, GSTM3, GSTT1 and susceptibility to tobacco-related cancers: studies in upper aerodigestive tract cancers. *Pharmacogenetics*. 1998; 8: 91-100.
- McLeod HL, Sargent DJ, Marsh S, Green EM, King CR, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, Findlay BP, Thibodeau SN, Grothey A, Morton RF, Goldberg RM. Pharmacogenetic predictors of adverse events and response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer: results from North American Gastrointestinal Intergroup Trial N9741. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 3227-3233.
- 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.
- Mezentsev A, Amundson SA. Global gene expression responses to low- or high-dose radiation in a human three-dimensional tissue model. *Radiat Res*. 2011; 175: 677-688.
- 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.

- Mignini F, Napolioni V, Codazzo C, Carpi FM, Vitali M, Romeo M, Ceccanti M. DRD2/ANKK1 TaqIA and SLC6A3 VNTR polymorphisms in alcohol dependence: association and gene-gene interaction study in a population of Central Italy. *Neurosci Lett*. 2012; 522: 103-107.
- 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.
- Moonen H, Engels L, Kleinjans J, Kok T. The CYP1A2-164A->C polymorphism (CYP1A2*1F) is associated with the risk for colorectal adenomas in humans. *Cancer Lett*. 2005; 229: 25-31.
- Moore LE, Baris DR, Figueroa JD, Garcia-Closas M, Karagas MR, Schwenn MR, Johnson AT, Lubin JH, Hein DW, Dagnall CL, Colt JS, Kida M, Jones MA, Schned AR, Cherala SS, Chanock SJ, Cantor KP, Silverman DT, Rothman N. GSTM1 null and NAT2 slow acetylation genotypes, smoking intensity and bladder cancer risk: results from the New England bladder cancer study and NAT2 meta-analysis. *Carcinogenesis*. 2011; 32: 182-189.
- Morais C, Gobe G, Johnson DW, Healy H. The emerging role of nuclear factor kappa B in renal cell carcinoma. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011; 43: 1537-1549.
- Morita S, Yano M, Shiozaki H, Tsujinaka T, Ebisui C, Morimoto T, Kishibuti M, Fujita J, Ogawa A, Taniguchi M, Inoue M, Tamura S, Yamazaki K, Kikkawa N, Mizunoya S, Monden M. CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 polymorphisms are not associated with susceptibility to squamous-cell carcinoma of the esophagus. *Int J Cancer*. 1997; 71: 192-195.
- 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.
- Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem*. 1999; 125: 803-808.
- 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.
- Neafsey P, Ginsberg G, Hattis D, Johns DO, Guyton KZ, Sonawane B. Genetic Polymorphism in CYP2E1: Population Distribution of CYP2E1 Activity. *J Toxicol Env Health*. 2009; 12: 362-388.
- Nelson HH, Wilkojmen M, Marsit CJ, Kelsey KT. TP53 mutation, allelism and survival in non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*. 2005; 26: 1770-1773.
- Németh A, Nadasi E, Gyöngyi Z, Olasz L, Nyarady Z, Ember A, Kvarda A, Bujdosó L, Arany I, Kiss I, Csejtey I, Ember I. Early effects of different cytostatic protocols for head and neck cancer on oncogene activation in animal experiments. *Anticancer Res*. 2003; 23: 4831-4835.
- Nisa H, Budhathoki S, Morita M, Toyomura K, Nagano J, Ohnaka K, Kono S, Ueki T, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Maekawa T, Yasunami Y, Takenaka K, Ichimiya H, Terasaka R. Microsomal epoxide hydrolase polymorphisms, cigarette smoking, and risk of colorectal cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Mol Carcinog*. 2012; PMID: 22415791.

- Nishimoto IN, Hanaoka T, Sugimura H, Nagura K, Ihara M, Li XJ, Arai T, Hamada GS, Kowalski LP, Tsugane S. Cytochrome P450 2E1 polymorphism in gastric cancer in Brazil: case-control studies of Japanese Brazilians and non-Japanese Brazilians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000; 9: 675-680.
- Nöthlings U, Yamamoto JF, Wilkens LR, Murphy SP, Park SY, Henderson BE, Kolonel LN, Le Marchand L. Meat and heterocyclic amine intake, smoking, NAT1 and NAT2 polymorphisms, and colorectal cancer risk in the multiethnic cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18: 2098-2106.
- 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.
- Ogawa K, Tokusashi Y, Fukuda I. Absence of p53 mutations in methylnitrosourea-induced mammary tumors in rats. *Cancer Detect Prev.* 1996; 20: 214-217.
- 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.
- Omura T, Ishimura Y, Fujii-Kuriyama Y. Cytochrome P-450. Second edition. Tokyo, Kodansha, 1993.
- Orsós Z, Szanyi I, Csejtei A, Gerlinger I, Ember I, Kiss I. Association of pre-miR-146a rs2910164 polymorphism with the risk of head and neck cancer. *Anticancer Res.* 2013; 33: 341-346.
- Orsós Zs, Szanyi I, Ember I, Kiss I. A Mir146A RS2910164 G/C allélpolimorfizmus hatása a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatára. *Magyar Epidemiológia.* 2011; 4: 201-206.
- 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.
- Oyama T, Kawamoto T, Mizoue T, Sugio K, Kodama Y, Mitsudomi T, Yasumoto K. Cytochrome P450 2E1 polymorphism as a risk factor for lung cancer: in relation to p53 gene mutation. *Anticancer Res.* 1997; 17: 583-587.
- Park JY, Schantz SP, Lazarus P. Epoxide hydrolase genotype and orolaryngeal cancer risk: interaction with GSTM1 genotype. *Oral Oncol.* 2003; 39: 483-490.
- Parsian A, Cloninger CR, Zhang ZH. Association studies of polymorphisms of CYP2E1 gene in alcoholics with cirrhosis, antisocial personality, and normal controls. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1998; 22: 888-891.
- Patel AV, Calle EE, Pavluck AL, Feigelson HS, Thun MJ, Rodriguez C. A prospective study of XRCC1 (X-ray cross-complementing group 1) polymorphisms and breast cancer risk. *Breast Cancer Res.* 2005; 7: 1168-1173.
- Pavanello S, B'chir F, Pulliero A, Saguem S, Ben Fraj R, El Aziz Hayouni A, Clonfero E, Mastrangelo G. Interaction between CYP1A2-T2467DELTA polymorphism and smoking in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer.* 2007; 57: 266-272.

- Persson I, Johansson I, Bergling H, Dahl ML, Seidegard J, Rylander R, Rannug A, Hogberg J, Sundberg MI. Genetic polymorphism of cytochrome P450E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer. *FEBS Lett.* 1993; 319: 207-211.
- 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.
- Pfeifer GP, Besaratinia A. Mutational spectra of human cancer. *Hum Genet.* 2009; 125: 493-506.
- Pim D, Banks L. p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. *Int J Cancer.* 2004; 108: 196-199.
- 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.
- Puente XS, Velasco G, Gutiérrez-Fernández A, Bertranpetit J, KingMC, Lopez-OtinC. Comparative analysis of cancer genes in the human and chimpanzee genomes. *BMC Genomics.* 2006; 7: 15.
- Pusztai Z, Selyes A, Ember I. Short-term effects of 1-nitropyrene on chromosomes and on oncogene/tumor suppressor gene expression in vivo. *Anticancer Res.* 1998; 18: 4489-4492.
- 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.
- Raimondi S, Botteri E, Iodice S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Gene-smoking interaction on colorectal adenoma and cancer risk: review and meta-analysis. *Mutat Res.* 2009; 670: 6-14.
- Rappaport SM, Yeowell-O'Connell K, Bodell W, Yager JW, Symanski E. An investigation of multiple biomarkers among workers exposed to styrene and styrene-7,8-oxide *Cancer Res.* 1996; 56: 5410-5416.
- Relling MV, Lin JS, Ayers GD, Evans WE. Racial and gender differences in N-acetyltransferase, xanthine oxidase, and CYP1A2 activities. *Clin Pharmacol Ther.* 1992; 52: 643-658.
- Reszka E, Czekaj P, Adamska J, Wasowicz W. Relevance of glutathione S-transferase M1 and cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms to the development of head and neck cancers. *Clin Chem Lab Med.* 2008; 46: 1090-1096.
- 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.
- Rodenhuis S, van de Wetering ML, Mooi WJ, Evers SG, van Zandwijk N, Bos JL. Mutational activation of the K-ras oncogene. A possible pathogenetic factor in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med.* 1987; 317: 929-935.

- Rosenthal AN, Ryan A, Al-Jehani RM, Storey A, Harwood CA, Jacobs IJ. p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical cancer in UK. *Lancet*. 1998; 352: 871-872.
- Rusca N, Monticelli S. MiR-146a in immunity and disease. *Mol Biol Int*. 2011; 2011: 437301.
- Rushing EJ, Watson ML, Schold SC, Land KJ, Kokkinakis DM. Glial tumors in the MNU rat model: induction of pure and mixed gliomas that do not require typical missense mutations of p53. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1998; 57: 1053-1060.
- Saadat I, Saadat M. Glutathione S-transferase M1 and T1 null genotypes and the risk of gastric and colorectal cancers. *Cancer Lett*. 2001; 169: 21-26.
- 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.
- Sachse C, Brockmüller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol*. 1999; 47: 445-449.
- Saebo M, Skjelbred CF, Brekke Li K, Bowitz Lothe IM, Hagen PC, Johnsen E, Tveit KM, Kure EH. CYP1A2 164 A->C polymorphism, cigarette smoking, consumption of welldone red meat and risk of developing colorectal adenomas and carcinomas. *Anticancer Res*. 2008; 28: 2289-2295.
- Sahin O, Arikan S, Oltulu YM, Coskunpinar E, Eren A, Cacina C, Guler E, Yaylim I. Investigation of a possible relationship between EPHX1 gene polymorphisms and colorectal cancer in Turkish society. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16: 423-428.
- Sailaja K, Surekha D, Nageswara Rao D, Raghunadha Rao D, Vishnupriya S. Association of the GSTP1 gene (Ile105Val) Polymorphism with Chronic Myeloid Leukemia. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2010; 11: 461-464.
- 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
- Sakamuro D, Sabbatini P, White E, Prendergast GC. The polyproline region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest. *Oncogene*. 1997; 15: 887-898.
- Sanderson S, Salanti G, Higgins J. Joint effects of the N-acetyltransferase 1 and 2 (NAT1 and NAT2) genes and smoking on bladder carcinogenesis: a literature-based systematic HuGE review and evidence synthesis. *Am J Epidemiol*. 2007; 166: 741-751.
- Sándor J, Bűcs G, Szűcs M, Brázay L, Kiss I, Ember I. Méhnyakrákos halálozás területi különbségei a Dél-Dunántúli régióban. *Népegészségügy*. 2000; 81: 16-19.
- Saunders MA, Liang H, Li WH. Human polymorphism at microRNAs and microRNA target sites. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104: 3300-3305.
- Schneider-Stock R, Boltze C, Peters B, Szibor R, Landt O, Meyer F, Roessner A. Selective loss of codon 72 proline p53 and frequent mutational inactivation of the retained arginine allele in colorectal cancer. *Neoplasia*. 2004; 6: 529-535.
- Schoket B, Papp G, Lévay K, Mracková G, Kadlubar FF, Vincze I. Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat Res*. 2001; 482: 57-69.

- Schoket B, Phillips DH, Kostic S, Vincze I. Smoking-associated bulky DNA adducts in bronchial tissue related to CYP1A1 MspI and GSTM1 genotypes in lung patients. *Carcinogenesis*. 1998; 19: 841-846.
- Schoof N, Iles MM, Bishop DT, Newton-Bishop JA, Barrett JH. Pathway-based analysis of a melanoma genome-wide association study: analysis of genes related to tumour-immunosuppression. *PLoS One*. 2011; 6: e29451.
- 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.
- Settheetham-Ishida W, Yuenyao P, Kularbkaew C, Settheetham D, Ishida T. Glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) polymorphisms in cervical cancer in Northeastern Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2009; 10: 365-368.
- 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.
- Sharma R, Panda NK, Khullar M. Hypermethylation of carcinogen metabolism genes, CYP1A1, CYP2A13 and GSTM1 genes in head and neck cancer. *Oral Dis*. 2010; 16: 668-673.
- Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994; 270: 414-423.
- Shin A, Shrubsole MJ, Rice JM, Cai Q, Doll MA, Long J, Smalley WE, Shyr Y, Sinha R, Ness RM, Hein DW, Zheng W. Meat intake, heterocyclic amine exposure, and metabolizing enzyme polymorphisms in relation to colorectal polyp risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008; 17: 320-329.
- Shiraia K, Uemuraa Y, Fukumotob M, Tsukamotoc T, Pascualc R, Nandic S, Tsuburaa A. Synergistic effect of MNU and DMBA in mammary carcinogenesis and H-ras activation in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Letters*. 1997; 120: 87-93.
- 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.
- Silva SN, Moita R, Azevedo AP, Gouveia R, Manita I, Pina JE, Rueff J, Gaspar J. Menopausal age and XRCC1 gene polymorphisms: role in breast cancer risk, *Cancer Detect. Prev*. 2007; 31: 303-309.
- Sims P. The metabolic activation of chemical carcinogens. *Br Med Bull*. 1980; 36: 11-18
- Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B. Association of GSTM1, GSTT1, and GSTM3 gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol*. 2008; 198: 303.

- Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Maasz A, Takacs I, Beres J, Fodor L, Szabo M, Melegh B. Genetic variability and haplotype profile of MDR1 (ABCB1) in Roma and Hungarian population samples with a review of the literature. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2011; 26: 206-215.
- Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Polgar N, Lakner L, Szabo M, Takacs I, Melegh B. Vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) haplotypes in healthy Hungarian and Roma population samples. *Pharmacogenomics.* 2009; 10: 1025-1032.
- Sipeky C, Lakner L, Szabo M, Takacs I, Tamasi V, Polgar N, Falus A, Melegh B. Interethnic differences of CYP2C9 alleles in healthy Hungarian and Roma population samples: relationship to worldwide allelic frequencies. *Blood Cells Mol Dis.* 2009; 43: 239-242.
- Siváková D, Zacharová M, Gasparovic J, Raslová K, Wsólová L, Basistová Z, Blazíček P. Apolipoprotein E polymorphism in relation to plasma lipid levels and other risk factors of atherosclerosis in two ethnic groups from Slovakia. *Coll Antropol.* 2006; 30: 387-394.
- Skjelbred CF, Saebo M, Hjartaker A, Grotmol T, Hansteen IL, Tveit KM, Hoff G, Kure EH. Meat, vegetables and genetic polymorphisms and the risk of colorectal carcinomas and adenomas. *BMC Cancer.* 2007; 7: 228.
- Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer.* 1953; 6: 963-968.
- Slyskova J, Dusinska M, Kuricova M, Soucek P, Vodickova L, Susova S, Naccarati A, Tulupova E, Vodicka P. Relationship between the capacity to repair 8- oxoguanine biomarkers of genotoxicity and individual susceptibility in styreneexposed workers. *Mutat. Res.* 2007; 634: 101-111.
- Smit VT, Boot AJ, Smits AM, Fleuren GJ, Cornelisse CJ, Bos JL. KRAS codon 12 mutations occur very frequently in pancreatic adenocarcinomas. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16: 7773-7782.
- Smith K, Dalton S. Myc transcription factors: key regulators behind establishment and maintenance of pluripotency. *Regen Med.* 2010; 5: 947-959.
- Smith SA, Engelward BP. In vivo repair of methylation damage in Aag 3-methyladenine DNA glycosylase null mouse cells. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28: 3294-3300.
- Song FJ, Chen KX. Single-nucleotide polymorphisms among microRNA: big effects on cancer. *Chin J Cancer.* 2011; 30: 381-391.
- Sorensen M, Autrup H, Olsen A, Tjonneland 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.
- Stefanski V, Hemschemeier SK, Schunke K, Hahnel A, Wolff C, Straub RH. Differential effect of severe and moderate social stress on blood immune and endocrine measures and susceptibility to collagen type II arthritis in male rats. *Brain Behav Immun.* 2013; 29: 156-165.
- Stevens GL, Scheer WD, Levine EA. Detection of tyrosinase mRNA from the blood of melanoma patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5: 293-296.

Stoehlmacher J, Park DJ, Zhang W, Groshen S, Tsao-Wei DD, Yu MC, Lenz HJ. Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 936-942.

Stoehlmacher J, Park DJ, Zhang W, Yang D, Groshen S, Zahedy S, Lenz HJ. A multivariate analysis of genomic polymorphisms: prediction of clinical outcome to 5-FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2004; 91: 344-354.

Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Breuer J, Leigh IM, Matlashewski G, Banks L. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature.* 1998; 393: 229-234

Subramanian U, Ahmed AE. Intestinal toxicity of acronitrile: In vitro metabolism by intestinal cytochrome P4502E1. *Tox Appl Pharmacol.* 1995; 135: 1-8.

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.

Suraj Singh H, Ghosh PK, Saraswathy KN. DRD2 and ANKK1 Gene Polymorphisms and Alcohol Dependence: A Case-Control Study among a Mendelian Population of East Asian Ancestry. *Alcohol Alcohol.* 2013; PMID: 23443985.

Suzuki H, Morris JS, Li Y, Doll MA, Hein DW, Liu J, Jiao L, Hassan MM, Day RS, Bondy ML, Abbruzzese JL, Li D. Interaction of the cytochrome P4501A2, SULT1A1 and NAT gene polymorphisms with smoking and dietary mutagen intake in modification of the risk of pancreatic cancer. *Carcinogenesis.* 2008; 29: 1184-1191.

Szanyi I, Bauer M, Gerlinger I, J  rai T, Gobel G, Lujber L, Szabadi E, Feh  r K,   mber 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, Csejtey 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.

Szanyi I, R  th G, M  ricz P, Somogyv  ri K, Révész P, Gerlinger I, Ors  s Z, Ember I, Kiss I. 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. *Eur J Cancer Prev.* 2012; 21: 560-568.

Szarka K, Veress G, K  nya J, Gergely L. Frequency of p53 codon 72 genotypes in human papillomavirus associated squamous intraepithelial lesions and cervical cancer. *Anticancer Res.* 1999; 19: 2377-2379.

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.

Szentirmay Z, Cseh J, Pulay T, Kasler M. Hum  n papillomavírus   s méhnyakrák: A tumoros folyamat kialakulásának genetikai h  tt  re. *Orvosi Hetil.* 2001; 142: 1429-1436.

- Szentirmay Z, Pólus K, Tamás L, Szentkuti G, Kurcsics J, Csernák E, Tóth E, Kásler M. Human papillomavirus in head and neck cancer: molecular biology and clinicopathological correlations. *Cancer Metastasis Rev.* 2005; 24: 19-34.
- Szentirmay Z, Szanto I, Balint I, Polus K, Remenar E, Tamas L, Szentkuti G, Meleg Zs, Nagy P, Kasler M. Oki összefüggés a humán papillomavírus fertőzés és a fej-nyaki régió, valamint a nyelvcső laphámrákjának egyes típusai között. *Magy Onkol.* 2002; 46: 35-41.
- Szőke D, Molnár B, Solymosi N, Sipos F, Galamb O, Gyórfy A, Tulassay Z. The RR genotype of codon 72 of p53 gene reduces the development of intestinal metaplasia. *Dig Liver Dis.* 2009; 41: 179-184.
- Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced expression of the let-7 microRNA in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res.* 2005; 64: 3753-3756.
- Tan W, Song N, Wang GQ, Liu Q, Tang HJ, Kadlubar FF, Lin DX. Impact of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferases M1, T1, and P1 on susceptibility to esophageal cancer among high-risk individuals in China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000; 9:551-556.
- Tang K, Li Y, Zhang Z, Gu Y, XiongY, Feng G, He L, Qin S. The PstI/RsaI and DraI polymorphisms of CYP2E1 and head and neck cancer risk: a meta-analysis based on 21 case-control studies. *BMC Cancer.* 2010; 10: 575.
- Tang NP, Wu YM, Wang B, Ma J. Systematic review and meta-analysis of the association between P53 codon 72 polymorphism and colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2010; 36: 431-438.
- Tao J, Lu Q, Wu D, Li P, Xu B, Qing W, Wang M, Zhang Z, Zhang W. microRNA-21 modulates cell proliferation and sensitivity to doxorubicin in bladder cancer cells. *Oncol Rep.* 2011; 25: 1721-1729.
- 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.
- Tebbs RS, Thompson LH, Cleaver JE. Rescue of Xrcc1 knockout mouse embryo lethality by transgene-complementation. *DNA Repair.* 2003; 2: 1405-1417.
- 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.
- The Breast Cancer Association Consortium. Commonly studied single-nucleotide polymorphisms and breast cancer: results from the Breast Cancer Association. Consortium. *J. Natl Cancer Inst.* 2006; 98: 1382-1396.
- Thévenin AF, Zony CL, Bahnson BJ, Colman RF. GST pi modulates JNK activity through a direct interaction with JNK substrate, ATF2. *Protein Sci.* 2011; 20: 834-848.
- 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, Caballero M, Cruellas F, Raya A, Dicenta M, Corbella J. Microsomal epoxide hydrolase and glutathione-S-transferase polymorphisms in relation to laryngeal carcinoma risk. *Cancer Lett.* 2002; 187: 95-101.
- 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
- Tominaga T, Iwahashi M, Takifuji K, Hotta T, Yokoyama S, Matsuda K, Higashiguchi T, Oku Y, Nasu T, Yamaue H. Combination of p53 codon 72 polymorphism and inactive p53 mutation predicts chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2010; 126: 1691-1701.
- Tomlinson IP, Houlston RS, Montgomery GW, Sieber OM, Dunlop MG. Investigation of the effects of DNA repair gene polymorphisms on the risk of colorectal cancer. *Mutagenesis.* 2012; 27: 219-223.
- Tommiska J, Eerola H, Heinonen M, Salonen L, Kaare M, Tallila J, Ristimäki A, von Smitten K, Aittomäki K, Heikkilä P, Blomqvist C, Nevanlinna H. Breast cancer patients with p53 Pro72 homozygous genotype have a poorer survival. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 5098-5103.
- Tranah GJ, Chan AT, Giovannucci E, Ma J, Fuchs C, Hunter DJ. Epoxide hydrolase and CYP2C9 polymorphisms, cigarette smoking, and risk of colorectal carcinoma in the Nurses' Health Study and the Physicians' Health Study. *Mol Carcinog.* 2005; 44: 21-30.
- Tsukino H, Kuroda Y, Qiu D, Nakao H, Imai H, Katoh T. Effects of cytochrome P450 (CYP) 2A6 gene deletion and CYP2E1 genotypes on gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer.* 2002; 100: 425-428.
- Tuimala J, Szekely G, Gundy S, Hirvonen A, Norppa H. Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: role in mutagen sensitivity. *Carcinogenesis.* 2002; 23: 1003-1008.
- 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.
- Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, Abe T, Sagami I, Ohmachi T, Wakui A, Kanamaru R, Watanabe M. Associated between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450IIE1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn. J Cancer Res.* 1991; 82: 254-256.
- Uematsu F, Kikuchi H, Ohmachi T, Sagami I, Motomiya M, Kamataki T, Komori M, Watanabe M. Two common RFLPs of the human CYP2E gene. *Nucleic Acid Res.* 1991; 19: 2803.
- Umeno M, McBride OW, Yang CS, Gelboin HV, Gonzalez FJ. Human ethanol-inducible P450IIE1: Complete gene sequence, promoter characterization, chromosome mapping, and cDNA-directed expression. *Biochemistry.* 1988; 27: 9006-9013.
- Ungerback J, Belenki D, Jawad ul-Hassan A, Fredrikson M, Fransén K, Elander N, Verma D, Söderkvist P. Genetic variation and alterations of genes involved in NFκB/TNFAIP3- and NLRP3-inflammasome signaling affect susceptibility and outcome of colorectal cancer. *Carcinogenesis.* 2012; 33: 2126-2134.

- van Heemst D, Mooijaart SP, Beekman M, Schreuder J, de Craen AJ, Brandt BW, Slagboom PE, Westendorp RG, Long Life study group. Variation in the human TP53 gene affects old age survival and cancer mortality. *Exp. Gerontol.* 2005; 40: 11-15.
- 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.
- van Leeuwen DM, van Agen E, Gottschalk RW, Vlietinck R, Gielen M, van Herwijnen MH, Maas LM, Kleinjans JC, van Delft JH. Cigarette smoke-induced differential gene expression in blood cells from monozygotic twin pairs. *Carcinogenesis.* 2007; 28: 691-697.
- Varga G, Szekely A, Antal P, Sarkozy P, Nemoda Z, Demetrovics Z, Sasvari-Szekely M. Additive effects of serotonergic and dopaminergic polymorphisms on trait impulsivity. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2012; 159B:281-288.
- Várkonyi J, Szakály D, Jánoskúti L, Hosszúfalusi N, Pánczél P, Karádi I, Schoket B. Glutathione S-transferase enzyme polymorphisms in a Hungarian myelodysplasia study population. *Pathol Oncol Res.* 2008; 14: 429-433.
- Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, van Daal A, Noble EP, Lawford BR, Young RM, Morris CP. A DRD2 and ANKK1 haplotype is associated with nicotine dependence. *Psychiatry Res.* 2012; 196: 285-289.
- 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 D, Wang B, Zhai JX, Liu DW, Sun GG. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Neoplasma.* 2011; 58: 352-359.
- Wang D, Zhang LM, Zhai JX, Liu DW. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and colorectal cancer risk in Chinese population: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2012; PMID: 22237425.
- Wang H, Yamamoto JF, Caberto C, Saltzman B, Decker R, Vogt TM, Yokochi L, Chanock S, Wilkens LR, Le Marchand L. Genetic variation in the bioactivation pathway for polycyclic hydrocarbons and heterocyclic amines in relation to risk of colorectal neoplasia. *Carcinogenesis.* 2011; 32: 203-209.
- 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
- Wang JJ, Zheng Y, Sun L, Wang L, Yu PB, Dong JH, Zhang L, Xu J, Shi W, Ren YC. TP53 codon 72 polymorphism and colorectal cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2011; 38: 4847-4853.
- Wang Y, Shen L, Xu N, Wang JW, Jiao SC, Liu ZY, Xu JM. UGT1A1 predicts outcome in colorectal cancer treated with irinotecan and fluorouracil. *World J Gastroenterol.* 2012; 18: 6635-6644.
- Wang Y, Spitz MR, Zhu Y, Dong Q, Shete S, Wu X. From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity, DNA. Repair. 2003; 2: 901-908.
- Watanabe J, Hayashi S, Nakachi K, Imai K, Suda Y, Sekine T, Kawajiri K. PstI and RsaI RFLPs in complete linkage disequilibrium at the CYP2E gene. *Nucleic Acids Res.* 1990; 18: 7194.

- Wenghoefer M, Pesch B, Harth V, Broede P, Fronhoffs S, Landt O, Bruning T, Abel J, Bolt HM, Herberhold C, Vetter H, Ko YD. Association between head and neck cancer and microsomal epoxide hydrolase genotypes. *Arch Toxicol*. 2003; 77: 37-41.
- Wong NA, Rae F, Simpson KJ, Murray GD, Harrison DJ. Genetic polymorphisms of cytochrome p4502E1 and susceptibility to alcoholic liver disease and hepatocellular carcinoma in a white population: a study and literature review, including meta-analysis. *Mol Pathol*. 2000; 53: 88-93.
- Wu D, Wang F, Dai WQ, He L, Lu J, Xu L, Guo CY. The miR-146a rs2910164 G > C Polymorphism and Susceptibility to Digestive Cancer in Chinese. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013; 14: 399-403.
- Wu M, Jolicoeur N, Li Z, Zhang L, Fortin Y, L'Abbe D, Yu Z, Shen SH. Genetic variations of microRNAs in human cancer and their effects on the expression of miRNAs. *Carcinogenesis*. 2008; 29: 1710-1716.
- Wu MS, Chen CJ, Lin MT, Wang HP, Shun CT, Sheu JC, Lin JT. Genetic polymorphisms of cytochrome p450 2E1, glutathione S-transferase M1 and T1, and susceptibility to gastric carcinoma in Taiwan. *Int J Colorectal Dis*. 2002; 17: 338-343.
- Wu X, Gwyn K, Amos CI, Maken N, Hong WK, Spitz MR. The association of microsomal epoxide hydrolase polymorphisms and lung cancer risk in African-Americans and Mexican-Americans. *Carcinogenesis*. 2001; 22: 923-928
- Wu X, Shi H, Jiang H, Kemp B, Hong WK, Delclos GL, Spitz MR. Associations between cytochrome P4502E1 genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis*. 1997; 18: 967-973.
- Xue H, Situ ZQ, Wang CJ, Wu JZ. Chin Med J. Overexpression and amplification of c-myc and c-Ha-ras oncogenes in pleomorphic salivary adenoma. 1993; 106: 22-25.
- Yamamoto M, Tsukamoto T, Sakai H, Shirai N, Ohgaki H, Furihata C, Donehower LA, Yoshida K, Tatamatsu M. p53 knockout mice (-/-) are more susceptible than (+/-) or (+/+) mice to N-methyl-N-nitrosourea stomach carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2000; 21: 1891-1897.
- 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.
- Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, Stephens RM, Okamoto A, Yokota J, Tanaka T, Calin GA, Liu CG, Croce CM, Harris CC. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006; 9: 189-198.
- Yang HH, Hu N, Taylor PR, Lee MP. Whole genome-wide association study using affymetrix SNP chip: a two-stage sequential selection method to identify genes that increase the risk of developing complex diseases. *Methods Mol Med*. 2008; 141: 23-35.
- Yang ZH, Du B, Wei YS, Zhang JH, Zhou B, Liang WB, Jia J, Zhang BL, Zhang L. Genetic polymorphisms of the DNA repair gene and risk of nasopharyngeal carcinoma. *DNA Cell Biol*. 2007; 26: 491-496.
- Yao Q, Cao Z, Tu C, Zhao Y, Liu H, Zhang S. MicroRNA-146a acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting WASF2. *Cancer Lett*. 2013; PMID: 23435376.
- Ye Z, Parry JM. Meta-analysis of 20 case-control studies on the N-acetyltransferase 2 acetylation status and colorectal cancer risk. *Med Sci Monit*. 2002; 8: 558-565.

- Yeh CC, Sung FC, Tang R, Chang-Chieh CR, Hsieh LL. Polymorphisms of cytochrome P450 1A2 and N-acetyltransferase genes, meat consumption, and risk of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2009; 52: 104-111.
- 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.
- Yoshida K, Osawa K, Kasahara M, Miyaishi A, Nakanishi K, Hayamizu S, Osawa Y, Tsutou A, Tabuchi Y, Shimada E, Tanaka K, Yamamoto M, Takahashi J. Association of CYP1A1, CYP1A2, GSTM1 and NAT2 gene polymorphisms with colorectal cancer and smoking. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2007; 8: 438-444.
- Yu MW, Gladek-Yarborough A, Chiamprasert S, Santella RM, Liaw YF, Chen CJ. Cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 1995; 109: 1266-1273.
- Zeljko HM, Škarić-Jurić T, Narančić NS, Tomas Ž, Barešić A, Salihović MP, Starčević B, Jančićjević B. E2 allele of the apolipoprotein E gene polymorphism is predictive for obesity status in Roma minority population of Croatia. *Lipids Health Dis*. 2011; 10: 9.
- Zhang K, Zhou B, Wang Y, Rao L, Zhang L. The XRCC1 Arg280His polymorphism contributes to cancer susceptibility: an update by meta-analysis of 53 individual studies. *Gene*. 2012; 510: 93-101.
- Zhang Y, Newcomb PA, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Chanock S, Welch R, Brinton LA, Lissowska J, Bardin-Mikolajczak A, Peplonska B, Szeszenia-Dabrowska N, Zatonski W, Garcia-Closas M. Genetic polymorphisms in base-excision repair pathway genes and risk of breast cancer, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev*. 2006; 15: 353-358.
- 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 ZY, Jin XY, Wu R, Wu LN, Xing R, Yang SJ, Xie Y. Meta-analysis of the association between GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms and cervical cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; 13: 815-819.
- Zheng Y, Wang JJ, Sun L, Li HL. Association between CYP1A1 polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012; 39: 3533-3540.
- Zhong H, Wang HR, Yang S, Zhong JH, Wang T, Wang C, Chen FY. Targeting Smad4 links microRNA-146a to the TGF- β pathway during retinoid acid induction in acute promyelocytic leukemia cell line. *Int J Hematol*. 2010; 92: 129-135.
- Zhou C, Zhou Y, Li J, Zhang Y, Jiang L, Zeng X, Feng X, Wang Z. The Arg194Trp polymorphism in the X-ray repair cross-complementing group 1 gene as a potential risk factor of oral cancer: a meta-analysis. *Tohoku J Exp Med*. 2009; 219: 43-51.
- Zhou H, Joseph PD, Kim D, Guengerich FP. Functional characterization of four allelic variants of human cytochrome P450 1A2. *Arch Biochem Biophys*. 2004; 422: 23-30.
- Zhou Y, Li N, Zhuang W, Liu GJ, Wu TX, Yao X, Du L, Wei ML, Wu XT. P53 codon 72 polymorphism and gastric cancer: a meta-analysis of the literature. *Int. J. Cancer*. 2007; 121: 1481-1486.

dc_324_11

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, Bandorowicz-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 104 differ in enzymic properties. *Eur J Biochem.* 1994; 224: 893-899.

A disszertációban felhasznált, 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 Góbel, 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 Góbel, 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 Góbel, ÖP Horváth, L Illényi, J Cseh, P Perjési, Zs Orsós, P Gergely, K Fehér, I Ember, **I Kiss**. Application of molecular epidemiological biomarkers by monitoring the effects of treatment in colorectal cancer during follow-up study. *European Journal Of Oncology* 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 Gőbel, 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 Somogyvari, P Revesz, 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

16. 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.
17. Sándor J., Németh Á., **Kiss I.**, Kvarda A., Bujdosó L., Ember I.: Kistérségek halálozási viszonyainak változása. Egészségtudomány. 2003. 47: 29-44.
18. 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.
19. 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.
20. **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.
21. **Kiss I.**, Sándor J., Nagymajtényi L., Ember I.: A főbb daganatos betegségek által okozott halálozások alakulása Magyarországon. Magyar Epidemiológia. 2005. II. 1: 37-50.
22. 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 gén expressziójára. Magyar Epidemiológia, V. évf. 3-4 szám: 201-212, 2008.
23. 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
24. 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 betegeken, a műtéti hatás monitorozása követéses vizsgálattal. Egészségtudomány, 53(2):50-60, 2009.

dc_324_11

25. Csejtei A., Tibold A., Ember I., **Kiss I.**: Allélpolimorfizmusok vizsgálata colorectalis és fej-nyak táji daganatos betegekben. Orvosi Hetilap, 150(33): 1545-1549, 2009.
26. Bérczi B, **Kiss I.**, Ember I: A mikro-RNS polimorfizmus és a daganatos betegségek kockázatbecslése. Magyar Epidemiológia. 2011. 8:(2): 97-107.
27. 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.