

Gilyén Elemérné
OTKA Iroda igazgatója

Ikt. Sz.: KO-1083/2006.
Ügyintézőjük: Hornokné Szászi Erzsébet

Tisztelt Igazgató Úrnő, tisztelt Dr. Gilyén Elemérné

Ez úton megküldöm a KON zsúrihoz tartozó T/F 038117 számú „Genetikai kórképek hazai roma populációban” című kutatás 2002.-2005. közötti összesített beszámolót, köszönve az elnyert anyagi támogatást.

Szeged, 2006. 02. 11.

Tisztelettel:

Prof. Dr. László Aranka PhD, DSc
egyetemi tanár, professzor
emeritus

T/F 038117 számú „Genetikai kórképek hazai roma populációban” című kutatás 2002-2005 közötti beszámoló

1. Biotinidase defektusos újszülöttek szűrése a betegek molekuláris genetikai analysise magyar kaukazoid és roma populációban.

A magyarországi újszülöttkori biotinidáz tömegszűrés első tapasztalatait Havass 1991-ben közölte, 43.493 szűrt újszülött közül a biotinidase defektus 1: 21746 gyakoriságúnak adódott. 1990- és 1999 között 492.450 leszűrt újszülött közül a gyakoriság 1:554.716-nak bizonyult. Öröklődés: A biotinidáz hiány (McKusick 253620) autosomalis recessiv öröklődési kórkép, a biotin anyagcsere zavara Wolf és mtsai (1983).

A humán biotinidase cDNA-t izolálták, sequenálták (Cole és mtsai 1994) és a gén genomikus szerveződését meghatározták (Knight és mtsai 1998).

Eredmények: Hazai vizsgálatok: 58 családban vizsgáltunk a specifikus biotinidáz enzimaktivitást a kiszűrt enzimhiányos családokban, Wolf és mtsai. (1983) módszerével, fél Magyarországi újszülöttpopulációban, kiemelve a hazai roma populáció érintettségét.

A biotinidáz aktivitás homozygoták esetében 0, valamint 10.6 % között változott, az egészséges kontrollcsoportéhoz hasonlítva. 1 esetben 20.8 % volt a kimutatott biotinidáz aktivitás, amely részleges hiányállapotnak felelt meg. Az obligatorikus heterozygota szülőknél az enzimaktivitás 26.6 –90 % között változott, 1 anya kivételével, akinél a biotinidáz enzimaktivitás 7.37 % volt. Később családvizsgálatok kapcsán részletezzük az említett anya idegrendszeri manifesztációját, tüneteit.

Molekuláris genetikai mutációs vizsgálatok polymerase lánreakció/SSCP analysisselel történtek.

A betegek 60 %-a roma populációhoz tartozik. Öt családban fordult elő az 1595C>T (T532M) mutáció, amely founder (alapító)mutációnak felel meg, utóbbi eredeti megállapítás,

általánosítás roma populatióra. További 1 biotinidáz defektusos betegnél a 15 95C-T /Q456H és egy másiknál kettős heterozygotaság volt kimutatható, így 511G>A és 1330G>C (A171CT/D444H). Egy másik beteg részleges enzimhiánnyal heterozygota genotípusú volt 1595C>T (T532M) és heterozygota 13300 GyC (D444H) pontmutációra. Egy beteg biotinidáz enzimaktivitása nulla volt, aki homozygota mutánsnak bizonyult 1568CyT (T532M)-re.

Publikáció:

Neonatal screening for biotinidase deficiency in Hungary: Clinical, biochemical and molecular studies

A. László, Á. Schuler, É. Sallay, E. Endreffy, Cs. Somogyi, Á. Várkonyi, Z. Havass, K. P. Jansen, B. Wolf.

J. Inherit. Metab. Dis. 26 (2003) 693-698.

2. A galaktokináz (GALK1) gén P28T mutáció incidenciája galactokinase hiányos roma betegekben Európában.

A galaktokinase defektus már az első élethetekben katarakta képződéshez vezethet, világviszonylatban ritka kórkép, ua. roma populatióban magas incidenciájú. 1999-ben Kalaydjieva LV. közölte a P28T founder mutáció előfordulását bulgáriai roma családokban. Ezen mutációs vizsgálatot különböző európai országokban egészítette ki munkacsoportunk nemzetközi tanulmány keretében. Összesen 803 nem rokon roma érintett beteget vizsgáltunk Bulgáriában, Magyarországon és Spanyolországban, az össz. génhordozó ráta 1:47-nek adódott, születési gyakoriság 1:10.000. Haplotípus analysisist használva a P28T mutáció előfordulási kora számítások szerint 750 év-re tehető, a proto- Roma kórtól számos európai roma populatióban. Ezen leleteink azt sugallják, hogy a mutáció a szétszóródott európai korai roma diaspórából ered. A roma migratio Nyugat-Európa felé irányult főként az utóbbi évtizedekben, a keleti ekonómiai európai gazdasági változások és háborúk következtében. Munkacsoportunk által detektált: P28T mutáció founder mutációnak minősíthető a GALK1 génben.

A preventív szűrés galaktokináz defektus infantilis katarakta preventioját szolgálja roma populatióban.

Publikáció:

The P28T Mutation in the GALK1 Gene Accounts for Galactokinase Deficiency in Roma (Gypsy) Patients across Europe

Michael Hunter, Evelyne Heyer, Frederic Austerlitz...Aranka László...Luba v. Kalaydjieva

Pediatr. Res. 51: 602-606, 2002.

3. Kaukazoid és roma populatióban kutattuk a **cystás fibrosis** (mucoviscidosis) előfordulását **populatiogenetikai célzattal** (l.: Endreffy E., László A. és mtsai.) (2001-2004.). Megadtuk az előforduló mutációs típusokat, Tiszalök, Tiszadada, Tiszanánás községek roma populációjában, összehasonlítva a dunántúli roma népességgel.

A CFTR gén Delta F508 mutációs gyakoriságát roma populációban 3 különböző magyarországi földrajzi régióban vizsgáltuk, ezen főmutáció gipsy populációs gyakorisága 43 % volt, 0,144 homozygota index-szel. 531 európai magyar CF betegben ezen mutációs gyakoriság 50 % volt 0,127 homozygozytási index-szel.

Gipsy CF betegekben 52 %-ban ismeretlen volta a mutáció, de a vizsgált G542X, G551D, R553X és N1303K mutációk közül egy sem fordult elő roma betegekben, amelyek megjelentek a hazai kaukazoid populációban.

DHPLC-vel mutáció keresés eddig a CF-gén 7 exonjában roma és nem roma populációban, kiértékelés folyamatban van.

Munkatársak: Dr. Endreffy Emőke tudományos tanácsadó, Dr. Maróti Zoltán PhD SZTE Gyermekklinika Szeged.

Az anyag kiértékelése és angol cikk összeállítása 2006-ban tervezett.

4. Populációgenetikai vizsgálatok hazai kaukazoid, valamint roma populációban Y chromosoma és autosomalis mutációk.

(SZTE Igazságügyi Orvosi Intézet Dr. Csete Klára adj. SZTE Gyermekklinika Prof. Dr. László A.)

Vizsgált populációk és módszer: Szomatikus rendszereknél a vizsgált DNS szakaszok felsokszorozása PCR módszerrel, Profiler Plus kittel (Applied Biosystems), míg az Y-STR rendszereknél (short-tandem repeat) genRES DYSplex-1 és genRES DYSplex2 kittekelt történt.

A phenotypizálást kapilláris gélektrophoresissel (ABI 310 Genetic Analyser, Applied Biosystems) végeztük.

Vizsgált autosomalis markerek: D3S1358, VWA, FGA (n=9); vizsgált Y chromosoma markerek: DYS19, DYS389 I, DYS389 II, DYS390 stb. (n=8).

Statisztikai analysis: kiszámítottuk a populációk jellemzésére (hazai kaukazoid n=201 és roma populáció n=196). Az egyes markerek allélgyakoriságát, a diszkriminációs indexet kizárási hatékonyságot és a polymorphismusra jellemző értékeket (PIC). Számítás: power stats, W12 XLS, valamint Amova teszt, Arlekin software prog. stb.

Eredmények: Roma népességből származó 196 DNS mintából: a VWA rendszerben a 13. allél szignifikánsan nagyobb adódott roma népességben (0,013) mint a szegediben (0,001). A 15 és 20. allélok alacsonyabb előfordulási gyakorisága románknál volt detektálható, hasonlóan a szegedi kaukazoidhoz. Az FGA rendszerben csak roma populációban volt kimutatható a 15,24.2, míg csak szegedi populációban 16, 22.2, 23.2 és 27-es.

Az Y chromosomán lokalizálódó STR csoportok vizsgálatkor szignifikáns különbségeket találtunk a populációk páronkénti összehasonlítása alapján. Az FST értékek alapján megállapítható, hogy a magyarországi két különböző területén élő roma populáció távolabb él egymástól, izolált életmódjuk szerint, ugyanígy a budapesti roma populáció, viszont a roma indiai népesség adataival genetikailag közelebbi kapcsoltságot mutatnak.

Munkatárs: Dr. Csete Klára adjunktus, PhD, SZTE Igazságügyi Orvostani Intézet.

A tudományos kiértékelés és angol közlés összeállítása 2006 végére tervezett.

5. A. László, M. Rózsa, Gy. Ugocsay, P. Ugocsay, K. Csete, J. Béres: Populációs screening releváns pontmutációkra és polymorphismusokra magyar kaukazoid populációban és kisebbségben (roma) koronária sclerosis kockázati tényezőjeként.

A myocardialis infarktust (MI) komplex genetikai és környezeti faktorok határozzák meg. Ismert, hogy családi halmozódás előfordul, ikervizsgálatok alapján (Marian AJ, Curr. Opin. Cardiol 1998,13, 171-178.).

Molekuláris genetikai vizsgálatokat végeztünk 295-297 orvostanhallgató és 195 roma populációban (Tiszalök, Tizsanánás, Tizadada községekből).

Vizsgált pontmutációk ill. polymorphismusok: Light Cyclerrel az olvadáspontok alapján, specifikus módszerekkel, 5-10 MTHFR (methylen-tetrahydrofolat-reduktáz) C677T polymorphismus, a homozygota TT genotypus kockázati tényezőnek bizonyult. Angiotensin konvertáló gén (ACE) insertios -deletios polymorphismus (I/D) a 16. intron 287 bázispár polymorphismusa asszociáltnak bizonyult myocardialis infarktussal. Plasminogen activator inhibitor (PAI 4/5) polymorphismus detektálása megtörtént, részben módosított irodalmilag

ismert módszerekkel (Taniguci et al. Japan S.J. 2001, 65/10, Toyofyuku et al. Atherosclerosis 2002, 160/2, 339-44.).

Eredmények: A magyar roma kisebbségben a PAI-4 allél szignifikánsan gyakoribb volt (0,65 vs. 0,55 $p < 0,01$), míg a PAI 5 (0,35 vs. 0,45 $p < 0,05$) és az MTHFR C667T mutáció (0,25 vs. 0,33 $p < 0,05$) szignifikánsan csökkent, hasonlóan a magyar kaukázoid orvostanhallgató csoporthoz. Prothrombin +/- homozygota genotípus egyaránt hiányzott mind a két vizsgálati csoportból, csupán a +/- heterozygota genotípus volt, szignifikánsan gyakoribb előfordulása a kaukázoid populációban (0,04 vs. 0,05 $p < 0,05$).

Az angiotensinogen M235T T-pozitív allél szignifikánsan gyakoribb volt a roma populációban (0,56 vs. 0,48, $p < 0,05$), míg az M235T - allél szignifikánsan csökkent (0,044 vs. 0,52 $p < 0,05$) a roma populációban. Az ACE I/I, I/D és D/D genotípusok nem tértek el szignifikánsan a két populációban (I allélfrekvencia 0,44 vs. 0,42 D allél 0,56 vs. 0,58, $p < 0,001$).

Az angol elkészített dolgozat teljes anyagát mellékeljük.

1 hónapon belül közlésre beterjesztjük a Clinical Geneticsbe.

Gene polymorphisms and mutations for cardiovascular affection in Hungarian Caucasoid and in the ethnic Romany minority population

A. László, M. Rózsa, P. Ugocsai, J. Béres, Gy. Ugocsai

Introduction

Romanies belong to Indo-European race. The ethnography and anthropology locate their original home to Central Northern India. The highest concentration of Romanies in Europe is in the Balkan and Carpathian regions and they are the second most numerous minority in the Slovak Republic. The inner structure of Romanies shows clear marks former ancestry creation, which they brought from India. Their natural increase of population is 21-33 per mile, but their reproductive health is worse than in majority of Slovak population (**Ginter** 2001). Among Romany children there is generally a higher prevalence of infectious diseases, injuries, poisoning and burns caused by environmental hazards, to which they are often exposed. Total premature mortality in the Romanies are probably three times higher than in the total Slovak population. The main causality of a bad health status consists in long-term bad economical situation, low educational level and incorrect lifestyle of the Romany minority.

According to the data of **Kauerova** et al. (1983) over 200,00 gypsies live in Czechoslovakia, or about 4% of the population of the Slovak Socialist Republic. The gypsy population grew by 25.5% from 1971-1981, while the total population grew by 10%. The sex ratio of 1033 men to 1000 women is a distinct characteristic of the gypsy population. The proportion of gypsy children ages 0-14 is also very high, about 43.4% of the total gypsy population. The male average age is 10.1; the female average age is 11.3. In 1980, the proportion of gypsies with basic educational attainment reached 81.9%, while in 1970 it was less than a third of those over 15. Their employment grew by 9.8% from 1970-1980; women's employment, and especially married women's employment, also increased. In occupations, 83.4% of gypsies are manual workers, 6.8% are employers, 8.8 belong to production cooperatives, and 1% are in other occupations. Of the 47,117 gypsy households in the Slovak Socialist Republic, 44% have more than 5 members, and 11.6% have more than 8 members.

According to **Kosa** et al's data (2002) the status and problems of the roma (gipsy) population have been in the forefront in Hungary and have called for numerous benevolent interventions. Successful planning and implementation of programs aimed at the improvement of their health status must be based on solid facts regarding their problems and the causes behind. The authors give a literature review on research papers discussing the health (disease) status of the Hungarian roma population published between 1980 and 2001. They give a summary on the demography of gypsies, an overview of publications on pregnancy, delivery and infant mortality, on adult morbidity and mortality, on genetic investigations among roma people, as well as on their health behaviour and relations with the health care system, and finally, they give a brief overview of their socio-economic status. The authors sum up the major difficulties of research aimed at roma people, express their concern regarding health research papers published on gypsies; and outline their recommendation on the future direction of research on the health of the roma population.

Hyperinsulinemia and other associated metabolic factors, including hyperglycemia, dyslipidemia, hypertension, and central obesity lead to increased cardiovascular risk and indicate a metabolic syndrome. Levels of fasting insulin were measured in an ethnic Gipsy minority group (n=149) and compared to the majority Slovak population (n=197). The average insulin level was significantly increased in the minority group with a 21% risk value vs 5%. Hyperglycemia was equal in both groups (17% in Gipsy group, 16% in majority group). The results of hyperinsulinemia, hypertriacylglycerolemia, hypo-HDL-cholesterolemia, hypertension and obesity indicate, that the Gipsy population is at higher risk for cardiovascular disease. (**Krajcovicova-Kudlackova** et al. 2002.)

Homocysteine has a pro-oxidative activity. This amino acid, a lipid-independent vascular disease risk factor, might cause atherosclerosis by damaging the endothelium either directly or by altering the oxidative status. Levels of plasma homocysteine and vitamin C concentrations were determined in the adult majority population of Southern Slovakia (n=146) and in the ethnic Romany minority (n=119) in this region. Average homocysteine and vitamin C values in Romanies are similar to those in the majority group (non-significantly changed) with an equal finding of hyperhomocysteinemia. (**Krajcovicova-Kudlackova** et al. 2002)

Navarro et al. (2003) published that the Roma (Gypsies) are a transnational minority with an estimated population of 10 to 14 million, 8 of which reside in Europe, scattered between the Balkans and Western countries. Similar to other genetically isolated founder populations, the Roma harbour a number of unique or rare autosomal recessive disorders, caused by "private" founder mutations. These genetically homogeneous populations are a unique resource for research into disease phenotypes, genotype/phenotype correlations and possible factors modifying clinical severity. Regarding neuromuscular diseases, the following have been identified: limb girdle muscular dystrophy type 2C also called gamma-sarcoglycanopathy, congenital myasthenic syndrome type 1a, spinal muscular atrophy, and three novel hereditary sensorimotor neuropathies, namely -Lom, -Russe and the congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome. In 1996, a novel demyelinating neuropathy in the Roma was described and the gene was mapped in 8q24. Almost simultaneously, a founder mutation in the gamma-sarcoglycan gene in a group of 24 Romani patients from France, Spain and Italy was discovered by a different group of researchers.

Our working group

Linkage analysis of markers in the 18qter region, where **Merlini et al. (2002)** previously had located the CCFDN gene, produced a lod score of 3.55, demonstrating colocalization of the gene responsible for MSS with demyelinating neuropathy and myoglobinuria with the CCFDN gene. Moreover, the patients with Marinesco-Sjogren syndrome (MSS) shared the conserved marker haplotype found in CCFDN chromosomes. These data suggest that Marinesco-Sjogren syndrome with peripheral neuropathy and myoglobinuria, and congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome are genetically identical and are caused by a single founder mutation.

Some ethnic groups are thought to have greater resistance to disease. However, scientific studies of this phenomenon are lacking in Spanish environment. The gypsy group represented 6.51 % of the infant population but accounted for 18.75 % of infant admissions ($p < 0.05$). The gypsy group accounted for 54.83 % of readmissions compared with 20.80 % in the non-gypsy group ($p < 0.001$). Respiratory disease was more prevalent in the gypsy group (35.48 %) than in the non-gypsy group (22.58 %) ($p < 0.05$). However, digestive problems were more frequent in the non-gypsy group (34.73 %) than in the gypsy group (19.35 %) ($p < 0.05$). No statistically significant differences were found in other diagnostic groups. Differences in the prevalence of respiratory disease were probably due to overcrowding. Gypsy lifestyle in Spanish population does not confer greater disease resistance (**Diez Lopez et al. (2002)**).

Demand for emergency services is increasing, especially among children from non-Caucasian ethnic groups **Sanchez Serrano et al. 2002**. Objectified this observation and to determine the healthcare and social differences between the gypsy and Caucasian Spanish populations. They performed a descriptive, observational study in the Pediatric Emergency Unit of a tertiary care hospital. The median age of the patients was 24 months. The percentage of patients of gypsy race was 16.4 %. Most of the gypsy population (68.1 %) attended small, local healthcare centers compared with 34.8 % of the Caucasian population. Only 58 % of the gypsy children were taken to healthcare centers for regular check-ups compared with 96.7 % of the non-gypsy population. The percentage of gypsy children who had never been vaccinated was 18.8 %. There were no such cases among the non-gypsy population. This study reveals significant differences between the gypsy and Caucasian pediatric populations in terms of healthcare and identifies a group at high health risk.

Vojarova de Courten et al. (2003) examined 156 Gypsies and 501 non-Gypsies who participated in a population survey. Compared with non-Gypsies, Gypsies had a much higher prevalence of T2DM, metabolic syndrome and cardiovascular disease, which may contribute to their higher mortality.

Methods

Investigated subjects were 151 university medical Hungarian Caucasoid students and 195-197 gypsy healthy persons. All gene polymorphisms were detected by light cycler methods (PAI-plasminogen activator inhibitor 4/4, 4/5, 5/5 genotypes, ACE=angiotensin converting enzyme, insertion/deletion I/D polymorphism, MTHFR=methylen tetrahydrofolate reductase, prothrombin, angiotensinogen=AGT -/-, +/- and ++ genotypes). The literary published methods were used for light-cycler.

Results: The different allele polymorphisms, allele frequencies are seen in table 1. the PAI-4 allele significantly increased (0.65 vs. 0.55 $p < 0.01$), while the PAI-5 (0.35 vs. 0.45 $p < 0.05$) and the MTHFR + allele (0.25 vs. 0.33 $p < 0.05$) significantly decreased in the Hungarian gypsy

population comparing to the Hungarian Caucasoid medical students' group, while the MTHFR – allele significantly increased (0.75 vs. 0.67 $p < 0.05$).

Prothrombin +/+ homozygous genotypes was absent in both of the investigated population, only the more frequent +/- heterozygous genotype differed significantly in the Caucasoid population (0.04 vs. 0.05.....???????)

The angiotensin + allele frequency significantly increased in the Gipsy population (0.56 vs. 0.48 $p < 0.05$, while the – allele significantly decreased (0.44 vs. 0.52 $p < 0.05$).

The ACE I/I I/D and D/D genotypes did not differ in the investigated two populations (I allele frequency 0.44 vs. 0.42, D 0.56 vs. 0.58 $p > 0.05$).

Summerizing there weren't found any atherogenic gene/allele affection in the gipsy population, comparing to the Caucasoid one.

References

Ginter E, Krajcovicova-Kudlackova M, Kacala O, Kovacic V, Valachovicova M.:

Health status of Romanies (Gypsies) in the Slovak Republic and in the neighbouring countries.

Bratisl Lek Listy. 2001;102(10):479-84.

Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Ginter E, Spustova V: Insulin levels in Gipsy minority.

Bratisl Lek Listy. 2002;103(12):459-61.

Krajcovicova-Kudlackova M, Ginter E, Blazicek P, Klvanova J.: Homocysteine and vitamin C.

Bratisl Lek Listy. 2002;103(4-5):171-3.

Kosa K, Lenart B, Adany R.: Health status of the roma population in Hungary

Orv Hetil. 2002 Oct 27;143(43):2419-26.

Navarro C, Teijeira S.: Neuromuscular disorders in the Gypsy ethnic group. A short review.

Acta Myol. 2003 May;22(1):11-4.

Diez Lopez I, Ardura Fernandez J, Palacin Minguez E, Cardaba Arranz M:

Influence of gypsy ethnicity on hospital admission and diagnostic group among infants

An Esp Pediatr. 2002 Sep;57(3):215-9.

Kauerova V.: Gipsy (Rome) population in Czechoslovakia.

Demosta. 1983;16(3-4):27-9.

Sanchez Serrano FJ, Zubiaur Cantalapiedra A, Herrero Galiana A, Gallart Martinez

MD, Jimenez Yanez R, Sanguino Lopez L, Flores Serrano J.: Ethnic difference in attendance at emergency departments. An approximation to the gypsy reality

An Esp Pediatr. 2002 Jan;56(1):17-22.

Vozarova de Courten B, de Courten M, Hanson RL, Zahorakova A, Egyenes HP,

Tataranni PA, Bennett PH, Vozar J: Higher prevalence of type 2 diabetes, metabolic

syndrome and cardiovascular diseases in gypsies than in non-gypsies in Slovakia. *Diabetes Res Clin Pract.* 2003 Nov;62(2):95-103.

DNA STR systems at Hungarian and in ethnic Romany samples as population genetic investigations

K. Csete, J. Béres, T. Varga, A. László

Introduction

The Romanies live in isolated communities with high inbreeding (the proportion of their first cousin marriages was about 2-20% in the 1980s compared with 0.3% figure in the Hungarian population). Analysing the genetic distances of North-Indians to 12 population of Hungary (Czeizel) in 15 systems (haptoglobin, subtypes of group specific component, immunoglobulin: Gm1,2,b and Km1, glutamate pyruvate transaminase, acid phosphatase, subtypes of phosphoglucomutase₁, adenylate kinase, adenosine deaminase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, third component of complement, subtypes of transferrin, esterase D, glyoxalase, amylase₂) relatively low genetic distance was found between the two Hungarian Romany population and the North-Indians. All other genetic distances were larger, supported the view that the Romanies originated in northern India. This resulted in a high homozygosity index and some population genetic characteristics (e.g., they have higher proportion of B and Rh positive blood groups and their particular HLA haplotypes explains that multiple sclerosis does not occur among Hungarian Romanies) (13-14). The Hungarian-German population genetic study showed an obvious difference in some genetic markers as ACP, PGM, 6-PGD, C3, GC between north-east and south-east Romanies (9). The result of our study confirms it. Though the proportion of the $\Delta F508$ mutation on 42 CF chromosomes was 43% in the total Romany sample and it was only slightly lower than the 50% figure of the European Hungarians, but it was 100% in south-west Romanies and 15% in the north-east Romanies. The number of subjects did not allow a good power, but the difference was significant.

Gypsies originated from North India and Pakistan (11). The high mutation rate for $\Delta F508$ mutation in the Hungarian Romanies indicates a strong contradiction with the very rare occurrence of CF and of this common European mutation in Asian populations (15). However, CF with $\Delta F508$ mutation was found in 53.8% of mutant chromosomes of Indian children (16). The difference in the occurrence of this mutation between the two geographical different Hungarian Romany samples can be explained by their different gene pools connected

with their previous and present location, genetic drift and their isolation from each other (9, 17).

The aim of this study was to examine the 5 DNA-STR systems (HumVWA, Hum THOI, HumF13B, HumFES/FPS, HUMFGA) and two Y markers (DYS19, DYS390) in Caucasian and Romanian population in Hungary.

The DNA was extracted from blood samples applied on a piece of linen and EDTA blood samples that originated from the Albert Szent-Györgyi Medical University of Blood Transfusion Station and the Department of Forensic Medicine's routine parentage tests. There were 489 unrelated adult individuals tested in the case of HumVWA and HumTHO1 systems, 465 in HumF13B system, 360 in HumFES/FPS and HumFGA systems, 308 in DYS19 and 268 in DYS390 systems.

The examination of distribution of genotypes in 5 somatic chromosomal STR systems and 2Y chromosomal STR systems in the population of Szeged and its environs;

The calculation of the allele frequency values of the individual STR systems;

HumVWA: The intron 40 of the von Willebrand Factor gene chromosome 12 in the 12p12-pter region. The fragment size about 150 bp long and TCT/TCTG bases are repeated (**Mercier et al. 1991, Kimpton et al. 1992.**)

Hum THOI: Intron 1 of Tyrosine hydroxylase gene is located on the 11p15-15.5 chromosome region, the fragment size is about 160 bp long in which 4 pairs of bases (AATG) are repeated (**Edwards et al. 1992.**)

HumF13B: It is the 3' prime end region of XIII b coagulation factor gene chromosome. It is about 200 bp long fragment inside which there are pairs of bases repeated. Its polymorphisms were first described by **Nishimura and Murray (1992).**

HumFES/FPS: It is intron 5 of c-fes/fps protooncogene gene located on the 15q25-qter chromosome region. It is about 250 bp long fragment in which 4 pairs of bases (ATTT) are repeated. It was first described by **Polymeropoulos et al. (1991 a).**

HUMFGA: It is intron 3 of the alpha fibrinogen gene. Its chromosomal localisation is 4q28. It is about a 280 bp long fragment with the repeat of TCTT (**Barber et al. 1996.**)

DYS19 is about 200 bp long section located on the short arm of the Y chromosome inside which 10-19 repeats of the CTAT/C sequences can be seen (**Roewer et al., 1992; Kayser et al. 1997.**)

DYS390 is about 220 bp long fragment located on the long arm of Y chromosome inside which 18-27 repeats of the CTG/AT sequences can be seen. (**Kayser et al.1997.**)

Methods

The DNA extraction from EDTA blood samples was carried out with the NaCl extraction method of **Miller et al. (1988).**

The DNA extraction from bloodstains was done with Chelex method described by **Walsh et al. (1991)**.

The estimation and quality of the DNA isolated from blood is done with agarose gel electrophoresis followed by ethidium-bromide staining. For the estimation of DNA concentration a 50, 100, 200, 400 and 600 ng/ul solution of the DNA originating from the K562 cell line (Promega, Madison) is added into adjacent lanes of the same gel. After the PCR reaction the detection of genotypes are visualized in native discontinuous buffer (Allen et al. 1989) by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) followed by silver nitrate staining (Budowle et al. 1991). The DNA samples can be typed by comparison with a sequenced allelic ladder constructed by known alleles from Department of Forensic Medicine Münster and standardised in our laboratory.

Discussion

The investigated 5 DNA STR and two Y markers were firstly investigated in Hungarian Caucasoid population by Csete (2001) in her PhD dissertation with title Molecular biologic tests and their parentage cases.

6. FACIOSCAPULOHUMERALIS DYSTROPHIA (FSHD) molekuláris genetikai diagnosztikája hazai kaukazoid és roma populációban. Dr. Karcagi V., Dr. Herczegfalvi Ágnes, Dr. László Aranka, Dr. Mayer Péter

Az FSHD molekuláris genetikai diagnosztikáját munkacsoportunkból Dr. Karcagi Veronika (OKI Biokémiai Osztály) teremtette meg, 2000. január óta. Az FSHD a 3. leggyakoribb izomdystrophia Duchenne DMP és dystrophia myotonica után. Öröklődésmenete autosomalis domináns, előfordulási gyakorisága 1:20.000. A betegség teljes penetranciájának kifejeződése kb. 20 éves korig várható. Obligatórikus heterozygóták teljesen tünetmentesek is lehetnek. Chromosomal lokalizációját 1990-ben végezték 4q35 kapcsoltsági analysissel két legdistalisabb helyzetű markerét, a D4F104SI-t (p13E-11 próba) és a D4Z4-et (3,3 Kb tandem repeatok) a 13E kozmidból izolálták (Wijmenga et al. 1992, Nature Genetics 2; 26-30). Az FSHD romákban való előfordulása, típusa specifikus, több mint 15 roma családban igazolódott AD öröklődésment, köztük egypetéjű ikerpárban.

SPINALIS MUSCULARIS ATROPHIA (SMA)gyakorisági és mutációs vizsgálata a fenti két hazai populációban.

A hazai Gyermeckorlási Társaság közreműködésével összesen 26 családból történt molekuláris genetikai diagnosztika, PCR/RFLP mol. genet. analysissel, valamint néhány kiemelt családból haplotypus analysisre is sor került, egy prenatalis diagnosztikus esetben (3,8 %).

Megállapítható, hogy a beküldő intézetek nem tüntetik fel a beteg újszülöttek kisebbségi voltát, így aluldiagnosztizált a hazai roma részesedés a beteganyagban.

Módszer: az SMA gén 7/8 deletioja.

2004-ben Dr. Herczegfalvi Ágnes (Bethesda Kórház) 60 SMA család vizsgálatát kérte, ebből 3 roma volt azonosítható. Kb. 8-10 % roma részesedésre lehet számítani, amennyiben a korrekt azonosítás megtörténik.

CONGENITÁLIS MYASTHENIA gyanúval 2004-ben összesen 17 családból kértek molekuláris genetikai analysist. Közülük 11 roma kisebbség volt azonosítható (=64,7%).

Módszer: az 1267 delG (=guanin deletiot) minden esetben kimutattuk, mely az acetyl-colin receptro alegységének founder mutatioja (Karcagi V. et al.).
A szegei CMS anyagban 3 családból 2 roma volt.

ad4.A szomatikus és az Y-kromoszómán lokalizálódó DNS-STR rendszerek vizsgálata cigány népességben

I.Bevezetés

A molekuláris biológia nagyarányú fejlődésének köszönhetően a DNS vizsgálatok a biológia és az orvostudomány minden területén elterjedtek, így az igazságügyi orvostanban is. Mérföldkövet a DNS „fingerprint” technika kifejlesztése jelentette, mely Jeffreys és mtsai (1985) nevéhez fűződik.

A felfedezést követően világszerte megkezdődött polgári peres ügyekben valamint büntetőügyekben a DNS vizsgálatoknak vércsoport-tulajdonságok melletti alkalmazása. Az igazságügyi orvosi alkalmazás alapja a humán genom mintegy 85% -t kitevő nem kódolt DNS szakaszok „tandem repeats” szekvenciáinak polimorfizmusa.

A „tandem repeats”szekvenciák egymásután, vagy blokkban, vagy pedig a DNS szakasz hosszában sorban helyezkednek el. Lehetnek a génen belüli ún. nem kódolt (intron), vagy génen kívül található szekvenciák.

Sűrűséggradiens-centrifugálással az ismétlődő egységek száma és az egységek hosszúsága alapján három típust különböztethetünk meg, így Satellita, Mini-satellita és Mikrosatellita DNS-t.

Napjainkban a mikrosatellita -hosszpolimorfizmusok alkalmazása terjedt el, és ezek közül is a 150-350 bp hosszúságú STR (Short tandem repeats) rendszerek melyeken belül 2-6 bp ismétlődése figyelhető meg. A „tandem repeats „szekvenciák számának különbözősége adja az egy adott STR markerhez tartozó alléleket.

Minden szomatikus kromoszómán található „Short tandem repeats”-ket tartalmazó régió. A szomatikus kromoszómák rekombinációja meglehetősen gyakori, így egy adott populációban a sokféleség viszonylag gyorsan kialakul. Ezért, az egymáshoz viszonylag közel álló populációk közötti kapcsolat vizsgálatára a szomatikus markerek nem alkalmasak. Ha azonban az adott populációban megtalálható egy különleges allél, az jellemző lehet az adott népcsoportra.

A nemi kromoszómákon lokalizálódó öröklődő tulajdonságok közül mind populációgenetikai, mind igazságügyi orvosi szempontból az Y-kromoszóma DNS-STR tulajdonságai bírnak jelentőséggel.

Az Y kromoszóma az egyik legkisebb humán kromoszóma, mindössze 60 millió bázispárból áll. Az X-Y párosodás során a kromoszómák közötti génkicsrélődés egy egészen kis régióra az ún. pszeudoautoszómális (PAR) régióra. Meiosis során rekombináció csak ezen régiókban, azaz a rövid kar disztális részén (PAR1), valamint a hosszú kar végén (PAR2) következik be. Az Y kromoszóma szinte teljes hosszában haploid, apáról fiúra öröklődik. Az Y-STR rendszerek alkalmasak populációk közötti genetikai távolság kiszámítására, melyből az egyes népcsoportok közötti rokonsági kapcsolatokra következtethetünk.

A szomatikus kromoszómák mellett a nemi kromoszómákon lokalizálódó öröklődő tulajdonságokból - az Y-kromoszóma DNS-STR tulajdonságai, melyek különös jelentőséggel bírnak - hazai vonatkozásban is igen kis számú populációs adat áll rendelkezésre.

Az Y-lokusz vizsgálatokkal férfiak esetén egyrészt lehetővé válik a biztosabb személyazonosítás, illetve inkomplett családoknál (elhalt vagy ismeretlen helyen tartózkodó apa esetén) a származás bizonyítása, másrészt az allélgyakorisági értékek és az ismert mutációs frekvenciák (0,2-0,6 %) alapján adott a lehetőség a migrációs adatok genetikai szempontból történő vizsgálatára és a populációk közötti genetikai távolság kiszámítására. A genetikai távolság számításával az allélgyakorisági értékek ismeretében az egyes népcsoportok közötti genetikai rokonsági kapcsolatokra következtethetünk.

II. Anyag és Módszer

Észak-Kelet Magyarországon, Tiszalök-Tiszadada-Tiszadob térségben élő cigány populációból származó 196 DNS minta került feldolgozásra.

Szomatikus rendszereknél a vizsgált DNS szakaszok felsokszorosítása (PCR módszer) Profiler Plus kittel (Applied Biosystems), míg az Y-STR rendszereknél genRES DYSpIex-1 és genRES DYSpIex-2 kettekkel (Serac) történt.

A fenotipizálást kapilláris-gélelektroforézissel (ABI 310 Genetic Analyser, Applied Biosystems) végeztük.

Vizsgált autoszómális markerek

Rendszer	Kromoszómális lokalizáció	Allélek mérete/bp/
D3S1358	3p21	97-145
VWA	12p12pter	152-212
FGA	4q28	196-352
D8S1179	8q24.1-24.2	203-251
D21S11	21p11.1	186-244
D18S51	18q21.3	264-344
D5S818	5q21-q31	134-170
D7S820	7q	253-293
D13S317	13q22-q31	193-273

Vizsgált Y kromoszóma markerek

Rendszer	Allélek mérete/bp/
DYS19	174-210
DYS389/I	235-267

DYS389/II	351-391
DYS390	187-231
DYS391	271-299
DYS392	233-263
DYS393	108-140
DYS385	352-416

Statisztikai analízis

Az eredményekből a populációk általános jellemzésére kiszámoltuk az allélgyakorisági értékeket, diszkriminációs indexet, kizárási hatékonyságot, és a polimorfizmusra jellemző értéket (PIC). A számításhoz a PowerStats programot (www.promega.com/geneticidtools/powerstats) alkalmaztuk.

A populációk izoláltságának mértékére, egymástól való elkülönültségük mértékének meghatározására AMOVA tesztet végeztünk ARLEQUIN Software 2.000 program segítségével /Stefan Schneider, David Roessli and Laurent Excoffier (2000) Arlequin ver.2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland/. Kiszámítottuk az Fst értékeket és a szignifikancia meghatározásához szükséges P-értékeket /Excoffier/ haplotípus adatok bevitelével.

III.Eredmények

A cigány népességből származó 196 DNS minta 9 szomatikus STR rendszer vizsgálata során kapott eredményeket, valamint Szeged és környéke populáció allélgyakorisági értékeit Az 1/a-1/b táblázatban tüntettem fel

1/a táblázat

ALLEL	HumVWA	HumVWA	HumFGA	HumFGA
	Szeged N=201	Roma N=196 N=201	Szeged	Roma N=196
13	0,001	0,013	-	
14	0,119	0,161	-	
15	0,107	0,055	-	0,003
16	0,182	0,234	0,0015	
17	0,264	0,339	-	
18	0,206	0,112	0,015	0,01
19	0,090	0,078	0,069	0,089
20	0,015	0,008	0,153	0,112
21	0,001		0,192	0,164
21.2		0,004	0,082	

22		0,198	0,12	
22.2		0,004	-	
23		0,133	0,174	
23.2		0,006	-	
24		0,131	0,297	
24.2		-	0,03	
25		0,072	0,068	
26		0,018	0,021	
26.2		-	0,01	
27		0,004	-	
OH	0,826	0,852	0,896	0,856
EH	0,813	0,844	0,87	0,844
PD	0,931	0,915	0,963	0,947
PE	0,648	0,683	0,786	0,683
PIC	0,78	0,75	0,85	0,81

A VWA rendszerben a 13-as allél szignifikánsan magasabb a cigány népességben (0,013), mint a szegediben (0,001). A 15-ös és 20-as allélnak alacsonyabb az előfordulási gyakorisága a cigányoknál, mint a szegedi populációban.

Az FGA rendszerben találhatóak voltak olyan allélek, amelyek csak a szegedi illetve csak a cigány populációban voltak megtalálhatóak. Így a cigány népességben a 15-ös, 24.2-es, 26.2-es, a szegedi népességben a 16-os, 22.2-es, 23.2-es és a 27-es.

1/b táblázat

ALLÉL	D3S1358 Szeged N=201	D3S1358 Szeged Roma N=196	D8S1179 Roma N=201	D8S1179 N=196
8		0,011	0,021	
9		0,011	0,005	
10		0,101	0,044	
11		0,085	0,109	
12		0,161	0,065	
13	0,003	-	0,307	0,336
14	0,108	0,039	0,180	0,266
15	0,228	0,263	0,114	0,135
16	0,228	0,268	0,026	0,018
17	0,235	0,229	0,005	
18	0,188	0,195		
19	0,011	0,005		
OH	0,826	0,826	0,896	0,782
EH	0,797	0,807	0,820	0,755
PD	0,917	0,899	0,930	0,916
PE	0,648	0,613	0,736	0,519
PIC	0,760	0,73	0,790	0,750

A D3S1358 rendszerben végzett tipizálásnál 13-as allélt csak a szegedi népességben találtunk.

A 14-es allél alacsonyabb (0,039), mint a szegedi mintában (0,108). A 19-es allélnek is alacsonyabb az előfordulási gyakorisága a Roma populációban (0,005), mint a szegediben (0,011).

A D8S1179 rendszerben a 17-es allél csak a szegedi mintában volt megtalálható.

A 9-es és 12-es allél magasabb gyakorisági értékkel fordult elő a szegedi mintában, mint a romákban. /Szeged: 9-es allél 0,011; 12-es allél: 0,161, roma minta 9-es allél 0,005; 12-es allél 0,065)

1/c táblázat

ALLÉL	D7S820 Szeged N=201	D7S820 roma N=196
6	0,005	0,100
7	0,019	0,013
8	0,146	0,158
9	0,106	0,110
10	0,283	0,190
11	0,262	0,279
12	0,148	0,100
13	0,032	0,048
OH	0,841	0,841
EH	0,804	0,798
PD	0,942	0,921
PE	0,607	0,677
PIC	0,800	0,770

A 6-os allél előfordulási gyakorisága kiugróan magas a cigány népességben (0,100), míg a szegedi populációban (0,005)

1/d táblázat

ALLÉL	D21S11 Szeged N=201	D21S11 cigány N=196	D18S51 Szeged N=201	D18S51 Cigány N=196
10		0,003		
11		0,008	0,003	
12		0,130	0,102	
13		0,110	0,083	
14		0,150	0,174	
14.2		0,003	-	
15		0,172	0,096	
16		0,130	0,237	
17		0,140	0,180	
18		0,045	0,039	

19		0,048	0,013
20		0,024	0,031
21		0,021	0,039
22		0,008	
23		0,003	0,003
24		0,005	
25	0,003	-	
25.2		-	

ALLÉL	D21S11	D21S11	D18S51	D18S51
	Szeged	cigány	Szeged	Cigány
	N=201	N=196	N=201	N=196

26		-		
26.2		0,016		
27	0,024	0,172		
28	0,164	0,271		
28.2	0,003	-		
29	0,230	0,003		
29.2	0,007	0,049		
30	0,185	0,211		
30.2	0,048	0,018		
31	0,087	0,042		
31.2	0,085	0,03		
32	0,011	0,13		
32.2	0,114	0,076		
33.2	0,040	0,01		
34.2	0,050	0,007		
36	0,003	-		
OH	0,826	0,816	0,841	0,781
EH	0,857	0,792	0,878	0,760
PD	0,961	0,930	0,967	0,959
PE	0,648	0,584	0,677	0,528
PIC	0,840	0,800	0,860	0,830

A D21S11 rendszerben végzett tipizálás azt mutatja, hogy vannak allélek, amelyek csak a szegedi populációban fordulnak elő, így 25; 28.2; 36. . A 26.2-es allél csak a cigány mintában volt. A cigány néességben nagyon alacsony valószínűséggel előforduló allélek :29 (0,003) /Szeged: 0,230/, 34.2 (0,007) /Szeged 0,050/. A 29.2-es allél viszont a cigány mintában gyakoribb (0,049), mint a szegediben (0,007). Ugyanígy a 32-es allél, mely a cigány mintában 0,13, míg a szegediben 0,011. A D18S51 rendszerben vannak olyan allélek, melyek csak a szegedi mintában találhatók meg így: 10; 14.2;22; 24.

ALLEL	D5S818		D13S317	
	Szeged N=201	roma N=196	Szeged N=201	roma N=196
8		0,151	0,199	
9	0,087	0,062	0,087	0,082
10	0,050	0,049	0,042	0,065
11	0,315	0,212	0,347	0,240
12	0,386	0,555	0,222	0,342
13	0,140	0,123	0,103	0,062
14	0,021	0,007	0,048	0,007
OH	0,756	0,713	0,821	0,821
EH	0,722	0,699	0,785	0,785
PD	0,857	0,869	0,921	0,931
PE	0,520	0,426	0,638	0,571
PIC	0,680	0,650	0,760	0,780

OH: várható heterozigócia; EH: észlelt heterocigócia;
 PD: diszkriminációs index; PE: kizárási hatékonyság;
 PIC: polymorphic informed content

A D5S818 rendszerben a 12-es allélnak nagyobb az előfordulási gyakorisága (0,555), mint a szegedi mintában (0,386).

Az Y kromoszóma markerei nem függetlenül öröklődnek, ezért itt a haplotípus adatokat érdemes figyelembe venni /2.táblázat/.

2.táblázat

Hapl	DYS19	DYS385	DYS389	DYS389/ DYS390			DYS39	DYS39	DYS39	Obs
	/I	I	1	2	3					
1	17	10/14	13	30	25	10	11	13	2	
2	14	15/16	14	30	25	10	11	13	1	
3	16	15/15	13	32	24	11	11	13	1	
4	13	14/16	13	30	24	10	11	13	1	
5	14	12/12	12	28	22	10	11	13	1	
6	15	11/14	13	31	24	11	11	13	3	
7	16	14/15	13	31	24	11	11	13	1	
8	16	14/15	13	31	25	11	11	14	1	
9	16	12/13	13	31	25	11	11	14	1	
10	14	14/14	12	28	22	10	11	13	4	
11	16	13/15	13	31	22	10	11	13	2	
12	14	13/13	12	28	22	10	11	14	1	
13	13	16/16	13	31	24	10	11	14	1	
14	14	11/13	14	29	24	11	14	12	1	
15	13	16/18	13	31	24	10	11	13	6	
16	16	10/14	13	30	25	10	11	13	2	
17	16	13/15	13	31	22	10	11	12	3	
18	16	15/17	14	30	22	10	11	12	1	
19	15	16/16	14	30	22	10	11	12	1	

20	15	11/15	13	31	25	11	11	13	1
21	16	13/15	13	29	23	10	11	13	1
22	13	16/18	13	31	24	11	10	13	1
23	15	15/17	14	30	22	11	10	12	2
24	15	16/16	14	30	22	10	10	12	1
25	16	13/15	13	30	22	11	10	12	1
26	16	11/14	13	30	25	11	10	12	1
27	15	16/16	14	30	22	11	10	12	1
28	16	11/15	13	29	24	11	10	13	1
29	16	12/14	13	30	25	11	1	13	1
30	15	11/14	12	29	25	11	10	13	1
31	15	15/17	14	30	22	10	11	13	1
32	13	16/18	13	31	24	10	11	12	1
33	15	14/17	13	30	23	11	11	11	1
34	14	13/15	12	28	22	10	11	13	1
35	14	15/17	13	29	25	10	11	13	1
36	14	13/16	14	31	23	10	11	13	1
37	14	13/14	12	28	23	10	11	13	1
38	15	11/14	13	31	24	11	10	13	1
39	15	13/15	13	31	22	10	10	12	1
40	15	15/16	14	30	22	10	11	12	2
41	16	13/15	13	30	22	10	11	12	1
42	14	15/16	14	30	24	10	11	13	1
43	15	11/14	13	31	25	11	11	13	1
44	16	13/15	13	32	22	10	11	12	1
45	14	11/16	14	31	24	10	13	13	5

Hapl DYS19 DYS385 DYS389 DYS389/ DYS390 DYS39 DYS39 DYS39 Obs

		/I	I		1	2	3		
46	15	11/14	13	31	25	11	10	13	1
47	16	14/19	14	31	22	10	11	13	1
48	16	14/15	12	30	24	10	11	13	1

A cigány populációból származó 196 minta közül 71 volt férfi. A 71 mintából 48 haplotípust kaptunk a 8 Y-STR rendszerre. A populáción belüli variancia nem nagy, hisz van olyan haplotípus, amelyik 4,5,6 szoros előfordulást mutat.

Az Y-STR rendszerekre vonatkozó Fst értékeket a haplotípusok felhasználásával számítottuk ki az általunk végzett vizsgálatok eredményéből. A populációk közötti Fst értékek eredményeit a 3.táblázat tartalmazza.

3.táblázat

ékelet-m-i	indiai	baranyai roma
roma	(N=150)	(N=78)

indiai	0,35		
baranyai roma (N=78)	0,041	0,065	-----
magyar (Szeged)(N=100)	0,0007	0,032	0,005

Az Y kromoszómán lokalizálódó STR csoportok vizsgálatakor szignifikáns különbségeket találtunk, így elvégezhető volt a populációk páronkénti vizsgálata.

Az Fst értékek alapján az mondható, hogy

- nincs szignifikáns különbség az északkelet-magyarországi roma populáció és a Szeged környéki népesség között,
- a baranyai roma népesség genetikailag közelebb áll az indiai népességhez, mint az északkelet magyarországi,
- a magyar és a baranyai roma populáció egymástól való nagyobb genetikai távolság a két populáció izoláltságával magyarázható,
- az északkelet-magyarországi roma népesség és a magyar populáció közötti nem nagy különbség lehetséges oka a két populáció keveredése.

7. Új témaként a paraoxonase 1 gén polimorfizmus megoszlásának vizsgálatát tűztük ki célul, magyar és roma populációban.

Munkatársak: Dr. Maróti Zoltán, Dr. Endreffy Emőke, Dr. László Aranka

Az elkészült dolgozat magyar nyelvű példányát egészében mellékeljük.

PARAOXONASE 1 GÉN POLIMORFIZMUS VIZSGÁLATOK MAGYAR ÉS ROMA POPULÁCIÓKBAN

Maróti Zoltán

Gyermekgyógyászati Klinika, Szeged

BEVEZETÉS

A paraoxon szerves foszfortartalmú anti-kolinészteráz hatású vegyület, amelyet a glaukóma kezelésére helyileg alkalmaznak. Emlősökben a paraoxon az inszekticidekben előforduló parathion bioaktivációja (a mikroszómákban való oxidációja) során keletkezik. A paraoxonase (PON) egy specifikus arilészteráz, amely elsősorban a paraoxon hidrolizálását végzi. A folyamat során p-nitrofenol keletkezik. A PON emellett különböző mértéken az egyéb, hasonló molekuláris szerkezetű toxikus oxon vegyületeket is képes hidrolizálni, amelyek az inszekticidekben található szerves foszfor tartalmú vegyületek (parathion, chloropyrifos, diazion) bioaktivációjával keletkeznek. A PON enzim klinikai érdekességét emeli ki azon tulajdonsága, hogy képes a sarin és soman ideggázok lebontására is [1]. A szérumban a paraoxonase a nagy sűrűségű lipoprotein (HDL) egy frakciójához kötődve elősegíti az oxidált lipidek hidrolízisét, ezáltal véd a kis sűrűségű lipoproteinok (LDL) oxidációja ellen. Knock-out PON1 egér vizsgálatok [2] során kimutatták hogy ezen egerek nagyon érzékenyen reagáltak a különböző organikus foszfor vegyületek toxikus hatására, ill. a belőlük szeparált LDL és HDL frakció szövet tenyészetben sokkal érzékenyebb volt az oxidációra. A magas zsír, magas koleszterin diétán nevelt PON1 knock-out egerekben nagyobb gyakorisággal alakult ki az atherosclerosis mint a kontroll egerekben [2].

A PON enzimcsaládnak több tagja ismeretes emberben PON1, PON2, és PON3 fehérjéket kódoló gének ismertek. Géntérképezéssel mind a három izoformát a 7q21-22 szakaszra lokalizálták [3-4]. A különböző izoformák expressziós profilja eltérő, a PON1 elsősorban a májban a PON2 több szövetben, pl. a pankréaszban is expresszálódik.

A PON1 gén expresszióját több promóter polimorfizmus is befolyásolja /G(-907)C, G(-824)A, T(-107)C/. Ezen felül a képződött enzim aktivitását és szubsztrát affinitását több egyéb polimorfizmus befolyásolja. Ezek közül legnagyobb mértékben az 55-ös pozícióban található leucin->metionin aminosav cserével járó (L55M) és a 192-es pozícióban található glutamin->arginin aminosav cserével járó (Q192R) polimorfizmusok határozzák meg az enzim aktivitást. Davies [1] a Q192R polimorfizmus szerepét vizsgálta, kísérletei alapján a diazoxon és paraoxon hidrolízis mértéke alapján tisztán elkülönítette mind a három lehetséges

genotípust (Q192|Q192, Q192|R192, R192|R192). A polimorfizmus reverz kapcsolatban állt a PON1 paraoxon ill diazoxon hidrolizáló képességével: az RR homozigóták magas paraoxonáz aktivitásúak és alacsony diazoxonáz aktivitásúak voltak, míg a QQ homozigóták pont ezzel ellentétes aktivitást mutattak. Mackness [5] kísérletei során megvizsgálta, hogy a Q192R és L55M polimorfizmusok mennyiben befolyásolják a PON1 azon képességét, hogy HDL-ekhez kapcsolódva megakadályozza az LDL-ek oxidációját. A vizsgálatok alapján QQ/MM homozigóták HDL-je védett a leghatékonyabban az LDL-ek oxidációja ellen, és az RR/LL genotípus a legkevésbé. Kísérleteik során HDL-t és LDL-t 6 órán keresztül inkubáltak Cu^{2+} -vel, és ezután vizsgálták a különböző genotípusok milyen mértékben voltak képesek megtartani LDL védő hatásukat. Ezek alapján a PON1-QQ HDL $57 \pm 6.3\%$ -ban a PON1-QR HDL $25.1 \pm 4.5\%$ -ban a PON1-RR HDL csak $0.75 \pm 0.4\%$ -ban tartotta meg LDL védő hatását. A PON1-MM HDL $49.5 \pm 5.3\%$ -ban, a PON1-LM $29.5 \pm 6.6\%$ -ban a PON1-LL pedig $21.8 \pm 7.5\%$ -ban tartotta meg LDL védő hatását. Ezek alapján megállapítható, hogy a különböző promóter ill. enzim polimorfizmusok befolyásolják a PON1 szerepét az atherosclerosis és gyulladások kialakulásában.

A csökkent mennyiségű HDL-cholesterin (HDL-C) mind a szív és érrendszeri betegségek (CHD) mind a cukorbetegség (DM) magasabb kockázatával is összefüggésbe hozható. Diabetes mellitusos betegek emelkedett mortalitása és morbiditása elsősorban kardiovaszkuláris okokra vezethető vissza [6]. A HDL részecskék védelme elsősorban a fordított koleszterin transzport és anti-oxidatív ill. gyulladás csökkentő tulajdonságukkal magyarázható. A csökkent szérum PON1 aktivitás együtt jár az emelkedett CHD kockázattal [7-8]. A cukorbetegség alatt kialakuló emelkedett oxidatív stressz kapcsolatban áll a cukorbetegknél megfigyelhető fokozott érfal károsodással és emelkedett atherosclerosis kockázattal. Az atherosclerosis egyéb független kockázati tényezői pl hipertónia, obezitás szintén hozzájárulhatnak a betegség progressziójához.

Kísérleteink során a PON1 két polimorfizmusának (Q192R, és L55M) populáció genetikai analízisét végeztük el magyar, és roma populációkban. Mivel a magyarországi roma populációk nem egységesek ezért fontos a romák betelepülésének történelmi, valamint szociális együttélési és kulturális szokásainak ismerete.

A magyarországi romák valószínűsíthetően több különálló populációból erednek, amelyek közös vándorlási útvonalat követtek az Indiából Európába történő vándorlásuk során és ennek során mind szociálisan és gazdaságilag, mind nyelvileg egybeolvadtak.

Az azonban még a mai napig nem egyértelmű, hogy vajon ez a szociális együttélés genetikai keveredéssel társult-e az együtt vándorló populációk között. Amennyiben a korai Roma populáció szociális felépítése az indiai kasztrendszer felépítését tükrözte, ahogy egyes kutatók állítják, a csoportok valószínűsíthetően a csoporton belüli házasságokat részesítették előnyben, így fenntartva a genetikai elkülönültséget az egyes csoportok között.

Populációgenetikai szempontból nagyon fontos tényező, hogy az Európába érkező cigány népcsoport mérete nagyon alacsony volt. Az effektív populációméret azonban még alacsonyabb, hiszen a bevándorló populáció számos kisebb csoportra vált szét. A mai Bulgária területén a 16. században megközelítőleg 6000 roma élt, akik mintegy 50 csoportra váltak szét, tehát az alapító populáció mérete nagyon jelentős tényező a roma népcsoport populációgenetikai vizsgálata során. Fontos megemlíteni azt is, hogy a különböző csoportok alapítói között ritka volt a rokonsági kapcsolat.

Mindezek azt jelentik, hogy a romákkal kapcsolatos populációgenetikai kutatások során szembe kell nézni a különböző csoportok szétválásával, egyesülésével, a különböző eredettel, valamint a csoportok közötti keveredések eltérő mértékével. Számolni kell a kis effektív populációmérettel, alapító hatással, valamint erős genetikai sodródással.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Populáció genetikai vizsgálataink során három, Tisza menti település roma populációját (n=189), kontrolként kevert magyar populációt (egytemista, n=83), genotipizáltunk a Q192R és L55M polimorfizmusokra. A magyarországi romák demográfiailag és genetikailag is heterogének. A cigányságon belül 3 nagyobb csoportot különíthetünk el az anyanyelvük és az országba való érkezésük alapján:

- A romungro cigányok: Az ország cigány lakosságának megközelítőleg 71 %-át adják. Legnagyobb részük a 16-17-18. századi betelepülések idején érkezettek leszármazottai. Ők a töröktől elhagyott balkáni területekről áramlottak az ország déli, illetve délkeleti megyéibe. Azonban itt nem telepedtek le, hanem továbbvándoroltak az ország középső részeibe. Az anyanyelvüket korán elvesztették, így napjainkra az anyanyelvük csak magyar.
- A beás (balarája, wallachiai) cigányok: Anyanyelvük a magyar mellett a román. Az ország roma lakosságának 8%-át teszik ki. Az 1860-as évektől kezdve, a moldvai és havasalföldi rabszolgaság felszámolása után kezdtek tömegesen érkezni

Magyarországra. Bevándorlásuk a 20. század első évtizedeiben fejeződött be. Napjainkra elsősorban a dunántúli területeken telepedtek le.

- Az oláh (kolompár, vlax) cigányok: A roma lakosság mintegy 21 %-át kitevő oláh romák anyanyelve a magyar mellett a cigány. Az oláh cigányok a 18. században (egyek szerint a 19. században) érkeztek Magyarországra, Erdélyből és a Havasalföldről. Körükben jól felismerhető a törzsi tagozódás.

Az általunk vizsgált romák az oláh cigányok csoportba tartoznak. Adatvédelmi okokból a részletes eredmények közlésénél a Roma településekre csak „A”, „B” és „C” településekként hivatkoztunk.

DNS szeparálás

A vizsgálatokat EDTA-val alvadásgátolt vénás vérmintákból végeztük, amelyet feldolgozásig (max. 3 nap) 4 °C-on tároltunk. Az ún. „kisózásos” módszer alkalmaztuk (telített NaCl oldattal) a fehérvérsejtekben lévő DNS szeparáláshoz.

A minták genotipizálása

Az EDTA-s vérekből kinyert DNS-ekből a két single nucleotid polimorfizmus (SNP) (Q192R, L55M) genotipizálását LightCycler-el végeztük. A PCR-hoz használt primerek és próbák a következők voltak [9]:

Q192R-F	5' -TAT TGT TGC TGT GGG ACC TGA G-3'
Q192R-R	5' -CCT TCT GCC ACC ACT CGA AC-3'
Q192R sensor	5' -CCC CTA CTT ACA ATC CTG GGA GAT- <u>FL</u> -3'
Q192R anchor	5' - <u>LCRed705</u> -ATT TGG GTT TAG CGT GGT CGT ATG TTG-3'
L55M-F	5' -CCT GCA ATA ATA TGA AAC AAC CTG-3'
L55M-R	5' -CTA GAA CAC AGA AAA GTG AAA GAA AAC-3'
L55M sensor	5' -CTC TGA AGA CAT GGA GAT ACT GCC- <u>FL</u> -3'
L55M anchor	5' - <u>LCRed640</u> -ATG GAC TGG CTT TCA TTA GCT CTG TGA GT-3'

A reakció elegyeket a PCR amplifikációhoz az 1. táblázatnak megfelelően állítottuk össze:

	Stock solution	volume (μ l)
MgCl ₂	25mmol/l	0,4
pimerek		
foward	5 μ mol/l	3,2
reverz	5 μ mol/l	3,2
szensor próba	4 μ mol/l	1
anchorpróba	4 μ mol/l	1
templát DNS	0.02 μ g/ μ l	2
Taq polimeráz	5 U/ μ l	0,5
dNTPs	5 mmol/l	1
DMSO		2
10x PCRbuffer	10 x	2
H ₂ O		4,7

1. táblázat: PON1 Q192R és L55M polimorfizmus PCR reakció elegy

A PCR amplifikációhoz a 2. táblázatban látható protokollt használtuk mindkét polimorfizmus vizsgálatánál:

Cycles		40	
Temp targets	segm. 1	segm 2.	segm. 3
Type	Quqntification		
Target Temp.	94	57	72
Incubation time	0	10	10
temp transition rate	20	20	20
Secondary target temp.	0	0	0
step size	0	0	0
step delay	0	0	0
Acquisition mode	None	Single	None

2. táblázat: A PON1 Q192R és L55M polimorfizmusainak PCR amplifikációja

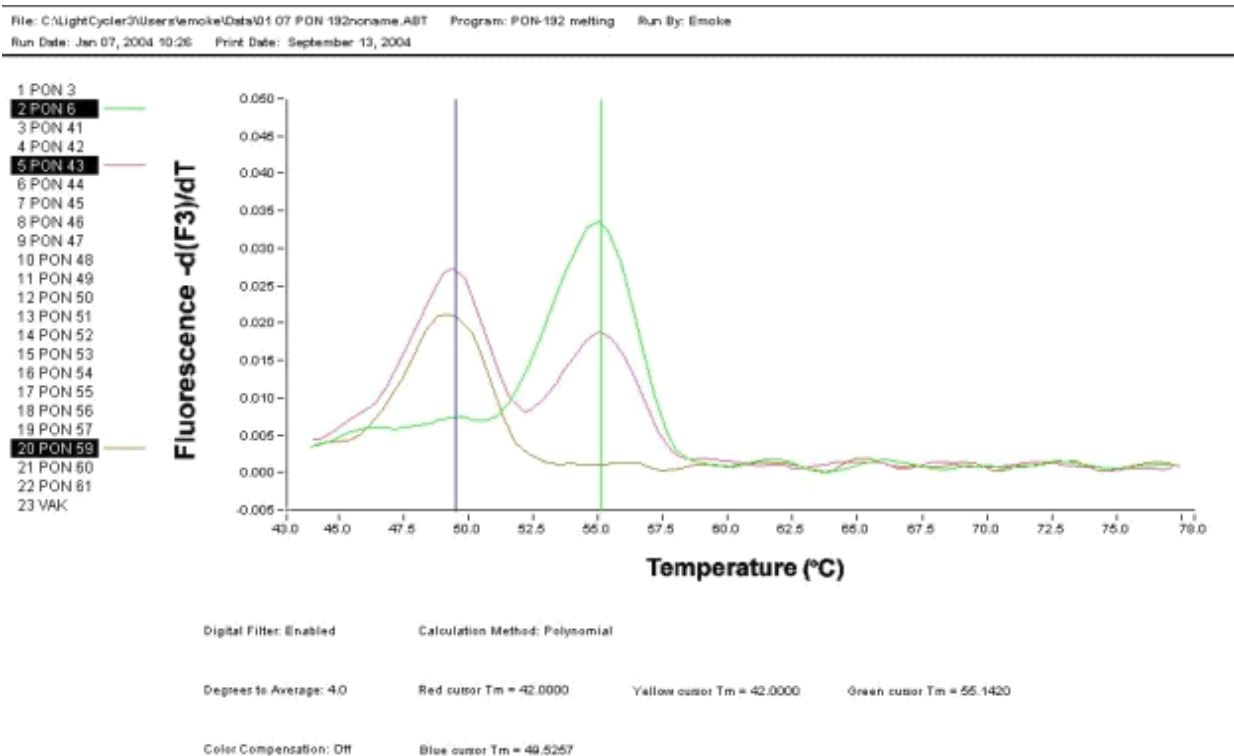
Az olvadáspont görbe analízist a 3. táblázatnak megfelelően végeztük:

Cycles		1	
Temp targets	segm. 1	segm 2.	segm. 3
Type	melting curve		
Target Temp.	94	40	80
Incubation time	0	5	0
temp transition rate	20	20	0,01
Secondary target temp.	0	0	0
step size	0	0	0
step delay	0	0	0
Acquisition mode	None	None	Step

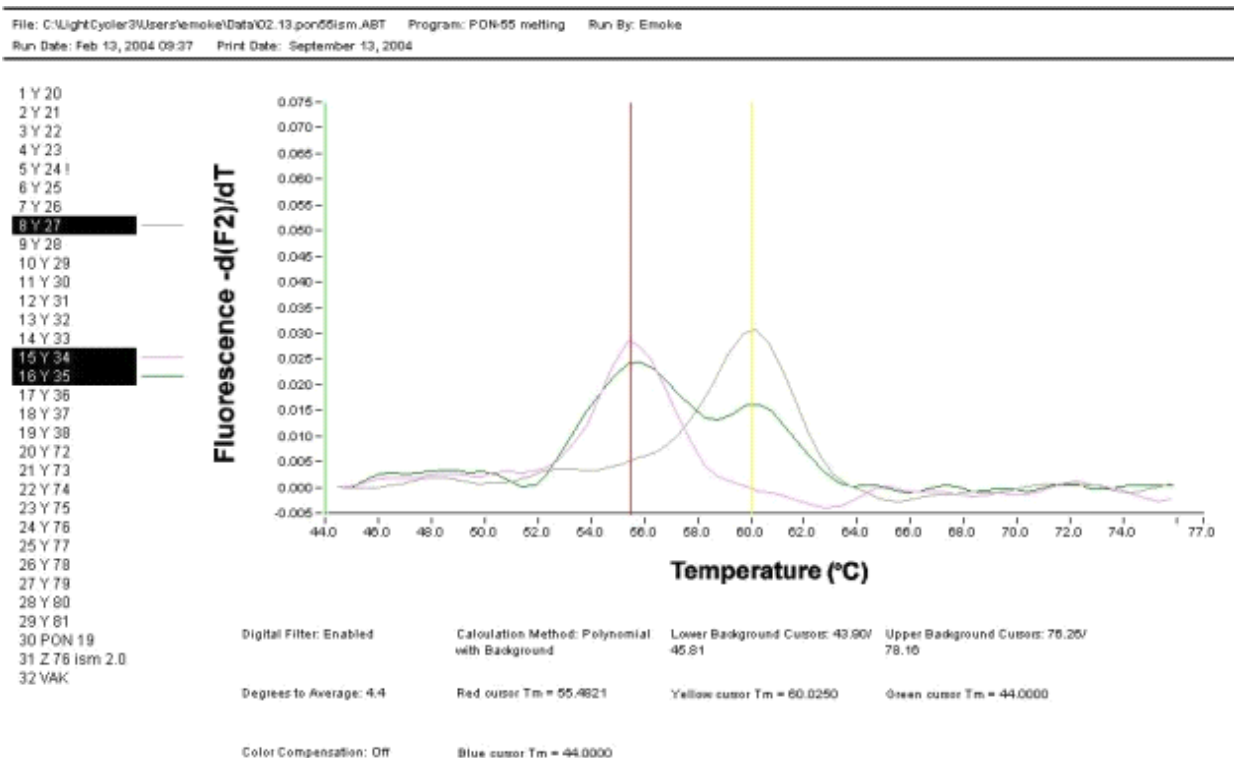
3. táblázat: az olvadáspont görbe (melting point analízis)

paraméterei

Az általunk vizsgált polimorfizmusok tipikus olvadás görbe diagramm analíziseit az 1. és 2. ábra szemlélteti. A fluorescens szignál által adott olvadáspont görbék negatív deriváltját a hőmérséklet függvényében ábrázolva kaptuk az olvadás csúcsokat. Ezen csúcsok 4-6 fokkal térnek el a mutáns és vad genotípusok hőmérséklet görbéin. A hőmérséklet különbséget a próba, az SNP-re tervezett 1 bázispáros (bp) mismatch-e által okozott instabilitása okozza. A PON1 192 polimorfizmus homozigóta vad típusú alléljánál (Q) 55,5 °C-nál a homozigóta mutáns (R) allélnál 49,5°C-nál kaptunk maximális csúcsot. A PON1 55 polimorfizmus homozigóta vad típusú alléljánál (M) 60,0 °C-nál a homozigóta mutáns (L) allélnál 55,5 °C-nál kaptunk maximális csúcsot. A polimorfizmusra heterozigóta mintáknál a két csúcs együttesen látható.



1. ábra: A PON1 Q192R polimorfizmus LightCycler-es olvadáspont görbéje. A PON6-os minta a vad allélra homozigóta, a PON59-es minta a mutáns allélra homozigóta, a PON43-as minta heterozigóta.



2. ábra: A PON1 L55M polimorfizmus LightCycler-es olvadáspont görbéje. Az Y27-es minta a vad allélra homozigóta, az Y34-es minta a mutáns allélra homozigóta, az Y35-ös minta heterozigóta.

A vizsgált személyek minden esetben egy beleegyző nyilatkozatot töltöttek ki. A vizsgálatban résztvevők adatait titkosan kezeltük, az adatok felvétele után mindenki anonim

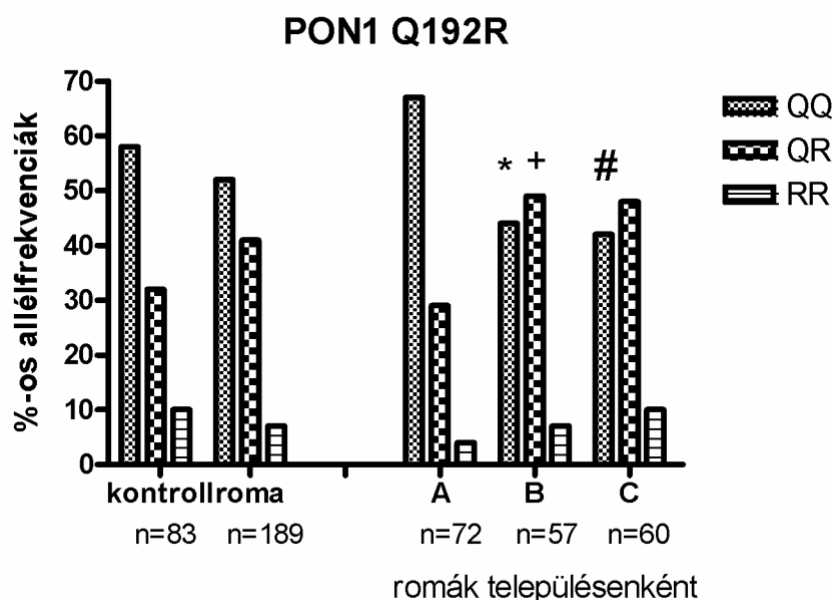
azonosítót kapott, és a továbbiakban a vizsgálatok elvégzése során csak ezek kerültek feltüntetésre.

Statisztikai számítások

Eredményeink kiértékeléséhez khi-négyzet próbát alkalmaztunk, ahol a kontrollhoz képest lényegesen kevesebb volt a beteg egyedek száma ezt kiegészítettük a Yates korrekcióval. A szignifikancia szintet 95%-os konfidencia intervallumon néztük.

EREDMÉNYEK

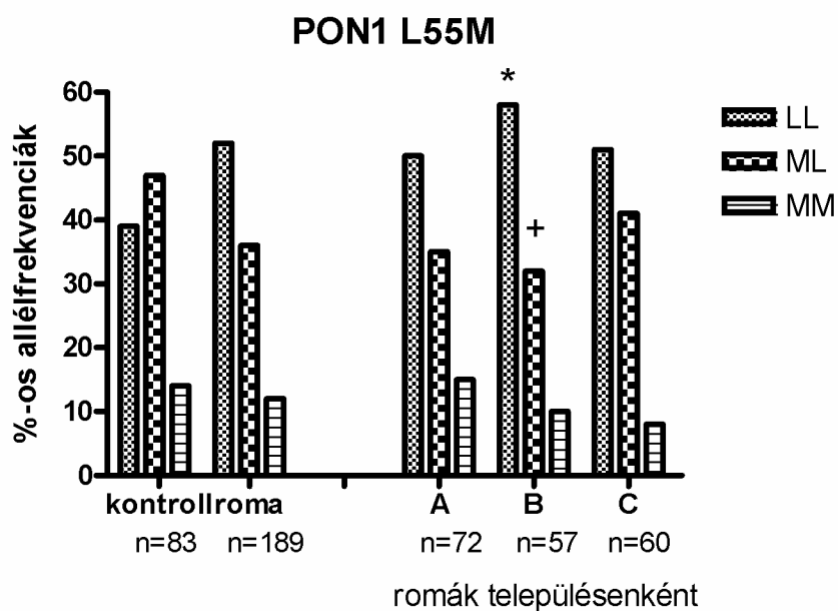
A PON1 Q192R polimorfizmus %-os allélmegoszlásai a magyar és roma populációban ill. a roma populáció részletes a minták településenkénti adatait a 3. ábrán láthatjuk. Nem találtunk szignifikáns különbséget a magyar és roma populációk egészére nézve. Azonban szignifikáns eltérések voltak az „A” jelű roma település QQ allél gyakorisága és a „B” (? $p < 0.02$), „C” (? $p < 0.01$) jelű roma települések és a kontroll csoport (? $p < 0.05$) QQ allél gyakoriságai között. Szignifikáns eltérés találtunk az „A” jelű roma település QR alléljai és a „B” jelű roma település QR allél gyakorisága (? $p < 0.01$) között.



3. ábra: A PON1 Q192R polimorfizmus allél gyakorisága magyar és roma populációkban. * $p < 0.02$ QQ allél gyakoriság „A” település vs. „B” település; * $p < 0.05$ QQ allél gyakoriság kontroll vs. „B” település;

⁺p<0.02 QR allél gyakoriság „A” település vs. „B” település; #p<0.01
 QQ allél gyakoriság „A” település vs. „C” település.

A PON1 L55M polimorfizmus %-os allélmegoszlásai a magyar és roma populációban ill. a roma populáció részletes, a minták településenkénti adatait az 4. ábrán láthatjuk. Nem találtunk szignifikáns különbséget a magyar és roma populációk allél gyakoriságai között. A roma populációk adatainak településenkénti vizsgálata során szignifikáns eltéréseket találtunk a „B” jelű roma település lakosai és a kontroll csoport LL (? p<0.05) és ML (? p<0.05) allélfrekvenciái között.



5. ábra: A PON1 Q192R polimorfizmus allél gyakorisága magyar és roma populációkban. * p<0.05 LL allél gyakoriság kontroll vs. „B” település; +p<0.05 ML allél gyakoriság kontroll vs. „B” település

MEGBESZÉLÉS

A romákkal kapcsolatos genetikai kutatások tervezésénél a legfőbb probléma a roma egyének azonosítása, valamint a mintavételi technikák különbözősége. A kutatás megkezdéséhez első lépésként ki kell választani a roma származású alanyokat, és ez gyakran ütközik nehézségbe, hiszen a kérdezett emberek gyakran nem vállalják etnikai hovatartozásukat. Az etnikai osztályozás alapjai valójában a mai napig nem tisztázottak.

Problémát jelent az is, hogy ezekben a kutatásokban gyakran nem veszik figyelembe a cigányság szociális organizációját, a különböző roma csoportokat élesen elválasztó határokat, illetve a csoportokon belüli endogámia szigorú szabályait. Egyszerű osztályozásként a kutatók a romákat az országhatárok szerint csoportosították, így beszéltek például magyar, illetve spanyol cigányokról. Ez az osztályozás egyszerűnek bizonyult, és mivel a mintavételi technika a környező európai populációk tekintetében is ugyanilyen, alkalmas lehet a cigány és az őshonos populáció összehasonlítására, azonban nem megfelelő a különböző roma csoportok alapító populációi közötti különbségek vizsgálatára.

A romákkal kapcsolatos genetikai kutatások története mintegy 70 évvel ezelőttig nyúlik vissza, beleértve a második világháború alatti és előtti, főleg németek által végzett „tudományos” vizsgálatokat. A háború utáni vizsgálatok elsősorban a roma népcsoport indiai származását voltak hivatva bizonyítani, vagy cáfolni. A cigányság tradicionálisan alacsony szociális-gazdasági státusza, valamint a sokáig fennálló, az egészségügyi ellátáshoz való korlátozott hozzáférése miatt a kutatók figyelme csak a legutóbbi időkben irányult a roma populációban megfigyelhető speciális örökletes betegségspektrumra, és ezen a területen a kutatások legtöbbször a mai napig véletlenszerűen kiválasztott. A roma csoportok összehasonlítása is legtöbbször a különálló rendszerekben megfigyelt különbségeken alapul. Mindössze néhány kutatás alapszik multilókusz vizsgálatokon.

Vizsgálataink alapján a roma populáció és a magyar populáció PON1 polimorfizmusainak allél gyakoriságai nem különböztek szignifikánsan. Azonban a roma populáció településenkénti csoportosítása során populációs különbségeket tudtunk kimutatni a települések között. Az allél frekvenciák közti különbségek nagy valószínűséggel founder hatással magyarázhatók, és alátámasztják a kutatók azon feltevését, hogy a roma populáció felépítése az indiai kasztrendszer felépítését tükrözi, és a roma csoportok a csoporton belüli házasságokat részesítik előnyben, így fenntartva az egyes csoportok közötti genetikai elkülönültséget. Az általunk vizsgált PON1 polimorfizmusok befolyásolják az LDL oxidáció

mértékét, amely a gyulladássos folyamatokban és az atherosclerosis kialakulásában fontos szerepet játszik. Az eredményeink alapján a roma populációk heterogén PON1 polimorfizmus megoszlása felveti az egyéb szív és érrendszeri kockázati tényezők együttes vizsgálatának szükségességét a magasabb R ill L allélfrekvenciájú csoportokban.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Davies HG, Richter RJ, Keifer M et al. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet* 1996; 14(3): 334-6.
2. Shih DM, Gu L, Xia YR et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 1998; 394(6690): 284-7.
3. Primo-Parmo SL, Hsu C, Law DJ et al. Location and arrangement of three paraoxonase genes: PON1, PON2, and PON3, on human chromosome 7. *Am. J. Hum. Genet.* (suppl.) 1996: 59(A406).
4. Humbert R, Adler DA, Disteché CM et al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 1993; 3(1): 73-6.
5. Mackness B, Mackness MI, Arrol S et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett* 1998; 423(1): 57-60.
6. Shinzato T, Nakai S, Akiba T et al. Survival in long-term haemodialysis patients: results from the annual survey of the Japanese Society for Dialysis Therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(5): 884-8.
7. Serrato M, Marian AJ. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; 96(6): 3005-8.
8. James RW, Leviev I, Ruiz J et al. Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000; 49(8): 1390-3.

9. Pocsai Zs, Tóth Zs, Paragh Gy et al. Rapid genotyping of paraoxonase 55 and 192 mutations by melting point analysis using real time PCR technology. Clinica Chimica Acta 2003; 332: 31-36

Publications 2000.
Prof. Dr. László Aranka

- Sándor A. **László A.** : Metabolism of carnitine in phenylacetic acid-treated rats and patient's with phenylketonuria.
Biochem-Biophys. Acta. 2000. 1501.200-210 **Imp. f: 3, 54**
- Bernscherer Gy, Berényi E, Karabélyos Cs. **László A.** Dávid Zs. Hollódy K., Tóth E. Zs:
Refsum- kór
Orvosi Hetilap 2000. 141(1) 31-34.
- A. Horváth, P. Gyűrűs, A. Kis, **A. László** ,Á. Schuler, G. Kosztolányi, B. Melegh:
Distribution of Q188R and N314 D Mutations in the Hungarian galactosemic population
Hum. Mutat. 2000, July, 16/1, 91. **Imp. 2,73**
- László A.** B. Sümegi, J. Zommbori, M. Katona, Á. Várkonyi, A.. Svékus , L. Sztriha, B. Melegh: Mitochondrial enzyme activities and morphological analysis in different mitochondrial myopathy/ encephalopathy
Clin. Sci., Ideggyógyászati Szemle 2000.

Publications 2001-2003.

- G.D. Georgeson, B.J. Szöny, K. Streitman, A. Kovács, L. Kovács, **Aranka László**: Natural killer cell cytotoxicity is deficient in newborns with sepsis and recurrent infections
Eur.J. Pediatr. (2001) 160: 478-482 If.: 1,318
- G.D. Georgeson, B.J. Szöny, K. Streitman, I.Sz. Varga, A. Kovács, L. Kovács, **Aranka László**: Antioxidant enzyme activities are decreased in neonates born via caesarean section
Eur. J. Obst. Gynep. R.B. (European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 103, 136-139. 2002) If: 0,703
- G. Baktai, E. Péterffy, É. Székely, L. Tiszlavitz, B. Nagy, **A. László**: Leading pulmonary symptoms in an infant with Niemann-Pick disease
Eur. Resp. J. 18: Suppl. 33, 220s, 2001 (11th ERS Ann. Congress Berlin Sept. 22-26.) Abstr.
- Hunter M., E. Heyer, F. Austerlitz, D. Angelicheva, V. Netkova, P Briones, A. Gata, R.de Pablo, **A. László**, N. Bosshard, R. Gitzelmann, A. Tordai, L. Kalmár, I. Balogh, C. Lupu, A. Corches, G. Popa, A. Perez-Lesaun, Luba V. Kalydjieva,: The P28T mutation in GALK1 gene accounts for galactokinase deficiency in Roma (Gypsy) patients across Europe
Pediatr. Research 2002 51. 602-606, If: 2,37

GD. Georgeson, B.J. Szőny, K. Streitman, É. Sallay, A. Kovács, L. Kovács, **A. László**: Arylsulfatase –A in umbilical cord blood: gestational age and way of delivery do not influence enzyme activity
Bone Marrow Transplantation 2002, 29, 487-490. If: 2,234

László A., E. Endreffy, L. Török, J.K. Ploos van Amstel: Molecular genetic mutation analysis for Fabry disease. International Symp. on Lysosomal Storage Disease, Cannes, France April 26-27. 2002. A 14 (abstr.)

Raffai S., L. Török, **A. László**, J.K. Ploos van Amstel: The cutan symptoms of Fabry disease in 15 years observation (clinical and molecular biological examinations) . International Symp. on Lysosomal Storage Disease, Cannes, France April 26-27. 2002. E 8 (abstr.)

Endreffy E., K. Németh, Gy. Fekete, K. Gyurkovics, J. Stankovics, A. Szabó, E. Sólyom, T. Dolina, I. Raskó, **A. László**: Molecular genetic diagnostic difficulties in two Hungarian gypsy samples with cystic fibrosis. Internat. J. Human Genetics 2/1, 41-44. 2002. Kamla-Raj

Hunter M, Heyer E, Austerlitz F, Angelicheva D, Nedkova V, Briones P, Gata A, De Pablo R, **László A**, Bosshard N, Gitzelmann R, Tordai A, Kalmar L, Szalai Cs, Balogh I, Lupu C, Corches A, Popa G, Perez-Lezaun A, and V. Kalaydjieva L The P28T Mutation in the GALK1 gene accounts for galactokinase deficiency in roma (gypsy) patients across Europe. Pediatr Res 51: 602-606, 2002 If.: 2,657

A. LÁSZLÓ, Á. SCHULER, É. SALLAY, E. ENDREFFY, CS. SOMOGYI, Á. VÁRKONYI, Z. HAVASS, K. P. JANSEN, B. WOLF: NEONATAL SCREENING FOR BIOTINIDASE DEFICIENCY IN HUNGARY: CLINICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR STUDIES. J. INHER. METAB. DIS. 2003. IF.:1.16

László, E. Endreffy, A. Bossányi, Z. Maróti: Clinical and genetical aspects of autosomal dominantly inherited osteogenesis imperfecta tarda. Acta. Biol. Szegediensis 41(1-4); 41-45. 2003.

Publications 2004

Kovács, Cs. Szalai, E. Endreffy, Gy. Pokorny, L. Kovács, **A. László**, I. Petri: Human tumor necrosis factor alpha gene allelic polymorphism in Sjögren syndrome. Ann Rheum Dis (in press)

Kovács, E. Endreffy, Cs. Szalai, L. Kovács, S. Sonkodi, Z. Ondrik, **A. László**, Gy. Pokorny, I. Petri: Human tumor necrosis factor alpha gene allelic polymorphism in systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis (in press)

Kovács, I. Szöllösi Varga, Do Quy Hai, Gy. Pokorny, L. Kovács, **A. László**, I. Petri: Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in primary Sjögren's syndrome. Ann Rheum Dis (in press)

Kovács, I. Szöllösi Varga, Do Quy Hai, Gy. Pokorny, L. Kovács, **A. László**, I. Petri: Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in long term treated patients with systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis (in press)

László A., Endreffy E., Sallay A., Gal A., Bunge S.: Molekuláris genetikai mutációk analysis Hunter kórbán. *Gyermekgyógyászat* 2004/1.

Kovács A., Endreffy E., Szalai Cs., **László A.**, Kovács L., Petri I., Pokorny Gy.: Juman tumor necrosis factor alpha-gene allele polymorphisms in Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2004. (abstr.)

Hunter M, Heyer E, Austerlitz F, Angelicheva D, Nedkova V, Briones P, Gata A, de Pablo R, **László A.**, Bosshard N, Gitzelmann R, Tordai A, Kalmar L, Szalai C, Balogh I, Lupu C, Corches A, Popa G, Perez-Lezaun A, Kalaydjieva LV. The p28T mutation in the GALK1 gene accounts for galactokinase deficiency in Roma (Gypsy) patients across Europe. *Pediatr Res* 2002 May; 51 (5): 602 – 6. IF.: 3,289.

Publications 2005

A.S. Knisely, S. Strautnieks, A. Scheimann J. Byrne, L. Pawlikowska, Y Meier, L. Bull, K. Emerick, B. Stieger, H. Melin-Aldana, P. Bilezikçi, F. Özçay, **A. László**, L. Tiszlavicz, L. Moorea, J. Raftosa, H. Arnell, N. Papadogiannakis, J. Kuszyk, B. Fischler, I. Jankowska, B. Portmann, A. Németh, J. Pawłowska, P. Whittington, M. Finegold, G. Mieli-Vergani, R. Thompson: Bile salt export pump (BSEP) deficiency is a significant risk factor for both paediatric and adult hepatobiliary malignancy. *Gastroenterology*. (in press)
I.F: 5.2

Publications 2006.

Petr Vylet^a; Jitka Sokolová^a; David N. Cooper^b; Jan P. Kraus^c; Michael Krawczak^d; Gulgielmina Pepe^e; Hans G. Koch^f; Michael Linnebank^{f,g}; Leo A. J. Kluijtmans^h; Henk J. Blom^h; Godfried H. J. Boersⁱ; Mette Gaustadnes^j; Flemming Skovby^k; Bridget Wilcken^l; David E. L. Wilcken^m; Generoso Andriaⁿ; Gianfranco Sebastioⁿ; Eileen R. Naughten^o; Sufin Yap^o; Toshihiro Ohura^p; Ewa Pronicka^q; **Aranka Laszlo**^r; Viktor Kožich^a

Haplotype analysis of cystathionine β-synthase alleles bearing the most common homocystinuria mutation c.833T>C

Version 12th January 2006 with DC corrections revised by VK

Running title: Haplotypes of CBS c.833T>C alleles

^a*Institute of Inherited Metabolic Disorders, Charles University 1st Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic;*

^b*Institute of Medical Genetics, Cardiff University, Cardiff, UK;*

^c*University of Colorado, School of Medicine, Denver, USA;*

^d*Institut fuer Medizinische Informatik und Statistik, Christian-Albrechts Universitaet, Kiel, Germany;*

^e*Dept of Medical and Surgical Critical Care, University of Florence, Firenze, Italy;*

^f*Department of Pediatrics, University Hospital Muenster, Muenster, Germany;*

^gXXXXX

^hLaboratory of Pediatrics and Neurology, University Medical Centre Nijmegen, The Netherlands;

ⁱDepartment of Medicine, University Medical Centre Nijmegen, The Netherlands;

^jDepartment of Clinical Genetics, University Hospital, Copenhagen, Denmark;

^kThe Children's Hospital at Westmead, Sidney, New South Wales, Australia;

^lCardiovascular Genetics Laboratory, Prince of Wales Hospital, Randwick, New South Wales, Australia;

^mDepartment of Paediatrics, Federico II University, Napoli, Italy;

ⁿNational Centre for Inherited Metabolic Disorders, The Children's Hospital, Dublin 1, Irish Republic;

^oDepartment of Pediatrics, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan;

^pDepartment of Metabolic Diseases, Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland;

^qDepartment of Pediatrics of Albert Szent-Gyorgyi, Medical University, Szeged, Hungary

Álmos Péter, Czibula Ágnes, Rasdó István, **László Aranka**, Endreffy Emőke, Juhász Anna, Rimanóczy Ágnes, Béres Judit, Janka Zoltán, Kálmán János: **A genetikai örökség növeli a magyarországi romák taupathia rizikóját**

SZTE ÁOK Pszichiátriai Klinika, Szeged, SZTE ÁOK Alzheimer-kór Kutatócsoport, Szeged, MTA SZBK, Szeged OEK, Budapest, SZTE ÁOK Gyermekklinika Szeged

Magyar Pszichiátriai Társaság VI. Nemzeti Kongresszusa 2006., Budapest (előadás)
Angol nyelvű cikk összeállítás alatt.

2006.02.11. Tisztelettel prof.Dr.László Aranka PhD,DSc egyetemi tanár