

A gyermekkori akut limfoid leukémiára való hajlam genetikai, valamint a kezelésre adott válasz farmakogenetikai vizsgálata

Doktori tézisek

Lautner-Csorba Orsolya

Semmelweis Egyetem
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Szalai Csaba egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók:

Dr. Boér Katalin osztályvezető főorvos, PhD

Dr. Rónai Zsolt egyetemi adjunktus, PhD

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Sasvári Mária egyetemi tanár, az MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Mészáros Tamás egyetemi adjunktus, PhD

Dr. Kralovánszky Judit biológiai tudomány kandidátusa, PhD

Budapest

2013

1. BEVEZETÉS

A genetikai vizsgálatok egyre nagyobb teret hódítanak a 21. századi orvostudomány területén. Az embert meghatározó genetikai „háttértár” megfejtése iránti kutatói érdeklődés (Humán Genom Projekt) óriási tudományos és technológiai forradalmat indított el. Ennek eredményeképpen számos, a klinikumban is alkalmazható prognosztikai, diagnózist segítő, vagy a terápiás hatékonyságot, így a túlélést befolyásoló genetikai markert sikerült meghatározni. Napjaink kihívása ezeknek a tényezőknek a bonyolult és speciális egymásra hatását feltérképezni, illetve azokat értelmezhető és használható rendszerré alakítani.

A genetikai tanulmányoknak különösen fontos szerepe van a malignus kórképek vizsgálatában, a betegségre való hajlam jobb megértésében, a különböző rizikótényezők meghatározásában, és a pontosabb terápiás protokollok kidolgozásában, ily módon a minél személyre szabottabb terápia kialakításában.

A rosszindulatú, gyermekkori malignitások alapvetően ritka betegségnek számítanak Magyarországon (kb. 50-70 új eset/év), azonban jelentőségük mégis igen nagy, hiszen a gyermekkori halálozásban a balesetek után a második helyen állnak. A gyermekkori rosszindulatú megbetegedések közül a leukémia a leggyakoribb. A leukémiák döntő többsége az akut limfoid leukémia típusba tartozik (ALL, ~80%). A szupportív terápiának és a csontvelő transzplantáció fejlődésének köszönhetően a mai magyarországi 5-éves ösztülélés már 80%-85% feletti. A túlélést befolyásoló főbb rizikófaktorok a nem, az életkor, a sejtek immunfenotípusa, a betegség diagnóziskori kiterjedtsége, a genetikai abnormalitások típusa és halmozása, a kezelésre adott terápiás válasz. A gyermekkori akut limfoid leukémiában elért viszonylag magas túlélési arány további javítása mellett elengedhetetlen a túlélők későbbi életminőségének javítása is. Ennek elérése érdekében nagy jelentőségűek a genetikai és farmakogenetikai tanulmányok.

A betegség patogenezisét feltételezhetően a DNS szintézis-, a különböző (kemoterápiát érintő) anyagcsere és farmakogenetikai útvonalak szabályozásában fontos, valamint a limfocita előalakok differenciálódásáért felelős gének és variánsaik sokszor egymással kölcsönhatva befolyásolhatják. A legelterjedtebb módszer a betegség genetikai hátterének elemzésére az ún. jelölt gén asszociációs vizsgálatok (CGAS) csoportja, majd a technikai fejlődéssel párhuzamosan egyre nagyobb teret nyertek a teljes genom szűrések, illetve a teljes genom asszociációs vizsgálatok (GWAS) is.

A farmakogenetika „erejét” számos eddig is alkalmazott, illetve a gyógyszermetabolizmus genetikai hátterének mélyrehatóbb vizsgálata révén újonnan kifejlesztett terápiás készítmények adják. Fő célja olyan poligénes és személyre szabható modellek kidolgozása, amelyek pontosan prediktálhatják az egyes betegek egyéni gyógyszerválasztát és a lehetséges toxicitás veszélyeit, ezáltal növelve a terápia hatékonyságát és a túlélési esélyeket, valamint támogatva a kezelés utáni jobb életminőség elérését.

Mindkét irányú, genetikai alapú vizsgálatnál a napjainkban alkalmazott módszerek rendkívül nagy és sokrétű adathalmazt produkálnak, amelyek feldolgozása és „hitelessége” jelentős mértékben függ az alkalmazott statisztikai módszerektől. Jelenleg a frekventista alapú technikák a legelterjedtebbek, azonban a vizsgálatok során kapott rendkívül összetett adat-, és asszociációs hálózatok kiértékelésénél egyre szélesebb teret nyernek az inverz szemléletű bayes-i matematikán alapuló módszerek is.

Munkám során a kiválasztott génvariánsok segítségével a gyermekkori akut limfoid leukémia kialakulásának és a kezelés során kapott terápiás válasznak a hátterében álló genetikai faktorok befolyásoló szerepét vizsgáltam. Az eredmények megbízhatósága érdekében a kiértékelés során kétféle statisztikai módszert is alkalmaztam, a klasszikus frekventista alapút és a Bayes-háló alapú bayes-i többszintű relevanciaanalízis (BN-BMLA) technikát.

2. CÉLKITÚZÉS

PhD munkám során a következő célkitűzéseim voltak:

1. A kemoterápiás gyógyszerek detoxifikációjában fontos GSTM1 és GSTT1 molekulák deléciós variánsainak gyermekkori akut limfoid leukémia (ALL) kialakulásában betöltött szerepének vizsgálata.
2. A hematopoézisben, transzkripcióban, folát metabolizmusban jelentős 33 gén 126 csírvonalbeli genetikai polimorfizmusának vizsgálata gyermekkori ALL-es és egészséges kontroll populáció eredményeit összevetve bizonyos klinikai paraméterek (nem, életkor, citogenetikai jellemzők) és ALL-es alcsoportok (B-sejtes-ALL, T-sejtes-ALL, hiperdiploid-ALL) figyelembevételével.
3. Ugyanezen populációban az össz (OS)-, és eseménymentes túlélés (EFS) szempontjából a különböző génvariánsok szerepének vizsgálata, tehát a kiválasztott, jelentős szignalizációs-, és anyagcsereútvonalat érintő, valamint a transzkripció szabályozásában szerepet játszó polimorfizmusok közül, melyek befolyásolják szignifikáns módon a túlélési esélyt.
4. A gyermekkori akut limfoid leukémia terápiája során alkalmazott antraciklinek kardiotoxikus hatásának és azok genetikai vetületének tanulmányozása az *ABCCI* polimorfizmusok segítségével.
5. A napjainkban leginkább elterjedt statisztikai gyakoriságon alapuló (frekventista) és a munkacsoport által kifejlesztett Bayes-háló alapú bayes-i többszintű relevancia analízis (BN-BMLA) módszereinek egymást segítő, kiegészítő alkalmazása az adatelemzés során. A különböző klinikai, illetve genetikai tényezők és a gyermekkori akut limfoid leukémia közötti kapcsolati struktúrák bayes-i modellezése és ezek valószínűségének becslése az ún. *a posteriori* valószínűségi érték (P) megadásával.

3. MÓDSZEREK

Mintapopuláció

Vizsgálataink során a Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt-, és Immunbiológiai Intézetében található biobank mintáit és adatait használtuk fel. A mintabankban összesen több mint ezer egyén, a magyar (európai eredetű) populációhoz tartozó akut limfoid leukémiás gyermek és egészséges kontroll véradó, illetve a Budai Gyermekkorház Ortopédiai Osztályáról és a Heim Pál Gyermekkorház Urológiai Osztályáról véletlenszerűen kiválasztott gyermekek DNS mintája található. A kontroll csoport egyik tagjának sem volt korábban regisztrált gyermekkori ALL-je vagy más rákos megbetegedése. A mintabank létrejöttében kulcsszerepe volt Dr. Erdélyi Dánielnek, a Semmelweis Egyetem, II.sz. Gyermekgyógyászati Klinika szakorvosának. A kutatási projekt a Magyar Etikai Bizottság (Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság, azaz ETT TUKEB; Esetszám: 8-374/2009-1018EKU 914/PI/08) engedélyével jöhetett létre, melynek egyik feltétele volt a bevont személyek, illetve kiskorú személyek esetén a betegek szüleinek írásos beleegyezése. A különböző kísérletekbe bevont mintapopuláció minden esetben a biobankból származott, azonban a vizsgálatok időbeni eltérése és a biobank folyamatos bővítése, illetve néhány esetben a minták fogyása miatt azok összetétele (beteg-kontroll arány, életkor eloszlás) kis mértékben eltér egymástól.

DNS szeparálás

A DNS szeparálás célja csírvonal genetikai vizsgálatokra alkalmas DNS minta gyűjtése volt, ezért a DNS kivonása remisszióban lévő betegektől, retrospektív módon, EDTA-s csőbe gyűjtött, perifériás vérmintákból történt. A leukémiás betegek genomiális DNS-ének izolálása QIAmp DNA Blood Midi/Maxi Kittel (Qiagen, Hilden, Németország), míg a kontrolloké az iPrep Purification készülék segítségével és a hozzá tartozó iPrep PureLink gDNA Blood Kittel (Invitrogen, Life Technologies, Grand Island, USA) történt, a gyártók által előírt protokollok alapján.

A vizsgált gének és genetikai eltérések kiválasztása

A vizsgálat tárgyát képező géneket és azok polimorfizmusait a releváns tudományos irodalom, illetve a különböző genetikai adatbázisokban, mint pl. HapMap, OMIM, Genecards, dbSNP, UCSC Genome Browser, SNP Finder adatbázisokban történő keresés eredményei alapján állítottam össze. A szakirodalom és az adatbázisok alapján történő szűrés után az SNP-eket feltételezett funkciójuk szerint választottam ki a következő sorrend alapján: 1.

aminosavcserét okozó – nem szinonim/missense, 2. promoter, 3. 3'-UTR, 4. aminosavcserét nem okozó – szinonim/coding-synon, 4.intron. A HaploView 4.2 programmal vizsgáltam az SNP-k közötti kapcsoltsági viszonyokat, az ún. haplotípusokat. A statisztikai elemezhetőség feltétele volt továbbá a (10 – 90)% közötti minor allél frekvencia (MAF) is. Ez a határ biztosította a ritka homozigóta és heterozigóta egyének várhatóan megfelelő gyakoriságát az általunk vizsgált európai eredetű populációban. A farmakogenetikai vizsgálatnál a fenti, általános szűrési szempontok mellett továbbiakat is figyelembe kellett venni: minden kiválasztott SNP-nél a mérendő szekvenciában a használt genotipizálási módszer igényei miatt, 40-65% között lehetett a guanin és citozin nukleotidok aránya, továbbá a vizsgált régióban meglévő ismétlődő szekvenciákat jelölni kellett. Az I. jelölt gén asszociációs elemzés során 3 gén 3 polimorfizmusát vizsgáltam. A *GSTM1* és *GSTT1* gének esetében a gén teljes deléciójából (null polimorfizmus) következő aktív illetve inaktív, míg a *CCR5* gén esetében a gén egy adott szakaszának deléciójából eredő aktív és frameshiftet okozó variánsait genotipizáltam a rendelkezésre álló, összesen 798 főből álló populációban. A II. és a III. jelölt gén asszociációs vizsgálat polimorfizmusait az alábbi szempontok szerint válogattam össze: II. csoportba a leukémiára való hajlamban, mint a DNS szintézist, javító mechanizmusokat befolyásoló főbb gének és variánsaik, míg a III. csoportba a folát anyagcserében, transzportjában direkt vagy indirekt módon szerepet játszó polimorfizmusok kerültek. A II. jelölt gén asszociációs vizsgálatban 1072 mintán 18 kandidáns gén, 62 SNP-jét, míg a III. esetben ugyanezen a populáción 15, a folát metabolizmusban meghatározó szerepet betöltő gén 64 egy pontos nukleotid polimorfizmusát elemeztem. Jelen dolgozatban az *ABCC1* transzportfehérjét kódoló *ABCC1* gén 9 polimorfizmusának farmakogenetikai vonatkozását is vizsgáltuk 235 ALL-es betegen.

A vizsgált gének és genetikai eltérések genotipizálása

1. Klasszikus Multiplex PCR reakcióval történő genotipizálás

A *GSTT1* és *GSTM1* gének null, valamint a *CCR5* gén delta32 polimorfizmusának genotipizálását klasszikus PCR-t követő gélelektroforézissel végeztem el. A PCR reakcióhoz felhasznált anyagok és maga a reakcióparaméterek is igen hasonlóak voltak a *GST* gének és *CCR5* null illetve delta32 génpolimorfizmusának vizsgálatakor. A PCR reakció során a szekvensspecifikus primer párok (forward és reverse) és a kontroll reakció esetében voltak különbségek. A kontroll PCR reakció *GSTT1* esetén az *APO-V*, a *GSTM1* esetén pedig maga a *CCR5* gén volt. A PCR reakciót az Esco SwiftTM Maxi Thermal Cycler (Esco, Hartboro, USA) PCR készülékkel végeztem. A gélfuttatás 0,5x-es TBE-pufferben (Sigma Aldrich, St.Louis, USA) történt kb. 30-35 perc alatt.

2. Sequenom iPLEX Gold MassARRAY technikával történő genotipizálás

Az II. és III. jelölt génasszociációs tanulmányban kiválasztott összesen 141 génpolimorfizmus genotipizálása, Sequenom iPLEX Gold MassARRAY technikával történt a kanadai McGill Egyetem és Génome Québec Innovációs Központban. A módszer a nagy specificitású és érzékeny tömegspektrometriás detektálással történő multiplex PCR reakción alapszik. A multiplex PCR-t (amplifikációs lépés) követően, egy „templát (minta) – irányította” egy bázispárnyi extenziós (SBE) lánctermináció megy végbe a próba felhasználásával (iPlex reakció). Az így kapott mintát egy ún. SpectroCHIP® bioarray-re viszik át, amin a reakciótermékek (PCR) elválasztása és detektálása történik egy mátrix közvetítésével végzett lézer deszorpciós ionizációs tömegspektrometriai (MALD-TOF MS) technikával az egyes nukleotidok eltérő tömege alapján. A kiértékelés során összesen 1072 minta (543 ALL és 529 Kontroll) genotípusát és klinikai adatait használtuk fel. A statisztikai analízisből ki kellett zárunk a sikertelen genotipizálású, a monomorf genotípusú, és a 10%-nál nagyobb genotípus hiánnyal rendelkező mintákat, így végül a 141 SNP-ből 126 SNP-t tudtunk elemezni.

3. GenomeLab SNPstream rendszerrel történő genotipizálás

A farmakogenetikai vizsgálatban az *ABCC1* gén 9 polimorfizmusának (rs215060, rs246219, rs246221, rs45511401, rs4148358, rs11864374, rs6416666, rs3743527, rs212097) genotipizálását GenomeLab SNPstream (Beckman Coulter, Brea, USA) rendszerrel végeztük el, azonban a dolgozatban a legrelevánsabb rs374352 7polimorfizmus adatai és eredményei kerülnek csak bemutatásra. A mérés több lépésből állt: 1. PCR reakció, 2. tisztítás, 3. primer extenzió, 4. hibridizáció, 5. lézeres plate leolvasás.

A kiválasztott polimorfizmusok túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálata a betegpopulációban

A terápia hatékonyságának egyik mérőszáma a túlélési ráta meghatározása. A betegek 5-éves össz-, és eseménymentes túlélését is vizsgáltam a Magyar Gyermekek Tumor Regiszter legfrissebb adatai alapján. A tanulmányba bevont ALL-es populáció (543 fő) – amely a II. és III. tanulmány betegeit tartalmazza elsősorban, átfedve az I. és IV. vizsgálat - egy szűkebb csoportjának (516, 95%) adatait tudtam elemezni. Ennek oka, hogy a retrospektív vizsgálat miatt a terápiára rezisztenssé váló, vagy egy fellépő fertőzés, illetve gyógyszer toxicitás miatt elhalálozott betegek adatait nem tudtuk felhasználni.

Statisztikai kiértékelés

1. Frekventista módszer

A Hardy-Weinberg egyensúlyt (HWE) χ^2 teszttel ellenőriztem egy online program segítségével. A további statisztikai elemzésbe csak azok az SNP kerültek bele, amelyek teljesítették a Hardy-Weinberg egyensúlyt. Az első három eset-kontroll tanulmánynál nemmel korrigált logisztikus regressziós analízist alkalmaztam a polimorfizmusok és a betegség közötti asszociáció vizsgálatára. A teljes leukémiás populáció mellett, a különböző klinikai alcsoportok (B-, T-sejtes, hiperdiploid ALL) adatait külön is elemeztem. A genotípus frekvenciák összehasonlítását és az allélhordozás értékét minden SNP-re az IBM SPSS 21.0 statisztikai programmal végeztem. Az allélfrekvenciák közötti eltérés szignifikancia értékét (p) és az esélyhányadosokat (OR-odds ratio) a MedCalc 12.4.0 program segítségével számoltam. A statisztikai számolásokat 95%-os konfidencia intervallum mellett végeztem. A kapcsoltsági egyenlőtlenség és a haplotípusok vizsgálatát a Haploview 4.2 programmal végeztem, a hozzájuk tartozó esélyhányadosokat pedig MedCalc 12.4.0 programmal számoltam. A II. és III. jelölt gén asszociációs vizsgálatban a számos statisztikai összehasonlítás miatt szükséges volt az eredmények többszörös tesztelési korrekciója, amelyet a Benjamini-Hochberg – féle hamis elfogadási arány (FDR-false discovery rate) számolásának módszerével végeztem $\alpha=1\%$ -os ($p \leq 3,42 \cdot 10^{-4}$) és $\alpha=5\%$ -os ($p \leq 1,21 \cdot 10^{-3}$) elsőfajú hiba határ (FDR(α)) mellet. Ezekből következően az asszociációs vizsgálatokban az $FDR(\alpha) \leq p \leq 0,05$ szignifikancia értékek nominálisan szignifikánsnak tekinthetők. A többszörös tesztelés miatt szintén korrigált statisztikai erő számolása R programnak egy speciális fejlesztésű verziójával történt. A farmakogenetikai vizsgálat statisztikai értékeléséhez többszörösen illesztett általánosított lineáris modellt (GLM) alkalmaztunk. A többváltozós modellben a folytonos változó mellett (szívfunkció) kofaktorok (pl. nem, diagnóziskori életkor, össz-antraciklin dózis, stb.) bevonásával is elemeztük az adatokat. A többszörös összehasonlítás miatt Bonferroni-korrekciót alkalmaztunk. Az adatok elemzését Kaplan-Meier módszerrel, IBM SPSS 21.0 statisztikai szoftver segítségével végeztem. Log-rank teszttel a túlélés és a kategorizált paraméterek, úgy, mint rizikócsoporthoz, nem, alkalmazott protokoll típus, immunfenotípus közötti asszociációt vizsgáltam.

2. Bayes-háló alapú bayes-i többszintű relevanciaanalízis módszere

A bayes-i statisztikai számításokat a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Méréstechnika és Információs Rendszerek Tanszékén, dr. Antal Péter kutatócsoportja végezte a két csoport által közösen kidolgozott Bayes-háló alapú bayes-i többszintű relevanciaanalízis (BN-BMLA) módszerével. A módszerrel csak diszkrét, változók elemzését végeztük

el jelen dolgozatban. A folytonos változók elemzésének lehetősége, még fejlesztés alatt áll. A bayes-i statisztikával meghatároztuk a különböző változók célváltozóhoz viszonyított erős relevanciájának *posterior* (P) valószínűségi értékeit, a változók feltételezett kapcsolati struktúráját, az interakciókat (két SNP együttes előfordulása, hatása) és redundanciákat (SNP-k közötti felcserélhetőség), illetve a bayes-i hatáserősség-elemzést is, a bayes-i esélyhányadosok (OR) és a hozzájuk tartozó 95%-os megbízhatósági tartományok (CR), kiszámításával. Az *a posteriori* valószínűség értéke 0 és 1 közötti értéket vehet fel. A $0,5 \leq P \leq 1$ érték azt jelenti, hogy egy prediktor változó az adatok alapján relevánsnak tekinthető a célváltozó függvényében. A „P” minél jobban megközelíti az 1 értéket, annál relevánsabb.

4. EREDMÉNYEK

Jelen dolgozatban az általunk kiválasztott jelölt gének és variánsaik, valamint a gyermekkori akut limfoid leukémia (ALL) hajlam, illetve a terápiás kezelésre adott válasz farmakogentikai vonatkozásai között fellépő kapcsolatot vizsgáltuk. A betegség hátterének jobb megértése érdekében több mint száz általunk kiválasztott génpolimorfizmust tanulmányoztunk a biobankban rendelkezésünkre álló több mint ezer egyén, leukémiás gyermek és egészséges kontroll DNS mintáján. A kiértékelés során az eredmények többszörös szűrőn mentek keresztül. Az egyik oldalról a klasszikus frekventista statisztikát, míg a másiktól, a napjainkban egyre nagyobb teret hódító inverz megközelítésű Bayes-háló alapú bayes-i többszintű relevanciaanalízis (BN-BMLA) technika eszközeit is felhasználtuk.

1. Jelölt gén asszociációs vizsgálat I. – *GSTM1*, *GSTT1*, *CCR5*

A *GSTT1* gén inaktív null polimorfizmusára homozigótákat – a heterozigótákkal együtt – és az egészséges csoportot összehasonlítva $OR=0,70$ ($0,49-1,00$); $p=0,05$ értéket kaptunk. Az eredmény a *GSTT1* deléciós variánsa gyenge védő hatásának irányába mutat. Bár a „p” érték és a hozzá tartozó konfidencia intervallum a szignifikancia határon van, azonban statisztikai korrekció után, nem vonható le messzemenő következtetés a *GSTT1* deléciós polimorfizmusával kapcsolatban. Egy újabb, nagyobb számú populáció vizsgálata lenne szükséges, hogy a kérdésben releváns választ adhassunk. Adataink alapján a *GSTM1* gén null mutációjára homozigóta, valamint a *CCR5* delta32 polimorfizmus deléciós allélgyakorisági értékeinek beteg és kontroll populációja között sem tapasztaltunk szignifikáns eltérést. A két gén inaktív variánsait együtt vizsgálva sem kaptunk szignifikáns különbséget a beteg és kontroll csoport között. A kérdéses génpolimorfizmusok feltételezhető hajlamosító szerepét az immunfenotípus (B-, T-sejtes), a citogenetikai tényezők (pl. hiperdiploidia) és a nem összefüggésében is vizsgáltuk, azonban egyik faktor sem befolyásolta szignifikánsan az általunk vizsgált populáción a betegségre való hajlamot.

2. Jelölt gén asszociációs vizsgálat II. – *ARID5B*, *IKZF1*, *STAT3*

Frekventista: A beteg és kontroll csoport genotípus és minor allél frekvencia (MAF) értékeinek összehasonlító vizsgálata során 19 SNP bizonyult nominálisan szignifikánsnak ($FDR(\alpha)=1\% \leq p < 0,05$). A nemmel korrigált logisztikus regressziós elemzés után és az $FDR(\alpha)=1\%$ korrigált szignifikancia határ mellett azonban már csak 2 gén 6 SNP-je (rs10821936, rs7089424 és rs4506592 *ARID5B*, ill. rs6964969, rs11978267 és rs4132601 *IKZF1*) maradt valóban szignifikáns (azaz $p \leq 3,42E-04$). Az eredmények alapján az *IKZF1* és

ARID5B gének adott polimorfizmusai, asszociálnak az ALL-re való hajlammal ($1,4 \leq OR-k \leq 1,5$) a teljes beteg populációt tekintve. Az ALL hajlammal két tagSNP az rs4132601 (*IKZF1*) és az rs10821936 (*ARID5B*) mutatta az egyik legerősebb asszociációt ($p_{IKZF1}=1,69E-05$, $OR_{IKZF1}=1,50$ és $p_{ARID5B}=7,31E-05$, $OR_{ARID5B}=1,43$). A klinikai alcsoportokat elemezve a B-sejtes ALL-ben (B-ALL) a teljes populációhoz képest emelkedettebb rizikó tényezőt ($1,51 \leq OR-k \leq 1,7$) jelenthetnek ezek az SNP-k, míg T-ALL-ben nem találtam semmilyen összefüggést. Hiperdiploid akut limfoid leukémiás (HD-ALL; ≥ 50 kromoszóma) populációban egy új gén, a *STAT3* két SNP-je, az rs12949918 és az rs3816769 szignifikánsan alacsonyabb rizikóval asszociált ($p=2,32E-04$, $OR=0,64$ és $p=1,34E-04$, $OR=0,62$), míg általánosságban ezek a variánsok nem befolyásolták az ALL-re való hajlamot. Összességében elmondható, hogy a szignifikánsnak talált, hajlammal asszociált polimorfizmusok esetében a homozigóta állapot járt nagyobb rizikóval, semmint a hordozó státusz. Vizsgáltam a nemet, az életkort, a protokollokat, mint az ALL hajlam kialakulását befolyásolható kofaktorokat is, de nem tapasztaltam szignifikáns hatást egyik esetében sem. A fenti SNP-k génenként kapcsoltsági egyenlőtlenségben (LD), így tulajdonképpen redundánsak, helyettesíthetők egymással. A jelen tanulmányban egyfajta kontrollként szerettem volna őket párhuzamosan vizsgálni. A haplotípus analízis során az *IKZF1* génben 2 haplotípust (TGATA és TGGGG) találtam szignifikánsnak az ALL hajlamot tekintve.

BN-BMLA: A bayes-i elemzés során az ALL hajlammal kapcsolatosan a legrelevánsabb SNP-nek az rs10821936 (*ARDI5B*) és az rs4132601 (*IKZF1*) bizonyultak. A valószínűség, hogy ezek az SNP-k direkt módon asszociálnak az ALL hajlammal 0,76 az rs10821936 és 0,97 az rs4132601 esetében. A direkt asszociáció még valószínűbb volt a B-ALL alpopulációban (0,95 az rs10821936 és 1,0 az rs4132601-nél). Az említett genetikai variánsoknak a teljes ALL-es populációban tapasztalt magas direkt asszociációs valószínűségi értékei, a szűkebb B-sejtes populációban tapasztalt még erősebb valószínűség miatt lehetségesek. Az egyéb tényezők mellett csak a nemnek, mint prediktor változónak volt magas a direkt asszociációs valószínűsége a T-ALL hajlamra (0,85). A frekventista eredményt a bayes-i modell eredményével kiegészítve megállapítható, hogy a fiúgyermek 2,28x hajlamosabbak T-ALL-re, mint a lányok (95% CI 1,32-3,93). A hiperdiploid akut limfoid leukémiás alcsoportot vizsgálva, a legrelevánsabb SNP-knél (*STAT3* rs12949918, *BCL2* rs12457893, *JAK1* rs3212713 és *CCR5* rs3087253) mérsékelt valószínűségi értékeket (0,6; 0,57; 0,56; 0,56) kaptunk. A vizsgált géneken belüli polimorfizmusok együttes erős relevancia jellegét (direkt vagy tiszta relevancia) és erejét is vizsgáltuk az akut limfoid leukémiával kapcsolatosan. Az *ARID5B* gének vizsgált SNP-i (rs4509706, rs4948487,

rs10821936, rs4948496, rs4948502) együttesen közelítően 0,8 valószínűséggel relevánsak az ALL-hajlam tekintetében. Közülük azonban csak a már említett rs10821936 tűnik valóban direkt módon relevánsnak (0,76). Ez alapján valószínűsíthető az rs10821936 közvetlen hatása, és a többi SNP nem közvetlen okozati (indirekt) szerepe az ALL kialakulásában. Az *IKZF1* kapcsolati rendszerének elemzésekor az rs4132601-nek 0,97-es valószínűséget kaptunk, ami megegyezik a génben vizsgált összes SNP közös direkt relevancia valószínűségével. Ennek oka, hogy az rs4132601 SNP-nél önmagában is magas, direkt relevancia *posterior* valószínűsége (0,97) kaptunk, ellenben a többi két SNP-vel (rs6954833, rs10235796), ahol ez az érték 0,1 volt. Még kifejezettebb hatást mutattak az együttes asszociációs vizsgálatok B-sejtes alpopulációban. A célváltozó (pl. ALL, B-ALL) szerinti tiszta interakció valószínűsége igen alacsonynak (0,1) bizonyult szinte mindegyik gén variánsai esetében, azonban az rs3212713 (*JAK3*) és az rs2282883 (*AHR*) SNP-kenél megfigyeltünk tiszta interakciós hatást a hiperdiploid alpopulációban, illetve a rizikócsoport függvényében (0,43 és 0,42). A bayes-i elemzés (BN-BMLA) lehetőséget nyújtott a változók közötti kölcsönhatások (interakció) és helyettesíthetőség (redundancia) vizsgálatára is. A teljes-ALL hajlamra vonatkozó értékelés során az *ARID5B* rs10821936 és *STAT3* rs17405722 SNP-k között (Interaction ratio, IR=0,15) gyenge interakciót, az *ARID5B* rs10821936 és rs4509706 között pedig mérsékelt redundanciát (Redundancy ratio, RR=0,33) tapasztaltunk. Az *IKZF1* és *ARID5B*, a két legerősebb univariáns erős relevancia valószínűséget mutató gén SNP-i között sem kölcsönhatást, sem pedig redundanciát nem találtunk. A T-sejtes-ALL alpopuláció vizsgálatokor a nem mutatott gyenge kölcsönhatást három másik polimorfizmussal, az rs703817 (*STAT6*; IR=0,16), az rs4987845 (*BCL2*; IR=0,1), és az rs1143684 (*NQO2*; IR=0,11). A frekventista elemzéssel együtt ez az eredmény is alátámaszthatja azt a feltevést, miszerint a fiúk hajlamosabbak a T-sejtes akut limfoid leukémiára. A hiperdiploid populáció elemzésekor 3 különböző interakciós csoportot kaptunk, amelyeknek relatíve magas volt az interakciós rátája: 1. *STAT3*, *BCL2*, *STAT1*, *NOTCH1* variánsai (IR=3,06), 2. *STAT3*, *JAK3*, *STAT1* variánsai (IR=2,72), 3. *JAK3*, *CCR5*, *IKZF1* variánsai (IR=0,86). Ezek az elemzések azonban egy viszonylag kisméretű populáció (HD-ALL) alapján születtek, így szükséges lenne további validálásuk egy nagyobb populáción is.

3. Jelölt gén asszociációs vizsgálat III. – Folát anyagcsere gének

Frekventista: A nemmel korrigált logisztikus regressziós elemzés során 8 különböző gén (*ABCB1*, *DHFR*, *FPGS*, *MTHFD1*, *MTR*, *SHMT1*, *TYMS*, *MTRR*) 9 SNP-je (rs2235013, rs12517451, rs1544105, rs1076991, rs12759827, rs9909104, rs2853533, rs3776455, rs1532268) mutatott szignifikáns összefüggést az ALL hajlammal. Statisztikai korrekciót

(FDR(α)=5%; $p \leq 1,21E-03$) alkalmazva azonban már csak 2 gén 2 SNP-je (*MTHFD1* rs1076991, *MTRR* rs3776455) maradt szignifikáns. Az *MTHFD1* rs1076991 SNP GG (mutáns homozigóta) genotípuseloszlása szignifikánsan különbözött ($p=1,94E-04$; OR=1,94 (1,37-2,76), power=0,64) a beteg és a kontroll populáció között (additív modell). Ez a jelentős különbség a B-sejtes alpopulációban is jelentkezett ($p=3,52E-04$; OR=2,00 (1,37-2,94); power=0,59), ellenben a T-sejtes vagy a hiperdiploid csoportban nem tapasztaltuk. A további elemzések (allélpozitivitás, domináns/recesszív modell) során azt találtuk, hogy már a G allélhordozás (50% vs. 41,8%; $p=1,30E-04$; OR=1,39 (1,18-1,65)) is növelheti az ALL hajlamot, amit a domináns modellel (AA vs. AG/GG; $p=4,90E-04$; OR=1,61 (1,23-2,10)) történő elemzés is megerősített. Az *MTRR* rs3776455 polimorfizmus esetében szintén a ritka homozigóta GG genotípus eloszlásában volt különbség az ALL-es és az egészséges csoport között ($p=4,49E-03$; OR=0,57 (0,38-0,84); power=0,51), azonban itt a genotípus rizikócsökkenéssel asszociált. A haplotípusok vizsgálatokor nominálisan szignifikánsnak csak az *MTHFD1* gén két haploblokkja (ACTA, GCCA) bizonyult. A kapcsoltsági egyenlőtlenségi (LD) értékek (D' , r^2) alapján az *MTRR* rs3776455 SNP erős kapcsoltságban van további 6 másik SNP-vel (rs2966952, rs1801394, rs326120, rs1532268, rs162036, rs10380).

BN-BMLA: A BN-BMLA módszer folyamatos fejlesztése révén lehetőség nyílt a III. vizsgálatban a bayes-i hatáserőségek elemzésére is, az ún. bayes-i esélyhányadosok, illetve megbízhatósági tartományok kiszámításával. A frekventista eredményekhez hasonlóan itt is az rs1076991 (*MTHFD1*) bizonyult a legrelevánsabbnak. A *posteriori* valószínűsége 0,65-nek adódott a teljes populációt vizsgálva, 0,53-nak B-ALL, 0,13-nak T-ALL és nullához közeli értéknek pedig a HD-ALL alcsoport elemzésekor. HD-ALL hajlamra azonban az *MTRR* gén (rs3776455, rs1532268) és a *TYMS* (1004474) gén SNP-i bizonyultak relevánsnak 0,76; 0,68; ill. 0,66 *posterior* valószínűséggel. A HD-ALL és a *GGH* génvariánsok (rs11545078, rs3780127) közötti relevancia valószínűségi értékei azonban igen alacsonyok voltak. Az asszociációk részletesebb vizsgálatokor a változók közötti különböző függőségi viszonyokat jellemeztük. Az *MTHFD1* 2 SNP-je, az rs2236225 és rs745686 az ALL hajlammal 0,71 együttes valószínűséggel asszociált, annak ellenére, hogy az erős relevanciájuk valószínűsége nullához közeli értéknek bizonyult, a tranzitív relevanciájuk számolásakor pedig 0,61 értéket kaptunk. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy a 2 SNP a legrelevánsabb rs1076991 (*MTHFD1*) polimorfizmuson keresztül fejt ki hatását a betegségre való hajlamban. Hasonló tendenciát figyelhetünk meg az *MTRR* génvariánsok körében is, ahol a vizsgált 6 *MTRR* SNP 0,65 valószínűséggel asszociál ALL-lel, de csak az rs3776455 SNP-nek van nagyobb relevanciája a betegséghez. Így valószínűsíthető, hogy ez utóbbi génvariáns befolyásolhatja elsősorban a

betegségre való hajlamot. A B-ALL alcsoport elemzésekor az *MTHFD1* gén 3 SNP-je (rs1076991, rs2236225 és rs745686) és az *SLCO1B1* (= *SLC21A6*) gén 7 SNP-je (rs10841769, rs11045818, rs11045819, rs11045823, rs17328763, rs4149056, rs4363657) asszociál a betegség hajlammal. A *TYMS* gén SNP-i viszonylag magas valószínűséggel (0,64; 0,74) mutattak asszociációt T-sejtes ALL-lel, amelyek közül egyedül az rs2853533-nek és rs1004474-nek volt mérsékelten magas az erős relevancia *posterior* valószínűsége, ami utalhat arra, hogy a *TYMS* gén polimorfizmusai ez utóbbi kettőn keresztül hathatnak. A HD populáció modellezésekor a fentiekhez hasonlóan az rs1004474 variánson keresztül a *TYMS* gén (0,72-0,77), az rs1532268-en és rs3776455-en keresztül pedig az *MTRR* gén (0,79-0,82) többi SNP-je asszociál a betegséggel (HD-ALL). Ugyanezen csoport interakciós viszonyait vizsgálva tiszta interakciós kölcsönhatást figyeltünk meg az rs1532268 (*MTRR*), rs1222809 (*DHFR*), rs11545078 (*GGH*), és rs3780127 (*GGH*) SNP-k és a betegség között. A számítások alapján azonban úgy tűnik, hogy ez a hatás csak az rs1004474 (*TYMS*) variánson keresztül érvényesülhet, tehát a betegség szempontjából függő változóvá csak akkor válnak, ha a *TYMS* rs1004474 megjelenik. Ez alapján különösen két SNP (az rs1004474 és a „szülő” SNP-je az rs1532268) együttes hatása befolyásolja a gyermekkori ALL-re való hajlamot. A teljes, B-, T-ALL populációkban csak néhány esetben és csak alacsony redundancia értékeket figyelhettünk meg pl. rs1076991-*MTHFD1* és rs3776455-*MTRR*; Redundancy Ratio (RR)=0,12. A HD-ALL alcsoport elemzése során az rs1004474-*TYMS*, rs1532268-*MTRR*, és rs1222809-*DHFR*, a *GGH* gén egyik, majd a másik SNP-jével alkottak egy interakciós csoportot (rs11545078: interaction ratio (IR)=1,14 és rs3780127: IR = 1,12). Továbbá a *GGH* génen belüli két SNP egymással redundánsnak bizonyult (RR=0,85). A jelenlegi vizsgálatot kiegészítettük a bayes-i hatáserősség elemzés eredményeivel is. A betegségre való hajlam és az rs1076991 (*MTHFD1*) SNP közötti szignifikáns asszociációt erősítette meg a bayes-i hatáserősség elemzés is. Az eredmények alapján mind az AG (CR=1,44-1,53), mind pedig a GG (CR=1,88-2,01) genotípusok növelhetik az ALL-re való hajlamot. A B-ALL-es, illetve a T-ALL-es alpopulációban is hasonló eredményt kaptunk (B-ALL: CR_{AG}=1,48-1,56; CR_{GG}=1,96-2,11; T-ALL: CR_{AG}=1,38-1,68; CR_{GG}=1,79-2,08), a hiperdiploid alcsoportban nem tapasztaltunk releváns eredményt ebben az esetben. Az rs3776455 (*MTRR*) polimorfizmus bayes-i hatáserősség elemzésekor az SNP-hez tartozó esélyhányados *posterior* eloszlásának több lokális maximuma adódott, ami több, nem átfedő megbízhatósági intervallumot eredményezett mindkét genotípus esetén (AG vs. AA: 0,62-0,71; 0,96-1,13; 1,22-1,30 és GG vs. AA: 0,34-0,60; 0,73-0,99; 1,25-1,39). Az AG genotípus esetén a modellek legnagyobb része (75%-a) semleges hatáserősséget eredményezett (CR=0,96-1,13),

ami egy viszonylag nagy *a posteriori* valószínűségű nem releváns hatásra utalt. A GG genotípus csoport fő esélyhányadosa a megbízhatósági tartományával ($CR_{GG}=0,34-0,60$) együtt relatíve nagy valószínűséggel annak védő hatását erősítette meg. Érdekes, hogy ugyanennél a valószínűségi modellnél, annak igen kis százalékában (9%) hajlamosító hatást ($CR_{GG}=1,25-1,39$) is megfigyelhettünk. Ez a jelenség azzal is magyarázható, hogy bizonyos körülmények (környezeti hatás) mellett egy komplexebb mechanizmus (más, eddig nem ismert genetikai hatások) alapján az adott genotípus rizikó tényezőként is viselkedhet a betegség patogenezisében. Ehhez hasonló bizonytalanságot figyeltünk meg B-ALL-es alcsoport eredményei esetében is, habár itt a bayes-i OR *posterior* eloszlásában csupán bimodális („kétcsúcsú”) eltérés mutatkozott. Az AG genotípus semleges hatása ($CR=0,99-1,04$) mérsékelten nagy valószínűséggel (0,75) fordult elő a B-ALL populációban, míg a GG esetén azonos valószínűséggel (0,75), de releváns védő hatást ($CR=0,53-0,54$) mutattunk ki. Az *MTHFD1* rs1076991 variánssal ellentétben az *MTRR* rs3776455-nél a HD-ALL elemzésekor releváns eredményeket kaptunk. Míg az AG genotípusú egyéneknél megnövekedett (1,19-1,27) ALL rizikót, addig a GG csoportban erős védő hatást (0,09-0,20) tapasztaltunk a betegséggel szemben. A korábbi eredményeknél, a HD csoport elemzésekor már említett két SNP (*TYMS* rs1004474 és *MTRR* rs1532268) együttes hatását vizsgáltuk tovább a bayes-i hatáserősség módszerével. Az rs1004474 SNP-nek elhanyagolható hatását tapasztaltuk az ALL hajlamra a heterozigóta ($CR_{GA}=0,75-0,97$) és vad homozigóta ($CR_{AA}=0,94-1,10$) csoportoknál is. Az rs1532268 polimorfizmus heterozigóta ($CR_{AG}=1,28-1,40$) és vad homozigóta ($CR_{GG}=0,97-1,72$) variánsai azonban enyhén emelkedett rizikótényezőként jelentek meg a HD-ALL-t illetően. A két SNP együttes esélyhányadosát domináns modellt (gyakori vs. heterozigóta+ritka) alkalmazva számoltuk ki. Az rs1004474 (AA) és rs1532268 (GG) két variánsának együttes hatása bizonyult a legnagyobb rizikójúnak (0,23) a HD-ALL hajlam vonatkozásában, amely érték meghaladta az A allél (*MTRR* rs1532268) egyéni hajlamosító hatását (0,14). A többváltozós értékeléskor egy sokkal sokrétűbb eredményt kaptunk: nevezetesen az *MTRR* rs1532268 A allélja védő hatást mutatott a *TYMS* rs1004474 AA variánst hordozó egyéneknél (közös OR=0,32).

4. Farmakogenetikai vizsgálat– *ABCCI*

Az antraciklines kezelés után, a záróvizsgálatkor mért linEF (bal kamrai szívfunkciót jellemző lineáris ejekciós frakció) értékek szignifikáns eltérést mutattak a genotípuscsoportok között. A TT típusú betegeknél jelentősen alacsonyabb (34%, $p=0,001$) volt a linEF érték, mint a másik két genotípuscsoportnál (CC-39,5%, CT-39,3%). Az utolsó szívultrahang mérés alapján számolt linEF értékeknél az rs3743527 TT genotípusúak linEF értéke szintén

alacsonyabb (35,3%) volt a vad homozigóta (38,7%) és heterozigóta (38,9%) egyedekénél. Ez a különbség nem tért el szignifikánsan, amit az alacsonyabb esetszám is okozhatott.

5. A kiválasztott polimorfizmusok túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálata a betegpopulációban

Frekventista: Az akut limfoid leukémiás populációban az alapvető statisztikai kérdések mellett az 5-éves össz (OS)-, és eseménymentes (EFS) túlélést, valamint az azt befolyásoló tényezőket - mint pl. SNP-k és klinikai paraméterek - is vizsgáltam. Az OS 85,5%, az EFS pedig 80,0% volt a teljes populációban. Nem találtam szignifikáns eltérést sem a nem, sem az alkalmazott protokoll, sem pedig a különböző immunfenotípusú csoportok között. Az 5-éves OS és EFS túlélési hányad azonban szignifikánsan különbözött (azonos $p=1E-07$) a különböző rizikócsoport besorolású betegek esetében (LR-92,6%, MR-87,0%, HR-62,3%, illetve LR-90,4%, MR-82,6%, HR-60,4). A vizsgált polimorfizmusok közül a túlélés szempontjából 4 gén 5 SNP-je (*CEBPA* rs10403561, rs874966, *STAT6* rs3024979, *BAX* rs11667351, *SHMT1* rs9909104) bizonyult nominálisan szignifikánsnak. Ezek közül is a *BAX* gén rs11667351 SNP-jének mutáns homozigóta (GG) formája nagyon alacsony (40%) túlélési aránnyal párosult ($p=0,001$). Megfigyeltük továbbá a folát anyagcserében szerepet játszó *SHMT1* gén rs9909104 polimorfizmusa esetében, hogy a mutáns CC (83,9%) genotípusú egyének OS esélye alacsonyabb volt a vad homozigóta TT (88,8%) genotípusúakhoz képest.

BN-BMLA: A bayes-i módszerrel is értékeltük a polimorfizmusok és a különböző kofaktorok hatását a túlélésre. Mindkét esetben (EFS és OS) a sejttípus ($P\sim 0,8$) és a rizikócsoport ($P\sim 1,0$) bizonyult erősen relevánsnak a túlélés szempontjából. Az erős relevancia kapcsolatát tovább elemezve, a sejttípus inkább tiszta interakcióban volt a túléléssel, mintsem direkt kapcsolatban. Ez azt jelenti, hogy a sejttípus csak akkor válik befolyásoló tényezővé, ha a rizikócsoport besorolás - mint komplexebb faktor, amit több klinikai paraméter, többek között a sejttípus is meghatároz - ismert. A vizsgált genetikai faktorok közül a *BAX* gén rs11667351 ($P_{EFS}=0,79$; $P_{OS}=0,87$) és a *CEBPA* gén rs10403561 ($P_{EFS}=0,63$; $P_{OS}=0,62$) polimorfizmusa bizonyult magas valószínűségi értékkel erősen relevánsnak. A *STAT6* rs703817 SNP-je csak az OS tekintetében volt erősen releváns ($P=0,67$). Redundancia egyik változó között sem lépett fel. Gyengébb kölcsönhatásokat azonban több faktor pl. *BAX-BCL2* SNP-k, Sejtípus-*STAT5A/CCR5/IKZF1*/nem között) esetében is megfigyelhettünk.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Kiemelkedően nagy, magyar, akut limfoid leukémiás populáción megmutattuk mindkét statisztikai technikával (frekventista, BN-BMLA) az *ARID5B* (rs10821936) és *IKZF1* (rs6964969) génvariánsok jelentőségét, azon belül is még kifejezettebb hatást kaptunk a B-ALL-re való hajlam tekintetében. A gének közötti interakciós hatásokat BN-BMLA-val elemezve azt tapasztaltuk, hogy az *IKZF1* és *ARID5B* gének egymástól függetlenül, míg az *ARID5B* és a *STAT3* gének együttesen vehetnek részt az ALL kialakulásában.
2. Az elemzések alapján kimutattuk a fiúgyermekek kétszer nagyobb rizikóját T-sejtes ALL kialakulására.
3. A hiperdiploid (HD) alpopulációt mindkét statisztikai módszerrel elemezve a *STAT3* gén rs12949918 polimorfizmusa bizonyult védő hatásúnak a betegség kialakulásával szemben. A bayes-i elemzéssel további génvariánsok, mint a *BCL2* (rs12457893), a *JAK1* (rs3212713), a *JAK3* (rs3212713) és a *CCR5* (rs3087253) relevanciáját is kimutattuk a HD-ALL-re való hajlam tekintetében. Ugyanezen alosztályon megfigyeltük az *AHR* (rs2282883) gén és a rizikócsoporthoz tartozó tiszta interakciót, ezáltal a polimorfizmus betegséghez köthető indirekt asszociációját is.
4. Megfigyeltük továbbá a nem és a *STAT6* (rs703817), a *BCL2* (rs4987845), illetve az *NQO2* (rs1143684) polimorfizmusok közötti interakciós kölcsönhatást is, amely az ALL rizikó függvényében egy szintén nem-által befolyásolt mechanizmust prediktálhat.
5. A haplotípus-elemzés során az *IKZF1* gén két haploblokkja közül a TGGGG haplotípus fokozott (1,5x), míg a TGATA blokk alacsonyabb (0,7x) rizikóval asszociált.
6. A folát anyagcsere egyik legfontosabb, általunk is vizsgált génei közül az rs1076991 (*MTHFD1*) variáns allélja (G), különösen homozigóta formában fokozta a betegségre, azon belül is a B-sejtes-ALL-re való hajlamot. Az *MTRR* gén rs3776455 SNP-jének homozigóta mutáns (GG) genotípusa és a csökkent HD-ALL rizikó között találtunk szignifikáns

asszociációt. Ezeket az eredményeket a BN-BMLA elemzéssel is megerősítettük. A két SNP együttes vizsgálatakor enyhe redundanciát tapasztaltunk.

7. Az *MTRR* többi variánsát is megvizsgálva az rs1532268 SNP esetében egy interakciós hatásra bekövetkező funkcióváltozást tapasztaltunk. Az rs1532268 SNP vad allélját (A) hordozók és a HD-ALL tekintetében hajlamosító hatást detektáltunk, amely SNP allélja a *TYMS* gén rs1004474 (AA) ritka variánsával együtt vizsgálva már védő hatást mutatott.

8. Az *ABCC1* génnek a kardiotoxicitás kialakulásában betöltött szerepét vizsgálva azt találtuk, hogy az *ABCC1* rs3743527 TT genotípusú betegek lineáris ejekciós frakciója a záróvizsgálatkor alacsonyabb volt. Eredményeink alapján az *ABCC1* megváltozott működése közrejátszhat az antraciklinek kardiotoxikus mellékhatásában, mivel az *ABCC1* genetikai variánsa összefüggött a csökkent szívfunkcióval.

9. A populáció 5-éves össz-(85,5%), és eseménymentes (81%) túlélésének vizsgálatakor nominálisan szignifikáns értékeket kaptunk, amelyek közül a *BAX* gén rs11667351 SNP-jének mutáns homozigóta (GG) formája alacsonyabb össztúlélési eséllyel (40%) párosult. Azonos tendenciát figyeltünk meg az eseménymentes túlélés és a génvariánsok közötti összefüggések vizsgálatakor is.

10. Elsőként és sikerrel alkalmaztuk gyermekkori akut limfoid leukémiás populáción a munkacsoport által fejlesztett Bayes-háló alapú bayes-i többszintű relevanciaanalízis adatelemző technikáját a frekventista statisztika kiegészítő módszereként.

Ezen eredmények sokszínűsége alátámaszthatja azt az elgondolkodást, hogy az ALL tulajdonképpen több különböző betegség összessége, melyek hasonló tünetegyüttessel és terápiás lehetőséggel bírnak, patogenezisük azonban eltér. A genetikai, farmakogenetikai vizsgálatok nagymértékű előrelépést jelentenének a különböző ALL altípusok genetikai hátterének megfejtésében és így a személyre szabott terápia kialakításában.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

I. Az értekezésben összefoglalt eredeti közlemények:

Lautner-Csorba O, Gézsi A, Erdélyi DJ, Hullám G, Antal P, Semsei AF, Kutszegi N, Kovács GT, Szalai Cs. (2013) Roles of genetic polymorphisms in the folate pathway in childhood acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian relevance and effect size analysis. PLoS One, 8: e69843. IF: 3,730

Lautner-Csorba O, Gézsi A, Semsei Á, Antal P, Erdélyi DJ, Schermann G, Kutszegi N, Csordás K, Hegyi M, Kovács G, Falus A, Szalai C. (2012) Candidate gene association study in pediatric acute lymphoblastic leukemia evaluated by Bayesian network based Bayesian multilevel analysis of relevance. BMC Med Genomics, 5:42. IF: 3,466

Semsei AF, Erdelyi DJ, Ungvari I, Csagoly E, Hegyi MZ, Kizsel PS, **Lautner-Csorba O**, Szabolcs J, Masat P, Fekete G, Falus A, Szalai C, Kovacs GT. (2012) ABCC1 polymorphisms in anthracycline-induced cardiotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Cell Biol Int, 36: 79-86. IF: 1,640

Az értekezésben felhasznált közlemények kumulatív impakt faktora: 8,836

II. Egyéb – az értekezésben fel nem használt – eredeti közlemények:

Rausz E, Szilagyi A, Nedoszytko B, Lange M, Nidoszytko M, **Lautner-Csorba O**, Falus A, Aladzsi I, Kokai M, Valent P, Marschalko M, Hidvegi B, Szakonyi J, Csomor J, Varkonyi J. (2013) Comparative analysis of IL6 and IL6 receptor gene polymorphisms in mastocytosis. Br J Haematol, 160: 216-219. IF: 4,942

Hegyi M, Gulácsi A, Csagoly E, Csordás K, Eipel OT, Erdélyi DJ, Müller J, Nemes K, **Lautner-Csorba O**, Kovács GT. (2012) Clinical relations of methotrexate pharmacokinetics in the treatment for pediatric osteosarcoma. J Cancer Res Clin Oncol, 138: 1697-1702. IF: 2,914

Semsei Á, **Lautner-Csorba O**, Kutszegi N, Schermann G, Eipel O, Falus A, Szalai C, Kovács GT, Erdélyi DJ. (2012) A gyermekkori akut limfoid leukémia farmakogenetikája egy gyógyszer mellékhatás példáján. Magy Tud, 173: 90-97.

Összes publikáció kumulatív impakt faktora: 16,692

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás vagyok Dr. Szalai Csaba témavezetőmnek, aki mindvégig segítette kutatásaimat az évek során, és biztosította a munkám előrehaladásához szükséges feltételeket.

Szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Falus Andrásnak, aki lehetővé tette számomra, hogy elkezdhessem kutatói munkámat a Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt-, és Immunbiológiai Intézetében, továbbá az Intézet jelenlegi vezetőjének Prof. Dr. Buzás Editnek, aki az elkezdett munkámban továbbra is támogatott.

Szeretném megköszönni munkatársamnak, Félné Dr. Semsei Ágnesnek a szakmai segítségét és a baráti beszélgetéseket.

Tudományos munkám nem lehetett volna kerek egész, a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Méréstechnika és Információs Rendszerek Tanszékén dolgozó Dr. Antal Péter docens úr, valamint Gézsi András és Hullám Gábor, kutatómérnökök segítségével nélkül.

Vizsgálataim alapját az évek óta bővülő biobank adta, melynek alapítása és rendszerezése Dr. Erdélyi Dániel, a Semmelweis Egyetem II.sz. Gyermekgyógyászati Klinikáján dolgozó és kutató szakorvosának nevéhez fűződik. Köszönöm Dr. Kovács Gábornak, a Semmelweis Egyetem II.sz. Gyermekgyógyászati Klinika osztályvezető főorvosának, hogy biztosította a klinikai kooperáció és szakmaiság lehetőségét. Köszönöm Dr. Hegyi Mártának és Dr. Csordás Katalinnak, hogy hasonló kutatómunkát végző orvosként sok klinikai kérdésben a segítségemre voltak. Köszönöm Sándorné Vángor Mónikának, Hadadi Évának, Schermann Gézának, Ungvári Ildikónak és Virág Viktornak a szakmai és emberi támogatását és hogy velük igazi kutatói csapatban dolgozhattam. Hálával tartozom továbbá az Intézet összes munkatársának, akik a kedves, baráti légkör biztosításával derűssé tették a mindennapokat. Külön is köszönöm Dr. Sente-Pásztói Máriának, Dr. Éder Katalinnak, Dr. Pál Zsuzsannának, Dr. Lajkó Eszternek, Láng Júliának és Pálóczi Krisztinának.

Tiszta szívből köszönöm Férjemnek, Gerinek, hogy egész idő alatt biztos támaszom, segítőtársam volt, és hogy értékes szakmai tanácsaival hozzájárult a kutatói munkám egészségéhez. Végül pedig szeretettel és nagy hálával mondok köszönetet Szüleimnek, Testvéremnek, Családtagjaimnak, hogy soha el nem lankadó hittel, a Gondviselő szeretetével támogattak munkámban és eddigi életemben.

Köszönöm a munka elvégzéséhez nyújtott támogatást az NKTH (Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal) TECH_08-A1/2-2008-0120 által támogatott Genagrid konzorciumnak és a Richter Gedeon Centenárium Alapítványnak.

