

**Az  $IgV_H$  gének szomatikus hipermutációja és az  
aberráns szomatikus hipermutációs aktivitás  
BCL2-negatív folliculáris lymphomákban**

Doktori tézisek

**Dr. Gagyí Éva**

Semmelweis Egyetem  
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Matolcsy András, egyetemi tanár, MTA doktora

Hivatalos bírálók:

Dr. Andrikovics Hajnalka, Ph.D

Dr. Kiss András, egyetemi docens, Ph.D

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Kulka Janina, egyetemi tanár, Ph.D

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Csóka Mónika, egyetemi adjunktus, Ph.D

Dr. Mikala Gábor, főorvos, Ph.D

**Budapest, 2012**

## I. BEVEZETÉS

A folliculáris lymphoma (FL) a diffúz nagy B-sejtes lymphomát (DLBCL) követően a második leggyakoribb lymphoma típus. A non-Hodgkin lymphomák (NHL) 30-35%-át teszi ki a fejlett országokban és a WHO (World Health Organization) lymphoid szövetek tumoros megbetegedéseinek osztályozásában önálló entitásként szerepel.

Az FL-t centrocyták és centroblastok alkotják, és ezek aránya alapján 4 csoportot különböztetünk meg: grade 1 (centrocyták dominálnak), grade 2 (centrocyták és centroblastok vegyesen fordulnak elő), grade 3A (túlnyomórészt centroblastok) és grade 3B (szinte kizárólag centroblastok alkotják, összefüggő mezőkben). A FL-k mintegy 85-90%-ában kimutatható a t(14;18)(q32;q21) kromozómatranszlokáció, amelyben a *BCL2* gén egy része transzlokálódik a 14-es kromozómán elhelyezkedő immunglobulin nehézlánc génhez (*IgH*). A kapcsolódás következtében a *BCL2* gén az *IgH* gén „enhancer” régiójának szabályozása alá kerül, ami a *BCL2* anti-apoptotikus fehérje fokozott expressziójához vezet, ez pedig gátolja az apoptosist és a tumorsejtek élettartamának meghosszabbításával hozzájárul az FL kialakulásához. A tumorsejtek immunfenotípusa, az immunglobulin gének szomatikus hipermutációja (SHM), valamint a SHM-hoz szükséges magas aktiváció-indukált citidin deamináz (AID) expresszió alapján a folliculáris lymphomát a nodális vagy extranodális nyirokszövetek centrum germinativumából (CG) kiinduló B-sejtes malignus daganatnak tartják.

A folliculáris lymphomák 10-15%-ában nem mutatható ki *BCL2* fehérje expresszió, és az esetek kb. 5%-ában a *BCL2* gén érintettsége sem igazolható. A szakirodalomban leírtak alapján a *BCL2*-negatív FL sokszor morfológiájuk, molekuláris és genetikai jellemzőik tekintetében elkülönülnek a

klasszikus FL-tól. Ezek a *BCL2* fehérjét és *BCL2* gént nem expresszáló FL-k leggyakrabban a grade 3 kategóriába tartoznak, habár alacsonyabb grade-ű esetekben is leírták. Ezek az esetek gyakran hordoznak *BCL6* gén transzlokációkat, a 3-as kromoszóma triszómiáját, valamint 18 és 18q kromozómanyerést. Nem tisztázott továbbá az a kérdés sem, hogy ezen esetek CG vagy post-CG sejtekből erednek-e. Az immunfenotípus sajátosságok (CD10<sup>-</sup>, MUM1<sup>+</sup>) és a gyakori *BCL6* génátrendeződések alapján felvetődött, hogy a *BCL2*-negatív FL-k sejtjei ún. „late-stage”-CG vagy post-CG eredetűek és közelebb állnak a DLBCL-hez, mint a klasszikus FL-hoz.

A szomatikus hipermutáció (SHM) elsődleges célpontja a centrum germinativum immunglobulin génjeinek variábilis régiója. A folyamat során pontmutációk, ritkábban deléciók és duplikációk keletkeznek, melyek hozzájárulnak a magas affinitású antitestek képződéséhez és a humorális immunválasz éréséhez.

A genom instabilitás központi szerepet tölt be a humán daganatok kialakulásában és progressziójában. A nukleotid szinten megnyilvánuló genom instabilitás egy újonnan leírt formája az aberráns szomatikus hipermutáció (ASHM), ami normál B-sejt érés során lezajló szomatikus hipermutáció (SHM) meghibásodásának tekinthető. Az ASHM során a hipermutációs aktivitás áttérjed más, a fiziológiás célgéneken kívüli lokuszokra is, mint pl. a *BCL2*, *BCL6*, *c-MYC*, *PAX-5*, *RhoH* és *PIM-1* proto-onkogének. Ezen mutációs mechanizmust a malignus transzformáció folyamatában részt vevő fontos tényezőnek tartják. Az ASHM-t a DLBCL-k mintegy 50%-ában, a *BCL2*-pozitív-FL-ban, mediastinális nagy B-sejtes lymphomában, AIDS-asszociált NHL 20%-ban, primer központi idegrendszeret érintő DLBCL-ben, primer cutan marginalis zóna B-sejtes lymphomában és MALT lymphomában egyaránt leírták. Ez a folyamat szerepet játszik továbbá a FL-k és a CLL-k

transzformációjában magasabb malignitású DLBCL-ba. A BCL2-negatív FL-k esetében jelenlétéről a szakirodalomban nincs adat.

Az aktiváció-indukált citidin deamináz (AID) esszenciális szerepet tölt be az SHM és az izotípusváltás (CSR) folyamatában. Működése során a deoxycitidin (dC) deaminálása történik deoxy-uridinné (dU), ami a DNS molekulában egy guanin-uracil (G-U) bázispárosodási hibát (mismatch) eredményez. E mismatchek feloldására több mechanizmus lép életbe, és ezek jellegétől függően különböző típusú szomatikus mutációk vagy DNS törések létrejötte lehet az AID működésének eredménye.

Az AID expressziója a normál B-sejtérés során alapvető immunológiai folyamatokban (SHM és CSR) tölt be központi szerepet és kizárólag erre korlátozódik. Következésképpen az AID konstitutív expressziója daganatok kialakulásához vezet genetikai instabilitást okozva a genomban mutációk és illegitim DNS rekombinációk kialakulásán keresztül. Az AID konstitutív expresszióját leírták klasszikus FL-ban, DLBCL-ben, Burkitt lymphomában, mediastinális nagy B-sejtes lymphomában és MALT lymphomában. Az AID expresszió mértékéről BCL2-negatív FL-k esetében az irodalomban nincs adat.

## II. CÉLKITŰZÉSEK

Számos tanulmány utal arra, hogy a BCL2 fehérjét és a *BCL2* gént nem expresszáló folliculáris lymphomák eltérő morfológiai, genetikai és molekuláris sajátosságaik alapján különböznek a BCL2-pozitív FL-tól. Egyes szerzők a WHO klasszifikáció önálló entitásaként való besorolását javasolják.

- Munkánk során célul tűztük ki a BCL2-negatív folliculáris lymphomák tumorsejt eredetének meghatározását az expresszált *IgV<sub>H</sub>* gének mutáció analízisével.
- A *c-MYC*, *PAX-5* és *RhoH* gének mutációs státuszának feltárásával arra kerestük a választ, vajon az aberráns szomatikus hipermutáció (ASHM) azonos mértékben érinti-e a BCL2-pozitív és BCL2-negatív folliculáris lymphomákat.
- Az aktiváció-indukált citidin deamináz (AID) fehérjének a BCL2-negatív FL kialakulásában betöltött szerepére génexpressziós illetve fehérje szintű vizsgálatokkal kívántunk választ kapni; a kapott eredményeket összehasonlítva a BCL2-pozitív esetekben találtakkal.

### III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### III. 1. Szövetminták

Vizsgálatainkhoz tizennyolc folliculáris lymphomával diagnosztizált beteg biopsziás nyirokcsomó mintáit választottuk ki. Minden esetben elegendő fagyasztott szövet állt rendelkezésünkre a molekuláris analízisekhez, valamint elegendő formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövet az immunhisztokémiai és a fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) vizsgálatok elvégzéséhez. A diagnózis a WHO lymphoid szövetek tumoros megbetegedéseinek osztályozására vonatkozó kritériumainak megfelelően, hisztopatológiai, immunfenotípus, FISH és molekuláris vizsgálatok alapján történt. Kontrollként nyolc egészséges személy perifériás vérért valamint öt reaktív folyamatot mutató nyirokcsomó csíráközpont (centrum germinativum) sejtjeit használtuk.

#### III. 2. DNS szintű vizsgálatok

Tizennyolc FL fagyasztott nyirokcsomó mintából DNS-t izoláltunk majd a vizsgálatainknak megfelelő specifikus génrégiókat amplifikáltuk. Az *IgV<sub>H</sub>* gének szomatikus hipermutációjának (SHM) a jellemzéséhez a PCR amplikonokat klónoztuk, majd a megfelelő inzertet tartalmazó plazmid DNS-t szekvenáltuk. PCR amplifikációt direkt szekvenálás követte az aberráns szomatikus hipermutációs (ASHM) aktivitás vizsgálata során a *c-MYC*, *PAX-5* és *RhoH* gének esetében. A szekvencia analízist az IMGT/V-QUEST (International imMunoGeneTics information System, <http://imgt.cines.fr>) és az NCBI (National Centre for Biotechnology Information) GenBank adatbázisok segítségével végeztük.

#### III. 3. RNS szintű vizsgálatok

Az aktiváció-indukált citidin deamináz (AID) mRNA expresszió meghatározásának céljából teljes RNS izolálást végeztünk 8 BCL2-negatív FL és 7 BCL2-pozitív FL fagyasztott nyirokcsomó mintából. Ugyancsak a génexpressziós vizsgálatok tárgyát képezték az öt reaktív folyamatot mutató nyirokcsomóból lézer mikrodisszekcióval szeparált csíráközpont sejtek, melyeket pozitív kontrollként; valamint a 8 egészséges donor perifériás vére, melyeket negatív kontrollként használtunk. Valamennyi minta esetében a reverz transzkripciót követő valós-idejű kvantitatív PCR (Q-RT-PCR) analízissel, a  $\Delta\Delta C_T$  módszert alkalmazva végeztük el az AID mRNA mennyiségi meghatározását.

#### III. 4. Fehérje szintű vizsgálatok

Eredményeink fehérje szinten történő megerősítése céljából immunhisztokémiai vizsgálatot végeztünk mind a 18 FL esetében. Az immunreakciókhoz biotinmentes konjugált polimer rendszert használtunk. A preparátumokról digitális mikroszkóp segítségével készítettünk felvételeket.

## IV. EREDMÉNYEK

### IV. 1. Az *IgV<sub>H</sub>* gének szekvencia analízise

Tizenhárom esetben állt rendelkezésünkre PCR termék, 5 minta esetében (3, 4, 8, 13 és 18) a PCR amplifikáció eredménytelen volt. Meghatároztuk a legközelebbi csírvonal *V<sub>H</sub>* géneket, a szekvencia homológiát valamint a mutációs frekvencia tartományokat. Annak megállapítására, hogy az FL tumorsejtek az antigén szelekcióra vonatkozóan pozitív szelekciós hatásnak voltak-e kitéve, az *IgV<sub>H</sub>* klónok szekvenciáinak szomatikus mutációs elemzését végeztük el. A Chang és Casali féle binomiális disztribúciós modell minden szekvencia esetében szignifikánsan kevesebb ( $P < 0.05$ ) R mutációt mutatott ki az FR régiókban, és többet a CDR régiókban, mint amennyi csupán a véletlennek köszönhetően várható lett volna. A Lossos és munkatársai által javasolt multinomiális disztribúciós modellel hasonlóan statisztikailag szignifikáns értékeket kaptunk, kivéve egy esetben. Összességében eredményeink arra utalnak, hogy ezekben a klónokban antigén szelekció zajlott.

### IV. 2. A *c-MYC*, *PAX-5* és *RhoH* gének szekvencia analízise

Nyolc BCL2-negatív FL és hét BCL2-pozitív FL esetben végeztünk mutációs analízist. Az általunk nyert *c-MYC* exon 1 és exon 2, *PAX-5* valamint *RhoH* génszekvenciákat az NCBI GenBank adatbázisban található, egészséges donoroktól származó referencia szekvenciákhoz illesztettük, illetve a mutációk elhelyezkedését ezen referenciák alapján határoztuk meg. A mutáció analízisből kizártuk a már leírt polimorfizmusokat, illetve azokat a mutációkat, amelyek különálló esetekben (különböző mintákban) is megjelentek, mivel ezek

szomatikus eredetének valószínűsége rendkívül kicsi; feltehetően polimorfizmusok. A három vizsgált génben összesen 7 mutációt találtunk a BCL2-negatív és további 7 mutációt a BCL2-pozitív FL-k esetében. Az aberráns szomatikus hipermutációs mintázat hasonló az SHM fiziológias célgénnek esetében leírt mutációs mintázathoz. A mutációk eloszlása közel azonos volt a 2 vizsgált csoportban: túlnyomórészt pontmutációkat találtunk, összesen 2 inszerciót, deléciót azonban egyik esetben sem tudtunk kimutatni. A mutációs mintázat részletesebb analízise a tranzíciók (C>T, T>C, G>A) és a transzverziók (T>A, A>T, C>G, G>C, C>A) egyenlő eloszlását mutatta. A G+C párokat érintő mutációk az A+T párokat érintő mutációkhoz képest túlsúlyban voltak: 5/1 a BCL2-pozitív és 3/2 a BCL2-negatív FL-k esetében. A mutációs forrópontként definiált RGYW szekvencia (R=A/G, Y=C/T, W=A/T) motívumnak a vártnál alacsonyabb érintettségét észleltük. BCL2-pozitív FL esetén hat egyszerű nukleotid szubsztitúció közül egy esetben, valamint BCL2-negatív FL-ban ötből három esetben.

### IV. 3. Az AID mRNS expressziós szintjének meghatározása

A BCL2-negatív és BCL2-pozitív FL *AID* expressziójának összehasonlítása céljából 15 folliculáris lymphoma (8 BCL2-negatív és 7 BCL2-pozitív) esetében határoztuk meg az AID mRNS szinteket. Valamennyi érték három párhuzamos reakció átlagértékét reprezentálja. Számításainkat a  $\Delta\Delta C_T$  módszert alkalmazva végeztük. Az értékek normalizálására a  *$\beta$ -actin* belső kontrollgént használtuk. A pozitív kontrollként használt centrum germinativum sejtekben magas AID mRNS expressziót mutattunk ki, míg a negatív kontrollként szereplő perifériás vér mintákban, a vártnak megfelelően alig volt

detektálható az AID expresszió szintje. A két FL csoport átlagolt relatív AID expressziós szintjei között nem észleltünk statisztikailag szignifikáns különbséget ( $p > 0.05$ ).

#### IV. 4. Az AID kimutatása fehérje szinten

Tizennyolc formalinban fixált, paraffinba ágyazott FL minta esetében határoztuk meg az AID fehérje expresszióját. Nem észleltünk szignifikáns eltéréseket a BCL2-negatív és BCL2-pozitív FL-k fehérje expressziós értékei között. A tumorsejtek többsége jelentős AID expresszióval rendelkezett, ami döntően citoplazmatikus lokalizációjú volt. Nem észleltünk összefüggést az AID mRNS és fehérje expressziós szintek között, ugyanakkor a FL grade, a BCL2 jelenléte vagy hiánya és az AID expresszió között sem mutattunk ki korrelációt. Hasonlóan az ASHM mutáció analízis és az AID mRNS és fehérje expressziós szintek meghatározásának eredményei alapján a mutációk száma és az AID expresszió mértéke között összefüggést nem találtunk. A vizsgált esetek alacsony száma miatt azonban nem vonhatunk le messzemenő következtetéseket.

## V. MEGBESZÉLÉS

A t(14;18)-as kromozómatranszlokáció és a BCL2 fehérje overexpresszió szoros összefüggést mutat a folliculáris lymphomák kialakulásával, következésképpen ezen elváltozások hiánya egy B-sejtes tumorban eltérő patogenezisre, eltérő transzformációs útvonalra és egy különálló entitásra utalhat.

Munkánk során a FL olyan lehetséges homogén altípusát karakterizáltuk, amelyben sem a *BCL2* gén transzlokációja, sem a BCL2 fehérje overexpressziója nem volt kimutatható. Ezen lymphomák CG eredetét alátámasztja a folliculáris növekedési mintázat, a tumorsejtek BCL6 és CD10 expressziója (kivéve 2 esetet), valamint a CD21 és CD23-pozitív folliculáris dendritikus hálózat jelenléte a neoplastikus folliculusokban. Morfológiai vizsgálataink során a kiválasztott BCL2-negatív esetek között két grade 2 és kilenc grade 3A folliculáris lymphoma szerepelt, grade 3B FL nem állt rendelkezésünkre. Tizenegy esetünk közül csak 3 esetben találtunk *BCL6* gén érintettséget, ellentétben számos tanulmánnyal, ahol a BCL2-negatív FL szignifikáns hányadában volt a *BCL6* gén elváltozás kimutatható. A BCL2-pozitív kontrollcsoportból egy esetben volt kimutatható a *BCL6* érintettsége.

A folliculáris lymphomákra jellemző az immunglobulin gének szomatikus hipermutációja. A BCL2-negatív FL tumorsejtek *IgV<sub>H</sub>* génjeinek szekvencia analízise során ongoing jellegű SHM-t írtunk le, amely a tumorklónok intraklonális heterogenitásához vezetett. Az *IgV<sub>H</sub>* gén régiók átlagos mutációs frekvenciája a BCL2-negatív esetekben 12.76% (2.41% és 28.62% közötti tartományban) volt, ami hasonló a 11.9%-hoz (9.79% és 16.12% között) amit BCL2-pozitív eseteinkben találtunk. A binomiális és a multinomiális

disztribúciós modellt alkalmazva a mutációs mintázat és a mutációk eloszlása egyaránt arra utaltak, hogy az FL tumorsejtek az antigén szelekcióra vonatkozóan pozitív szelekciós hatásnak voltak kitéve. Összességében elmondhatjuk, hogy a *BCL2* gén és fehérje érintettsége nélkül kialakuló folliculáris lymphomák csíráközpont eredetű B-sejtekből származnak, és ezen homogén csoport nem különbözik a klasszikus BCL2-pozitív folliculáris lymphomáktól az *IgV<sub>H</sub>* gének mutációs mintázata alapján.

Egy széles körben elfogadott modern hipotézis alapján a folliculáris lymphomák patogenezise egy többlépcsős folyamat. A rendelkezésünkre álló adatok alapján a FL a csontvelőben keletkezik, mivel a betegség alapjául szolgáló t(14;18) genetikai elváltozás ott alakul ki. Ennek következménye a BCL2 fehérje konstitutív expressziója, ami a tumorsejtek immortalizációjához vezet. Szükség van ezenfelül az antigén stimulációra és az antigén-receptor mediálta jelátvitelre is a daganatos transzformációhoz. Zha és mts. fehérje microarray analízissel arra a következtetésre jutottak, hogy a *BCL-X<sub>L</sub>* vagy AKT/BAD jelátviteli út szerepelhet mint alternatív anti-apoptotikus szignál a BCL2 fehérje hiányában, a mi munkánk pedig kiegészítene ezt a felvetést azzal, hogy a CG mikrokönyezet és az antigén szelekció is fontos szerepet játszik a BCL2-negatív FL-ek kialakulásában. Eredményeink arra utalnak, hogy habár a BCL2-negatív és BCL2-pozitív folliculáris lymphomák a lymphomagenézis kezdetén más-más molekuláris eltérésekkel rendelkeznek, mégis a prekursor-sejteknek egyaránt szükségük van a nyirokcsomói mikrokönyezet ingereire, valamint az Ig-receptorkomplex mediálta antigén szelekcióra a malignus transzformációhoz.

A B-sejt érés centroblast stádiumában zajlik a szomatikus hipermutáció, ehhez szükséges az AID jelenléte is. Az egészséges B-sejt érés esetén az AID

expresszió szigorúan szabályozott és a CG B-sejtekre korlátozódik. Magas AID expressziót írtak le BCL2-pozitív FL-ben, DLBCL-ben, Burkitt lymphomában, mediastinális nagy B-sejtes lymphomában és MALT lymphomában, következésképpen az AID konstitutív expressziója hozzájárulhat a NHL-k képződéshez. Annak eldöntése érdekében, hogy van-e összefüggés a BCL2-negatív FL kialakulása és az AID expresszió között, 8 BCL2-negatív FL AID expresszióját vizsgáltuk és az eredményeket összehasonlítottuk 7 BCL2-pozitív FL AID expressziós szintjével. A lymphomás esetek különböző mértékben expresszálták az AID-et, azonban többségükben az expressziós szintek nem érték el a kontrollként használt normál CG sejtekben mért értékeket. A tumorsejtek csíráközpont eredetére utal a magas AID expresszió, akárcsak az immunoglobulin gének szomatikus hipermutációja. Ez összhangban van azon korábbi megállapítással, hogy a FL esetén az AID expresszió és az Ig gének ongoing jellegű szomatikus hipermutációja összefüggést mutat. Az a tény, hogy munkánk során nem mutattunk ki szignifikáns AID mRNS és fehérje expressziós különbségeket a BCL2-pozitív és BCL2-negatív FL-k között tovább erősíti azon feltevésünket, hogy ez a két variáns egyazon entitáshoz tartozik.

Az SHM és az AID aktivitás egyes proto-onkogéneknél, mint *PIM-1*, *PAX-5*, *RhoH* és *c-MYC*, kialakult mutációkért is felelős, ezáltal hozzájárul a különböző B-sejtes lymphomák kialakulásához. A BCL2-negatív FL-ban talált ASHM mutációs arány alacsonyabb mint a DLBCL-ben leírtak, és megegyezik a klasszikus BCL2-pozitív FL-ban a szakirodalomban, valamint az általunk leírtakkal. Ezen eredmény alapján elmondhatjuk, hogy úgy a BCL2-negatív, mint a BCL2-pozitív FL-t alacsony ASHM aktivitás jellemzi, és ezt nem befolyásolja a BCL2 jelenléte vagy hiánya.

## VI. KÖVETKEZTETÉSEK

- Eredményeink arra utalnak, hogy folliculáris lymphoma a *BCL2* gén érintettsége nélkül is kialakulhat, annak ellenére, hogy a BCL2 fehérje overexpressziót kritikus patogenetikai faktornak tartják ezen lymphoma entitás kifejlődésében.
- Az általunk vizsgált *BCL2* gén és BCL2 fehérje érintettsége nélkül kialakult FL tumorsejtek *IgV<sub>H</sub>* génjeinek szekvencia analízise során ongoing jellegű SHM-t találtunk, továbbá alacsony ASHM aktivitás és magas AID expresszió volt jellemző. Ezen eredmények megegyeznek a klasszikus BCL2-pozitív FL-ban leírtakkal.
- Eredményeink során arra a következtetésre jutottunk, hogy habár a BCL2-negatív és BCL2-pozitív folliculáris lymphomák a lymphomagenezis kezdetén más-más molekuláris eltérésekkel rendelkeznek, mégis a prekursor-sejteknek egyaránt szükségük van a nyirokcsomói mikroökönyezet ingereire és az Ig-receptorkomplex mediálta antigén szelekcióra a malignus transzformációhoz.
- Eredményeink alátámasztják azt a hipotézist, mely szerint a BCL2-pozitív és BCL2-negatív FL (grade 1-3A) hasonló morfológiával, immunfenotípussal, mutációs mintázattal és AID aktivitással rendelkező egyazon entitás két altípusa, amelyek kialakulásánál az eltérő kezdeti lépéseket számos további közös molekuláris útvonal követ.

## VII. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

### VII. I. Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. Rajnai H, Bödör Cs, Balogh Zs, **Gagyi É**, Csomor J, Krenács T, Tóth E, Matolcsy A. Impact of the reactive microenvironment on the bone marrow involvement of follicular lymphoma. *Histopathology*. 2012 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2012.04187.x **IF: 3.569**
2. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bödör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. Somatic hypermutation of *IgV<sub>H</sub>* genes and aberrant somatic hypermutation in follicular lymphoma without *BCL-2* gene rearrangement and expression. *Haematologica*, 2008;93:1822-1828. **IF: 5.978**
3. Balogh Zs, Reiniger L, Deák L, Bödör Cs, Csomor J, Szepesi Á, **Gagyi É**, Kopper L, Matolcsy A. *IgV<sub>H</sub>* gene mutation status and genomic imbalances in chronic lymphocytic leukemia with increased prolymphocytes (CLL/PL). *Hematological Oncology*, 2007;25: 90-95. **IF: 2.180**

### VII. II. Egyéb témában megjelent közlemények

1. Castellanos KJ, **Gagyi É**, Kormos B, Valyi-Nagy K, Voros A, Shukla D, Horvath S, Slavin KV, Valyi-Nagy T. Increased Axonal Expression of Nectin-1 in Multiple Sclerosis Plaques. *Neurological Sciences*, 2012 DOI: 10.1007/s10072-012-1026-9. **IF: 1.22**
2. **Gagyi É**, Kormos B, Castellanos K, Valyi-Nagy K, Korneff D, LoPresti P, Woltjer R, Valyi-Nagy T. Decreased oligodendrocyte nuclear diameter in Alzheimer's disease and Lewy body dementia. *Brain Pathology*, 2012 DOI: 10.1111/j.1750-3639.2012.00595.x. **IF: 4.741**
3. Balogh Z, Reiniger L, Rajnai H, Csomor J, Szepesi A, Balogh A, Deák L, **Gagyi É**, Bödör C, Matolcsy A. High rate of neoplastic cells with



genetic abnormalities in proliferation centers of chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, 2011;52(6):1080-4. **IF: 2.492**

4. Dosa S, Castellanos K, Bacsa S, **Gagyi É**, Kovacs SK, Valyi-Nagy K, Shukla D, Dermody TS, Valyi-Nagy T. Chronic progressive deficits in neuron size, density and number in the trigeminal ganglia of mice latently infected with herpes simplex virus. *Brain Pathology*, 2011;21(5):583-93. **IF: 4.741**
5. **Gagyi É**, Horváth E, Bődör Cs, Timár B, Matolcsy A, Pávai Z. Prognostic significance and detection of the Internal Tandem Duplication of the FLT3 gene in acute myeloid leukemia. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 2006;47:331-337.

### VII. III. Könyvfejezet

Valyi-Nagy K, Voros A, **Gagyi É**, Valyi-Nagy T. (2011) Increased resistance of vasculogenic mimicry-forming uveal melanoma cells against cytotoxic agents in three-dimensional cultures. In: Research on Melanoma - A Glimpse into Current Directions and Future Trends. Murph Mandi (Ed.), InTech, Vienna, Austria. ISBN: 978-953-307-293-7.

### VII. IV. Idézhető absztraktok

1. Rajnai H, Bődör Cs, Balogh Zs, **Gagyi É**, Csomor J, Krenács T, Tóth E, Matolcsy A. (2011) Impact of the microenvironment during bone marrow involvement of follicular lymphomas. *Virchows Archive*, 459: p.S33. **IF: 2.336**
2. Balogh Zs, Reiniger L, Rajnai H, Csomor J, Szepesi Á, Balogh A, Deák L, **Gagyi É**, Bődör Cs, Matolcsy A. (2009) High rate of genetic abnormalities of neoplastic cells in pseudofollicles of CLL. *Chromosome Research*, 17, suppl 1:152. **IF: 3.405**
3. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bődör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. (2008) Bcl-2 negative follicular lymphoma is associated with somatic hypermutation of the IgV<sub>H</sub> genes

and aberrant somatic hypermutation. *Journal of Hematopathology*, 1: 180.

4. Balogh Zs, Reiniger L, Deák L, Bődör Cs, Csomor J, Szepesi Á, **Gagyi É**, Kopper L, Matolcsy A. (2008) IgV<sub>H</sub> gene mutation status and genomic imbalances in chronic lymphocytic leukaemia with increased prolymphocytes (CLL/PL). *Journal of Hematopathology*, 1:220.
5. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bődör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. (2008) Bcl-2 negative follicular lymphoma is associated with somatic hypermutation of IgV<sub>H</sub> genes and aberrant somatic hypermutation. *Revista de Medicina si Farmacie/Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle*, 54: 211-213.
6. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bődör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. (2008) Bcl-2 negative follicular lymphoma is associated with somatic hypermutation of the IgV<sub>H</sub> genes and aberrant somatic hypermutation. *Annals of Oncology*, 19, suppl 4: 395. **IF: 4.935**
7. Balogh Zs, Reiniger L, Deák L, Bődör Cs, Csomor J, Szepesi Á, **Gagyi É**, Kopper L, Matolcsy A. (2008) IgV<sub>H</sub> gene mutation status and genomic imbalances in chronic lymphocytic leukaemia with increased prolymphocytes (CLL/PL). *Annals of Oncology*, 19, suppl 4: 400. **IF: 4.935**

### VII. V. Válogatott előadások és posztterek

1. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bődör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. A bcl-2 negatív follicularis lymphomák szomatikus hipermutációs és aberráns szomatikus hipermutációs aktivitása. (előadás) 67. Pathologus Kongresszus, Keszthely, 2008 október 9-11.
2. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bődör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. Bcl-2 negative follicular lymphoma is associated with somatic hypermutation of the IgV<sub>H</sub> genes and aberrant somatic hypermutation. (poszter, LS 8) XIV. Meeting of the European Association for Haematopathology, Bordeaux, 2008 szeptember 20-25.

3. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bödör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. Bcl-2 negative follicular lymphoma is associated with somatic hypermutation of IgV<sub>H</sub> genes and aberrant somatic hypermutation. (előadás) The First Conference of PhD Students in Medicine and Pharmacy, Marosvásárhely, 2008 július 9-11.
4. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bödör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. Bcl-2 negative follicular lymphoma is associated with somatic hypermutation of the IgV<sub>H</sub> genes and aberrant somatic hypermutation. (absztrakt) 10<sup>th</sup> International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, 2008 június 4-7.
5. **Gagyi É**, Balogh Zs, Bödör Cs, Timár B, Reiniger L, Deák L, Csomor J, Csernus B, Szepesi Á, Matolcsy A. A bcl-2 negatív follicularis lymphomák szomatikus hypermutációs és aberráns szomatikus hypermutációs aktivitása. (előadás) Semmelweis Egyetem PhD Tudományos Napok, 2008 április 10-11.

## VIII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném hálámat kifejezni mindazoknak, akiknek önzetlen segítsége és támogatása lehetővé tette, hogy ez a munka létrejöhessen.

Köszönettel tartozom Szüleimnek és családomnak, valamint szűkebb baráti körömnek, akiknek szeretetteljes és türelmes gondoskodása, biztatása végigkísérte és támogatta munkámat.

Köszönöm témavezetőmnek, **Prof. Dr. Matolcsy Andrásnak**, hogy munkacsoportjában dolgozhattam, hogy ellátott szakmai tanácsokkal és munkámat mindvégig segítette. Köszönöm a támogatást és a bizalmat.

Köszönettel tartozom **Prof. Dr. Kopper Lászlónak**, hogy befogadott az Intézetbe és szakmai haladásomat támogatta.

Köszönöm **Dr. Krenács Tibornak** értekezésem áttanulmányozását, a hasznos észrevételeket és megjegyzéseket.

Köszönöm **Dr. Csomor Juditnak**, **Dr. Szepesi Ágotának**, **Dr. Horváth Emőkének** és **Dr. Tóth Erikának** az értékes szakmai és baráti támogatást.

Köszönettel tartozom közvetlen munkatársaimnak és barátaimnak: **Dr. Bödör Csabának**, **Dr. Balogh Zsófiának**, **Dr. Reiniger Lillának**, **Dr. Timár Botondnak**, **Dr. Rajnai Hajnalkának**, **Dr. Csernus Balásznak**, **Dr. Bognár Ágnesnek**, **Dr. Szurián Kingának**, **Dr. Barna Gábornak**, **Dr. Moskovszky Lindának** és **Dr. Dezső Katalinnak** az együtt eltöltött munka- és szabadidőért, az önzetlen szakmai segítségért, támogatásért és a vidám hangulatért.

**Bárányné Pallag Adriennének**, **Lengyel Anikónak**, **Deák Lindának**, **Budai Bernadettnek**, **Muhari Orsolyának**, **Szabó Orsolyának** és **Szabó Ildikónak** köszönöm a laboratóriumi munkában nyújtott segítséget és a baráti beszélgetéseket.

Köszönet **Prof. Dr. Kovalszky Ilonának** és **Dr. Füle Tibornak** a szakmai tanácsokért és hogy laboratóriumi eszközeiket rendelkezésemre bocsátották.

Köszönettel tartozom **Laczik Ceciliának**, **Szilágyi Ilonának** és **Tegzes Erzsébetnek**, hogy bármikor fordulhattam hozzájuk segítségért.