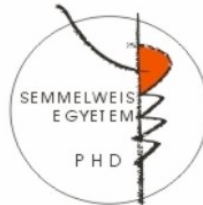


**GENETIKAI POLIMORFIZMUSOK ELEMZÉSE ÉS KLINIKAI
PARAMÉTEREK PROGNOZTIKUS JELENTŐSÉGÉNEK VIZSGÁLATA
MYELODYSPLASIÁS SYNDROMÁBAN ÉS MYELOMA MULTIPLEXBEN**

Doktori tézisek

Dr. Kádár Katalin Eszter

Semmelweis Egyetem
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulens: Dr. Várkonyi Judit, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Kovács Gábor, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Rejtő László, Ph.D., főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Törő Klára, Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Molnár Zsuzsanna, Ph.D., főorvos
Dr. Molnár Miklós, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Müllner Nándor, Ph.D., egyetemi docens

Budapest

2016

BEVEZETÉS

Két, eddig még nem gyógyítható, de a populáció élettartamának meghosszabbodása következtében egyre növekvő incidenciájú hemato-onkológiai betegségesoportban végeztünk vizsgálatokat, egyrészt a betegség kialakulására hajlamosító genetikai tényezőkre, másrészt a prognózist befolyásoló egyes klinikai paraméterekre vonatkozóan.

A myelodysplasiás syndroma (MDS) a hemopoetikus őssejtek szerzett klonális betegsége, amelyet ineffektív hemopoezis, következményesen kialakuló egy, vagy több sejtvonalat érintő cytopenia és akut leukaemiába történő transzformáció jelentős kockázata jellemez. Az ineffektív hemopoezis a csontvelői hemopoetikus sejtek nagyfokú apoptózisával magyarázható. A fokozott apoptózis döntően a megváltozott csontvelői mikro környezet által termelt citokinek mediálta parakrin folyamat következménye, a résztvevő citokinek közül a legfontosabb szerepe a tumor nekrosis faktor-alfának (TNF- α) van.

A WHO osztályozása szerint a myeloma multiplex (MM) a B sejt differenciálódás terminális szakaszát képviselő plazmasejtek klonális rosszindulatú daganatos megbetegedése. A normális és a myelomás plazmasejtek proliferációját komplex autokrin és parakrin citokinhálózat szabályozza, amelynek egyik fontos szereplője szintén a TNF- α . Részben a fő myeloma citokinnel, az interleukin-6-tal (IL-6) szinergizmusban, de tőle független útvonalon is fokozza a myeloma sejtek proliferációját.

A TNF- α a TNF szupercsaládba tartozó citokin, amely pro-inflammatorikus hatása révén az immunregulációs és gyulladáshoz vezető folyamatok egyik legfontosabb mediátora, de kiemelkedően fontos szerepe van az apoptózisban, továbbá a sejtproliferációban, a morfogenetikai változásokban, valamint a differenciálódási folyamatokban is. A TNF- α és a limfotoxin-alfa (LT- α) azonos citokin családba tartoznak, egymással szerkezetbeli és funkcionális homológiát mutatnak.

A TNF- α fehérjét kódoló *TNF* gén a 6-os kromoszóma rövid karján, a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) III régióban helyezkedik el, amely génszakaszra nagyfokú polimorfizmus jellemző. A génnek funkcionális jelentőségű,

azaz fokozott cytokin termeléssel járó polimorfizmusai a promóter régió -238-as pozícióban lévő G>A (rs361525) és a -308-as G>A (rs1800629). A *TNF- α* és *LT- α* (*LTA*) gének egymás mellett tandem helyezkednek el és variáns alléljaik jellemzően kapcsolatosan öröklődnek közös haplotípust alkotva. A *LTA* génen belül is több polimorfizmus ismert, ezek közül az első intron +252 pozícióban lévő A>G (rs909253) báziscserének bizonyított a funkcionális jelentősége. A TNF -308A és a LTA 252G variáns allélok az úgynevezett AH8.1 kiterjesztett ősi haplotípusnak is részei, amelynek az egyik legjellemzőbb tulajdonsága a fokozott spontán TNF- α termelődés.

Az elmúlt évtizedben a teljes génállományt feltérképező génasszociációs vizsgálatok (genom-wide association study, GWAS) eredményei közvetlen bizonyítékokkal szolgáltak a myelomával kapcsolatos genetikai hajlam demonstrálására. A myelomára vonatkozó első teljes genom asszociációs vizsgálat 3 polimorfizmust jelölt meg az MM kialakulására hajlamosító tényezőként, amelyek új genetikai régiók voltak abban az értelemben, hogy eddig még nem szerepeltek a myeloma patomechanizmusával összefüggésben. 2011-ben megalakult egy nemzetközi együttműködés, a Nemzetközi Myeloma Multiplex Konzorcium (International Multiple Myeloma rESEarch [IMMEnSE]), amely az MM epidemiológiájának, genetikájának és farmakogenomikájának vizsgálatát tűzte ki céljául. Ehhez a nemzetközi együttműködéshez csatlakoztunk saját beteganyagunkkal, hogy összesen több, mint 1000 betegen és kontroll személyen validáljuk az eredeti vizsgálat asszociációs eredményeit.

A MM betegek kezelésre adott válasza és túlélése jelentős különbséget mutat. A megfelelő prognosztikai markerek meghatározása döntő jelentőségű. Egy korábbi, 2008-ban közölt publikáció a diagnóziskor alkalmazott, egyszerű klinikai paraméterekből álló – albumin (A), M-komponens (M) és fehérvérsejt szám (WBC) - úgynevezett AMWBC pontrendszer alkalmasnak talált a prognózis becslésére. A kérdéses vizsgálatban szereplő betegek myelotoxikus kemoterápiában részesültek. Az elmúlt időszakban bevezett immunmoduláló és proteaszómagatólító kezelések eredményeként a myelomás betegek túlélése jelentősen javult, ezért a korábbi vizsgálatok által meghatározott prognosztikus markerek ismételt validálása szükséges az új típusú, nem myelotoxikus kezelésben részesülő betegek esetében is.

CÉLKITÚZÉS

MYELOYDYSPLASIÁBAN VÉGZETT VIZSGÁLATOK

A myelodysplasia genetikai hátterét vizsgálva feltételeztük, hogy az apoptózisban kiemelt fontosságú TNF- α funkcionális jelentőségű polimorfizmusa szerepet játszhat a betegség kialakulásában. Hipotézisünk az volt, hogy az emelkedett cytokin termeléssel járó allélt tartalmazó genotípus gyakrabban fordul elő MDS-ben. Ennek ismeretében a következő kérdést fogalmaztuk meg:

- Van-e különbség a TNF- α -238-as és -308-as genotípusok előfordulási gyakoriságában myelodysplasiás betegek és egészséges kontroll személyek esetében?

MYELOMA MULTIPLEXBEN VÉGZETT VIZSGÁLATOK

A myeloma multiplex genetikai hátterét vizsgálva azt kívántuk elemezni, hogy az emelkedett TNF- α szinttel járó polimorfizmusok önmagukban külön, vagy haplotípusban gyakrabban fordulnak-e elő MM-ben az egészséges populációhoz képest és ezáltal szerepet játszanak-e az MM kialakulásában? Az irodalmat áttekintve az AH8.1 ősi haplotípus hordozás gyakoriságát MM-ben eddig nem vizsgálták. Az AH8.1 haplotípust a TNF -308G>A, LTA +252A>G, HSP70-2 1267 A>G, RAGE -429T>C polimorfizmusok együttes jelenléte alapján állapítottuk meg. Ennek megfelelően a következőket vizsgáltuk:

- TNF -308G>A, LTA +252A>G, HSP70-2 +1267A>G, RAGE -429T>C variáns allélok előfordulási gyakorisága MM betegek és életkorban illesztett kontroll személyek esetében
- TNF -308A-LTA+252G emelkedett cytokin termeléssel járó haplotípus előfordulási gyakorisága MM betegek és életkorban illesztett kontroll személyek esetében
- 8.1 ősi haplotípus előfordulási gyakorisága MM betegek és életkorban illesztett kontroll személyek esetében

Az IMMEnSE Nemzetközi Myeloma Multiplex Konzorcium résztvevőjeként a kérdésünk a következő volt:

- A 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) és 2p23.3 (rs746082) lókuszek polimorfizmusa genotípus megoszlás és allélfrekvencia szerint mutat-e különbséget az MM betegek és a kontroll populáció között?

A MM esetében a prognózis becslésére alkalmas egyszerű, könnyen elérhető és reprodukálható laboratóriumi paramétereiből alkotott, korábban már publikált pontrendszer alkalmazhatóságát kívántuk validálni új típusú, nem myelotoxikus kezelésben részesült myelomás betegek esetében. Kérdésünk a következő volt:

- A diagnóziskor meghatározott albumin (A) /monoklonális fehérje (M) arány, valamint az előbbi két paraméter és az induló fehérvérsejt szám (WBC) felhasználásával kialakított AMWBC pontrendszer alkalmas-e a túlélés előrejelzésére újonnan diagnosztizált MM betegek esetében bortezomib, illetve IMiD bázisú kezelés alkalmazása esetén?

MÓDSZEREK

BETEGEK

MYELODYSPLASIÁBAN VÉGZETT VIZSGÁLATOK

A vizsgálatban 69, a Semmelweis Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinikáján 2005 előtt diagnosztizált MDS beteg (26 férfi, 43 nő) és 125 egészséges kontroll személy (38 férfi, 87 nő) adatait elemeztük. A kontroll csoportba egészséges, nem rokon, a kaukázusi rasszhoz tartozó, foglalkozási egészségügyi szűrővizsgálaton résztvevő személyek kerültek.

MYELOMA MULTIPLEXBEN VÉGZETT VIZSGÁLATOK

A TNF- α vizsgálatban 1997 és 2005 között kezelt, konsekutívan bevásztott 94 beteg szerepelt. Csak tünettel rendelkező myelomás eseteket vontunk be, az MGUS, SMM diagnózisú betegek nem szerepeltek a vizsgálatban. A kontroll csoport 141 nem és korcsoport szerint megfeleltetett, daganatos betegségben nem szenvedő, idős személyből állt, akiket az ország nyugati és keleti részét is reprezentáló 4 megyéből származó, a Magyar Családorvosok Betegségmegelőző Programjának résztvevői közül választottunk.

A Nemzetközi Myeloma Multiplex Konzorcium [IMMEnSE] vizsgálatban 8 európai ország 14 centrumából származó 1139 MM beteg és 1352 kontroll személy vérmintája került genotipizálásra. Magyarországot a mi munkacsoportunk 139 MM beteg és 104 kontroll személlyel képviselte. 1990 és 2010 között diagnosztizált MM betegek kerültek bevonásra, a diagnózis a 2003-as IMWG kritériumok alapján történt. A kontroll személyek véradók, egészséges átlag populációba tartozók és olyan kórházban kezelt betegek voltak, akik nem szenvedtek daganatos betegségben. Mindegyik vizsgált személy a kaukázusi rasszhoz tartozott.

Az AMWBC score retrospektív tanulmányban 103 konsekutív, 1996 és 2006 között újonnan diagnosztizált MM beteg adatai szerepeltek. A betegeket a Semmelweis Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinikáján kezelték. Egyéb plazmasejtes betegségek, mint MGUS, SMM, amyloidosis nem kerültek bevonásra. A könnyűlánc myeloma és a nem szekretáló myeloma esetében az A/M arány nem értelmezhető, ezért ezek a betegek sem kerültek be a tanulmányba. Annak érdekében, hogy a túlélés szempontjából minél homogénebb beteganyagot vizsgáljunk, kihagytuk az autológ őssejt-átültetésen átesett betegeket, és azokat is, akiknél a kezelés során második malignus betegség alakult ki. A 103 beteg közül 47 csak kemoterápiában részesült, 56 beteg új típusú, nem myelotoxikus kezelést kapott – talidomid, bortezomib – önállóan, vagy kemoterápiával kombináltan együtt adva. Az új kezelési módokban részesült betegek (103/56) adatait külön csoportban is értékeltük.

LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATOK

A TNF- α fehérjét kódoló *TNF gén* -238G>A (rs361525) és -308G>A (rs1800629) pozíciójú polimorfizmusait, valamint a HSP70-2 +1267A>G (rs1061581) és a RAGE -429 T>C (rs1800625) polimorfizmusokat PCR-RFLP metodikát alkalmazva vizsgáltuk a III. sz. Belgyógyászati Klinika Kutatólaboratóriumában.

A LTA +252A>G (rs909253) polimorfizmus vizsgálata szintén PCR- RFLP módszerrel történt a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Orvosi Genetikai Intézetének laboratóriumában.

Az IMMEnSE nemzetközi vizsgálat során a 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) és 2p23.3 (rs6746082) SNP meghatározásokra Heidelbergben, a Német Rákkutató Központban került sor. A genotipizálás a dán minták kivételével TaqMan próba (ABI, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) alapú allél diszkriminációval történt a gyári protokollnak megfelelő technológiát alkalmazva. A PCR lemezeket ABI PRISM 7900HT műszer segítségével olvasták le. (Applied Biosystems). A genotípus meghatározására az SDS Software, version 2.4 (Applied Biosystems) programot alkalmazták. A Dániából származó kontroll minták esetében egy korábban publikált GWAS vizsgálat kontroll populációjának adatait bocsátották rendelkezésre, az eredeti vizsgálatban a genotipizálás a Human Hap 550 Infinium II chip és a Human 610-Quad chip (Illumina, San Diego, CA) alkalmazásával történt.

EREDMÉNYEK

MYELODYSPLASÍÁS SYNDROMA

TNF -238G>A (rs361525) és TNF -308G>A (rs1800629) genotípusok eloszlása MDS-ben és egészséges populációban

A TNF- α -308 GG, GA és AA genotípusok eloszlása csaknem azonos volt a két populációban. A -238-as allélfrekvencia előfordulásában és a genotípus eredményekben megfigyelhető volt különbség, azonban ez nem érte el a

szignifikancia mértékét (1. táblázat). Az egészséges kontroll személyek allélfrekvencia előfordulási gyakorisága vizsgálataink során megegyezett a -308 G/A polimorfizmus esetében korábban publikált magyar adatokkal.

1. táblázat: TNF- α gén G/A polimorfizmus MDS betegek és egészséges kontrollok esetében. Az egyes polimorfizmus helyekre vonatkozó eredmények a bázisok megfelelő betűivel jelölve, mindkét allélnak megfelelő pozícióban.

A = adenin G = guanin

	GG	GA	AA	
TNF-α -308				
MDS (n=69)	50(72%)	17(25%)	2(2,9%)	p=0,91
Kontroll (n=125)	87(69%)	34(27%)	4(3%)	
TNF-α -238				
MDS (n=69)	62(91%)	6(8,8%)	0(0%)	p=0,0815
Kontroll (n=125)	121(96,8%)	4(3,2%)	0(0%)	

A megfelelő genotípusok száma (%)

MYELOMA MULTIPLEX

TNF -308G>A (rs1800629), LTA +252A>G (rs909253), HSP70-2 1267A>G (rs1061581), RAGE -429T>C (rs1800625) polimorfizmusok és haplotípusaik MM betegekben és kontroll személyekben

A TNF -308A (TNF2) variáns allél előfordulási gyakorisága szignifikánsan ($p=0,027$) alacsonyabb volt az MM betegek csoportjában (9,6%), mint a kontroll csoportban (21,3%). A többi vizsgált SNP esetében nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között. A TNF2-LTA 252G haplotípust hordozók és nem hordozók előfordulási gyakoriságát összehasonlítva az MM betegek (9,6%) és a kontrollok (20,6%) között, szignifikánsan alacsonyabb előfordulás volt megfigyelhető az MM betegek esetében ($p=0,041$). Ezzel szemben az ősi 8.1 haplotípus hordozók előfordulási gyakorisága közel azonos volt a két csoportban. Ezt követően annak ellenőrzésére, hogy az egy szempontos varianciaanalízis során nyert eredményeink megismételhetőek-e multivariációs analízis során is, összehasonlítottuk az allél és

haplotípus frekvenciákat az MM beteg és kontroll csoport között életkor és nem szerint illesztett többszörös logisztikus regresszióval is. Mind a variáns TNF2 allél és a TNF2-LTA 252G haplotípust hordozó állapot is szignifikánsan összefüggött több, mint kétszeresen csökkent esélyhányadossal az MM betegcsoportba tartozással, ugyanakkor hasonló összefüggés sem a többi allél, sem a 8.1 ősi haplotípus hordozó állapot esetében nem volt megfigyelhető (2. táblázat).

2. táblázat: A TNF -308A allél, LTA 252G allél, HSP-70 1267G allél, RAGE -429C allél, a TNF -308-LTA 252G haplotípus és a 8.1 ősi haplotípus előfordulási gyakorisága MM betegek és életkorban illesztett, magyar populációt reprezentáló kontroll személyek esetében, valamint az MM-re vonatkozó esélyhányados értéke a hordozó és nem hordozó személyek esetében (életkor és nem szerint illesztett, többszörös logisztikus regressziós analízis alapján számolva)

Genotípus	Variáns allél száma (gyakorisága)		Esélyhányados OR (9 5% CI)	p érték
	Betegek (n=94)	Kontroll (n=141)		
TNF-308 G>A	9 (9,6%)	30 (21,3%)	0,402 (0,179-0,902)	0,027
LTA +252 A>G	43 (45,9%)	72 (51,1%)	1,134 (0,668-1,923)	0,642
HSP70-2 1267 A>G	60 (63,5%)	76 (53,8%)	1,269 (0,852-1,889)	0,242
RAGE-429 T>C	25 (26,1%)	43 (30,8%)	0,894 (0,517-1,547)	0,690
TNF-308A-LTA 252G haplotípus	9 (9,6%)	29 (20,6%)	0,429 (0,191-0,965)	0,041
8.1 ősi haplotípus	5 (9,45%)	11 (7,7%)	0,855 (0,267-2,740)	0,792

Az alcsoport analízisek során, tekintettel arra, hogy szignifikáns ($p=0,026$) kapcsolatot találtunk az életkor és a ritka TNF -308A allél hordozása között a beteg vagy a kontroll csoportba tartozást illetően, megvizsgáltuk, hogy ugyanez az asszociáció igazolható-e a myeloma rizikója és a TNF2 allél hordozását illetően külön a fiatalabb és az idősebb életkorú betegek esetében is. A vizsgált személyeket a kontroll csoport medián életkora alapján (69 év) két csoportra osztva a variáns TNF2 allél hordozása szignifikánsan ($p=0,016$) alacsonyabb volt a fiatalabb korcsoportban (6,9%), mint az idősebbek esetében (13,3%). A ritkább TNF2 allél hordozók 4-szer alacsonyabb esélyhányadossal rendelkeztek az MM kialakulására vonatkozóan a 69 évesnél fiatalabb korcsoportban, mint a 69 évesnél idősebbek esetében. Ugyanakkor a 69

évesnél idősebbek esetében nem volt kimutatható szignifikáns összefüggés a variáns TNF2 allél hordozás és a MM kialakulása tekintetében (3. táblázat).

3. táblázat: A TNF -308A (TNF2) allélt hordozók és nem hordozók MM-re vonatkozó esélyhányadosa életkor szerint megosztva (életkor szerint illesztett többszörös logisztikus regressziós analízis)

Életkor	Életkor a diagnóziskor év medián (interkvartilis tartomány)	TNF2 hordozó/összes (%)		Esélyhányados OR (95% CI)	p érték
		Beteg	Kontroll		
≤69 év	53,0 (45,0-60,0)	3/49 (6,9)	17/68(25,0)	0,203 (0,056-0,742)	0,016
>69 év	69,0 (66,0-72,5)	6/45 (13,3)	13/73(17,8)	0,809 (0,272-1,409)	0,7000

Hasonló, és még inkább életkorfüggő különbség mutatkozott, ha a TNF2-LTA 252G haplotípust vettük figyelembe: a nem szerint illesztett esélyhányados a fiatalabb és idősebb alcsoportban 0,196 (0,054-0,711, p= 0,013), illetve 0,710 (0,249-2,025, p=0,522) volt.

A nemek szerinti csoportbontásban a nők esetében negatív asszociáció volt megfigyelhető, amennyiben a variáns allél hordozása közel 4-szer alacsonyabb rizikót jelentett a myeloma előfordulását illetően. A férfiak esetében szignifikáns összefüggés nem volt megfigyelhető (4. táblázat).

4. táblázat: A TNF -308A (TNF2) allélt hordozók és nem hordozók MM-re vonatkozó esélyhányadosa nemek szerinti alcsoportokra bontva (nem szerint illesztett többszörös logisztikus regressziós analízis)

Nem	TNF2 hordozó/összes (%)		Esélyhányados (95% CI)	p érték
	Beteg	Kontroll		
Férfi	5/28 (17,9)	13/60 (21,7)	0,76 (0,24-2,47)	0,650
Nő	4/66 (6,1)	17/81(21,0)	0,24 (0,08-0,76)	0,015

A 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) és 2p23.3 (rs6746082) polimorfizmusok meghatározása MM betegek és kontroll populáció esetében

A vizsgálat eredménye alapján mind a három vizsgált polimorfizmus gyakrabban fordult elő az MM betegek csoportjában a kontroll személyekhez képest. Két esetben - az rs4487645 (7p15.3) C allélnak és az rs6746082 (2p23.3) A allélnak megfelelően - erősen szignifikáns kapcsolat volt igazolható a kérdéses allélvariáció és az MM előfordulása között. Az rs1052501 (3p22.1) polimorfizmus esetében a kapcsolat korábban kimutatott szignifikáns mértékét nem erősítette meg a jelen vizsgálat (5. táblázat).

5. táblázat: 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) és 2p23.3 (rs6746082) lókuszon genotípusainak és allél frekvenciáinak előfordulása MM betegek és kontroll személyek esetében

Az egyes polimorfizmus helyekre vonatkozó eredményeket a bázisok megfelelő betűivel jelöltük, mindkét allélnak megfelelő pozícióban. A = adenin, G = guanin, C = citozin

SNP	MM betegek (%)	Kontroll (%)	OR	95%CI	p érték
rs4487645 (7p15.3)					
A/A	67 (6,3)	139 (10,4)	1	–	–
A/C	423 (39,8)	598 (44,9)	1,47	1,07–2,02	0,017
C/C	572 (53,9)	595 (44,7)	1,99	1,45–2,73	0,00000173
A	557 (26,2)	876 (32,9)	1	–	–
C	1567 (73,8)	1788 (67,1)	1,37	1,21–1,56	0,0000000796
rs6746082 (2p23.3)					
C/C	35 (3,3)	61 (4,6)	1	–	–
A/C	304 (28,7)	425 (31,8)	1,21	0,78–1,89	0,392
A/A	721 (68,0)	849 (63,6)	1,48	0,96–2,27	0,074
C	374 (17,6)	547 (20,5)	1	–	–
A	1746 (82,4)	2123 (79,5)	1,22	1,05–1,41	0,008
rs1052501 (3p22.1)					
A/A	655 (61,5)	870 (65,7)	1	–	–
A/G	371 (34,9)	399 (30,1)	1,25	1,05–1,49	0,011
G/G	38 (3,6)	56 (4,2)	0,93	0,60–1,42	0,726
A	1681 (79,0)	2139 (80,7)	1	–	–
G	447 (21,0)	511 (19,3)	1,12	0,98–1,30	0,098

Albumin / M komponens (A/M) arány és az AMWBC pontrendszer összefüggése a túléléssel MM betegeknél

6. táblázat: A diagnóziskor mért A/M hányados és a kezdeti fvs szám prognosztikus értéke a túlélés szempontjából.

A/M	< 1	rossz prognózis
WBC	< 4.5 G/l	rossz prognózis

7. táblázat: AMWBC prognosztikus pontrendszer kalkulálása

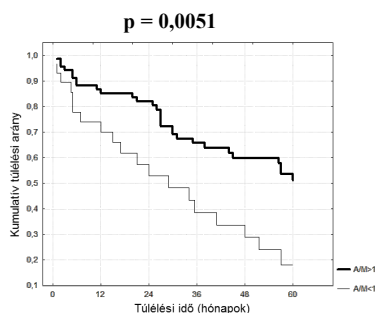
Pontérték	0	1
A/M	≥ 1	< 1
WBC	≥ 4.5 G/l	< 4.5 G/l

0 pont jó prognózis

1 pont intermedier prognózis

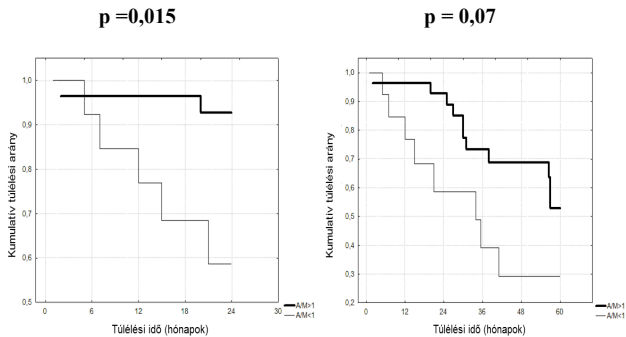
2 pont rossz prognózis

Jelenlegi eredményeink szerint, amelyek a korábbi publikáció eredményeivel összhangban állanak, a diagnóziskor mért A/M < 1 arány szignifikánsan rosszabb prognózist jelentett mind a 2 éves (p=0,006), mind az 5 éves (p=0.0051) választott túlélési végpont esetében (1. ábra).



1. ábra:
5 éves túlélési végpont p=0,0051
A/M arány és túlélés az összes beteg
betegek esetében (n=103)

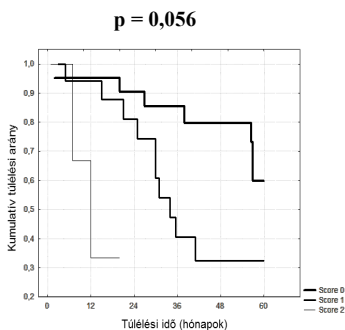
A csak újfajta terápiában részesülő betegcsoport esetében a 2 éves túlélési végpont esetében szignifikáns különbséget ($p=0,01$) (2. ábra), az 5 éves túlélési végpontnál pedig közel szignifikáns ($p=0,07$) (3. ábra) különbséget muattak az eredmények



2. ábra:
2 éves túlélési végpont $p=0,015$
A/M arány és túlélés az új terápiás
szerekkel kezelt betegek esetében
($n=56$)

3. ábra:
5 éves túlélési végpont $p=0,07$
A/M arány és túlélés az új terápiás
szerekkel kezelt betegek esetében
($n=56$)

A fehérvérsejt szám (WBC) vonatkozásában nem tudunk összefüggést kimutatni sem a 2, sem az 5 éves túlélési végpontoknál. Akkor sem tapasztaltunk szignifikáns különbséget, ha csak az újabb típusú kezelésben részesült betegek adatait vizsgáltuk. A két paraméterből alkotott AMWBC pontrendszer az 5 éves túlélésnél közel szignifikáns különbséget mutatott az egyes csoportok között, és az eddigiek alapján úgy gondoljuk, hogy ez döntően az A/M hányadosnak köszönhető. Hasonló eredményt kaptunk a csak új típusú kezelésben részesült betegek esetében is ($p=0,056$) (4. ábra).



4. ábra:
5 éves túlélési végpont $p=0,056$
AMWBC pontérték és túlélés az új terápiás
szerekkel kezelt betegek esetében (n=56)

KÖVETKEZTETÉSEK

MYELODYSPLASIÁRA VONATKOZÓ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. A funkcionális jelentőséggel bíró TNF- α cytokin polimorfizmusok vizsgálata során a TNF- α -238 és -308-as genotípus variációk eloszlásában nem találtunk szignifikáns különbséget a myelodysplasiás betegek és az egészséges kontroll személyek esetében. A *TNF* gén promóter régió -308 és -238-as polimorfizmusának hajlamosító szerepe az MDS kialakulásában nem igazolódott.
2. Saját eredményeinket tekintve az egészséges kontroll személyek allélfrekvencia előfordulási gyakorisága megegyezett a TNF -308 allél esetében korábban publikált magyar adatokkal.

MYELOMA MULTIPLEXRE VONATKOZÓ MEGÁLLAPÍTÁSOK

3. A fokozott cytokin termeléssel járó TNF -308A (TNF2) ritka allél hordozás szignifikánsan alacsonyabb frekvenciával fordult elő az MM betegek csoportjában a hasonló életkorban lévő magyar kontroll populációhoz képest.
4. A TNF -308A (TNF2)-LTA 252G ritka allélokot tartalmazó haplotípus esetén is szignifikánsan alacsonyabb előfordulási arány igazolódott a myelomás betegek esetében a kontroll csoporthoz képest.
5. Eredményink megismételhetők voltak multivariációs analízis során is, összehasonlítva az allél és haplotípus frekvenciákat az MM beteg és kontroll csoport között életkor és nem szerint illesztett többszörös logisztikus regresszióval is. Mind a TNF2 allél és a TNF2-LTA 252G haplotípus hordozó állapot is szignifikánsan összefüggött több, mint kétszeresen csökkent esélyhányadossal az MM betegcsoportba tartozással, ugyanakkor hasonló összefüggés sem a többi allél, sem a 8.1 ősi haplotípus hordozó állapot esetében nem volt megfigyelhető. A vizsgált csoportokat életkor és nemek szerinti alcsoportokra bontva a TNF2 ritka allél és a TNF2-LTA 252G haplotípus hordozása a fiatalabb korcsoportba tartozóknál és a nők esetében jelentett alacsonyabb rizikót a myeloma előfordulását illetően.

A kiinduló hipotézisünk nem igazolódott, sőt, eredményeink szerint a variáns allél hordozása mintegy védő hatásának bizonyult MM esetében, bár a kis esetszám miatt ez az összefüggés további megerősítésre szorul.

6. A LTA 252G allél, HSP-70 1267G allél, a RAGE -429C allél és az ősi AH8.1 haplotípus tekintetében az előfordulási gyakoriság nem különbözött az MM betegek és a kontroll populáció esetében.
7. Erős asszociációt igazoltunk a 7p15.3 lókuszon az rs4487645 polimorfizmus tekintetében, a myeloma előfordulása szempontjából közel 1.4-szeresen emelkedett kockázattal a C allélnak megfelelően, amely egy MYC interakciós fehérjét kódoló régióval áll kapcsolatban, ezáltal elősegítve a MYC által okozott transzformációs folyamatokat. Ez a génszakasz eddig még nem szerepelt a myeloma patomechanizmusával összefüggésben, és a MYC szerepének eddigiekénél kiemeltebb értékelését veti fel.
8. Ugyancsak erős kapcsolatot igazoltunk a myeloma előfordulása tekintetében a 2p23.3 lókuszon található rs6746082 polimorfizmus A allélja esetében is, amely a *DNMT3A* génszakaszon található, és egy DNS metiltranszferázt kódol. Ez az epigenetikai folyamatok fontosságát hangsúlyozza.
9. A myeloma diagnózisakor észlelt A/M <1 érték esetén a túlélés szignifikánsan rosszabb, mint az A/M >1 esetében. Ez az új, nem myelotoxikus kezelésben részesült betegek esetén is igazolható. A prognózis becslésére A/M hányados a genetikai vizsgálatok eredményeivel kiegészítve egy lehetséges alternatív megoldásként javasolható.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A dolgozat alapjául szolgáló saját publikációk

Kádár K, Wolf K, Tábori J, Karádi I, Várkonyi J. (2012) The albumin and monoclonal protein ratio as prognostic marker for multiple myeloma in the era of novel agents. *Pathol Oncol Res*, 18(3):557-561.

Martino A, Campa D, Jamroziak K, Reis RM, Sainz J, Buda G, García-Sanz R, Lesueur F, Marques H, Moreno V, Jurado M, Ríos R, Szemraj-Rogucka Z, Szemraj J, Tjønneland A, Overvad K, Vangsted AJ, Vogel U, Mikala G, Kádár K, Szombath G, Varkonyi J, Orciuolo E, Dumontet C, Gemignani F, Rossi AM, Landi S, Petrini M, Houlston RS, Hemminki K, Canzian F. (2012) Impact of polymorphic variation at 7p15.3, 3p22.1 and 2p23.3 loci on risk of multiple myeloma. *Br J Haematol*, 158(6):805-809.

Kádár K, Kovács M, Karádi I, Melegh B, Pocsai Z, Mikala G, Tordai A, Szilágyi A, Adány R, Füst G, Várkonyi J. (2008) Polymorphisms of TNF-alpha and LT-alpha genes in multiple myeloma. *Leuk Res*, 32(10):1499-1504.

Kádár K, Demeter J, Andrikovics H, Tordai A, Kovács M, Füst G, Karádi I, Várkonyi J. (2005) TNF-alpha promoter gene polymorphism in patients with myelodysplastic syndrome. *Acta Haematol*, 113(4):262-264.

A tézisekhez közvetlenül nem kapcsolódó saját publikációk

Okuyama N, Sperr WR, Kádár K, Bakker S, Szombath G, Handa H, Tamura H, Kondo A, Valent P, Várkonyi J, van de Loosdrecht A, Ogata K. (2013) Prognosis of acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndromes: a multicenter retrospective study. *Leuk Res*, 37(8):862-867.

Rókus L, Liptay L, Kádár K. (2001) Successful treatment of chronic disseminated candidiasis with fluconazole and a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor combination. *Scand J Infect Dis*, 33(10):784-786.

Liptay L, Fűrész J, Kádár K, Pállinger É, Kolozsvári F. (1999) A citokinek szerepe a kemoterápiás kezeléseket követően fellépő neutropeniás fertőzések kezelésében. *Kórház*, 7:6-8.

Rókus L, Liptay L, Kádár K. (1999) Chronicus disseminált candidiasis sikeres kezelése fluconazol, GM-CSF kombinációval. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia*, 6:46-48.

Horváth M, Jovanovich N, Kádár K, Györffy G. (1984) Distribution of T-lymphocyte subsets in patients with vascular diseases. *Cor Vasa*, 26(6):429-437.