

## **Molekuláris genetikai markerek kimutatása akut és krónikus myeloid leukémiában és felhasználásuk a minimális reziduális betegség követésében és az individuális kezelés kiválasztásában**

Az akut és a krónikus myeloid leukémia (AML és CML) a különböző kemoterápiás és célzott tirozin kináz inhibitoros kezeléseknek, valamint a csontvelő transzplantációnak (BMT) köszönhetően eredményesen kezelhető betegség. Azonban a gyógyulnak tekinthető betegek aránya meglehetősen alacsony a kezelés toxicitásának, illetve a leukémia visszatérésének következtében. A maradék daganatos sejtek mennyiségének pontos meghatározása, illetve a kezelésekkal szembeni rezisztencia okának feltárása lehetőséget nyújthat a személyre szabott terápia kialakításához, így növeli az adott beteg gyógyulási, túlélési esélyeit. A jelen pályázat vezérfonala olyan nagy érzékenyséű molekuláris genetikai módszerek kidolgozása, amelyek lehetővé teszik a különböző hematológiai malignus betegségek követése során a minimális reziduális betegség (MRD) kimutatását, illetve mennyiségi meghatározását, relapszus esetén pedig az azonosított rezisztencia mechanizmusok tisztázásával a megfelelő terápiás intervenciót. A pályázat eredeti célkitűzései mellett, amelyek a vérképző rendszer betegségei közül az AML-t és a BCR-ABL pozitív krónikus myeloproliferatív kórképet (CMPD), azaz a krónikus myeloid leukémiát (CML) érintették, vizsgálatainkba az alkalmazott módszerek hasonlósága miatt további hematológiai és immunológiai betegségeket is bevontunk: a BCR-ABL negatív myeloproliferatív szindrómákat, a myelodysplasiát, az akut lymphoblasztos leukémiát és a gyulladássos bélbetegséget. További célul tűztük ki egyes örökletes és a szerzett genetika tényezők kölcsönhatásának vizsgálatát is.

Az **akut myeloid leukémia (AML)** igen heterogén genetikai háttérű klonális betegség: mindeddig több száz, ismétlődő kromoszóma eltérést azonosítottak. A klinikai és a morfológiai kép mellett a citogenetikai eltérések bizonyultak a legfontosabb prognosztikai faktornak. Az AML-ben szenvedő betegek mintegy 45%-a azonban normál karyotípusú és prognosztikai szempontból a közepes rizikójú csoportba sorolható. Az elmúlt évek kutatásai nagy áttörést jelentettek a normál karyotípusú AML genetikai háttérének megismerésében. Így az AML prognosztikai besorolásában a citogenetikai háttér felderítése mellett egyre nagyobb szerepet kaptak a molekuláris genetikai módszerek. Az AML pathogenezisében szerepet játszó szerzett mutációk közül a nucleophosmin (NPM1) és az fms-szerű tirozin kináz-3 (FLT3) gének mutációi [internal tandem duplikáció (ITD) és az Asp835 kodont érintő tirozin kináz domén (TKD) mutációk] fordulnak elő a leggyakrabban. Egyes citogenetikai alcsoportokban további genetikai eltérések is gyakoriak: pl. core binding faktor (CBF)-AML-ben [t(8;21) és inv(16)] a c-kit aktiváló mutációk, valamint a normál karyotípusú AML-ben a CAAT-enhancer binding protein alfa (CEBPA) mutációk. Vizsgálatunkban 194, 2001. január és 2008. december között újonnan diagnosztizált AML-ben szenvedő beteg (86 férfi és 108 nő, életkor: 48±14 év) vett részt. Az NPM1 gén inszerció/deléción mutációját és az FLT3 ITD-t fluoreszcens PCR-t követően kapilláris elektroforézissel, a TKD mutációkat PCR-t követően restriktív fragmens hossz polimorfizmus (RFLP) technikával mutattuk ki. A c-kit gén mutációit didezoxi láncterminációs (Sanger) szekvenálással vizsgáltuk. Betegcsoportunkban az NPM1, az FLT3 ITD és TKD mutációk gyakorisága 26% (51/194), 22% (42/194), illetve 5% (10/194) volt. Az észlelt előfordulási gyakoriságok az irodalmi adatoknak megfelelnek. Az NPM1 mutációra pozitív betegek 83%-a normál karyotípusú (vs. NPM1-negatív betegek 31%-a), és 47%-a pozitív volt FLT3-ITD mutációra (vs. NPM1 mutáció negatív betegek 12%-a). Prognosztikai szempontból, az NPM1 és az FLT3 ITD mutáció szempontjából pozitív, illetve negatív betegeknél a remissziós ráta nem tért el, azonban a relapszus gyakorisága az FLT3 ITD mutációra pozitív csoportban magasabb volt (56% vs. 35%). Az NPM1 mutáció egyedüli eltérésként, ha nem társul FLT3 mutációval, irodalmi adatok szerint jó prognózist

képvisel: alacsonyabb relapszus aránnyal, valamint hosszabb átlagos és betegség-mentes túléléssel, azonban ezt, feltételezhetően az alacsony esetszám miatt saját anyagunkban nem sikerült igazolni. A CBF-AML esetek 9%-ában (3/33) azonosítottunk c-kit mutációt (D816V/Y). A jó prognosztikai csoportba sorolt CBF-AML csoportban c-kit aktiváló mutáció társulása esetén magasabb relapszus gyakoriság volt megfigyelhető. A molekuláris genetikai markerek kimutatása a citogenetikai karyotipizálás mellett lehetővé teszi a betegek különböző prognosztikai csoportba sorolását, így kimutatásuk a modern, kockázat-függő kezelési protokollok alkalmazásának alapja.

#### A témában született folyóiratcikkek:

	Közleményjegyzék	Dokumentum típusa	Impakt faktor	OTKA támogatás feltüntetve?
AML	Andrikovics H, Bors A, Meggyesi N, Szilvási A, Tordai A.: Az akut myeloid leukémia molekuláris genetikai háttere., Hemat Transzf. 2007 S1:117-21.	folyóiratcikk	-	igen
AML	Andrikovics H, Nahajevszky S, Tordai A.: Az fms-szerű tirozin kináz-3 (FLT3) mutációi akut myeloid leukémiában., Hemat Transzf. 2007 40:140-50.	folyóiratcikk	-	igen

**Krónikus myeloid leukémiában (CML)** a BCR-ABL fúziós gén a betegek mintegy 95%-ában kimutatható és kulcsfontosságú eleme a CML diagnózisának és követésének. A BCR-ABL fúziós gén kimutatására jelenleg a citogenetikai módszerek mellett az érzékenyebb, valós idejű, kvantitatív BCR-ABL kimutatási módszerek (Q-PCR) kerültek előtérbe. A BCR-ABL transzlokáció mennyiségi viszonyait laboratóriumunk 2005 óta rutinszerűen követi a CML-es betegek gyógyszeres kezelése, ill. őssejt transzplantáció folyamán. Évente mintegy 200 CML beteget követünk rendszeres időközönként (közel 800 BCR-ABL RQ-PCR meghatározás/év). Laboratóriumunk a magyarországi referencia laboratórium az European LeukemiaNet CML EUTOS (European treatment and Outcome Study) BCR-ABL nemzetközi RQ-PCR standardizáció projektjében. CML-ben a célzott BCR-ABL tirozin kináz inhibitor (TKI), az imatinib képezi a standard kezelést, azonban az esetek 10-15%-ában rezisztencia alakul ki. Ezekben az esetekben második generációs TKI (nilotinib, dasatinib, bosutinib), vagy egyéb kezelések (pl. hematopoetikus őssejt transzplantáció, kemoterápia, interferon) alkalmazhatóak. A TKI-rezisztencia hátterében álló egyik fő mechanizmus a BCR-ABL fúziós fehérje kináz domén (KD) szekvenciáját érintő mutációk kialakulása. A BCR-ABL génmutációk vizsgálatát 67, imatinib rezisztens CML beteg esetén végeztük el szekvenálással: 12 különböző mutációt (M244V, G250E, Y253H, E255V, D276G, E279K, T315I, M351T, F359I/V, L384M, L387M) azonosítottunk 21 beteg esetében. Az azonosított 12 mutáció mind az irodalomból már ismert tirozin kináz inhibitor rezisztenciát eredményező BCR-ABL szekvencia eltérés. Új, high resolution melting (HRM) analízisen alapuló a valós idejű PCR-technikát vezettünk be a BCR-ABL tirozin kináz domén nukleinsav szekvencia variációk kimutatására. A módszer alkalmas ismeretlen lokalizációjú, kisebb méretű, akár pontmutációk kiszűrésére a PCR termék teljes hosszában. A továbbiakban csak az eltérő olvadási görbével rendelkező mintákat szekvenáljuk, így a szekvenálás idejét és költségeit csökkenthetjük. HRM analízissel 92%-os (11/12) érzékenységgel sikerült a mutációkat kimutatni. Egy, 100%-ban mutációt (F359I, A>T nukleotid csere) tartalmazó minta esetében a HRM-analízissel csak vad típusú mintával való keverés (heteroduplex-képződés) után volt lehetséges az elkülönítés, így 100%-ra növekedett a HRM-assay érzékenysége a szekvenáláshoz viszonyítva. Másik lehetőségként a műszer érzékenységének 0,43-ról 0,63-ra történő növelésével szintén elértük a 100%-os érzékenységet, egyidejűleg azonban csökkent a specificitás. Vizsgálataink szerint a HRM gyors és hatékony módszer a BCR-ABL mutációk szűrésére a szekvenálást megelőzően.

A Philadelphia kromoszóma kialakulása folyamán a BCR és az ABL gének fúziója során krónikus myeloid leukémiában (CML) az esetek több mint 95%-ában a töréspont a BCR génen a major törésponti régiót érinti. Elenyésző azon, CML-ben szenvedő betegek száma, akiknél a minor vagy a

mikro törésponti régió érintettsége igazolható (0,3-1,6%). A ritka töréspontokról átíródó, eltérő szerkezetű BCR-ABL fehérje expressziót a CML különleges fenotípusaival társították, de imatinibre való válaszkészségükre alig álltak rendelkezésünkre irodalmi adatok. A minor BCR-ABL-t expresszáló CML-t fenotípusosan monocytosissal, valamint rossz prognóziással hozták összefüggésbe, míg a mikro CML-re az érett neutrofil granulocyták felszaporodása és a jóindulatú kórlefolyást tartották jellemzőnek. Közel 200 CML-ben szenvedő beteg BCR-ABL RT-PCR vizsgálata során két minor és egy mikro BCR-ABL töréspontú CML-ben szenvedő beteget azonosítottunk. Minor töréspontú betegeinknél monocytosis nem volt megfigyelhető, imatinib-kezelésre mindkét esetben hematológiai válasz, egy esetben parciális citogenetikai válasz volt megfigyelhető. Mikro töréspontú betegünkönél bár a periférián az érett neutrofil granulocyták aránya magas volt, a korai extramedulláris és csontvelői blasztos infiltráció a kórkép rossz prognózisát sugallta. Az imatinib-terápia tartós teljes hematológiai választ eredményezett, azonban a kezelés során szekunder rezisztencia alakult ki. A rezisztencia hátterében feltehetően BCR-ABL duplikáció állt. BCR-ABL tirozin kináz domén mutációkat az imatinib rezisztencia hátterében sem a minor sem a mikro töréspontú betegek esetében sem tudtunk kimutatni. Az imatinib-kezelés hatékonyságát a ritka BCR-ABL fúziós kromoszómával rendelkező, CML-ben szenvedő betegeknél korábban csak néhány esetismertetés tárgyalta. Betegeink vizsgálata arra utal, hogy az imatinib hatékony lehet minor illetve mikro eltéréssel járó CML-ben. A mikro típusú CML blasztos transzformációja során gyakori BCR-ABL duplikáció szekunder imatinib-rezisztenciát eredményezhet, így a fiatal életkorú, mikro típusú CML-ben szenvedő betegek csontvelő transzplantációs kezelése indokolt lehet.

Az 1. és 2. típusú extracelluláris szignál-regulált kinázok (ERK1 and ERK2) szerepet játszanak a mitogén jelátviteli folyamatokban és számos tumorsejtvonalban konstitutívan aktívak. A MEK/ERK jelátviteli útvonal a monocyta és a megakaryocyta irányú differenciációban is részt vesz a hematopoietikus sejtvonalakban. A K562 pluripotens humán CML sejtvonal különböző kémiai szerkezetű anyagok (pl. butirát, hemin, cisplatin, ara-C) hatására erythroid differenciációt mutat. Vizsgálatainkban a BCR-ABL fúziós protein szelektív gátlásával (imatinib kezeléssel), valamint a MEK1/2 kinázok (UO126) szelektív gátlásával váltottunk ki apoptosist és erythroid differenciációt, azaz hemoglobin expressziót a K562 erythroleukémia sejtvonalban. Az imatinib kezelés hatására tartósan (mintegy 24 órán keresztül) csökkent a BCR-ABL, ERK és STAT5 foszforiláció és Bcl-XL szint és a kezelés caspase-3-függő apoptosist indukált. Ezzel szemben, az UO126 kezelés csak átmeneti ERK aktivitás csökkenést eredményezett és nem indukált apoptózist. A csökkent BCR-ABL funkció hatását az erythroid differenciációra siRNS technika alkalmazásával vizsgáltuk retrovirális vektor felhasználásával. A magas transzdukciós hatékonyság ellenére csak átmeneti BCR-ABL protein szint és foszforilált ERK1/2 szint csökkenést észleltünk. A BCR-ABL jelátvitel csökkenése elegendő volt a hemoglobin expresszió megjelenéséhez szignifikáns apoptózis indukció nélkül. Eredményeinkből arra következtettünk, hogy a BCR-ABL expresszió átmeneti csökkenése már elegendő a differenciációs blokk átlépéséhez apoptózis indukció nélkül. Feltehetően a csökkent ERK aktivitás kulcsfontosságú szerepet játszhat a folyamatban.

#### A témában született folyóiratcikkek:

	Közleményjegyzék	Dokumentum típusa	Impakt faktor	OTKA támogatás feltüntetve?
CML	Brózik A, Casey NP, Hegedus C, Bors A, Kozma A, Andrikovics H, Geiszt M, Német K, Magócsi M.: Reduction of Bcr-Abl function leads to erythroid differentiation of K562 cells via downregulation of ERK., Ann N Y Acad Sci. 2006 Dec;1090:344-54.,	folyóiratcikk	1.930	nem
CML	Andrikovics H, Nahajevszky S, Szilvási A, Bors A, Adám E, Kozma A, Kajtár B, Barta A, Poros A, Tordai A.: First and second line imatinib treatment in chronic myelogenous leukemia patients expressing rare e1a2 or e19a2 BCR-ABL transcripts., Hematol Oncol. 2007 Sep;25(3):143-7.	folyóiratcikk	2.180	igen

**BCR-ABL negatív krónikus myeloproliferatív kórképekben (CMPD)** a 2. típusú Janus kináz (JAK2) gén 2005-ben azonosított V617F aktiváló pontmutáció (a 617. valin aminosav cseréje fenilalaninra) kimutatását Magyarországon elsők között állítottuk be. Az aktiváló mutáció az irodalmi adatok szerint polycythaemia verében (PV) a betegek mintegy 80%-ában (65-97%), esszenciális thrombocytosisban (ET) a betegek 35%-ában (23-57%) és myelofibrosisban (MF) a betegek 50%-ában (35-95%) mutatható ki. A V617F mutációt perifériás vérmintájából izolált DNS felhasználásával vizsgáltuk allél specifikus polimeráz láncreakcióval. Retrospektív adatfeldolgozással 328 BCR-ABL negatív, 2005 október és 2006 áprilisa között között laboratóriumunkban vizsgált CMPD-ben szenvedő betegnél összevetettük a JAK2 V617F mutáció státuszt a klinikai adatokkal (hemoglobin szint, fehérvérsejt- és thrombocytaszám, lépmegnagyobbodás jelenléte a diagnózis időpontjában, vaszkuláris szövődmények és leukémiás transzformáció gyakorisága). PV-ban a mutáció előfordulási gyakorisága 86,9% (153/176), ET-ben 60,3% (79/131), MF-ban pedig 72,4% (21/29) volt, amely az irodalmi adatoknak megfelel. A V617F-pozitív PV-ban és ET-ben szenvedő betegcsoportokban szignifikánsan magasabb, a diagnózis megállapításakor mért hemoglobin szint és fehérvérsejt szám értékeket találtunk, mint a V617F-negatív betegeknél. A vaszkuláris komplikációk (trombózis és vérzés) szintén gyakrabban fordultak elő a JAK2 V617F pozitív betegek csoportjában (26,6% vs. 15,2%;  $p=0,039$ ), míg az akut leukémiás transzformáció előfordulási gyakorisága nem tért el.

A kóros vasanyagcsere, különösen a vastelítettség állapota a vas szabadgyök generáló és DNS-károsító hatásai miatt szerepet játszhat a karcinogenezisben. Korábban számos tanulmány foglalkozott a vasanyagcsereben résztvevő fehérjék genetikai variánsainak (HFE C282Y, H63D, S65C, TFR S142G) vizsgálatával több daganatos megbetegedésében (pl. emlő-, vastagbélrák). Érdekes, hogy a CMPD-t korábban nem/alig vizsgálták ebben az irányban, annak ellenére, hogy a hematopoiesis igényli a legtöbb vasat a szervezetben, és a CMPD a hematopoietikus őssejt klonális megbetegedése. 328 CMPD beteget és 996 vradó kontrollt genotipizálva csökkent HFE C282Y allél frekvenciát (AF $\pm$ 95% konfidencia intervallum) találtunk a CMPD csoportban (1,8% $\pm$ 1,0%) a kontroll csoporthoz viszonyítva (3,4% $\pm$ 0,8%;  $p=0.048$ ). A HFE H63D, S65C és TFR S142G AF értékek nem tértek el a CMPD és kontroll csoport között. Eredményeink szerint a HFE C282Y védő szerepet tölthet be a CMPD kialakulásával szemben. Feltételezhetően a krónikus vashiány vagy latens vérszegénység CMPD-re hajlamosíthat, és ez ellen védhet a magasabb vasraktárat biztosító HFE C282Y mutáció. Myelodysplasiában (MDS) szintén elvégeztünk a HFE C282Y és H63D mutáció analízist, a kapott eredményeket myeloma multiplexben (MM) szenvedő betegek HFE eredményeivel hasonlítottuk össze. A MDS-ben szenvedő betegek 49%-a (30/61), míg a MM-ben szenvedő betegek csupán 20%-a volt (9/49) HFE mutáció (C282Y és H63D) pozitív. A HFE mutáció pozitív MM betegek fehérvérsejt száma szignifikánsan alacsonyabb volt a mutáció negatív MM betegekhez képest.

#### A témában született folyóiratcikkek:

	Közleményjegyzék	Dokumentum típusa	Impakt faktor	OTKA támogatás feltüntetve?
CMPD/MDS	Andrikovics H, Meggyesi N, Szilvasi A, Tamaska J, Halm G, Lueff S, Nahajevszky S, Egyed M, Varkonyi J, Mikala G, Sipos A, Kalasz L, Masszi T, Tordai A.: HFE C282Y Mutation as a Genetic Modifier Influencing Disease Susceptibility for Chronic Myeloproliferative Disease., Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009;18(3):929-34.	folyóiratcikk	4.770	igen
CMPD/MDS	Várkonyi J, Andrikovics H, Tordai A.: Hemochromatosis gene mutation--could it be a disease marker for myelodysplasia?, Leuk Res. 2009 Jan;33(1):201-2.	folyóiratcikk	2.390	nem
CMPD/MDS	Varkonyi J, Demeter J, Tordai A, Andrikovics H.: The significance of the hemochromatosis genetic variants in multiple myeloma in comparison to that of myelodysplastic syndrome., Ann Hematol. 2006 Dec;85(12):869-71.	folyóiratcikk	1.290	nem

CMPD/MDS	Andrikovics H, Szilvási A, Meggyesi N, Király V, Halm G, Lueff S, Nahajevszky S, Mikala G, Sipos A, Lovas N, Csukly Z, Mátrai Z, Tamáska J, Tordai A, Masszi T.: A 2-es típusú Janus tirozin kináz V617F aktiváló pontmutáció szerepe és kimutatásának jelentősége myeloproliferatív szindrómában., Orv Hetil. 2007 Feb 4;148(5):203-10.	folyóiratcikk	-	igen
----------	--	---------------	---	------

**Akut lymphoid leukémiában (ALL)** örökletes genetikai variánsok (ABCB1 c.2677 G>T/A, A893S/T, rs2032582; ABCB1 c. 3435 C>T, I1145I, rs1045642; ABCG2 c. 34 G>A, V12M, rs2231137; ABCG2 c. 421 C>A, Q141K, rs2231142) hatását vizsgáltuk a betegség kialakulására, és a kezelésekre adott válaszreakciókkal való összefüggésekben. Az ABC transzporterek csoportjába tartozó ABCB1 és ABCG2 fehérjék magas szinten expresszálódnak a hematopoietikus őssejteken, ahol funkciójuk, fiziológiás szubsztrátjuk jelenleg még ismeretlen, de feltételezhető, hogy különböző lipid-oldékonyságú szubsztrátok transzportjával szerepet játszhatnak a hematopoietikus őssejtek nyugalmi, proliferációs ill. differenciációs állapotának szabályozásában. A differenciáció során expressziójuk csökken, azonban leukémiás transzformációkor az éretlen blaszt sejteken ismét megjelenhet. A leukémia kezelése során alkalmazott kemoterápiás szerek többsége szubsztrátja az ABCB1 és ABCG2 fehérjéknek. Az ABCB1 és ABCG2 expresszió fokozódása, illetve funkcionális variánsai szerepet játszhatnak a leukémia kezelése során gyakran kialakuló multidrog rezisztenciában. A két ABC transzporter expressziója/funkciója befolyásolhatja egyes kemoterápiás szerek felszívódását, kiválasztását és szervezeten belüli eloszlását is (pl. a vér-agy gáton történő expresszió miatt befolyásolhatják a toxikus encephalopathiás szövödmények gyakoriságát), így funkcionális variánsaik hatással lehetnek a kemoterápiás szerek mellékhatásainak, toxikus hatásainak kialakulására is. Vizsgálataink során LightCycler alléldiszkriminációs módszert (hibridizációs próbák alkalmazással olvadási görbe elemzésével) használtunk. 396 gyerekkori ALL-ben szenvedő beteg és 192 kontroll egyén vizsgálata során nem találtunk allélfrekvencia eltérést, azonban egyes ritka haplotípusok, illetve ABCB1 és G2 genotípus kombinációk már eltérő előfordulási gyakoriságot mutattak. A kezelés során fellépő toxikus mellékhatásokat kisebb, klinikai szempontból jobban jellemzett betegcsoportokon hasonlítottuk össze. 138 gyerekkori ALL-ben szenvedő beteg esetén hasonlítottuk össze a leukocytopenia és a súlyos infekciós szövödmények gyakoriságát, 291 beteg esetében pedig a toxikus encephalopathia kialakulásának valószínűségét. Az ABCB1 3435TT homozigóta betegek esetén nagyobb gyakorisággal alakult ki súlyos infekciós komplikáció az intenzív kemoterápiás kezelés első fél évében, mint a legalább egy C allélt hordozó betegek esetén (esélyhányados, odds ratio, OR=2,5; p=0,03). Gyengébb asszociációt figyeltünk meg, ha az ABCB1 2677T-3435T haplotípus szempontjából homozigótákat vizsgáltuk a többi haplotípussal szemben (OR=2,3, p=0,09). A terápia reindukciós fázisában a súlyos leukocytopenia gyakorisága azonos volt a különböző ABCB1 genotípusú csoportokban. A különböző ABCG2 genotípusok esetén az infekciós komplikációk gyakorisága nem tért el. Az encephalopathiás epizódok szintén gyakrabban fordultak elő az ABCB1 3435TT homozigóta betegeknél, mint a 3435CC/CT csoportban (OR=3,5; p=0,03). Az ABCG2 421A allélját hordozóknál szintén több encephalopathiás komplikáció alakult ki, mint a CC homozigótáknál (OR=2,0; p=0,25). A toxikus encephalopathia gyakorisága szignifikánsan magasabb volt a mindkét gén predisponáló allélját hordozó gyermekek körében (OR=12,3; p=0,005). Adataink szerint az ABCB1 3435T>C genotípus jelenléte összefügghet az alkalmazott kemoterápia következtében kialakuló infekciós szövödmények súlyosságával, valamint az ABCB1 és ABCG2 variánsok szinergista hatást fejtenek ki a toxikus encephalopathia megjelenését illetően.

#### A témában született folyóiratcikkek:

	Közleményjegyzék	Dokumentum típusa	Impakt faktor	OTKA támogatás feltüntetve?
ALL	Erdélyi DJ, Kámory E, Zalka A, Semsei AF, Csókay B, Andrikovics H, Tordai A, Borgulya G,	folyóiratcikk	1.808	nem

	Magyarosy E, Galántai I, Fekete G, Falus A, Szalai C, Kovács GT.: The role of ABC-transporter gene polymorphisms in chemotherapy induced immunosuppression, a retrospective study in childhood acute lymphoblastic leukaemia., Cell Immunol. 2006 Dec;244(2):121-4.			
ALL	Erdélyi DJ, Kámory E, Csókay B, Andrikovics H, Tordai A, Kiss C, Félné-Semsei A, Janszky I, Zalka A, Fekete G, Falus A, Kovács GT, Szalai C.: Synergistic interaction of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms predicts the prevalence of toxic encephalopathy during anticancer chemotherapy., Pharmacogenomics J. 2008 Oct;8(5):321-7.	folyóiratcikk	5.435	nem
ALL	Semsei AF, Erdélyi DJ, Ungvári I, Kámory E, Csókay B, Andrikovics H, Tordai A, Cságoly E, Falus A, Kovács GT, Szalai C.: Association of some rare haplotypes and genotype combinations in the MDR1 gene with childhood acute lymphoblastic leukaemia., Leuk Res. 2008 Aug;32(8):1214-20.	folyóiratcikk	2.390	nem

Hasonló módszerek alkalmazásával (LightCycler alléldiszkriminációs módszerrel és PCR-RFLP-vel) vizsgáltunk genotípus-fenotípus összefüggéseket, valamint terápiára adott válaszreakciót gyulladásoos bélbetegségben [inflammatory bowel disease, IBD: Crohn betegség (CD): 265, életkor: 35,2±12,1 év, colitis ulcerosa (UC): 149, életkor: 44,4±15,4 years) és 149 egészséges kontroll egyén]. A következő polimorfizmusokat vizsgáltuk: 1.) ABCG2 c. 34 G>A, V12M, rs2231137; 2.) ABCG2 c. 421 C>A, Q141K, rs2231142; 3) ABCB1 c.2677 G>T/A, A893S/T, rs2032582; 4) ABCB1 c. 3435 C>T, I1145I, rs1045642; 5.) IL23R c.1227G>A, R381Q, rs11209026; 6.) ATG16L1 c.1338A>G, T300A, rs2241880; 7.) NFKBIA 3'UTR c.1190G>A, rs696 és 8) NFKB1 5'UTR c.-94ins/delATTG, rs28362491). IBD-ben az ABCB1 és az ABCG2 gének vizsgált polimorfizmusai hasonló allélfrekvenciát mutattak, mint a kontroll populáció. Nem találtunk összefüggést a szteroid refrakter betegség fenotípus megjelenése és a genotípus között Crohn betegségben. Eredményeink megerősítették az IL23R rs11209026 és az ATG16L1 rs2241880 asszociációját a Crohn betegséggel [OR(IL23R381Q): 0,38; 95%CI: 0.16-0.87; OR(ATG16L1300AA): 1,86; 95%CI: 1,04-3,40], amelyben az IL23R 381Gln heterozigóta státusz a gyulladásoos fenotípusú betegséggel mutatott asszociációt (70% vs. 34%, p=0,037), míg a vastagbélre lokalizálódó fenotípusú CD az ATG16L1 300Aa homozigotáknál volt gyakoribb (33,3% vs. 21,1%, p=0,036). A variánsok jelenléte nem mutatott összefüggést a szteroid és infliximab válaszkészséggel, valamint a sebészeti beavatkozások számával. Az NFKBIA gén 3'UTR c.1190G>A és az NFKB1 gén c.-94ins/delATTG allélfrekvenciák nem tértek el a beteg és a kontroll csoportokban. UC-ben a 3'UTR GG genotípus a kiterjedt colitis jelenlétével mutatott összefüggést (55,3 vs. 29,4%; OR=2,97, 95%CI: 1,45-6,08). Az NFKBIA 3'UTR és NFKB1 5'UTR variánsok jelenléte nem mutatott összefüggést a terápiás válaszreakciókkal.

#### A témában született folyóiratcikkek:

	Közleményjegyzék	Dokumentum típusa	Impakt faktor	OTKA támogatás feltüntetve?
IBD	Fischer S, Lakatos PL, Hungarian IBD Study Group, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, Papp M, Szilvasi A, Tulassay Z, Osztovits J, Papp J, Demeter P, Schwab R, Tordai A, Andrikovics H.: ATP-binding cassette transporter ABCG2 (BCRP) and ABCB1 (MDR1) variants are not associated with disease susceptibility, disease phenotype response to medical therapy or need for surgery in Hungarian patients with inflammatory bowel diseases., Scand J Gastroenterol. 2007 Jun;42(6):726-33.	folyóiratcikk	1.758	igen
IBD	Lakatos PL, Szamosi T, Szilvasi A, Molnar E, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, Papp M, Tulassay Z, Miheller P, Papp J, Tordai A, Andrikovics H; Hungarian IBD Study Group.: ATG16L1 and IL23 receptor (IL23R) genes are associated with disease susceptibility in Hungarian CD patients., Dig Liver Dis. 2008 Nov;40(11):867-73.	folyóiratcikk	2.577	igen
IBD	Szamosi T, Lakatos PL; Hungarian IBD Study Group, Szilvasi A, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Altorjay I, Papp M, Szabo O, Satori A, Tulassay Z, Miheller P, Horvath HC, Papp J, Tordai A, Andrikovics H.: The 3'UTR NFKBIA variant is associated with extensive colitis in Hungarian IBD patients., Dig Dis Sci. 2009 Feb;54(2):351-9.	folyóiratcikk	1.583	igen

Az új molekuláris markerek vizsgálata és mennyiségi meghatározása nagyszámú beteg esetén jellemzi az adott marker alkalmazhatóságát, mint prognosztikai faktor, illetve mint betegség specifikus marker. A nagy érzékenységgű molekuláris genetikai módszerek lehetővé teszik a malignus hematológiai betegségek követése során a minimális reziduális betegség kimutatását, amely lehetőséget biztosít a személyre szabott terápia kialakításához. A geno- és fenotípus összefüggések vizsgálatával új megfigyelések vonhatóak le az egyes betegségek kialakulásának patomechanizmusára és terápiás válaszreakciójára vonatkozóan. Eredményeinkből a következő következtetéseket vonhatjuk le:

- Ismertté vált az NPM1, az FLT3 ITD és TKD, valamint a c-kit mutációinak előfordulási gyakorisága egy hazai AML betegcsoportban. A rossz prognózissal járó FLT3 ITD mutáció kimutatása jelenleg modern, kockázat-függő kezelési protokollok alkalmazásának alapja, a rosszabb prognosztikai csoportba sorolható betegeknek a csontvelő transzplantációs, esetleg intenzívebb kemoterápiás kezelést helyezik előtérbe. Lehetőség van a minimális reziduális betegség monitorozására nagyszámú, egyéb genetikai markerrel nem rendelkező AML-ben szenvedő beteg esetén is.
- A CML követésében alkalmazott különböző genetikai módszerek (karyotipizálás, FISH, minőségi RT-PCR és az újonnan bevezetett mennyiségi RT-PCR) összehasonlítása során hatékony diagnosztikai protokollok dolgozhatók ki a relapszus korai detektálására. A megfelelő időben elvégzett BCR-ABL tirozin kináz domén génmutáció vizsgálat segítséget nyújthat annak eldöntésében, hogy az adott mutáció által okozott rezisztencia az elsőgenerációs BCR-ABL TKI dózisának emelésével áttörhető-e (pl. M244V, F317L, M315T) vagy célszerűbb-e második generációs TKI kezelést mérlegelni. A 30-200-szoros hatékonyságú második generációs BCR-ABL inhibitorok az imatinib rezisztenciát eredményező mutációk túlnyomó többsége jelenlétében is kifejtik gátló hatásukat, ez alól kivétel a T315I mutációt. A T315I BCR-ABL mutáció jelenlétében mind a négy klinikai gyakorlatban elérhető TKI-re kialakul egyidejű rezisztencia, így pozitív esetben célszerűbb más kezelési lehetőségeket előtérbe helyezni (csontvelő transzplantáció, interferon, homoharringtonine, stb.). A TKI-k egyre szélesebb körű elterjedésével a BCR-ABL pontmutációk kimutatása kulcsfontosságúvá válhat a megfelelő TKI, illetve kombináció kiválasztásában.
- Vizsgálataink alapján a JAK2 V617F mutáció-analízis egy könnyen kivitelezhető, nem invazív módszer, amely nagymértékben segíti a CMPD differenciáldiagnosztikáját. A JAK2 V617 mutáció kimutatás jelentőségét az is mutatja, hogy az új CMPD WHO kritériumrendszer a JAK2 V617F mutáció jelenlétét PV, ET és MF esetén major diagnosztikai kritériumok közé sorolta. A HFE C282Y egy korábban nem ismert, új védő faktor lehet a JAK2 V617F pozitív CMPD kialakulásával szemben. Ennek hátterében feltehetően az állhat, hogy a krónikus vashiány vagy latens vérszegénység CMPD-re hajlamosít (pl. rendszeres véradoáknál, vagy nőknél gyakrabban alakul ki JAK2 pozitív CMPD), és ez ellen védhet a magasabb vasraktárakat biztosító HFE C282Y mutáció.
- Méréseink új geno- és fenotípus összefüggéseket tártak fel az akut lymphoblasztos leukémia és a gyulladáshoz vezető bélbetegség pathomechanizmusára, illetve a terápiás válaszreakciókra vonatkozóan.