

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI



ONKOHEMATOLÓGIAI KÓRKÉPEK KORSZERŰ GENETIKAI JELLEMZÉSE

Dr. Bödör Csaba

Semmelweis Egyetem

I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport

2020.

TARTALOMJEGYZÉK

I	BEVEZETÉS	4
I.1	Follicularis lymphoma transzformációjának feltérképezése és új terápiás célpontok azonosítása	4
I.2	Célzott terápia szelekciós nyomására kialakuló evolúciós folyamatok feltérképezése krónikus lymphocytás leukémiában	5
I.3	Driver mutációk mennyiségi feltérképezése és fehérje-szintű kimutatása Philadelphia kromoszóma negatív krónikus myeloproliferatív neopláziákban.....	6
I.4	Csíravonalbeli genetikai eltérések azonosítása familiáris myeloid onkohematológiai kórképekben	7
II	CÉLKITŰZÉS.....	8
III	ANYAG ÉS MÓDSZER.....	10
III.1	DNS és RNS izolálás	10
III.2	Teljes genomszekvenálás	10
III.3	Teljes exomszekvenálás	11
III.4	Célzott új-generációs szekvenálás.....	11
III.5	Sanger szekvenálás.....	12
III.6	Droplet digitális PCR (ddPCR).....	12
III.7	Valós-idejű kvantitatív PCR (RQ-PCR)	12
III.8	Fragmenshossz-analízis.....	12
III.9	Immunhisztokémiai analízis: CALR mutációk fehérje-szintű kimutatása	13
III.10	Multiplex ligációfüggő szondaamplifikáció (MLPA).....	13
III.11	Bioinformatikai analízisek	13

III.12	Statisztikai analízisek.....	13
III.13	Etikai vonatkozások	14
III.14	Pályázati támogatások.....	14
IV	<i>EREDMÉNYEK</i>	15
IV.1	Follicularis lymphoma transzformációjának feltérképezése és új terápiás célpontok azonosítása.....	15
IV.2	Célzott terápia szelekciós nyomására kialakuló evolúciós folyamatok és rezisztencia feltérképezése krónikus lymphocytás leukémiában	17
IV.3	Driver mutációk mennyiségi feltérképezése és fehérje-szintű kimutatása Philadelphia kromoszóma negatív krónikus myeloproliferatív neopláziákban.....	19
IV.4	Csíravonalbeli genetikai eltérések azonosítása familiáris myeloid onkohematológiai kórképekben	21
V	<i>ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK</i>	23
VI	<i>AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK</i>	26
VI.1	A jelölt első- vagy utolsószerzős közleményei az értekezés témájában	26
VI.2	Az értekezés témájához kapcsolódó kollaborációs közlemények	30
VII	<i>TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK AZ MTMT2 ALAPJÁN.</i>	34
VIII	<i>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</i>	36

I BEVEZETÉS

Az elmúlt évtizedben az onkohematológiai kórképek genetikai hátterének megismerése során robbanásszerű fejlődés szemtanúi lehettünk. Ennek háttérében döntően az új-generációs szekvenálás (NGS) megjelenése és egyre szélesebb körben való alkalmazása áll, aminek köszönhetően szinte valamennyi onkohematológiai entitás teljes genetikai kódját megismertük. A nagy mennyiségű genomikai információ a legtöbb hematológiai malignus kórkép diagnosztikus kritériumait és rizikóbecslését is alapjaiban változtatta meg, sőt, számos esetben a korszerű kezelések hatékonyságát előrejelző és a betegség monitorozására alkalmas prediktív biomarkerek felfedezéséhez is vezetett, ami molekuláris eltéréseken nyugvó diagnosztikus algoritmusok, prognosztikus rendszerek és a célzott terápiák hatékonyságát előrejelző és nyomon követni képes biomarkerekre épülő molekuláris diagnosztikai eljárások megjelenését eredményezte az onkohematológiában.

Az alább ismertetett megfigyelések a jelölt munkájának szemelvényeit mutatják be, amely eredmények az elmúlt évtizedben az onkohematológiai kórképek genetikai hátterének feltárására irányuló kutatások eredményeként születtek, a kórképcsoporthoz reprezentáló négy különböző modell entitást vizsgálva, örökletes és szerzett genetikai eltérések vonatkozásában.

I.1 Follicularis lymphoma transzformációjának feltérképezése és új terápiás célpontok azonosítása

A nyugati országokban az egyik leggyakoribb indolens lymphoma, a follicularis lymphoma (FL) a nyirokcsomókban található csíráközpont eredetű B-sejtek gyógyíthatatlan megbetegedése. Bár a kemoimmuno-terápia bevezetését követően a betegek teljes túlélése ma már eléri a 10-15 évet, a betegségre gyakori relapszusok jellemzőek és a betegek egy része (évente mintegy 3%) úgynevezett

high-grade transzformáción esik át, ami rendkívül kedvezőtlen kimenetellel társul. Az elmúlt évtizedekben döntően a hagyományos citogenetikai eszköztár alkalmazásával a betegek 90%-ában megtalálható *IGH-BCL2* transzlokáción túl számos kromoszóma-eltérést azonosítottak a betegség hátterében, azonban a legnagyobb klinikai kihívást jelentő transzformáció hátterében álló genetikai eltérések, valamint új terápiás célpontok felfedezése egészen a legkorszerűbb technológiák megjelenéséig és munkacsoportunk ilyen irányú tanulmányának megjelenéséig váratott magára.

1.2 Célzott terápia szelekciós nyomására kialakuló evolúciós folyamatok feltérképezése krónikus lymphocytás leukémiában

A krónikus lymphocytás leukémia (CLL) a leggyakoribb B-sejtes leukémia típus a fejlett világban. A CLL-t rendkívül heterogén klinikai lefolyás jellemzi, amely során a betegek egy része csak évek múlva, vagy egyáltalán nem szorul kezelésre és stabil betegséggel él hosszú évekig. A betegek egy másik csoportjában ugyanakkor a standard kemoimmuno-terápiás kezelések hatására kialakuló klonális evolúció a kezeléssel szemben rezisztens klónok szelekcióját eredményezi, ami agresszív kórlefolyáshoz és a betegek halálához vezet. Az elmúlt évek terápiás fejlesztéseinek köszönhetően ebben a várhatóan kedvezőtlen kimenetellel bíró, gyakran a *TP53* gén aberrációit hordozó betegcsoportban elérhetővé váltak különböző jelátvitel-gátlószerek, amelyek áttörést hoztak a relabáló/refrakter (R/R) CLL kezelésében is. A Bruton tirozin-kináz (BTK) gátló ibrutinib rendkívül hatékonynak bizonyult az R/R CLL terápiájában. A kiemelkedő túlélési eredmények ellenére a betegek mintegy 20%-a néhány év elteltével rezisztenssé válik az ibrutinib kezelésre, aminek hátterében döntően a *BTK* és *PLCG2* gének mutációi állnak. Ugyanakkor az ibrutinib szelekciós nyomásának hatására kialakuló szubklonális evolúció mintázatait a CLL főbb mutációs célpontjainak

kontextusában, valamint a *BTK* mutációk megjelenésének időbelisége napjainkig nem volt ismert.

I.3 Driver mutációk mennyiségi feltérképezése és fehérje-szintű kimutatása Philadelphia kromoszóma negatív krónikus myeloproliferatív neopláziákban

A Philadelphia kromoszómát nem hordozó (ún. Philadelphia kromoszóma negatív: Ph-) krónikus myeloproliferatív neopláziák (MPN) hemopoetikus őssejt (HSC) eredetű neoplasztikus betegségek, amelyekre egy vagy több sejtsoron kiértékelt funkcionáló sejtek szaporulata mellett fokozott trombózis-rizikó és leukémiás transzformáció emelkedett kockázata jellemző. A Ph- MPN-ák közé a polycythaemia verát (PV), az esszenciális thrombocythaemiát (ET) és a primer myelofibrózt (PMF) soroljuk, amely kórkepek háttérben álló mutációkat 2005 és 2013 között azonosították. A *Janus-2 kináz* (*JAK2*), *Calreticulin* (*CALR*) és *thrombopoetin receptor* (*MPL*) mutációk kimutatása mára a betegségsoport diagnosztikájának meghatározó elemévé vált, egy molekuláris alapokon meghatározott betegségsoportot eredményezve. Az utóbbi években előtérbe került a mutációk mennyiségi meghatározásának jelentősége is. Több tanulmány eredményei is arra utalnak, hogy *JAK2* és *CALR* mutációk esetében az úgynevezett mutációs allélterhelés mértéke, amely a malignus klón méretére utal, összefüggést mutat a betegek túlélésével és a klinikai lefolyást befolyásoló számos egyéb paraméterrel ET-ben és PMF-ben. Továbbá, a *CALR* mutációk fehérje-szintű kimutatásának lehetősége és jelentősége is felmerült a közelmúltban. Mindazonáltal a *JAK2* és *CALR* mutációs alléltömegének klinikai jelentőségét és a *CALR* variánsok fehérje-szintű analízisének mindennapi gyakorlatban való alkalmazhatóságát nagyszámú beteg mintáját feldolgozó tanulmányok még nem erősítették meg.

I.4 Csírvonalbeli genetikai eltérések azonosítása familiáris myeloid onkohematológiai kórképekben

Bár az onkohematológiai kórképekre alapvetően sporadikus betegségeként gondolunk, amelyek kialakulásának hátterében különböző létfontosságú fehérjéket kódoló gének szerzett, azaz szomatikus mutációi állnak, az utóbbi években egyre több olyan esetet írtak le, ahol családi halmozódás hátterében valamely gén csírvonalbeli („germline”) mutációját azonosították az érintett egyéneknél. A vizsgálati módszerek dinamikus fejlődésével párhuzamosan a myeloid rendszer familiáris megbetegedéseiben azonosított, csírvonalbeli mutációkat hordozó gének száma az elmúlt években jelentősen emelkedett, így a korábban irodalmi ritkaságnak vélt esetek mára egy önálló entitást, a „myeloid neopláziák germline hajlamosító tényezővel” elnevezésű csoportot alkotják az onkohematológiai kórképek körében. Mára több mint 20, hajlamosító mutációkat hordozó gént ismerünk a familiáris myelodysplasiaszindróma (MDS) és akut myeloid leukémia (AML) hátterében, amelyek közül kiemelhető az elsőként azonosított *RUNX1* transzkripciós faktor, melynek öröklődő mutációi gyakori hajlamosító tényezőként jelennek meg az előzetes vérlemezké funkciózavart követően kialakuló MDS/AML hátterében. A *GATA2* transzkripciós faktor génjének germline eltérései leginkább különböző immundeficienciák talaján megjelenő MDS/AML kapcsán ismertek, míg a telomerműködésben résztvevő *TERC* és *TERT* csírvonalbeli mutációi az ún. „telomere biology disorder” predispozíciós szindróma nyomán kialakuló myeloid malignitásokhoz köthetők. A hajlamosító gének mutációi gyakran egyéb gének szerzett, kooperáló mutációival együtt fordulnak elő, aminek fontos hatása lehet az adott betegség klinikai lefolyására. Mindazonáltal, kutatócsoportunk munkáját megelőzően hazánkban ezen hajlamosító eltérések vizsgálatára és így az érintett családok azonosítására nem került sor.

II CÉLKITŰZÉS

A doktori tézisek alapjául szolgáló kutatómunka specifikus célkitűzései:

- 1) A follicularis lymphoma agresszív lymphomába történő transzformációjának hátterében álló genetikai eltérések és a klonális evolúció folyamatának feltérképezése.
- 2) Az *EZH2* mutációk jelentőségének és klonális architektúrájának feltárása follicularis lymphomában.
- 3) Az ibrutinib kezelés hatására kialakuló szubklonális evolúció feltérképezése krónikus lymphocytás leukémiában szenvedő betegekben.
- 4) A *BTK* és *PLCG2* mutációk szerepének tisztázása az ibrutinib rezisztencia kialakulásában és korai előrejelzésében.
- 5) A *JAK2* és *CALR* driver mutációk mennyiségi meghatározásának és klinikai jelentőségének feltérképezése Philadelphia kromoszóma negatív krónikus myeloproliferatív neopláziákban (esszenciális thrombocythaemia és primer myelofibrózis).
- 6) A *CALR* mutációk fehérje-szintű, mennyiségi kimutatására alkalmas diagnosztikus eljárás kidolgozása Philadelphia kromoszóma negatív krónikus myeloproliferatív neopláziákban (esszenciális thrombocythaemia és primer myelofibrózis).
- 7) Klinikai szempontból jelentős csíravonalbeli genetikai eltérések azonosítása familiáris myeloid onkohematológiai kórképek esetében.

- 8) A klinikai heterogenitás hátterében álló kooperáló genomikus változások azonosítása egy *GATA2* mutációt hordozó magas rizikójú myelodysplasiás szindrómában szenvedő család esetében.
- 9) A klinikai heterogenitás hátterében álló kooperáló genomikus változások azonosítása egy *RUNX1* mutációt hordozó familiáris vérlemezke zavar – akut myeloid leukémia (FPD-AML) kórképben szenvedő hazai modell család esetében.

III ANYAG ÉS MÓDSZER

A 2009 és 2020 között végzett vizsgálatok több hazai és nemzetközi onkohematológiai és patológiai centrumban gyűjtött betegcsoport több mint ezer mintájának bevonásával zajlottak. Az FL-ben szenvedő betegek nyirokcsomó biopsziás mintáiból származó DNS minták a londoni Barts Cancer Institute Onkohematológiai központjának szövetbankjából származtak, míg a CLL, ET, MF és a familiáris myeloid kórképek által érintett betegek csontvelő-, nyirokcsomó- és perifériás vérmintái a Semmelweis Egyetem (SE) I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetének onkohematológiai mintagyűjteményéből, valamint a Pécsi Tudományegyetem Patológiai Intézetéből származtak. Az egyes entitások diagnózisai az adott tanulmány idején érvényben lévő Egészségügyi Világszervezet kritériumrendszerének megfelelően születtek az SE I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében vagy az MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport valamely hazai kollaborációs partner intézményében (Dél-Pesti Centrumkórház és Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Debreceni Tudományegyetem, Szegedi Tudományegyetem, Pécsi Tudományegyetem).

III.1 DNS és RNS izolálás

DNS kivonást végeztünk valamennyi általunk vizsgált entitás szövetmintáiból további genetikai vizsgálatok kivitelezésének céljából a hagyományos, szilika-oszlop alapú extrakciós eljárásokat alkalmazva.

III.2 Teljes genomszekvenálás

Teljes genomszekvenálást (WGS) alkalmaztunk az FL transzformációjában szerepet játszó genetikai eltérések

feltérképezésére összesen hat beteg szekvenciális mintáinak (8 FL és 6 tFL minta) esetében.

III.3 Teljes exomszekvenálás

Teljes exomszekvenálással (WES) tártuk fel további négy FL-ben szenvedő beteg összesen 6 FL és 4 tFL mintájának teljes kódoló régióját, valamint WES alkalmazásával azonosítottuk a kooperáló szomatikus pontmutációkat és kópiaszám-eltéréseket egy *RUNX1* mutációt hordozó familiáris vérlemezke zavar – akut myeloid leukémia kórképben szenvedő hazai modell család esetében (4 gyermek és két szülői mintát vizsgálva).

III.4 Célzott új-generációs szekvenálás

Célzott NGS vizsgálatot, ún. panel-szekvenálási vizsgálatot több entitás (FL és CLL) esetében is végeztünk. Az *EZH2* gén NGS analízisét összesen 432 FL minta esetében végeztük el. FL esetében a WGS és WES kísérletek során azonosított 28 kandidáns gén (*BCL10*, *CARD11*, *CD79a*, *CD79b*, *CREBBP*, *EBF1*, *EZH2*, *HIST1H1B*, *HIST1H1C*, *HIST1H1D*, *HIST1H1E*, *HIST1H2AC*, *HIST1H2AG*, *HIST1H2BC*, *HIST1H2BD*, *HIST1H2BG*, *IKZF3*, *KLHL6*, *MEF2B*, *MLL2*, *MYD88*, *PLCG2*, *PRKCB*, *SOCS1*, *STAT3*, *STAT6*, *TNFAIP3* és *TNFRSF14*) NGS analízise 100 FL minta és 32 FL-tFL mintapár esetében zajlott. Az ibrutinib kezelés szelekciós nyomására végbemenő klonális evolúció folyamatát 30 célgén (*ATM*, *BCOR*, *BIRC3*, *BRAF*, *BTK*, *CHD2*, *DDX3X*, *EGR2*, *EIF2A*, *EP300*, *FBXW7*, *HIST1H1E*, *IGLL5*, *KLHL6*, *MLL2*, *LRP1B*, *MED12*, *MGA*, *MYD88*, *NFKBIE*, *NOTCH1*, *PLCG2*, *POT1*, *RIPK1*, *RPS15*, *SAMHD1*, *SF3B1*, *TP53*, *XPO1* és *ZMYM3*) NGS analízisével vizsgáltuk 20 CLL-es beteg ibrutinib kezelés előtt és a kezelés során gyűjtött mintapárján.

III.5 Sanger szekvenálás

Sanger szekvenálással valamennyi, az értekezésben vizsgált entitás esetében végeztünk mutációanalízist. FL-ben az *EZH2* gén mutációs forrópontjait (16-os és 18-as exonok), familiáris myeloid kórképek esetében a *CEBPA*, *NPM1*, *FLT3*, *RUNX1*, *ASXL1*, *c-CBL*, *TET2*, *GATA2*, *ANKRD26*, *ETV6*, *DDX41*, *TERC*, *TERT*, *SRP72* géneket, valamint a Ph- MPN-ák esetében az *MPL* gén mutációs státuszának meghatározását, valamint a *CALR* mutációk pontos típusának meghatározását végeztük el e módszerrel.

III.6 Droplet digitális PCR (ddPCR)

Droplet digitális PCR-t (ddPCR) alkalmaztunk az ibrutinib rezisztencia kapcsán kialakuló *BTK* Cys481Ser és *PLCG2* Asp993His mutációk szenzitív kimutatásának és nyomon követésének céljából CLL-ben.

III.7 Valós-idejű kvantitatív PCR (RQ-PCR)

A *JAK2* V617F mutációs státuszt és a mutáns allélterhelést TaqMan-alapú valós-idejű kvantitatív PCR (RQ-PCR) vizsgálattal határoztuk meg 652 Ph- MPN esetben. A minták *JAK2* V617F mutációs terhelését ΔC_t módszerrel határoztuk meg, az alábbi képlet alkalmazásával:

$$VAF = \Delta C_t - V617F / (\Delta C_t - WT + \Delta C_t - V617F) \times 100.$$

III.8 Fragmenshossz-analízis

A *CALR* gén 9-es exonjának mutációit nagy felbontású fragmenshossz-analízissel vizsgáltuk 652 Ph- MPN esetben.

III.9 Immunhisztokémiai analízis: *CALR* mutációk fehérjeszintű kimutatása

Kilencvenegy, különböző *CALR* mutációt hordozó beteg formalinban fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) csontvelő-biopsziás mintáján végeztük el az immunhisztokémiai (IHC) *CALR* mutációanalízist a mutáns *CALR* fehérjére specifikus CAL2 antitest (CAL2 klón, DIA-CAL-250; Dianova) alkalmazásával. A CAL2 jelölés szoftveres kiértékeléséhez automatizált képanalízist alkalmaztunk (DensitoQuant modul; 3DHISTECH).

III.10 Multiplex ligációfüggő szondaamplifikáció (MLPA)

MLPA alkalmazására a familiáris MDS/AML/ esetek genetikai hátterének feltérképezése során, valamint a CLL klonális evolúciójának vizsgálata kapcsán került sor. A familiáris MDS/AML vizsgálatára a SALSA P437-B1 azonosítójú szondakeveréket (MRC-Holland) használtuk, CLL esetében két (SALSA MLPA P037 CLL-1 és SALSA P038 MLPA CLL-2; MRC-Holland) szondakeverék alkalmazásával végeztünk vizsgálatokat.

III.11 Bioinformatikai analízisek

A 2009 és 2020 között generált NGS adatokat részletes bioinformatikai analízisnek vettük alá, amely során a Homo Sapiens referencia-genomhoz való illesztést követően a legkorszerűbb hibakorrektációs algoritmusok és variáns-hívási eljárások alkalmazása után végeztük el a variánsok annotációját és klinikai interpretációját.

III.12 Statisztikai analízisek

A statisztikai elemzéseket a GraphPad Prism szoftverrel végeztük. A komparatív analízisekhez két változó esetén, normál eloszlást mutató folytonos változó esetében t próbát, nem Gauss-eloszlást mutató

folytonos változó esetén Mann-Whitney U-próbát használtunk. Kettőnél több változó esetén ANOVA analízist alkalmaztunk. ANOVA analízis esetén post-hoc tesztként Tukey- vagy Bonferroni-teszt alkalmazása történt. Korreláció számításához Pearson-próbát használtunk. A túlélési analízishez Kaplan-Meier eljárást alkalmaztunk.

III.13 Etikai vonatkozások

Valamennyi tanulmányunk a Helsinkai Nyilatkozattal összhangban, az alábbi releváns etikai engedélyek birtokában: London Research Ethical Committee (05/Q0605/140); Semmelweis Egyetem, Regionális, Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (TUKÉB 155/2012); Egészségügyi Tudományos Tanács, Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (ETT-TUKÉB: 14383-2/2017/EKU és 45371-2/2016/EKU).

III.14 Pályázati támogatások

Az értekezésben bemutatott eredmények az alábbi pályázati támogatások segítségével valósultak meg: **i)** Európai Hematológus Társaság posztdoktori ösztöndíja (EHA Partner Fellowship 2010-2012), **ii)** Nemzeti Kiválóság Program Szent-Györgyi Albert posztdoktori ösztöndíja (2013-2014), **iii)** Országos Tudományos Kutatási Alap posztdoktori pályázata (OTKA-PD pályázat, 2013-2015), **iv)** Magyar Tudományos Akadémia Lendület pályázata (2015-2020), **v)** Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal K16 pályázata (NKFIH K16 pályázat, 2016-2020) és KH17 pályázata (NKFIH KH17 pályázat, 2017-2019), valamint **vi)** az Európai Bizottság és az NKFIH által finanszírozott ERA-PerMed konzorciális pályázata (ERA-PerMed pályázat, 2019-2022). Kutatásainkat részben támogatta az NKFIH Nemzeti Versenyképességi és Kiválósági Programjának pályázata is (NVKP_16 pályázat, 2017-2020).

IV EREDMÉNYEK

Az alább bemutatásra kerülő eredmények a jelölt elmúlt évtizedben közölt tíz idegennyelvű és három magyar nyelvű első- vagy utolsószerzős eredeti közleményeinek főbb megfigyeléseit foglalják magukba különböző onkohematológiai kórképek szomatikus és csíravonalbeli genetikai jellemzésének témakörében.

IV.1 Follicularis lymphoma transzformációjának feltérképezése és új terápiás célpontok azonosítása

WGS és WES alkalmazásával tíz, FL-ben szenvedő beteg transzformáció előtti (FL) és azt követő (tFL) szövetmintapárjait vizsgálva feltérképeztük az FL agresszív lymphomába történő transzformációjának háttérében álló legfontosabb genetikai léziókat. Összesen 1560, fehérje-szerkezetet módosító mutációt azonosítottunk ezen betegekben, amelyek 908 gént érintettek. Gyakori mutációkat azonosítottunk a linker hiszton génekben, az epigenetikai gépezet enzimeit kódoló génekben, a JAK-STAT- és NKFB-jelátviteli utak komponenseiben, valamint a B-sejt fejlődésért felelős gének egy csoportjában. A relevánsnak vélt gének (*BCL10*, *CARD11*, *CD79a*, *CD79b*, *CREBBP*, *EBF1*, *EZH2*, *HIST1H1C*, *HIST1H1E*, *HIST1H2AC*, *HIST1H2BC*, *HIST1H2BD*, *HIST1H2BG*, *IKZF3*, *KLHL6*, *MEF2B*, *MLL2*, *MYD88*, *PLCG2*, *PRKCB*, *SOCS1*, *STAT3*, *STAT6*, *TNFAIP3*, *TNFRSF14*, *HIST1H1D*, *HIST1H2AG*, *HIST1H1B*) eltéréseinek mintázatát további 20 FL-tFL mintapáron határoztuk meg célzott NGS vizsgálattal. Ezek alapján megfigyeltük, hogy a betegek több mint 70%-a hordoz visszatérő mutációkat legalább két epigenetikai szabályozót kódoló génben a *KMT2D*, *CREBBP*, *EP300*, *EZH2* gének közül. A betegek 28%-ában mutattunk ki mutációkat legalább egy H1 linker génben, míg a JAK-STAT útvonalhoz tartozó *STAT6* és *SOCS1* mutációk gyakorisága 12%-nak, illetve 8%-nak

adódott. Gyakori mutációkat hordozott továbbá a B-sejt fejlődésben kiemelt szerepelt betöltő *EBF1* gén (17%), valamint az NFκB útvonal negatív szabályozói közül a *CARD11* (11%) és *TNFAIP3* (11%) gének.

A nem-szinonim mutációkat felhasználva filogenetikai fákat szerkesztettünk valamennyi esetben, amelyek lineáris evolúció helyett úgynevezett divergens evolúciót jeleztek az FL transzformációjának lehetséges mechanizmusaként. Eredményeink alapján e folyamatban központi szerepet tölt be az ún. közös progenitor klón (CPC: „common progenitor clone”), amely mintegy rezervoárjaként szolgál a betegség újabb epizódjait majd a transzformációt kialakító daganatsejteknek. A CPC-k gyakran hordoztak mutációkat az epigenetikai gépezet enzimeiben (*KMT2D*, *CREBBP*, *EP300*, *EZH2*), valamint a JAK-STAT jelátvitel (*SOCS1*, *STAT6*) és az NFκB jelátvitel komponenseiben (*BCL10*, *CARD11*, *CD79b*). A filogenetikai analízis eredményeire arra is utaltak, hogy míg a *KMT2D*, *CREBBP* és *EZH2* eltérések korai eseménynek számítanak a tumor evolúciós folyamatában, addig az *EBF1*, *MYD88* és *TNFAIP3* gének eltérései a transzformáció során alakulnak ki (*Okosun, Bödör, Wang, Nature Genetics 2014*).

Mivel az *EZH2* hiszton-metiltranszferáz aktiváló mutációi attraktív potenciális terápiás célpontot képviseltek, kutatócsoportunk is különös figyelmet fordított az *EZH2* mutációk gyakoriságának és klonalitásának meghatározására nagy esetszámú FL betegcsoportokat vizsgálva. Kezdeti megfigyeléseink szerint, hagyományos Sanger szekvenálással elemezve egy 221 betegből álló csoportot, az *EZH2* Y641, A677 és A687 mutációs forrópontokat érintő mutációk gyakorisága 12%-nak adódott (*Bödör és mtsai, Leukemia 2011*). Kimutattuk továbbá, hogy az *EZH2* mutációk jelenléte nem befolyásolja a betegség lefolyását. Az *EZH2* mutációk gyakoriságát és az FL klonális architektúrájában elfoglalt szerepét egy 366 fős FL betegcsoport esetében vizsgáltuk tovább egy érzékenyebb NGS módszerrel, aminek eredményeképp az *EZH2* mutációk gyakoriságát

27%-ban határoztuk meg FL-ben, meglehetősen széles tartományt átfogó variáns allél frekvencia (VAF) értékekkel társulva. További epigenetikai szabályozók mutációinak párhuzamos analízisével bizonyítottuk, hogy az alacsony VAF-fal bíró *EZH2* mutációk döntő többsége is klonális genetikai eseményt képvisel, így az *EZH2* mutációk a betegek mintegy negyedében jelenthetnek optimális terápiás célpontot (*Bödör és mtsai, Blood 2013*).

IV.2 Célzott terápia szelekciós nyomására kialakuló evolúciós folyamatok és rezisztencia feltérképezése krónikus lymphocytás leukémiában

Bár a célzott terápiák jelentős túlélésbeli javulást hoztak számos B-sejtes malignitás esetében, több megfigyelés is arra utalt, hogy a klonális evolúció folyamata, amely rezisztens szubklónok szelekciójához vezet, a hagyományos citotoxikus terápiákhoz hasonlóan az új célzott terápiák szelekciós nyomásának hatására is fennáll. E jelenséget a krónikus lymphocytás leukémiában (CLL) az elmúlt néhány évben áttörést hozó BTK gátlószer ibrutinib kapcsán elemeztük. Húsz beteg ibrutinib kezelést megelőző és a kezelést követő mintapárjainak célzott NGS analízisével nagyfokú szubklonális heterogenitást tártunk fel valamennyi esetben az *ATM*, *BCOR*, *BIRC3*, *BRAF*, *BTK*, *CHD2*, *DDX3X*, *EGR2*, *EIF2A*, *EP300*, *FBXW7*, *HIST1H1E*, *IGLL5*, *KLHL6*, *KMT2D*, *LRP1B*, *MED12*, *MGA*, *MYD88*, *NFKBIE*, *NOTCH1*, *PLCG2*, *POT1*, *RIPK1*, *RPS15*, *SAMHD1*, *SF3B1*, *TP53*, *XPO1* és *ZMYM3* gének vizsgálata során. A 30 analizált génben összesen 211 szomatikus mutációt azonosítottunk, melyek közül a leggyakrabban mutált géneknek a *NOTCH1* (70%), *ATM* (70%), *TP53* (65%) és *BCOR* (55%) bizonyultak. A mutációs folyamatok időbeliségét vizsgálva megfigyeltük, hogy az *IGLL5*, *EIF2A* és *EP300* gének mutációi tűntek el az ibrutinib kezelés hatására, ugyanakkor az *SF3B1*, *MGA*, *BIRC3* és *MYD88* gének

mutációinak dúsulását figyeltük meg a poszt-ibrutinib vizsgálati mintákban. A *BTk*, *PLCG2*, *RIPK1*, *NFKBIE* és *XPO1* gének mutációi kizárólag az ibrutinib kezelés megkezdését követően gyűjtött mintákban jelentek meg. Konvergens evolúciót, azaz többszörös mutációk megjelenését ugyanazon génben, a betegek 50%-ában azonosítottunk. A betegek 40%-ában mutattunk ki ibrutinib rezisztenciához köthető *BTk* vagy *PLCG2* mutációkat. A már ismert *BTk* Cys481 és *PLCG2* Asp993 mutációk mellett korábban még nem ismert *BTk* (Arg28, Gly164, Arg490) és *PLCG2* (Phe82, Arg694, Ser1192) variánsokat is azonosítottunk. A *BTk* és *TP53* mutációk alternáló dinamikáját figyeltük meg azon esetekben, amelyek ezen két gén mutációit hordozták a kezelés előtt vagy azt követően gyűjtött mintákban. A *BTk* mutációk megjelenését valamennyi esetben a *TP53* mutáns szubklón eltűnése vagy jelentős csökkenése kísérte (*Gángó és mtsai, International Journal of Cancer 2020*).

A betegek medián 36,5 hónapnyi klinikai nyomkövetése alapján a páciensek 65%-a (13/20) állt még ibrutinib kezelés alatt. A progrediáló hét beteg mindegyikében az ibrutinib rezisztenciával kapcsolatba hozható *BTk* vagy *PLCG2* mutációkat azonosítottunk. A *BTk* génben rezisztencia mutációkat hordozó betegek esetében a kezelés során gyűjtött sorozatmintákat nagy érzékenyséű droplet digitális PCR módszerrel vizsgálva kimutattuk, hogy a *BTk* mutációk a relapszus klinikai manifesztációja előtt átlagosan 10,5 hónappal (tartomány: 7-15 hónap) már megjelennek a betegek perifériás vérében, előrevetítve a várható klinikai relapszust (*Gángó és mtsai, International Journal of Cancer 2020*). Az ibrutinib hatására eltérő anatómiai lokalizációkban kialakuló klonális evolúciót vizsgálva térbeli konvergens evolúció jelenségét írtuk le egy esetben, amelynél a beteg perifériás vérében az ibrutinib rezisztencia egy *BTk* mutáció, míg a nyirokcsomóban egy *PLCG2* mutáció formájában manifesztálódott. Ugyanakkor a beteg vérplazmájából kivont szabad keringő sejtmentes DNS-ben (cfDNA) mindkét variáns kimutatható volt, ami alátámasztja a folyadék biopsziás minta reprezentativitását a

térbeli genetikai heterogenitás tekintetében. Ez a megfigyelés rámutatott a különböző anatómiai lokalizációk vizsgálatának fontosságára a kialakuló rezisztencia teljeskörű feltérképezése során (*Kiss és mtsai, Haematologica 2020*).

IV.3 Driver mutációk mennyiségi feltérképezése és fehérjeszintű kimutatása Philadelphia kromoszóma negatív krónikus myeloproliferatív neopláziákban

Nagyszámú hazai Ph- MPN beteg esetében végeztük el a *JAK2* V617F, *CALR* és *MPL* gének mutációs státuszának meghatározását, valamint a *JAK2* V617F és *CALR* mutációk mennyiségi analizisét 425 ET és 227 MF-ben szenvedő beteg csontvelői vagy perifériás vérmintáján. ET-ben a driver mutációk megoszlása a következőképpen alakult: *JAK2* V617F mutáció az esetek 55,8%-ában, *CALR* mutáció a betegek 24,5%-ában igazolódott, míg *MPL* mutációt (W515A/K/L/R) a betegek 1,6%-hordozott. MF-ben a driver mutációk tekintetében az alábbi megfigyeléseket tettük: az esetek 58,6%-ában *JAK2* V617F mutáció volt azonosítható, *CALR* mutáció az esetek 21,6%-ában volt kimutatható, míg *MPL* gént érintő eltéréseket a betegek 7%-ában detektáltunk. Összesen 24 féle *CALR* mutációt mutattunk ki a betegcsoportban, amelyek közül 12 új, korábban még nem azonosított eltérésnek bizonyult (*Gángó és mtsai, Leukemia Research 2018*).

A mutáns alléltömeg MF-ben magasabbnak bizonyult, mint ET-ben a *JAK2* V617F mutáció (31,4% vs. 9,7%, $p < 0,001$), és a *CALR* mutáció (49,6% vs. 42,5%, $p < 0,001$) esetében is. A *JAK2* V617F és *CALR* mutációk allélfrekvenciáját ET és MF esetében is összevetettük a betegek főbb klinikai paramétereivel és számos összefüggést azonosítottunk. ET-ben a medián értéknél magasabb *JAK2* V617F mutáns allél-tömeg szignifikáns összefüggést mutatott a magasabb thrombocyta- és fehérvérsejtszámmal, valamint a magasabb LDH-értékkel. ET-ben és MF-ben is gyakrabban figyeltünk meg

splenomegáliát a medián értéknél magasabb *JAK2* V617F alléltömeggel rendelkező csoportban. A *CALR* mutációk tekintetében megfigyeltük, hogy a magasabb *CALR* mutáns alléltömeg a proliferatívabb fenotípussal mutat összefüggést, ami az MF diagnózisa és a gyakoribb 1-es típusú *CALR* mutációk mellett magasabb thrombotikus rátában és magasabb myelofibrotikus transzformációs rizikóban nyilvánult meg (*Gángó és mtsai, Leukemia Research 2018*).

A *CALR* mutációk fehérje-szintű mennyiségi analízisét 117 Ph-MPN-ben (69 ET, 48 MF) szenvedő beteg esetében végeztük el *CALR* mutáció-specifikus CAL2 monoklonális antitest segítségével. A fehérje-szintű megfigyelések 100%-os konkordanciát mutattak a DNS-szintű mutáció-analízis eredményeivel; a molekuláris vizsgálattal a *CALR* mutáns esetek mindegyike CAL2 IHC-vel is pozitívnak bizonyult, míg a molekuláris eljárással negatív esetek nem mutattak specifikus CAL2 jelölődést. Tizennyolc különböző típusú *CALR* mutáció esetében demonstráltuk az eljárás alkalmazhatóságát a *CALR* mutációk fehérje-szintű kimutatására. Ezen mutációk többségét az 1-es és 2-es típusú *CALR* mutációk tették ki (51,60% és 25,27%), azonban tizenhat ritka *CALR* variáns esetében elsőként végeztünk fehérje-szintű mutáció-analízist. A CAL2 immunhisztokémia mennyiségi analízisét manuális és automatizált képanalízis alkalmazásával végeztük el, amely során meghatároztuk a *CALR* variáns alléltömegre utaló H_{man} és H_{auto} „score” értékeket. A manuális (H_{man}) és automatizált (H_{auto}) analízisből származó értékek egymással szorosan korreláltak ($r=0,8567$), azonban nem mutattak szignifikáns összefüggést a korábban DNS-szinten meghatározott variáns allél frekvenciával. Ugyanakkor a fehérjeszintű *CALR* variáns alléltömeg a major thrombotikus eseményeken átesett betegeknél szignifikánsan magasabb volt ($p=0,03$) szemben azokkal a betegekkal, akiknél major thrombotikus eseményeket nem dokumentáltak (*Mózes és mtsai, Pathology 2019*).

IV.4 Csírvonalbeli genetikai eltérések azonosítása familiáris myeloid onkohematológiai kórképekben

Munkánk során öt olyan családot azonosítottunk, akiknél a myeloid onkohematológiai kórképek halmozódását figyeltük meg. Ezen családok közül három esetben sikerült azonosítani az öröklődő hajlamosító variánst hordozó gént. Továbbá két esetben új kooperáló genomikus eltéréseket is felfedeztünk a klinikai heterogenitás és agresszív kórlefolyás hátterében. Munkánk során azonosítottuk és genetikailag is jellemeztük az első hazai familiáris myeloid kórképekben szenvedő családokat.

Az eddig azonosított legtöbb elsőfokú érintett rokont tartalmazó FPD-AML család esetében, ahol négy leánytestvér esetében alakult ki megelőző MDS talaján szekunder AML, a *RUNX1* gén p.R201* stop kodont eredményező mutációját azonosítottuk mind a négy érintett gyermekben és tünetmentes hordozó édesanyjukban is. Új kooperáló genetikai mechanizmust fedeztünk fel e család exom-szintű genetikai vizsgálata során a JAK-STAT addikció formájában, amely során valamennyi, agresszív kórlefolyást mutató érintett esetében e jelátvitel komponenseinek (*JAK2* vagy *SH2B3*) mutációit és azok aUPD következtében homozigótává válását dokumentáltuk, ami a germline háttér megismerésének fontosságán túl a szerzett kooperáló genetikai eltérések azonosításának jelentőségére is felhívja a figyelmet (*Tawana és mtsai, European Journal of Human Genetics 2017*).

Elsőként azonosítottuk a *GATA2* T354M csírvonalbeli mutációk és a szomatikus *ASXL1* mutációk kooperációját a rendkívül kedvezőtlen klinikai lefolyás hátterében egy familiáris MDS/AML által érintett családban. A család aszimptomatikus tagjai kizárólag a hajlamosító *GATA2* variánst hordozták, míg a két, magas rizikójú MDS-ben szenvedő elsőfokú unokatestvér esetében a germline *GATA2* T354M mutáció mellett mindkét beteg esetében a 7-es kromoszóma monoszómiáját, valamint identikus szomatikus *ASXL1* mutációt mutattunk ki, egy új kooperáló genetikai mechanizmust

azonosítva, amely során a hajlamosító *GATA2* mutáció mellett a szerzett 7-es monoszómia, valamint az *ASXL1* mutáció képviselik az agresszív kórlefolyásért felelős szekunder genetikai léziókat (*Bödör és mtsai, Haematologica 2012*).

A *TERC* gén részleges delécióját azonosítottuk egy család két, MDS-ben szenvedő gyermekében, valamint tünetmentes édesapjukban. A vizsgált egyének korábban vad genotípusúnak bizonyultak valamennyi ismert hajlamosító gén mutációinak szekvenálással történő vizsgálata során, ami felhívja a figyelmet a kiegyensúlyozatlan genomikus abnormitások vizsgálatának jelentőségére a familiáris MDS/AML esetében (*Kotmayer és mtsai, Hematológia Transzfuziológia 2018*).

További két hazai családot azonosítottunk, amelyekben a myeloid daganatok halmozódása volt megfigyelhető, összesen hét egyént érintve, azonban ezen családok esetében az ismert hajlamosító variánsok analízise nem szolgáltatott pozitív eredményt, így elképzelhető, hogy e familiáris MDS/AML esetek háttérében más azonosításra váró genetikai eltérések állhatnak (*Király és mtsai, Pathology and Oncology Research 2018*).

V ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A doktori tézisek alapjául szolgáló tudományos publikációkban a jelölt és munkacsoportja számos, a mindennapi klinikai és diagnosztikai gyakorlatban is relevanciával bíró új megállapítást tett.

A tézisek legfontosabb új megállapításai:

- A follicularis lymphoma (FL) transzformációjának hátterében az epigenetikai gépezet komponenseinek, a JAK-STAT és NFκB útvonalak, valamint a B-sejt fejlődésben szerepet játszó fehérjék gyakori mutációit azonosítottuk (*Nature Genetics* 2014).
- Terápiával célozható genetikai léziókat azonosítottunk az FL újabb relapszusainak és transzformációjának rezervoárjaként azonosított közös progenitor sejtekben (*Nature Genetics* 2014).
- Korai, klonális eseményként, így ideális terápiás célpontként azonosítottuk az *EZH2* mutációkat az FL betegek mintegy negyedében (*Leukemia* 2011, *Blood* 2013).
- Ibrutinib kezelés hatására kialakuló heterogén klonális evolúciós mintázatokat és folyamatos klonális szelekciós folyamatot azonosítottunk az ezen típusú kezelés alatt álló krónikus lymphocytás leukémiában (CLL) szenvedő betegek esetében (*International Journal of Cancer* 2020).

- Az ibrutinib rezisztencia hátterében több újonnan felfedezett *BTK* és *PLCG2* mutációt azonosítottunk és kimutattuk, hogy a *BTK* rezisztencia mutációk a klinikai relapszus előtt akár 12 hónappal is megjelenhetnek a betegek perifériás vérkeringésében (*International Journal of Cancer* 2020).
- Ibrutinib hatására kialakuló térbeli konvergens evolúciós folyamatot azonosítottunk CLL-ben (*Haematologica* 2019).
- 12 új, korábban még nem közölt *CALR* mutációt azonosítottunk Philadelphia kromoszóma negatív myeloproliferatív neopláziákban (Ph- MPN) (*Leukemia Research* 2018).
- A magas *CALR* mutáns alléltömeg összefüggését mutattuk ki egy proliferatívabb betegség fenotípussal, fokozott thrombotikus és myelofibrotikus transzformációs rizikóval esszenciális thrombocythaemia esetében (*Leukemia Research* 2018).
- A *CALR* mutációk fehérje-szintű mennyiségi kimutatására alkalmas eljárást dolgoztunk ki és összefüggést mutattunk ki a magas *CALR* alléltömeg és a major thrombotikus események előfordulása között (*Pathology* 2019).
- Elsőként azonosítottunk olyan hazai családokat, amelyek myeloid hematológiai kórképek halmozódását mutatták. Kidolgoztuk és elérhetővé tettük a betegségcsoport mindennapi diagnosztikájához szükséges molekuláris

eljárásokat (*Pathology Oncology Research* 2018, *Hematológia Transzfuziológia* 2019).

- A familiáris vérlemezke zavar – akut myeloid leukémia (FPD-AML) kórképre hajlamosító germline *RUNX1* mutációkkal kooperáló genomi változásokat azonosítottunk a JAK-STAT útvonal komponenseiben (JAK-STAT addikció) egy FPD-AML modell család esetében (*European Journal of Human Genetics* 2017).
- Felfedeztük a csíravonalbeli *GATA2* mutációk, valamint a szerzett 7-es kromoszóma monoszómia és *ASXL1* mutációk kooperációját a magas rizikójú familiáris myelodysplasias szindróma hátterében (*Haematologica* 2012).

VI AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

VI.1 A jelölt első- vagy utolsószerzős közleményei az értekezés témájában

1. **Bödör C**, O'Riain C, Wrench D, Matthews J, Iyengar S, Tayyib H, Calaminici M, Clear A, Iqbal S, Quentmeier H, Drexler HG, Montoto S, Lister AT, Gribben JG, Matolcsy A, Fitzgibbon J. EZH2 Y641 mutations in follicular lymphoma. **LEUKEMIA** 25:(4), 726-729. (2011). **IF: 9,561**
2. **Bödör C**, Grossmann V, Popov N, Okosun J, O'Riain C, Tan K, Marzec J, Araf S, Wang J, Lee AM, Clear A, Montoto S, Matthews J, Iqbal S, Rajnai H, Rosenwald A, Ott G, Campo E, Rimsza LM, Smeland EB, Chan WC, Braziel RM, Staudt LM, Wright G, Lister TA, Elemento O, Hills R, Gribben JG, Chelala C, Matolcsy A, Kohlmann A, Haferlach T, Gascoyne RD, Fitzgibbon J. EZH2 mutations are frequent and represent an early event in follicular lymphoma. **BLOOD** 122:(18), 3165-3168. (2013). **IF: 9,775**
3. Okosun J*§, **Bödör C***§, Wang J*, Araf S, Yang C-Y, Pan C, Boller S, Cittaro D, Bozek M, Iqbal S, Matthews J, Wrench D, Marzec J, Tawana K, Popov N, O'Riain C, O'Shea D, Carlotti E, Davies A, Lawrie CH, Matolcsy A, Calaminici M, Norton A, Byers RJ, Mein C, Stupka E, Lister TA, Lenz G, Montoto S, Gribben JG, Fan Y, Grosschedl R, Chelala C, Fitzgibbon J. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. **NATURE GENETICS** 46:(2), 176-181. (2014). * megosztott első szerzők, § megosztott levelező szerzők. **IF: 29,352**
4. Kiss R, Alpár D, Gángó A, Nagy N, Eyüpoglu E, Aczél D, Matolcsy A, Csomor J, Mátrai Z, **Bödör C**. Spatial clonal

evolution leading to ibrutinib resistance and disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *HAEMATOLOGICA* 104:(1), E38-E41. (2019).

IF: 7,570

5. Gángó A, Alpár D, Galik B, Marosvári D, Kiss R, Fésüs V, Aczél D, Eyüpoglu E, Nagy N, Nagy A, Krizsán S, Reiniger L, Farkas P, Kozma A, Ádám E, Tasnády S, Réti M, Matolcsy A, Gyenesei A, Mátrai Z, **Bödör C**. Dissection of subclonal evolution by temporal mutation profiling in chronic lymphocytic leukemia patients treated with ibrutinib. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER* 146:(1), 85-93. (2020). **IF: 4,982**
6. **Bödör C**, Renneville A, Smith M, Charazac A, Iqbal S, Etancelin P, Cavenagh J, Barnett MJ, Kramarzova K, Krishnan B, Matolcsy A, Preudhomme C, Fitzgibbon J, Owen C. Germ-line GATA2 p.THR354MET mutation in familial myelodysplastic syndrome with acquired monosomy 7 and ASXL1 mutation demonstrating rapid onset and poor survival. *HAEMATOLOGICA* 97:(6), 890-894. (2012). **IF: 5,935**
7. Tawana K, Wang J, Király P, Kállay K, Benyó G, Zombori M, Csomor J, Al Serailhi A, Rio-Machin A, Matolcsy A, Chelala C, Cavenagh J, Fitzgibbon J, **Bödör C**. Recurrent somatic JAK-STAT pathway variants within a RUNX1-mutated pedigree. *EUROPEAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS* 25:(8), 1020-1024. (2017). **IF: 3,636**
8. Király AP, Kállay K, Gángó A, Kellner Á, Egyed M, Szőke A, Kiss R, Vályi-Nagy I, Csomor J, Matolcsy A, **Bödör C**. Familial Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplasia in Hungary. *PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH* 24:(1), 83-88. (2018). **IF: 2,433**
9. Gángó A, Mózes R, Boha Z, Kajtár B, Timár B, Király PA, Kiss R, Fésüs V, Nagy N, Demeter J, Körösmeszey G, Borbényi Z, Marton I, Szőke A, Masszi T, Farkas P, Várkonyi J, Plander M, Pósfai E, Egyed M, Pál K, Radványi G, Hamed A, Csomor J,

Matolcsy A, Alpár D, **Bödör C.** Quantitative assessment of JAK2 V617F and CALR mutations in Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms. *LEUKEMIA RESEARCH* 65, 42-48. (2018). **IF: 2,066**

10. Mózes R, Gángó A, Sulák A, Vida L, Reiniger L, Timár B, Krenács T, Alizadeh H, Masszi T, Gaál-Weisinger J, Demeter J, Csomor J, Matolcsy A, Kajtár B, **Bödör C.** Calreticulin mutation specific CAL2 immunohistochemistry accurately identifies rare calreticulin mutations in myeloproliferative neoplasms. *PATHOLOGY* 51:(3), 301-307. (2019). **IF: 3,163**

Magyar nyelvű közlemények az értekezés témájában

11. Fésüs V, Marosvári D, Kajtár B, Király PA, Demeter J, Gurbity-Pálfi T, Egyed M, Plander M, Farkas P, Mátrai Z, **Bödör C.** A TP53-mutáció-analízis jelentősége krónikus lymphocytás leukaemiában [TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukaemia] *ORVOSI HETILAP* 158(6), 220-228. (2017). **IF: 0,322**
12. Kotmayer L, Kiss R, Király PA, Csomor J, Kállay K, Alpár D, **Bödör C.** Familiáris myelodysplasiás szindrómában szenvedő család genomikus kópiaszám-változásainak vizsgálata multiplex ligatiofüggő szondaamplifikációval. *HEMATOLÓGIA–TRANSZFUZIOLÓGIA* 51:(4), 214-220. (2018).
13. Fésüs V, Eyüpoglu E, Kiss R, Ádám E, Kozma A, Mátrai Z, **Bödör C.** Az IGHV mutációanalízis jelentősége krónikus lymphocytás leukémiában. *HEMATOLÓGIA–TRANSZFUZIOLÓGIA* 51:(1), 22-29. (2018).

A fenti közlemények összességített impakt faktora: **78,795**. Összesített idézettsége: **628**, független idézettsége: **550**.

Összefoglaló közlemények az értekezés témájában

14. **Bödör C**, Reiniger L. Catalog of genetic progression of human cancers: non-Hodgkin lymphoma. Cancer and Metastasis Reviews 35:(1), 109-127. (2016). **IF: 4,697**
15. **Bödör C**, Schneider T. Follicularis lymphoma– útban a személyre szabott és célzott kezelés felé. KLINIKAI ONKOLÓGIA 3:(1), 30-38. (2016).
16. **Bödör C**, Gángó A, Schneider T. Diffúz nagy B-sejtes lymphoma: Úton a személyre szabott terápia felé. KLINIKAI ONKOLÓGIA 4:(1), 33-41. (2017).
17. Király AP, Alpár D, Fésüs V, Marosvári D, Matolcsy A, **Bödör C**. Az onkohematológia molekuláris diagnosztikai vizsgálómódszereinek alapjai. MAGYAR ONKOLÓGIA 60:(2), 88-98. (2016).
18. Marosvári D, Alpár D, Király AP, Rajnai H, Reiniger L, **Bödör C**. A krónikus limfocitás leukémia genetikai háttere az újgenerációs szekvenálás korszakában. MAGYAR ONKOLOGIA 60:(2), 118-125. (2016).
19. Király PA, Kállay K, Marosvári D, Benyó G, Szőke A, Csomor J, **Bödör C**. Familiáris myelodysplasiás szindróma és akut myeloid leukaemia klinikai és genetikai háttere. ORVOSI HETILAP 157:(8), 283-289. (2016).
20. Mózes R, Gángó A, Boha Z, Csomor J, **Bödör C**. A driver és szubklonális mutációk szerepe a primer mielofibrózis patogenezisében. MAGYAR ONKOLÓGIA 61:(1), 36-45. (2017).
21. Fésüs V, Nagy Á, Alpár D, **Bödör C**. Az adoptív sejtttranszfer sikere a hematológiában: a kiméra antigénreceptorral felruházott T-sejtek. HEMATOLÓGIA-TRANSZFUZIOLÓGIA 52:(3), 178-187. (2019).

22. Kotmayer L, Kállay K, **Bödör C**. Örökletes hematológiai malignitások. MAGYAR ONKOLÓGIA 64:(1), 43-55. (2020).

Angol nyelvű könyvfejezet az értekezés témájában

23. Strefford JC, Fitzgibbon J, Rose-Zerilli MJJ, **Bödör C**. The genetics of mature B-cell malignancies, 265-311. In: The Genetic Basis of Haematological Cancers, Eds: S Tosi and AG Reid, Wiley 2016.

VI.2 Az értekezés témájához kapcsolódó kollaborációs közlemények

Eredeti közlemények:

1. Okosun J, Wolfson RL, Wang J, Araf S, Wilkins L, Castellano BM, Escudero-Ibarz L, Al Seraihi A, Richter J, Bernhart SH, Efeyan A, Iqbal S, Matthews J, Clear A, Guerra-Assunção J, **Bödör C**, Quentmeier H, Mansbridge C, Johnson P, Davies A, Strefford JC, Packham D, Barrans S, Jack A, Du M, Calaminici M, Lister TA, Auer R, Montoto S, Gribben JG, Siebert R, Chelala C, Zoncu R, Sabatini DM, Fitzgibbon J. Recurrent mTORC1-activating RRAGC mutations in follicular lymphoma. NATURE GENETICS 48:(2), 183-188. (2016). **IF: 27,125**
2. Gángó A, Bátai B, Varga M, Kapczár D, Papp G, Marschalko M, Kuroli E, Schneider T, Csomor J, Matolcsy A, **Bödör C**, Szepesi Á. Concomitant 1p36 deletion and TNFRSF14 mutations in primary cutaneous follicle center lymphoma frequently expressing high levels of EZH2 protein. VIRCHOWS ARCHIV 473:(4), 453-462. (2018). **IF: 2,585**

3. Rendeiro AF, Krausgruber T, Fortelny N, Zhao F, Penz T, Farlik M, Schuster LC, Nemc A, Tasnády Sz, Réti M, Mátrai Z, Alpár D*, **Bödör C***, Schmidl C*, Bock C*. Chromatin mapping and single-cell immune profiling define the temporal dynamics of ibrutinib response in CLL. NATURE COMMUNICATIONS 11:(1), 577. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14081-6>. (2020). **IF: 11,880**
**megosztott senior szerzők*

4. Al Seraihi A, Rio-Machin A, Tawana K, **Bödör C**, Wang J, Nagano A, Heward JA, Iqbal S, Best S, Lea N, McLornan D, Kozyra E, Wlodarski M, Niemeyer C, Scott H, Hahn C, Ellison A, Tummala H, Romualdo Cardoso S, Vulliamy T, Dokal I, Butler T, Smith M, Cavenagh J, Fitzgibbon J. GATA2 monoallelic expression underlies reduced penetrance in inherited GATA2-mutated MDS/AML. LEUKEMIA 32:(11), 2502-2507. (2018). **IF: 9,944**

5. Rio-Machin A, Vulliamy T, Hug N, Walne A, Tawana K, Cardoso S, Ellison A, Pontikos N, Wang J, Tummala H, Al Seraihi AFH, Alnajjar J, Bewicke-Copley F, Armes H, Barnett M, Bloor A, **Bödör C**, Bowen D, Fenaux P, Green A, Hallahan A, Hjorth-Hansen H, Hossain U, Killick S, Lawson S, Layton M, Male AM, Marsh J, Mehta P, Mous R, Nomdedéu JF, Owen C, Pavlu J, Payne EM, Protheroe RE, Preudhomme C, Pujol-Moix N, Renneville A, Russell N, Saggar A, Sciuccati G, Taussig D, Toze CL, Uyttendaele A, Vandenberghe P, Schlegelberger B, Ripperger T, Steinemann D, Wu J, Mason J, Page P, Akiki S, Reay K, Cavenagh JD, Plagnol V, Caceres JF, Fitzgibbon J, Dokal I. The complex genetic landscape of familial MDS and AML reveals pathogenic germline variants. NATURE COMMUNICATIONS 11(1):1044. doi: 10.1038/s41467-020-14829-5 (2020). **IF: 11,878**

6. Kiss R, Papp G, Krizsán S, Kotmayer L, Gángó A, Nagy N, Bátaí B, Mátrai Z, **Bödör C**, Alpár D. Genomikus kópiaszám-eltérések szűrése krónikus limfoid leukémiában multiplex ligációfüggő

szondaamplifikációval.

HEMATOLÓGIA-
TRANSZFUZIOLÓGIA 51:(1), 31-40. (2018).*Összefoglaló közlemények:*

7. Bártai B, Lévai D, Gaál-Weisinger J, Balogh A, Gángó A, **Bödör C**, Nagy N. A személyre szabott terápia új lehetősége follicularis lymphomában – Az EZH2 hiszton metil-transzferáz gátlása. HEMATOLÓGIA-TRANSZFUZIOLÓGIA 51:(2), 61-70. (2018).
8. Kiss R, Kosztolányi S, Gángó A, Szuhai K, **Bödör C**, Alpár D. Multiplex ligatiofüggő szondaamplifikáció az onkohematológiai kutatásban és diagnosztikában. ORVOSI HETILAP 159:(15), 583-592. (2018). IF: 0,564
9. Aczél D, Mátrai Z, Kiss R, Balogh A, Illés S, **Bödör C**, Alpár D. Ibrutinibrezisztencia krónikus limfocitás leukémiában. HEMATOLÓGIA-TRANSZFUZIOLÓGIA 52:(2), 136-148. (2019).
10. Gurbity Pálfi T, Fésüs V, **Bödör C**, Borbényi Z. A krónikus lymphocytás leukaemia korszerű molekuláris diagnosztikája és kezelése az új célzott terápiák korszakában. ORVOSI HETILAP 158:(41), 1620-1629. (2017). IF: 0,322

További szenior szerzős közlemények:

1. **Bödör C**, Alpár D; Marosvári D, Galik B, Rajnai H, Bártai B, Nagy Á, Kajtár B, Burján A, Deák B, Schneider T, Alizadeh H, Matolcsy A, Brandner S, Storhoff J, Chen N, Liu M, Ghali N, Csala I, Bagó AG, Gyenesei A, Reiniger L. Molecular Subtypes and Genomic Profile of Primary Central Nervous System Lymphoma. JOURNAL OF NEUROPATHOLOGY AND EXPERIMENTAL NEUROLOGY 79:(2), 176-183. (2020). IF: **3,460**

2. Kiss R, Gángó A, Benard-Slagter A, Egyed B, Haltrich I, Hegyi L, de Groot K, Király PA, Krizsán S, Kajtár, B, Pikó H, Pajor L, Vojcek Á, Matolcsy A, Kovács G, Szuhai K, Savola S, **Bödör C***, Alpár D*. Comprehensive profiling of disease-relevant copy number aberrations for advanced clinical diagnostics of pediatric acute lymphoblastic leukemia. MODERN PATHOLOGY, doi: 10.1038/s41379-019-0423-5. (2019). **IF: 6,365**

**megosztott utolsó szerzők*

VII TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK AZ MTMT2 ALAPJÁN

Bödör Csaba tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2020.05.20)

Tudományos és oktatási közlemények	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Folyóiratcikk²	82	---	---	---
szakcikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	38	574	641
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	0	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	14	6	8
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként ³	---	5	516	608
összefoglaló közlemény	---	19	9	12
rövid közlemény	---	6	99	113
II. Könyv	0	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	7	---	---	---
idegen nyelvű	---	2	0	0
magyar nyelvű	---	4	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvrészlet	---	1	0	0
IV. Konferenciaközlemény⁴	1	---	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.a,bb-III.cc)	---	1	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV.)	---	89	1204	1382
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	90	---	1204	1382
V. További tudományos művek	5	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikket és a nem ismert lektoráltságu folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikket is	---	1	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	4	16	18
Ötletalk, szabadalmak	---	0	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok⁵	2	---	6	6
Összes hivatkozás¹	---	---	1226	1406
Hirsch index⁶	17	---	---	---
g index⁶	37	---	---	---

Speciális tudománymetriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	15	655
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	20	23
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2008) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	70	1184
Az utolsó 10 év (2010 - 2020) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	67	1183
A legmagasabb hivatkozottságu közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	354	25,18%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---	6
Jelentés, guideline	1	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	0	0

Megjegyzések:

1. a disszertáció és egyéb típusú hivatkozás nélküli, a WoS és/vagy Scopus rendszerben nyilvántartott adatok
2. lektorált, tudományos folyóiratban
3. a szerző írásban nyilatkozik, hogy érdemi szerzői hozzájárulásával készültek szerzőként jegyzett közleményei, és az érdemi hozzájárulást dokumentálni tudja
4. konferenciaközlemény folyóiratban, könyvben vagy egyéb konferenciakötetben
5. nem-hivatkozott absztrakt itt nem kerül az összesítésbe
6. a disszertáció és egyéb típusú hivatkozás nélküli összes hivatkozással számolva. A Hirsch és a g index definíciója
7. közreműködés esetén a csoportos szerzőségű közlemények hivatkozottsága külön értékelendő, és nem számítható be az összesített hivatkozások közé

n.a. = nincs adat

Készült: 2020. május 20. 10:56

VIII KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném kifejezni hálámat szüleimnek és családomnak, akik gyökereket és szárnyakat adtak és lehetővé tették, hogy megvalósíthassam terveimet.

Külön köszönettel tartozom mentoromnak Matolcsy András Professzor Úrnak, aki még egyetemi hallgató koromban kutatócsoportjába fogadott, kompromisszumok nélküli szakmai igényességre tanított, tanácsaival irányt mutatott eddigi pályám során és mindenben támogatta tudományos tevékenységemet és szakmai pályafutásomat.

Köszönöm mentoromnak és barátomnak Jude Fitzgibbon Professzornak a közös felfedezések élményét és kutatócsoportjaink immár több mint egy évtizedes kollaborációját.

Külön köszönettel tartozom kollégámnak és barátomnak Alpár Donátnak, akinek szakmai támogatása és hozzájárulása az MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport első lépései óta töretlen.

Hálával tartozom kutatócsoportom valamennyi volt és jelenlegi tagjának, PhD hallgatóimnak és TDK hallgatóimnak az évek során nyújtott áldozatos munkájukért és az együtt töltött időért. Köszönöm Király Péternek, Marosvári Dórának, Mózes Rékának, Gángó Ambrusnak, Kiss Richárdnak, Nagy Ákosnak, Krizsán Szilviának, Aczél Dórának, Bedics Gábornak, Fésüs Viktóriának, Hegyi Lajosnak, Zajta Eriknek, Bárányne Pallag Adrienne-nek, Gróf Stefániának, Krempner Zsanettnak, Juhász-Nagy Laurának, Sárkány Andreának a lelkiismeretes munkát. Külön köszönöm rendkívül tehetséges TDK

hallgatóimnak Kotmayer Lilinek és Bátai Bencének, hogy egyetemi tanulmányaik mellett is rendkívül értékes kutatómunkát végeztek

Őszinte tisztelettel köszönöm a Magyar Hematológiai és Transzfuziológiai Társaság vezetőségének és teljes tagságának az évek során kialakult felbecsülhetetlen értékű kollaborációkat, amely lehetővé tette a legtöbb hazai hematológiai centrummal való aktív együttműködést. Ezek nélkül az értekezésben bemutatott eredmények töredéke sem valósulhatott volna meg.

Köszönöm a támogatását a Semmelweis Egyetem, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet valamennyi munkatársának, akikkel volt szerencsém együtt dolgozni az elmúlt 18 évben. Külön köszönöm az Intézet Hematopatológusainak támogatását, a termékeny szakmai vitákat és az együtt töltött időt. Köszönettel tartozom Csomor Juditnak, Szepesi Ágotának, Timár Botondnak, Rajnai Hajnalkának, Csernus Baláznak.

Szeretnék köszönetet mondani valamennyi hazai és nemzetközi kollaborációs partnerünknek is.

Végül, de nem utolsósorban, köszönettel tartozom a kutatásainkat pályázatok útján támogató szervezeteknek, a Magyar Tudományos Akadémiának, a Semmelweis Egyetemnek, a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak, valamint az Európai Bizottságnak.