

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**PATHOGENETIKAI ÉS PROGNOSZTIKUS TÉNYEZŐK
MYELODYSPLASIÁBAN, MYELOMA MULTIPLEXBEN ÉS
MASTOCYTOSISBAN**

DR. VÁRKONYI JUDIT

SEMMELWEIS EGYETEM BELGYÓGYÁSZATI ÉS HEMATOLÓGIAI KLINIKA

BUDAPEST

2020

TARTALOMJEGYZÉK

	RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
1.	BEVEZETÉS	7
2.	ELŐZMÉNYEK. AZ ÖRÖKLETES VASTÚLTERHELŐDÉS TERÜLETÉN VÉGZETT KUTATÓMUNKA ÉS EREDMÉNYEI	9
2.1.	AZ ÖRÖKLETES VASTÚLTERHELŐDÉS (HEMOKROMATÓZIS) NÉPEGÉSZSÉGÜGYI JELENTŐSÉGE	10
2.2.	RITKA ÖRÖKLETES FORMÁK AZONOSÍTÁSA	11
2.3.	ISMERETTERJESZTŐ TEVÉKENYSÉG HEMOKROMATÓZISBAN	12
3.	MYELODYSPLASIÁS SYNDROMA TÁRGYÁBAN VÉGZETT KUTATÓ MUNKA ÉS EREDMÉNYEI	14
3.1.	DIAGNOSZTIKUS ALGORITMUS KIDOLGOZÁSA MDS-BEN	15
3.2.	ÚJ ENTITÁS LEÍRÁSA MYELODYSPLASIÁBAN	16
3.3.	THE MYELODYSPLATIC SYNDROMES C. KÖNYV	16
3.3.1.	ISMERETTERJESZTŐ TEVÉKENYSÉG MYELODYSPLASIÁBAN	17
3.4.	MYELODYSPLASIÁRA HAJLAMOSÍTÓ TÉNYEZŐK KUTATÁSA	18
3.4.1.	METABOLIZÁLÓ ENZIMEKRE VONATKOZÓ GÉN POLYMORPHISMUSOK VIZSGÁLATA	18
3.4.2.	CYTOKINEKRE VONATKOZÓ GÉNPOLYMORPHISMUSOK VIZSGÁLATA MDS-BEN	19
3.4.2.1.	TNF-α GÉN PROMOTERÉRE VONATKOZÓ POLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA MDS-BEN	19
3.4.2.2.	IL-6, IL-6R GÉNPOLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA MYELODYSPLASIÁBAN MYELOMA MULTIPLEXEL TÖRTÉNŐ ÖSSZEHASONLÍTÁSBAN	21
3.4.3.	VASTÚLTERHELŐDÉS, MINT PATHOGENETIKAI, EGYBEN PROGNOSZTIKAI TÉNYEZŐ MYELODYSPLASIÁBAN	24
3.4.4.	RÉZHIÁNY MYELODYSPLASIÁBAN	26
3.4.5.	HFE GÉNMUTÁCIÓ EGYEDÜLÁLLÓ GYAKORISÁGA MYELODYSPLASIÁBAN A TÖBBI CHRONICUS HEMATOLÓGIAI MEGBETEGEDÉSSSEL TÖRTÉNŐ ÖSSZEHASONLÍTÁS ALAPJÁN	29
3.4.5.1.	HFE GÉNMUTÁCIÓ ELŐFORDULÁSA MYELOMÁBAN MDS-EL VALÓ ÖSSZEVETÉSBEN	29

3.4.5.2.	HFE ALLÉLFREKVENCIA MYELOPROLIFERATÍV BETEGSÉGEKBEN	33
3.4.5.3.	HFE GÉN MUTÁCIÓ, MINT POTENCIÁLIS MDS MARKER	34
3.5.	PROGNOSZTIKUS TÉNYEZŐK MYELODYSPLASIA KÓRLEFOLYÁSA SORÁN	35
3.5.1.	PROGNOSZTIKUS FAKTOROK MDS-BŐL TRANSZFORMÁLÓDOTT SECUNDER ACUT MYELOID LEUKEMIA (sAML) ESETÉBEN	35
3.5.2.	A CHELAT KEZELÉS PROGNOSZTIKUS JELENTŐSÉGE MDS-BEN	37
4.	MYELOMA MULTIPLEX TERÉN VÉGZETT KUTATÓMUNKA	40
4.1.	A MYELOMA PATHOGENESISÉBEN SZEREPE JÁTSZÓ GÉN POLYMORPHISMUSOK KUTATÁSA	40
4.1.1.	GLUTATHION S-TRANSFERÁZ (GST) ENZIMEKRE VONATKOZÓ GÉN POLYMORPHISMUS VIZSGÁLATOK	40
4.1.2.	MYELOMA KIALAKULÁSÁRA HAJLAMOSÍTÓ CYTOKINEKRE VONATKOZÓ, ŐSI HAPLOTÍPUSON BELÜLI GÉNEK POLYMORPHISMUSÁNAK VIZSGÁLATA	42
4.1.3.	MYELOMA MULTIPLEXBEN AZ IL-6 PROMOTER ÉS AZ IL-6R GÉN POLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA MYELODYSPLASIÁS SYNDROMÁVAL VALÓ ÖSSZEHASONLÍTÁSBAN	45
4.1.4.	MYELOMA MULTIPLEXBEN A HEMOKROMATÓZIS GÉN VARIÁNSOK VIZSGÁLATA MYELODYSPLASIÁS SYNDROMÁVAL VALÓ ÖSSZEHASONLÍTÁSBAN	45
4.1.5.	A MYELOMA MULTIPLEX PATHOGENESISÉBEN SZEREPE JÁTSZÓ GENOMELTÉRÉSEK (GWAS)	45
4.1.5.1.	A 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) ÉS 2p23.3 (rs6746082) SNP AZONOSÍTÁSA MYELOMÁS BETEGEK ESETÉBEN	47
4.1.5.2.	A TELOMERÁZ GÉN POLYMORPHISMUS ÉS A TELOMER HOSSZÚSÁG PATHOGENETIKAI SZEREPE MYELOMA MULTIPLEXBEN	49
4.1.6.	FAMILIARIS MYELOMA	54
4.1.6.1.	ÖRÖKLÖTT TULAJDONSÁGOK ÉS A KÖRNYEZETI ÁRTÁLMAK EGYÜTTES HATÁSA	54

4.1.6.2.	A DIS GÉN ELTÉRÉSE FAMILIÁRIS MYELOMÁBAN	55
4.2.	PROGNOSZTIKUS TÉNYEZŐK MYELOMA MULTIPLEXBEN	56
4.2.1.	AZ AMWBC PONTRENDSZER	56
4.2.2.	AZ A/M PONTRENDSZER MYELOMA MULTIPLEXBEN AZ ÚJ TERÁPIÁS MODALITÁSOK IDEJÉN	58
5.	MASTOCYTOSIS KUTATÁSA TERÉN KIFEJTETT TEVÉKENYÉG	61
5.1.	MASTOCYTOSISRA HAJLAMOSÍTÓ TÉNYEZŐK KUTATÁSA IL-6 /IL-6R GÉNPOLYMORPHISMUS VIZSGÁLATOK	62
5.1.1.	A IL-6 -174 G/C SNP VIZSGÁLATA MASTOCYTOSISBAN	64
5.1.2.	IL-6R Asp358Ala (A/C) SNP VIZSGÁLATA MASTOCYTOSISBAN	64
5.1.3.	AZ IL-6 -174 G/C ÉS AZ IL-6R A358C SNP-K EGYÜTTES ELEMZÉSE	65
5.2.	A KLINIKAI ADATOK KÓRJÓSLATI JELENTŐSÉGE MASTOCYTOSISBAN	67
5.2.1.	A FÉFFI/NŐI NEMI KÜLÖNBség KÓRJÓSLATI JELENTŐSÉGE A SEMMELWEIS MASTOCYTOSIS HÁLÓZATI REGISZTER ALAPJÁN	67
5.2.2.	AZ EOSINOPHILIA, MINT KEDVEZŐTLEN PROGNOSZTIKAI TÉNYEZŐ MASTOCYTOSISBAN	68
5.2.2.1.	EGY ESET KÓRLEFOLYÁSA ALAPJÁN	68
5.2.2.2.	AZ ECNM BETEGREGISZTER ADATOK ALAPJÁN	69
5.3.	ISMERETTERJESZTŐ TEVÉKENYSÉG MASTOCYTOSISBAN	70
6.	A KUTATÓMUNKA EREDMÉNYEI. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	72
7.	IRODALOMJEGYZÉK	76
8.	PUBLIKÁCIÓS LISTA	87
9.	TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK	93
10.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	94

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A	Adenin
AH	Ancestral Haplotype (ősi haplotípus)
ASCT	Autologous Stem Cell Transplantation
ASM	Agresszív Systemás Mastocytosis
BSC	Best Supportive Care
CD	Cluster of Differenciatio
CI	Confidencia Intervallum
CM	Cutan Mastocytosis
CMML	Chronic Myelo-Monocytic Leukemia
CP	Coeruloplasmin
Cu	Cuprum
DFO	DeFerrOxamine
DMTI	Duoedenal Methyl Transferase1
DMT	Disease Modifying Therapy
DNS	Dezoxiribonukleinsav
DSS	Durie-Salmon stádium beosztás
EFAPH	Europai Hemochromatosis Betegszervezet
ECNM	European Competence Network on Mastocytosis
EPO	Erythropoietin
FAB	French American British
FasL	Fas Ligand
FFI	Férfi
FISH	Fluoreszcens In Situ Hibridizáció
GST	Gluthation-S-Transferase
G	Guanin
GWAS	Genome Wide Association Study
HAMP	Hepcidin gén
HJV	Hemojuvelin gén
HBE	Hemokromatózis Betegek Egyesülete
HFE	Human homeostatic iron regulatory protein
HH	Hereditér Hemokromatózis
HLA	Humán Leukocita Antigén

HSP	Heat Shock Protein
HSP70	70 kD-os Heat Schock Protein
ICT	Iron Chelation Therapy
ICUS	Idiopathic Cytopenia with Unknown Significance
IDUS	Idiopathic Dysplasia with Unknown Significance
IFN	InterFeroN
IL	InterLeukin
IMWG	International Myeloma Working Group
IPSS	International Prognostic Score
ISM	Indolens Systemás Mastocytosis
ISS	International Score System
JAK	Janus Kináz
LOH	Loss Of Heterozygosity
LT α	LymphoToxin-alfa
M6	Erythroleukemia (FAB szerint Myeloid 6-os)
MC	Mast Cell
MCL	Mast Cell Leukemia
MCS	Mast Cell Sarcoma
MDS	MyeloDysplasiás Syndroma
MGUS	Monoclonal Gammopathy with Unknown Significance
MHC	Major Histocompatibility Complex
MM	Myeloma Multiplex
MPN	Myelo Proliferativ Neoplasia
NF κ B	Nukleáris Faktor kappa B
OR	Odds Ratio
OVSZ	Országos Vérellátó Szolgálat
PCR	Polymerase Chain Reaction
RA	Refrakter Anemia
RAEB	Refrakter Anemia with Excess of Blasts
RARS	Refrakter Anemia with Ring Sideroblasts
RAGE	Receptor for Advanced Glycation Endproducts
RMCD	Refractory Cytopenia with Multilineage Dysplasia
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RT-PCR	Real Time-PCR

sAML	secunder Acut Myeloid Leukemia
SCF	Stem Cell Factor
sFasL	solubilis Fas Ligand
seFe	serum Ferrum
SCT	Stem Cell Transplantation
SMM	Smoldering Myeloma Multiplex
SM	Systemic Mastocytosis
SM-AHN	Systemás Mastocytosis-Associált Hematológiai Neoplasiával
SSM	Smoldering Systemás Mastocytosis
SNP	Single Nucleotid Polymorphism
sTNF	solubilis Tumor Necrosis Factor
sTNFR	solubilis TNF Receptor
TERT	TElomeráz Reverz Transcriptáz
TERC	TElomeráz RNS Componens
Tk	Tyrozin kináz
Tfsat	Transferrin saturatio
TGF- β	Transforming Growth Factor- β
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
VTT	Vér Transzfúziós Terápia
WHO	World Health Organization
WBC	White Blood Cell
WPSS	WHO based Prognostic Scoring System

1. BEVEZETÉS

Disszertációmban három, ez idáig még gyógyíthatatlan betegség tárgyában végzett kutatásaimat és azok eredményét mutatom be; ezek a Myelodysplasiás Syndroma (MDS), a Myeloma Multiplex (MM) és a Systemás Mastocytosis (SM).

A 2001-ben megvédett PhD disszertációm végén, vázolva jövőbeni kutatási terveimet, utaltam arra a még kis betegszámon, de határozott tendenciát mutató jelenségre, mely szerint a hemokromatózis gén mutációja gyakrabban fordul elő myelodysplasiások körében az átlag populációhoz képest. A későbbi kutatásaim során ezen a nyomvonalon haladtam tovább.

A myelodysplasia egy clonalis összejt megbetegedés, mely jellemzően cytopeniával, leggyakrabban vérszegénységgel jár. A paciens ezért rendszeres vérátömlesztésben részesül. Amennyiben ehhez még hemokromatózis génmutáció is társul, az hozzájárul a sorozatos transzfúziók által okozott vastúlterhelődéshez, de felmerül ezzel kapcsolatban az a kérdés is, hogy mennyiben járul hozzá magának a betegségnek a létrejöttéhez. A felesleges mértékben jelen levő vas, ugyanis direkt oxidatív károsodást okozó hatásánál fogva jelent a sejtekre, szövetekre nézve fokozott daganatos kockázatot. Az első észlelések óta eltelt években, munkatársaimmal nagyobb beteganyagon is igazoltuk korábbi észrevételünk helyességét és másik két chronicus hematológiai malignitással való összevetésben (Myeloma Multiplex és a Myeloproliferatív Neoplázia) is az MDS-re fokozottan érvényesnek tartjuk. Jelen dolgozatomban ezért először az örökletes vas anyagcserezavar lényegét ismertetem, majd azt a munkát, amit ebben a témakörben kifejtettem.

Myeloma Multiplex esetében, amely a plasma sejtek kóros burjánzása okozta megbetegedés, az etiológiájára vonatkozó kutatás során az adott időszak legmodernebb genetikai vizsgálatait alkalmaztuk, a prognózis becslésénél pedig a legegyszerűbb klinikai adatokból számított prognosztikus score-t állítottunk fel. Az etiológiát célzó vizsgálatok áttételesen a betegség prevenciójához vihetnek közelebb, míg a score használatának a célja az, hogy a diagnózis pillanatában fel tudjuk mérni, mi várható és, hogy a különböző kilátásokkal bíró esetekben a számukra legmegfelelőbb kezelés kerüljön alkalmazásra. Ebben a betegségben ugyanis találkozunk kevés kezelés mellett is hosszan túlélővel, de sajnálatos módon olyannal is, akit agresszív terápia ellenére is egy-két éven belül elveszítünk. Egy ideális prognosztikus score tehát arra is alkalmas lehet, hogy a felesleges kezelésektől megkíméljük azt, aki hosszan, kezelés nélkül is jó minőségű életet élhet.

A mastocytosis a hízósejtek clonalis proliferációja következtében kialakuló megbetegedés. Prevalenciája, a legújabb elemzések szerint 1/10000 lakos, ami nem tekinthető olyan ritkának, mint azt korábban gondoltuk. Magyarországon ezek szerint 1000 beteg vár arra évente, hogy felismerjék, és kezelésben részesüljön. A gyakorlat azonban az, hogy a diagnózis késik, vagy elmarad. A legfontosabb feladatunknak tehát azt tartottam első körben, hogy publikációimmal és előadásokon felhívjam a figyelmet erre a megbetegedésre, majd kutatásainkat, mint látni fogjuk, abban az irányban folytattuk, hogy találunk-e erre a betegségre hajlamosító tényezőt, illetve olyan markert, amely előre jelzi a kimenetelt.

Disszertációmban az egyes betegségekkel kapcsolatos munkáim blokkokban történő tárgyalásának szerkezeti elvét követem, és a fejezetek elején vázolom, hogy milyen klinikai kérdésfelvetés vezetett a kutatás lefolytatásához, milyen módszerekkel dolgoztunk és végül, milyen eredményekre jutottunk.

2. ELŐZMÉNYEK. AZ ÖRÖKLETES VASTÚLTERHELŐDÉS TERÜLETÉN VÉGZETT KUTATÓMUNKA ÉS EREDMÉNYEI

A vastúlterhelődéssel járó leggyakoribb állapotok ma Magyarországon a gyakoriság sorrendjében: az alkoholizmus, az örökletes hemokromatózis és a rendszeres vérátömlesztést igénylő hematológiai megbetegedések. Az autosomalis recesszív módon öröklődő, úgynevezett klasszikus, vagy I-es típusú Hemokromatózis a kaukázusi populációban minden kétszázadik embert érint. A betegséget a vas korlátlan felszívódása és lerakódása következtében kialakuló szervkárosodások (májcirrhosis, hepatocelluláris carcinoma, cardiomyopathia, pancreas károsodás következtében fellépő diabetes, szürkésbarna bőrpigmentáció, ízületi panaszok valamint endocrinopathiák) jellemzik. A betegség időben történő felismerése és kezelése megelőzheti a definitív szervkárosodások kialakulását, mely által az érintett egyének életminősége és életkilátása javul. Időben megkezdett és megfelelő gondozás mellett az érintett egyén élettartama nem tér el az átlagétól.

A transferrin, a vasnak a felszívódását követően a sejtekhez történő szállítását végző fehérje. Normális körülmények között vassal 1/3-a telített (transzferrin saturáció: 30%). A HFE génben bekövetkező, a funkciót megváltoztató két legfontosabb mutáció: a 282-es pozícióban cisztein helyett tirozin épül be: C282Y, ritkábban 63-as pozícióban aspartát histidin szubsztitúció következik be: H63D. A C282Y és H63D mutációk homozigóta állapotban, illetve egymással kombinálódott, ún. compaund mutáció esetén (H63D/C282Y) vezethet a klinikai tünetek kialakulásához. A betegség tünetei az alacsony penetrancia következtében nem feltétlenül jelennek meg, valószínűleg több tényező (örökletes és szerzett) együttes jelenléte vezet a kórkép teljes kifejlődéséhez. A fel nem ismert és nem kezelt I-es típusú hemokromatózis tünetei az 50. életkorra jelennek meg. Az irodalomban ez a kórkép az ún. bronz diabetes néven vált ismertté. Örökletes vastúlterhelődésnek azonban számos, a fenti klasszikus formától eltérő oka is lehet. A gyakorlatban ezek közül a juvenilis típus emelhető ki, melynek tünetei sokkal súlyosabb formában és sokkal hamarabb, a fiatal felnőttkorban megnyilvánulnak. A hepcidin vasanyagcserében betöltött szerepének felfedezése óta tudjuk, hogy ennek a májban termelődő fehérjének a vér szintje befolyásolja a vas bélből történő felszívódását és egyben a lép macrophagokból a vérbe való áramlását a hepcidinnek a ferroportinhoz való kötődés mértéke szerint. Magas hepcidin szint a ferroportinon keresztül történő vasbeáramlást blokkolja, az alacsony hepcidin szint pont ellenkezőleg, a vas bejutásának zöld utat ad. A hepcidin termelődésért az IL-6, az úgynevezett gyulladásos cytokin és a HFE fehérje is felelős. A hepcidin szintje gyulladásban magas, míg

hemokromatózisban alacsony. Ez az oka a betegség lényegének, vagyis a vas korlátlan vérbe történő áramlásának, majd a szövetekbe történő lerakódásának. A gén által kódolt transzmembran fehérje, az ún. HFE protein a $\beta 2$ mikroglobulinnal képez komplexet, mely a Feder féle felfedezéskori tudásunk szerint a transferrinnek receptorához való affinitását szabályozná (1). Annyi bizonyos, hogy a HFE fehérjének a transferrin receptorokhoz való kapcsolódása a vas szinttől függ, illetve hogy a jelátvitel ezen keresztül is fut le (nem csak az IL-6 útvonalon) a hepcidin termelés szabályozás szintjére (2,3).

2.1. AZ ÖRÖKLETES VASTÜLTERHELŐDÉS (HEMOKROMATÓZIS) NÉPEGÉSZSÉGÜGYI JELENTŐSÉGE

A 016/ 2009 ETT pályázat terveinek megfelelően a Semmelweis Egyetem III sz. Belgyógyászati klinikáján minden, a 23. életévét betöltött, de mindenképpen 50 év alatti, kóros májenzim értékkel rendelkező beteg esetében a központi laborban, az aznapi vérmintából transferrin saturációt mértek. A 45 %-ot meghaladó értékkel rendelkezőket kiemeltük. A másodlagos okok eliminálása (abstinencia, étrendi előírások betartása) után is magas maradt transferrin saturatio és ferritin érték esetén, a betegnél hemokromatózis génvizsgálat történt. A C282Y vagy H63D homozygota illetve a compound heterozygota gondozásba került és indítványoztuk a családvizsgálatot. A pályázati ciklusban rendelkezésre álló 2 naptári évben 15986 személy szűrése történt meg. 47 személyt emeltünk ki. Ebből 14-nél derült ki valódi Hemokromatózis (HH): 11 ffi és 3 nő, 4 C282Y homozygota, 4 H63D homozygota és 6 compound heterozygota. A heterozygoták száma: 33 volt. A gondozásba vétel nem csak a rendszeres orvosi ellenőrzést, és szükség szerinti vérlebocsátást, vagy chelát kezelést jelenti, hanem az érintett tájékoztatásban is részesül az erre a célra készített kiadványban, illetve a rendszeres HBE (Hemokromatózis Betegek Egyesülete) összejöveteleken, valamint a honlapon (www.hemokromatozis.hu). A gondozásba vétel eredménye annak betegség megelőző jelentőségében rejlik: az eredmény, tehát a felismerést követő 5-10 évben realizálódik abban, hogy a májzsugor, a májrák és a cardiomyopathia előfordulása várhatóan csökkenni fog a gondozottak körében, szemben a történeti kontrollal. Tekintettel arra, hogy még a heterozygoták körében is magasabb a daganatos és cardiovascularis megbetegedés aránya a mutációmentes populációhoz képest, a betegek és családjuk körében ezzel a gondozással kialakított egészségtudatos életmód reményeink szerint jelentősen csökkenti az adott populáció morbiditási kockázatát (4, 5).

Klinikánkon 49 C282Y homozygota, 41 compound heterozygota, 22 H63D homozygota, összesen 112 I-es típusú, 2 Juvenil, 2 ferroportin és 2 TfR2 mutációban szenvedő páciens gondozunk illetve regisztráltunk eddig. A gondozottak száma évről-évre egyre több. A cél az, hogy a betegség közismertté váljon és ez által a betegek felismerése és gondozásba vétele a lakhely szerinti ellátó helyen: hematológiai-, illetve hepatológiai szakrendelésen mielőbb megkezdődjön.

2.2 RITKA ÖRÖKLETES FORMÁK AZONOSÍTÁSA

A juvenilis hemokromatózis ritka megbetegedés. A hepcidin (HAMP) vagy a hemojuvelin (HJV) génekben bekövetkező mutációk tehetők felelőssé a korai életkorban manifesztálódó ún. non-HFE hemokromatózisért. A klinikai tünetek többnyire súlyos szív- és máj érintettséggel, csökkent hormontermeléssel és ízületi károsodással kapcsolatosak. Orvosi tevékenységem során eddig két juvenilis hemokromatózis (II-es típus) esetet ismertem fel.

1/ Az elsőt 2000-ben. Akkor még csak annyit lehetett meghatározni, hogy úgynevezett non-HFE hemokromatózissal van szó egy fiatalember esetében. A konkrét esetben adrenális hypofunkció háttérben igazoltuk az örökletes vastúlterhelődést.

[1]. Várkonyi J, Kollai G, Tordai A, Andrikovics H, Seidl C, Kaltwasser JP. A case of non-HFE juvenile haemochromatosis presenting as adrenocortical insufficiency. Brit J Haematol. 109: 252-253, 2000.

2/ A másodikat 10 évvel később. Ő már irányítottan került klinikánkra ismert non-HFE hemokromatózis miatt, melynek az okát volt feladatunk felderíteni. A 31 éves nőbetegnél, aki tipikusan a proximális interphalangealis ízületek fájdalmas duzzanatát panaszolta, a hemojuvelin gén homozygota G320V mutációja derült ki.

[2]. Varkonyi J, Lueff S, Szűcs N, Pozsonyi Z, Tóth A, Karádi I, Pietrangelo A. Hemochromatosis and Hemojuvelin G320V homozygosity in a Hungarian woman. Acta Haematol. 123:191-193, 2010.

3/ Felismerésre került továbbá egy III-as típusú beteg, akinek a TfR2 génjében derült ki deletiós típusú homozygota mutáció: c.2320_2322del3 (p.R774del).

4/ Klinikánkon gondozunk ezeken kívül egy dominánsan öröklődő ferroportin (IV-es típus) betegségben szenvedő családot (anyát és fiát). A génsequenálás szerint heterozygoták a c.474G>C (p.W158C) mutációra nézve a ferroportin génben (SLC40A1).

A génsequenálást nemzetközi laborokban végezték (Antonello Pietrangelo Modenában és Pierre Brissot Rennesben), melyhez az Európai Hemokromatózis Betegszervezethez

(EFAPH) történő kapcsolat teremtés révén jutottunk. Az elmúlt évben diagnosztizált juvenilis hemokromatózisban szenvedő nőbeteg génszekvenálását már a Semmelweis Egyetem Pentacore laborja végezte.

2.3. ISMERETTERJESZTŐ TEVÉKENYSÉG HEMOKROMATÓZISBAN

A Magyar Belgyógyász Társaság, a Magyar Hematológiai Társaság, az OVSZ szakmai rendezvényein, a Belgyógyászati, Hematológiai és Családorvosi szakvizsga fenntartó tanfolyamokon tartott előadásaim remélhetőleg hozzájárultak ahhoz, hogy egyre szélesebb körben vált ismertté a betegség korai felismerésének jelentősége és egyszersmind annak nehézségei, buktatói. A kóros gént hordozók kezdeti panaszai ugyanis nem karakterisztikusak és nem okoznak vérszegénységet, tehát a betegségekre jellemző vas paraméterek (serum vas, transferrin saturatio és a ferritin szint) meghatározása csak akkor történik meg, ha a beteggel első ízben találkozó háziorvos gondol arra, hogy a panaszok vagy a kóros májfunkció hátterében ez a betegség is állhat.

[3].Várkonyi J.: Az örökletes (klasszikus) Haemochromatosis. Magyar Családorvosok Lapja. 4: 10-12, 2008.

[4]. Teixeira E, Borlido-Santos J, Brissot P, Butzeck B, Courtois F, Evans RW, Fernau J, Nunes JA, Mullett M, Paneque M, Pineau B, Porto G, Sorrill R, Sanchez M, Swinkels DW, Toska K, Varkonyi J. and the EFAPH European Federation of Associations of Patients with Hemochromatosis' The Importance of the General Practitioner as an Information Source for Patients with Hereditary Haemochromatosis. Patient Education and Counseling 96:86–92, 2014.

2003-ra annyi beteget gondoztunk már klinikánkon, hogy elérkezett az idő a betegtársaság megalapításához. Ebben segítségemre volt ösztönzőként és példaként az EFAPH, amely szervezet alapszabályát magyarra fordítottam és kellő számú tagsággal a Hemokromatózisos Betegek Egyesülete (HBE) betegtársaságot újjára bocsátottam. Évente három alkalommal tartunk összejevetelt klinikánkon, ahol az érintettek a legújabb tudományos eredményekről értesülnek, valamint felmerülő kérdéseikre is választ kapnak meghívott előadóinktól, akik a betegség szövődményeivel foglalkozó társszakmák képviselői: diabetológus, endocrinologus, cardiologus, rheumatológus, hepatológus és onkológus. Tavalý Dr. Kovács Tibor, a Neurológiai Klinika docense felkérésemre előadást tartott az Alzheimer kór és egyéb neurodegeneratív kórképek kialakulásában szerepet játszó vastúlterhelődés összefüggéséről.

Az ő előadása nyomán a fenti betegségre vonatkozó szűrőprogramot indítottunk az erre vállalkozó betegeink körében. A program jelenleg még adatgyűjtés fázisában van.

A társaság fő feladata a betegségről, annak gondozásáról szóló ismeret terjesztése abból a célból, hogy a magyar lakosság egészség megőrzéséhez a magunk módján hozzájáruljunk. A Június első hetében, a hemokromatózis világnap jegyében megrendezésre kerülő összejövetelünkről a Semmelweis Egyetem Kommunikációs Osztálya gondozásában az egyetemi honlap ad képes beszámolót. Az M5-ös TV csatorna révén készült ismeretterjesztő előadás szintén hozzájárult a fenti célok eléréséhez. Mindezen aktivitásnak köszönhetően a klinikánkon gondozottak száma egyre nő. A HBE honlapra a betegséggel kapcsolatban érkező kérdésekre rendszeresen reflektálok.

3. MYELODYSPLASIÁS SYNDROMA TÁRGYÁBAN VÉGZETT KUTATÓMUNKA ÉS EREDMÉNYEI

A myelodysplásiás syndroma (MDS) elnevezés egy heterogén betegcsoportra vonatkozik, melyet clonalis, összejt kiérési rendellenesség következtében egy-, két- vagy háromvonalas sejtdysplasia, periférián pancytopenia, a csontvelőben hypercellularitás és mintegy az esetek 25%-ában a kórlefolyás során leukemiás transzformáció jellemez. A betegek döntően 65 év feletti. A lakosság előregedésével számuk évről-évre egyre több. A 80 éves korosztályban 45/100.000 betegség előfordulási aránnyal kell számoljunk. A betegek nagy részét a cytopenia következtében (vérzés, sepsis) vagy az eszkalálódó vérigény okozta vasterhelődés szövődményei miatt veszítjük el. A betegség ismeretlen etiológiájú. Kialakulásában, azonban, ha a kórelőzményben valamely előző betegsége alkalmazott kemoterápia igazolható, secunder MDS-t verifikálunk, különben pedig un. de novo betegséggel állunk szemben. Mindenesetre a betegsége jellemző karyotípus eltérések, tumor suppresszor gének deletiója, a reparációs mechanizmusok gyengülése arra enged következtetni, hogy a betegség évek alatt akkumulálódó, reparálatlan genotoxicus ártalmak eredőjeként manifesztálódik.

A 2008-as klasszifikáción alapuló 2016-os WHO besorolás szerint megkülönböztetünk Refrakter Anemia (RA), Gyűrűs sideroblastos anemia (RARS), 5q-, Refrakter Anemia 5-10% blastaránnyal (RAEB I), 10-19% blast aránnyal (RAEB II), valamint nem besorolható, hypoplasticus és átmeneti formákat a myeloproliferatív kórformák felé (MDS/ MPN) (6). A diagnózis felállításával egyidejűleg, mint minden más betegségben, a prognózis szempontjából is történik besorolás. A széles körben elterjedt IPSS szerint megkülönböztetünk alacsony, intermedier-1, intermedier-2 és magas rizikójú eseteket a cytopenia mértéke, a blastok száma és a karyotípus alapján. Malcovati és mtsai ezen kívül a vérigényt építették be a WPSS score-ba, a várható kimenetelt meghatározó tényezőként (7,8).

3.1. DIAGNOSZTIKUS ALGORITMUS KIDOLGOZÁSA MDS-BEN

2010-ben részese lehettünk pathológus kolléganőmmel, Dr. Csomor Judittal (Semmelweis Egyetem, I.sz. Pathológiai Intézet) egy olyan nemzetközi műhelymunkának (workshopnak), mely során létrejött konszenzus eredményeként MDS-ben javasolható hematopathológiai vizsgálati algoritmus került megfogalmazásra. Perzisztensen/progresszíven és szignifikánsan cytopeniás betegnél a jellemző cytológiai kép, a karyotypus és egyéb betegségek kizárása alapján kerül sor a MDS diagnózis felállítására, majd megtörténik a subtypusba és prognosztikus kategóriába sorolás, végül mindezek a lapján az optimális kezelés kerül megtervezésére. Fennmaradnak azonban diagnosztikus nehézségek olyan esetekben, amikor a dysplasia nem egyértelmű, vagy nincs karyotípus eltérés (az esetek 50%-ában), vagy a cytológiai kép akár myeloproliferatív szindrómának is megfelelhet a dysplastikus vonások mellett. Az ilyen kérdéses esetekre hívták életre ezt a munkamegbeszélést azzal a céllal, hogy fektessük le azt a diagnosztikus protokolt, amely aztán széles körben követhető és segítségül szolgálhat a klinikai gyakorlatban. A kérdéses, mint a hypoplasticus MDS, vagy a fibrosissal járó MDS esetekre szóló immunhisztokémiai eljárások alkalmazására tettünk javaslatot.

Amennyiben MPN (Myeloproliferatív neoplasia) felmerül, JAK2 V617F mutáció analysis illetve a PDGFR alpha génátrendeződés vizsgálatnak van helye. A CD34, tryptáz, CD2, CD25 kivitelezése hangsúlyosan került megfogalmazásra a blastszám pontos meghatározása illetve társult systemás mastocytosis kimutatása érdekében. Az erythropoetikus hyperplasia azon eseteiben, amikor az összes magvas elem nagyobb, mint 20%-a erythroblast, kimondható az M6 (erythroleukemia) az ott kialakított consensus alapján, eltérően a korábbi WHO ajánlástól, mely az összes nem erythroid sejthez mérte a blastok arányát. Új ajánlás volt az is, hogy CMML-ben (Chronicus myelomonocytás leukemia) a monocyták esetében ne azok abszolút száma ($> 1000 /\mu\text{l}$), hanem azok százalékos aránya ($> 10\%$) számítson diagnosztikus érvényűnek, különösen nagy sejtszámú esetekben. A munkamegbeszélés különös érdeme, hogy elfogadott lett az ICUS (idiopathiás cytopenia nem ismert eredettel) és IDUS (idiopathiás dysplasia nem ismert eredettel) kategóriák bevezetése. Ezen esetekben normal karyotypust kapunk, de a FISH elvégzése során- vagy már az azóta széles körben elterjedt új generációs sequenálás módszerének köszönhetően- clonalis eltérés derülhet ki.

[5].Valent P, Orazi A, Büsche G, Schmitt-Gräff A, George TI, Sotlar K, Streubel B, Beham-Schmid C, Cerny-Reiterer S, Krieger O, van de Loosdrecht A, Kern W, Ogata K, Wimazal F, Csomor J, Várkonyi J, Sperr WR, Werner M, Kreipe H, Horny HP. Standards and Impact of Hematopathology in Myelodysplastic Syndromes (MDS). Oncotarget. 1/7/: 483-496, 2010.

3.2. ÚJ ENTITÁS LEÍRÁSA MYELODYSPLASIÁBAN

Az alábbi, szintén nemzetközi, több munkacsoport együttműködésén alapuló közleményben egy új MDS entitásról számoltunk be, mely jellemzője, hogy magán viseli mind az MDS mind pedig a MPN cytomorfológiai jellemzőit, és ennek megfelelően kimutatható mindkét betegségre jellemző cytogenetikai (5q-) illetve molekuláris (JAK2 V617F mutáció) jellemző, mintegy a morfológia igazolásaként.

[6].Ingram W, Lea NC, Cervera J, Germing J, Fenaux P, Cassinat B, Kiladjian JJ, Varkonyi J, Antunovic P, Westwood NB, Arno MJ, Mohamedali A, Gaken J, Kontou T, Czepulkowski BH, Twine NA, Tamaska J, Csomor J, Benedek S, Gattermann N, Zipperer E, Giagounidis A, Garcia-Casado Z, Sanz G, Mufti GJ. The JAK2 V617F mutation identifies a subgroup of MDS patients with isolated deletion 5q and a proliferative bone marrow. *Leukemia*.20:1319-1321, 2006.

3.3. THE MYELODYSPLATIC SYNDROMES C. KÖNYV

2009-ben felkérés érkezett a Springer kiadótól myelodysplasia tárgykörben egy könyv szerkesztésére. Ennek a megtisztelő felkérésnek eleget téve a téma kiemelkedő szakértőit nyertem meg társszerzői feladatok ellátására. Így került végleges formában kiadásra:

[7]. Várkonyi J.(ed) *The Myelosysplastic Syndromes* 2011. Springer ISBN 978-94-007-0439-8.

A könyv 16 fejezetet tartalmaz. Foglalkozik az MDS-re hajlamosító tényezők, a DNS reparálásában részt vevő- és a detoxifikáló enzimek szerepével. További fejezetekben taglalja a cytomorfológiai sajátságokat, az azokon alapuló diagnosztikus kritériumokat és a betegség klasszifikációját. Külön fejezet foglalkozik a betegség cytogenetikájával illetve a betegségre jellemző molekuláris eltérésekkel, a nemzetközileg elfogadott prognózist meghatározó score-al, a jellemző flow cytometriás mintázatokkal. Ghulam Mufti (King's College, London) munkacsoportját kértem fel az MDS, mint autoimmun folyamat és az un. overlap syndromák tárgyalására. A vastülterhelődés fejezetet magam írtam meg. A probléma kezelésének lehetőségeiről Chaim Herskho professzor írt fejezetet, aki a téma elismert szakembere, nem utolsósorban pedig Karcagon született, az ubiquitinizáció leírása miatt kémiai Nobel díjban részesült Herskho Ferenc bátyja. Három fejezet foglalkozik a kezelés lehetőségeivel: 1/ cytokin-, 2/ molekuláris célpontú - és 3/ csontvelő transzplantációs terápiák módoszataival. Ez utóbbit kedves régi-új kollegám, Dr.Masszi Tamás professzor írta meg

kitűnő színvonalon. Legnagyobb sajnálatomra Dr.Kriván Gergely egyéb elfoglaltságai miatt nem tudta elvállalni, ezért a gyermekek MDS betegségéről Peter Valent professzor javaslatára Henrik Hasle írt fejezetet.

3.3.1. ISMERETTERJESZTŐ TEVÉKENYSÉG MYELODYSPLASIÁBAN

A 2011-es belgyógyászati szakvizsga szintfenntartó tanfolyamon alkalmam volt előadást tartani a vérszegénységről, mely a tanfolyamhoz illeszkedő tananyagként került publikációra.

[8].Várkonyi J. Az anémiák kórisméje és kezelése. Semmelweis Egyetem kötelező szintfenntartó belgyógyászati tanfolyama. 2011.November 24-26. MBA Supplementum 1: 5-7, 2011.

Masszi professzortól érkezett a felkérés egy rövid MDS összefoglaló megírására a Medical Tribune számára, mely 2015. augusztusban jelent meg.

[9].Várkonyi J. A myelodysplasiás szindróma korszerű kezelése. Medical Tribune. 13 : 13-4, 2015.

Tulassay Zsolt: Klinikai Belgyógyászat (2017) c. tankönyv hematológiai betegségek fejezetében az MDS alfejezetet én írtam.

[10]. Várkonyi J. Myelodysplasiák. In: Tulassay, Z (szerk.) Klinikai belgyógyászat. Budapest, Magyarország: Medicina Könyvkiadó Zrt., (2017) pp. 555-558., hasonlóan a hamarosan megjelenő Magyar Belgyógyászat c. tankönyvben is.

The Myelodysplastic Syndromes Foundation által MDS betegek számára készült angol nyelvű tájékoztatót, felkérésükre magyar nyelvre fordítottam (honlapról letölthető) honlapcím:

<https://www.mds-foundation.org/what-is-mds/>

3.4. MYELODYSPLASIÁRA HAJLAMOSÍTÓ TÉNYEZŐK KUTATÁSA

TUKEB 104/2004 és ETT TUKEB 12236-45/2004-1018EKU engedély alapján

SNP-nek (single nucleotide polymorphism) azaz egy pontú nukleotid polymorphismusnak nevezzük a DNS szekvenciában bekövetkező, egyetlen nukleotidot érintő változást, cserét, amennyiben a populációban való előfordulása eléri a 1% gyakoriságot. Ezek felelősek az emberi genom változatosságáért. A humán genomban 100-300 bázispáronként található egy SNP, becsült számuk közel 30 millió, 2010-ben az azonosított SNP-k száma megközelítette a 20 milliót. Az SNP-k leírását nyilvános adatbázisok tartalmazzák. A legtöbb SNP-nek nincs hatása az adott sejt funkciójára, de vannak, amelyek bizonyos betegségekre való hajlammal társulnak. Az SNP-k genetikailag stabil markerek, emiatt biológiai markerként jól használhatók a genetikai vizsgálatokban. A haplotípus egy kromoszómán elhelyezkedő, genetikailag kapcsolt öröklődést mutató SNP készlet.

3.4.1. METABOLIZÁLÓ ENZIMEKRE VONATKOZÓ GÉNPOLYMORPHISMUSOK VIZSGÁLATA

[11].Várkonyi J, Szakály D, Jánoskúti L, Hosszúfalusi N, Pánczél P, Karádi I, Schoket B. Glutathione S-Transferase Enzyme Polymorphisms in a Hungarian Myelodysplasia study population. POR. 14/ 4 /: 429-433, 2008. közlemény alapján.

A Glutathion-S transferase enzimek, a GSTM1, GSTT1 és GSTP1 részt vesznek a szervezet detoxifikálásában, a gyógyszerek metabolizálásában. Ezekre az enzimekre vonatkozóan is ismert az emberek genetikai polymorphismusa. A GSTM1 és GSTT1 gének homozygota deletiója az enzimek termelődésének a hiányát eredményezi. Feltételezhető tehát, hogy az ilyen egyedek nem képesek a genotoxikus szerek közömbösítésére, ezáltal fokozottan veszélyeztetettek lehetnek pl. myelodysplasia kialakulására. Az erre vonatkozó irodalomban ellentmondó adatokat találtunk. Tanulmányunk 86 ismerten MDS beteg és 99 kórházi kontroll bevonásával folytatott gén polymorphismus vizsgálatra terjedt ki GSTM1, GSTT1 és GSTP1 Ile105Val –ra vonatkozóan.

3.4.1. Táblázat. GSTM1, GSTT1 és GSTP1 Ile105Val genotípus frekvencia a vizsgált MDS populációban és kórházi kontrollokban.

GENOTÍPUS	GENOTÍPUS FREKVENCIA (%)	
	MDS esetek n=86 (100%)	Kontrollok n=99 (100%)
GSTM1 pozitív	52,3	51,5
GSTM1 Null	47,7	48,5
GSTT1 Pozitív	80,2	74,7
GSTT1 Null	19,8	25,3
GSTP1 Ile/Ile	45,1	49,5
GSTP1 Ile/Val	45,1	42,4
GSTP1 Val/Val	9,8	8,1

Nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a kontroll és a betegek csoportjai között a genotípus frekvenciák vonatkozásában. Publikált eredményeinket meta-analysisekben láttuk viszont, így módon hozzájárulva nagyszámú betegadat alapján levonható következtetések megfogalmazásához (9,10).

3.4.2. CYTOKINEKRE VONATKOZÓ GÉNPOLYMORPHISMUSOK VIZSGÁLATA MDS-BEN

3.4.2.1. TNF- α GÉN PROMOTERÉRE VONATKOZÓ POLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA MDS-BEN

[12].Kádár K, Demeter J, Andrikovics H, Tordai A, Kovács M, Füst G, Karádi I, Várkonyi J. TNFalpha promoter gene polymorphism in patients with Myelodysplastic Syndrome. Acta Haematol. 113: 262-264,2005. közlemény alapján.

A myelodysplasiában észlelt pancytopenia a csontvelőben lejátszódó intenzív apoptózis következtében alakul ki. Az apoptózis irányban a TNF alpha/FAS ligand aktiváció, ezzel ellentétesen pedig a növekedési faktorok és az interleukinok hatnak. Az apoptózis szerepe a MDS kezdeti fázisában bír pathogenetikai szereppel, úgyhogy a Refrakter Anemia csoportban és nem a magas blast sejtszámmal bírókban van jelentősége (11). Több tanulmány

bizonyította, hogy MDS betegek csontvelői mononukleáris sejtjeiben emelkedett a TNF- α mRNS és fehérje szintje az egészséges kontrollokhöz képest (12, 13). Emelkedett szérumban TNF- α szintet találtak MDS betegek vérében, amelynek a mértéke korrelált az anémia fokával (14). A TNF gén transzkripciójának szabályozása alapvetően fontos a termelődő TNF fehérje mennyisége szempontjából. A promoter régió belüli genetikai variációk befolyásolhatják a TNF átíródását, génexpresszióját, ezáltal szerepet játszhatnak bizonyos betegségekben előforduló emelkedett TNF szint létrejöttében. A TNF- α fehérjét kódoló TNF gén a 6-os kromoszóma rövid karján, a 21.33 lókuszon helyezkedik el, a kifejezett polymorphismust mutató MHC III osztályú régióban. Ebben a régióban számos egyedi nukleotid polymorphismus ismert. Ezek közül is leggyakrabban a 308-as és a 238-as pozícióban levőket vizsgálták (15). Ellentmondásos irodalmi adatok vannak arra vonatkozóan, hogy 308-GA polymorphismus esetén magasabb a TNF alpha szint, mint a GG- esetében. Ugyancsak a -238 SNP-re nézve is szólnak az ide vonatkozó irodalmi adatok.

Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy ennek a polymorphismusnak van-e szerepe a MDS pathogenesisében. Tanulmányunkban 69 MDS beteg 125 egészséges kontrol mintája képezte az összehasonlítás alapját. A kutatásba bevont 69 MDS beteg klinikai jellemzői: 26 FFI / 43 NŐ, átlag életkor 69 év (39-88); WHO besorolás szerint RA 27 (39%), RARS 19 (28%), RAEB 3 (4%), RAEB-t 14 (20%), hypoplasticus 3 (4%), MDS/MPN: 3 (4%). IPSS besorolás szerint: alacsony: 6 (19%), Intermedier-1:17 (53,9%), Intermedier-2: 4 (12,5%), Magas:5 (15,5%). A TNF- α -238 (rs361525) és -308 (rs1800629) pozíciójú polymorphismusait vizsgáltuk. PCR-RFLP metodikát alkalmaztunk Day CP által leírt primereket használva (16). A genotípus meghatározások a Semmelweis Egyetem III sz. Belgyógyászati Klinika Kutató laboratóriumában történtek.

Az alábbi táblázat az eredményeket mutatja, mely szerint a TNF- α -308 GG, GA és AA genotípusok eloszlása csaknem megegyezett a kontrolléval. A -238-as allélfrekvencia előfordulásában megfigyelhető volt különbség, ami azonban nem érte el a szignifikancia mértékét. (statisztikai analízis: genotípusok, allélok és haplotípusok gyakoriságát a Fisher-féle egzakt teszt, vagy Pearson Chi-négyzet teszt alkalmazásával hasonlítottuk össze. A $p=0.05$ -nél kisebb értéket tekintettünk szignifikánsnak). Saját eredményeinket tekintve az egészséges kontroll személyek allélfrekvencia előfordulása megegyezett a TNF -308 allél esetében korábban publikált magyar adatokkal (17).

3.4.2.1. Táblázat. TNF- α gén G/A polymorphismus MDS betegek és egészséges kontrollok esetében.

	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 = adenin G = guanin

Következtetések: Az irodalomból ismert egymásnak ellentmondó adatokra magyarázatul szolgálhat, hogy a tanulmányokban kis esetszám (100 alatti) mellett kapott eredmények kerültek értékelésre. A mi vizsgálataink alapján azokhoz csatlakozunk, akik szerint a gén polymorphismusa önmagában nem játszik szerepet a betegség kialakulásában, tehát a keringő TNF- α szint önmagában ehhez nem elegendő. Inkább poszttranszkripciós szabályozás, a TNF receptorok expressziójának mértéke, számos epigenetikai tényező, vagy mindezek együttes hatása lehet a kérdés kulcsa.

3.4.2.2. IL-6, IL-6R GÉNPOLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA MYELODYSPLASIÁBAN MYELOMA MULTIPLEXEL TÖRTÉNŐ ÖSSZEHASONLÍTÁSBAN

[13].Aladzsity I, Kovács M, Semsei Á, Falus A, Szilágyi Á, Karádi I, Varga G, Füst G, Várkonyi J. Comparative analysis of IL6 promoter and receptor polymorphisms in myelodysplasia and multiple myeloma. Leukemia Research 33 /11/:1570-1573. 2009. közlemény alapján.

Myelom multiplexben a plasmasejtek malignus proliferációja során IL-6 autocrin és paracrin módon is termelődik. Mennyisége tükrözi a tumor massa tömeget, ezért a magas szint rossz prognózissal függ össze. Myelodysplasiában, mely egy clonalis myeloid malignitás az IL-6 szint szintén magas. Mindkét betegség az idős korban jelentkezik és a kor előrehaladtával az IL-6 szint is egyre magasabb (18, 19, 20, 21, 22, 23). Az irodalomban fellelhető, az IL6

promoter és IL6 receptor gén polymorphismusra vonatkozó, de ellentmondó eredmények miatt kezdeményeztük vizsgálatainkat és azért is, mert MDS-ben nem találtunk a cytokinre és receptorára egyidejűleg vonatkozó adatokat (24, 25, 26, 27).

Tanulmányunkban 102 MDS, 100 MM és 99 nem és életkor szerint egyeztetett kontroll csoportban az IL-6R gén Asp358Ala polymorphismus és az IL-6 gén promoterén a –174 G>C polymorphismus vizsgálata történt. 100 MM közül 24 IgA:19 kappa/5 lambda könnyű lánc, 1 IgD lambda, 63 IgG: 42 kappa/20 lambda/ 1 kappa + lambda, 8 esetben Bence Jones myeloma és 4 nonsecretoros myeloma volt. FFI/NŐ arány 35/65. Átlag életkor 65 év (34–90 év). A 100 MM mintából 92, a 99 kontrollból mindegyik esetében sikeres volt az analízis az IL6 promoter polymorphismusra nézve. A 102 MDS beteg közül 74 genotipizálása volt sikeres a receptor polymorphismus vizsgálatban. WHO klasszifikáció szerint a következő kategóriákba voltak besorolhatók: Refrakter anemia (RA) (n = 35), Refrakter anemia gyűrűs sideroblastokkal (RARS)(n = 10), Refrakter anemia blastokkal (RAEB) (n = 11), 5q– (n = 3), nem besorolható MDS (n = 3), hypoplasticus forma (n = 11) és a MDS/MPN (n=1). A 102 MDS mintából és az összes kontrollból mind, a 100 MM mintából 97 lett sikeresen analizálva az IL6 promoter gén polymorphismusra vonatkozóan. A FFI/NŐ arány 38/62 volt, az átlag életkor 70 év (41–90 év).

Eredményeinket az alábbi táblázatokban foglaltuk össze. A vizsgált gén polymorphismusokra vonatkozóan nem volt kimutatható különbség a két betegség és a kontroll populáció között.

3.4.2.2. A. Táblázat. IL-6 174G/C promoter polymorphismus MDS-ben és Myelomában

	Myeloma Multiplex (n=97)	Myelodysplasia (n= 102)	Kontrollok (n=99)
Genotípus			
GG	37 (38,1%)	35 (34,3%)	36 (36,4%)
GC	43 (44,3%)	63 (54,9%)	49 (49,5%)
CC	17 (17,5%)	11 (10,8%)	14 (14,1%)
p értéke a kontrollal összevetve	0,7704	0,793	
Allél			
G	117 (60,3%)	128 (61,1%)	121 (61,1%)
C	77 (39,7%)	78 (38,2%)	77 (38,9%)

A genotípus frekvenciák Hardy-Weinberg equilibriumban vannak, χ^2 teszt. p mind > 0.3

3.4.2.2. B. Táblázat. Gegontípus frekvencia IL-6R Asp358Ala A/C polymorphismusra vonatkozóan Myeloma multiplexben (MM), myelodysplasiában (MDS) szenvedő betegekben, a kontrollal való összevetésben

	Myeloma Multiplex (n=92)	Myelodysplasia (n=74)	Kontrollok (n=97)
Genotípus			
AA	34 (37%)	31 (41,9%)	43 (44.3%)
AC	46 (50%)	35 (47,3%)	44 (45,4%)
CC	12 (13%)	8 (10,8%)	10 (10.3%)
p érték a kontrollal összevetve	0,4641	0,9513	
Allel			
A	1114(62%)	97(65,5%)	130 (67%)
C	70 (38%)	51 (34,5%)	64 (33%)

A gentotípus frekvencia Hardy-Weinberg equilibriumban van, χ^2 teszt. p mind > 0.2

Mindazonáltal a két betegség, egy korábbi tanulmányuk szerint a vasanyagcsere tekintetében jelentősen különbözik: a HFE gén mutáció 50%-os jelenléte a MDS betegcsoportban és az átlag alatti előfordulása a myelomás csoportban szembetűnő.

[14].Várkonyi 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. 85:869–871,2006.

Alternatív hypothesisként vetettük fel ezért azt a gondolatot, amely szerint tehát az azonos cytokin környezet, a kontrolltól és egymástól nem eltérő génpolymorphismus mintázat mellett az egyetlen általunk kimutatott különbség polymorphismus szinten a HFE génre vonatkozóan volt eddig, s mintegy választóvonalaként szerepelhet abban, ki fog idővel inkább myelomában vagy inkább MDS-ben megbetegedni.

3.4.3. VASTÚLTERHELŐDÉS, MINT PATHOGENETIKAI, EGYBEN PROGNOSZTIKAI TÉNYEZŐ MYELODYSPLASIÁBAN

[15]. Várkonyi J., Tarkovác G, Karádi I, Andrikovics H, Varga F, Varga F, Demeter J, Tordai A. High incidence of hemochromatosis gene mutations in the myelodysplastic syndrome: The Budapest study on 50 patients. Acta Haematol. 109: 64-67,2003. közlemény alapján.

2001-ben megvédett PhD disszertációm végén, mintegy előre vetítve a további kutatási terveimet jeleztem 17 MDS betegen szerzett észrevételemet, mely szerint vastúlterhelődés már akkor jelen van, mielőtt transzfúzióban részesültek volna és ennek egyik tényezőjeként a hemokromatózis gén mutációja felmerül. Két évvel később publikáltuk 50 betegre vonatkozó tanulmányunkat, melyben ezt a jelenséget igazolni is tudtuk. A két alábbi táblázatban, melyek a tanulmány eredményeit tartalmazzák hármát tartok fontosnak kiemelni:

1/ a MDS betegek mintegy felében valamely, a vastérhelődés tekintetében releváns HFE gén mutációja (C282Y vagy H63D) jelen van (3.4.3. A. Táblázat);

3.4.3. A. Táblázat. Myelodysplasiás betegek és önkéntes véradók HFE eredményeinek összehasonlítása

	MDS betegek (n=50)	Véradók (n=80)	p-érték*
C282Y allél hordozók	5 (10)	4 (5)	0,7325
H63D allél hordozók	22 (44)	21 (26,3)	0,0547
C282Y vagy H63D allél hordozók	26 (52)	25 (31,2)	0,0264

A zárójelben százalékos értékeket jeleztük. * Fischer szerint

2/ azok a MDS betegek, akik a HFE génmutációt hordozzák, részben már ab ovo magasabb vas értékekkel kerülnek felismerésre, illetve kevesebb egység transzfúzióját követően érik el a kritikus transferrin telítettséget a vad típusúaknál (3.4.3. B. Táblázat).

3.4.3. B. Táblázat. MDS betegek vasparameterei a HFE gén statusuk viszonylatában

	<u>Serum Fe, umol/l</u>		<u>Transferrin saturatio, %</u>		Trafo egységek
	Trafo előtt	Trafo után	Trafo előtt	Trafo után	
HFE+ (n=16)	26,8 ±12,1 $p^a = 0,073$	32,25±12,42	50.93±28.7 $p^a = 0.0067$	67.4±21.16	11,67±12,65
HFE- (n=14)	19,77±9,1 $p^a = 0,0107$	29,22±7,9	39,99±17,86 $p^a = 0,0007$	72,43±27,1	31,57±28,95 $p^b = 0,0174$

Átlagértékek kerültek feltüntetésre ±SD. A serum vas felső értéke 26,9 umol/l . A transferrin saturáció esetében ez 45%. Trafo: transzfúzió rövidítése.

p^a jelölés a Wilcoxon féle teszt alkalmazását, a p^b jelölés a Mann-Whiley teszt alkalmazását jelenti. A HFE+ és HFE – MDS betegek közötti különbség a trafo előtti vas és transferrin saturatio tekintetében nem szignifikáns ($p = 0,1064$ és $p = 0,4850$)

3/ az önkéntes véradó kontroll csoportban meglepően sok a hordozó egyén. Szerzőtársaim másik közleményében látott adatok szerint a többszörös véradók csoportjában egyre nagyobb számban előforduló H63D génmutáció arra utalhat, hogy az érintettek a vérvesztéséget jól tolerálják (3.4.3. A. Táblázatot vedd össze a 3.4.3. C. Táblázattal).

3.4.3. C. Táblázat. HFE génre vonatkozó allélfrekvencia az első és többszörös véradók között.

	Először véradók (N=80)	6-13 véradás utáni véradók (N=80)	30-107 véradás utáni véradók (N=80)
H63D allél frekvencia (% +/- 95%CI)	14,4 +/- 5,5	13,1 +/- 5,3	15,6 +/- 5,7
Heterozygoták száma (%)	19 (23,8%)	19 (23,8%)	25 (31,3%)
Homozygoták száma (%)	2 (2,5%)	1 (1,2%)	0 (0%)

Andrikovics H. és mtsai. (28)

Az utóbbi évek öröndetes fejleménye, hogy az OVSZ által deklaráltan lehet önkéntes véradó az amúgy egészséges hemokromatózis gént hordozó egyén. Talán nem szerénységség részemről, ha ezt részben az évekig tartó állhatatos közbenjárásom eredményének tudom be.

3.4.4. RÉZHIÁNY MYELODYSPLASIÁBAN

[16]. Várkonyi J, Bekő G, Kollai G, Karádi I. The iron-copper regulation in the myelodysplastic syndromes. Trace elements in the food chain. Vol 3. Deficiency or excess of trace elements in the environment as a risk of health. Eds. Szilágyi M, Szentmihályi K. pp. 407- 411. ISBN 978-963-7067-19-8. Publisher: Working Committee on Trace Elements of the Hungarian Academy of Sciences (HAS) and Institute of Materials and Environmental Chemistry of the HAS, Budapest, Hungary, pp. 407-411, 2009.

**[7]. Várkonyi J (ed). The Myelodysplastic Syndromes 2011. Springer
ISBN 978-94-007-0439-8.**

[17]. Varkonyi J, Szabó T, Sebestyén P, Tordai A, Andrikovics H, Kollai G, Karádi I. New aspects of copper and iron metabolism in the myelodysplastic syndromes. Chemotherapy. 52: 66-68, 2006. közlemények alapján

Mint ismert, a réz és a vas szervezetünkben lejátszódó oxidoreduktions folyamatok nélkülözhetetlen elemei. A nyombélben a vas transzportjért felelős dimetal transzferaze 1 enzim (DMT1) és a ferroportin expressziója is a réz megfelelő szintjéhez kötött. Mindkét fémion hiánya vagy éppen kóros mértékű felhalmozódása betegségekhez vezet. A felszívódás szintjén való kompetíciójuk éppen ezért alkalmassá teszi ezeket a fémeket az egyik vagy másik kórállapot kiegészítő kezelésére.

3.4.4. A. Táblázat. Transferrin saturatio és réz szint alakulása MDS betegekből a HFE gén statustól és a megelőzően transzfundált vérmennyiségtől függően

HFE wt (n=22)	Se Cu (umol/l)	Tf sat (%)	HFE mutant (n=11)	Se Cu (umol/l)	Tf sat (%)
VTT< 10 E	16,8 (10,4-26,9)	39,9 (14-92)	VTT< 10 E	15,18 (12,3-19,1)	47,8 (27-80)
VTT> 20 E	6,35 (4,0-8,5)	78,2 (39-116)	VTT> 20 E	5,86 (5,1-7,1)	97,6 (95-101)
ÁTLAG	13,1 (4,0-26,9)	52,7 (14-116)	ÁTLAG	11,1 (5,1-19,1)	64,4 (27-101)

Varkonyi J. The Myelodysplastic Syndromes.2011. [7]

E=egység. 1 E vér = 200 ml vvs massa, HFE mutansok között: 1 compoud heterozygota, 2 C282Y heterozygota és 8 H63D heterozygota volt VTT: vér transzfúziós terápia

3.4.4. B. Táblázat. Réz paraméterek MDS betegekből a vas és a transferrin, valamint a HFE gén statusuk függvényében [7].

MDS betegek* (n: 58)	Alacsony Cu/CP	Normal Cu/CP	Magas tr sat / ferritin	Normal tr sat / ferritin
HFE mutans (n: 19)	8 (35 %)	11 (65 %)	12 (63 %) (0-10 E vér transzfúzió után)	7 (37 %)
HFE wt (n: 39)	9 (23 %)	30 (77 %)	21 (52 %) (10-20 E vér transzfúzió után)	18 (48 %)

*MDS subtypus eloszlás: RA: 10, RAS/RARS: 16, RAMCD: 8, 5q-: 4, RAEB: 13, Hypoplasticus: 5, MPS/MDS: 1 secuder MDS: 1. HFE mutáció eloszlás: H63D heterozygota: 15; compoud heterozygota: 1; C282Y heterozygota: 3. Serum Cu normal értéke FFi-ben 11-22 umol/l és Nő-ben 12.6 - 24.4 umol/l. Normal serum Coeruloplasmin (CP) szint mindkét nemre vonatkozóan: 0. 20 - 0. 60 g/l. A Tfsat normal felső határa: 45 %, ferritinre: 300 umol/l mindkét nemből

A betegeket osztályoztuk a rézsint alapján: réz hiányos, és normal réz szinttel rendelkezők, valamint a vas paraméterek alapján vasterhelődést mutató vagy normal vas szinttel élő egyént. A feltüntetett számok átlagértékeket reprezentálnak. A HFE genotípus szerint

megkülönböztettünk vad típussal illetve variáns génnel rendelkező csoportokat. A fenti tanulmányban a réz szint alapján megkülönböztetett MDS betegek két csoportja között észlelhető különbség az, hogy az alacsony réz szinttel jellemzett csoportban több beteg rendelkezett magasabb vas és transferrin saturations értékkel, és több volt közöttük a gén mutációval rendelkező egyén is.

3.4.4. C. Táblázat. Réz- és vasanyagcsere összefüggései MDS-ben.

	Serum vas parameterek				HFE genotípus	
	<u>Emelkedett</u>		<u>Normal/csökkent</u>		Vad típus 282C/C 63/D/D	Varians 282C/Y 282Y/Y 63D/H 63H/H
	seFe (mmol/l)	Tf sat (%)	seFe (mmol/l)	Tf sat (%)		
<u>Cu-deficiens</u> <10 mmol/l (átlag: 6,0 ± 1,53) n=11	33,4 ± 5,5	91 ± 17	15,4 ± 1,9	37 ± 13	n=6 (55%)	n=5 (45%)
	n=8		n=2			
<u>Cu-normal</u> >10 mmol/l (átlag:16,4 ± 3,85) n=21	31,4 ± 7,5	80 ± 26,5	16,1 ± 6,1	35,3 ± 11,3	n=14 (66%)	n=7 (33%)
	n=6		n=15			

Varkonyi J, Chemotherapy, 2006 [17].

A fenti adatok arra utalnak, hogy a vastöbbletre hajlamosító állapot egyszersmind réz hiánnyal is társulhat, ismerve a két elem kompetícióját a felszívódásért. A réz hiánya viszont, mint ahogy azt egyéb publikációkból ismerhetjük, MDS-re jellemző vérképi eltérésekhez sőt, elméleti meggondolások és irodalomban közölt példák alapján hosszas fennállás esetén akár valódi MDS-ra is vezethet (29, 30, 31, [18]. **Varkonyi J. Chronic deficiency states-initially reversible metabolic changes resulting in true myelodysplasia. Hungarian Medical Journal. 2: 329-330, 2008.**).

Mindezek alapján a réz szint meghatározása dysplasiás eltérések esetében a vizsgálati algoritmusba történő felvételre; pótlása pedig igazolt rézhiányban mindenképpen javasolható.

3.4.5. HFE GÉN MUTÁCIÓ EGYEDÜLÁLLÓ GYAKORISÁGA MYELODYSPLASIÁBAN A TÖBBI CHRONICUS HEMATOLÓGIAI MEGBETEGEDÉSSEL TÖRTÉNŐ ÖSSZEHASONLÍTÁS ALAPJÁN

3.4.5.1. HFE GÉN MUTÁCIÓ ELŐFORDULÁSA MYELOMÁBAN MDS-EL VALÓ ÖSSZEVETÉSBEN

[14].Várkonyi 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. 85:869–871,2006. közlemény alapján.

A myeloma multiplex (MM) és a myelodysplasiás syndroma (MDS) esetek vasanyagcseréjében tapasztalható szignifikáns különbség vezetett arra, hogy tanulmányozzuk a két betegségben a hemokromatózis génvariánsok előfordulásának arányát. A klinikai tapasztalat ugyanis az volt, hogy a MDS betegek esetében, mielőtt a beteg megelőzően bármikor is vérátömlesztés kapott volna, már legtöbbször a diagnóziskor emelkedett serum vas és transferrin saturációs értékekkel rendelkezett. Ugyanakkor a betegségre jellemző refrakter anemia miatt a betegek sorozatos transzfúzióban részesülnek. A fentiekből eredően előbb-utóbb vastűlterhelődésre jellemző tünetek, barna bőrszín, hepato-splenomegália jelentkeznek, melyek önmagukban is a beteg állapotának romlásához vezetnek. Ezzel szemben Myelomára a vastűlterhelődés nem volt jellemző, még az erythropoietin kezelés (EPO) bevezetése előtti időszakban sem, amikor a myelomások vért kaptak. A vasanyagcsere ismert regulátorának, a hemokromatózis génnek polymorphismusa az egyes népcsoportok között változó: a C282Y és H63D variánsok előfordulási gyakorisága északról délre haladva

egyre csökken. A kaukázusi népcsoportban a C282Y hordozók száma kb. 2-5/1000, a H63D pedig kb. 13-14/1000.

Tanulmányunkban 49 MM és 61 MDS nem szelektált beteg esetében határoztuk meg a C282Y és H63D incidenciát. A klinikai adatok közül a serum vas, transferrin saturáció, a kórlefolyás során transzfundált egységek száma, a MM esetekben a diagnóziskor mért WBC került összevetésbe a HFE génstátusszal. Betegadatok: 49 MM: átlagos életkor: 68 év, Nő/FFI: 26/16, IgG: 28, IgA: 11, könnyű lánc: 3. 61 MDS: átlagos életkor 69 év, Nő/FFI: 43/18. WHO kritériumok szerint: Hypoplasticus/5q-/RA: 28, IRSA/RAS: 19, RAEB/RAEB-t: 14. A HFE genotipizálás PCR-RFLP módszerrel történt. Eredményeinket 3 táblázatban foglaltuk össze.

3.4.5.1. A. Táblázat. HFE génstátus MDS, MM betegek és egészséges véradók, mint kontrollok esetében

	véradók	MDS	p *	MM	p *
	(n=171)	(n=61)		(n=49)	
C282Y allel hordozók	15 (8,8%)	6 (9,8%)	0,798	3 (6,1%)	0,769
H63D allel hordozók	39 (22,8%)	25 (40,9%)	0,008	7 (14,2%)	0,235
C282Y vagy H63D mutatio hordozók	51 (29,8%)	30 (49,2 %)	0,008	10 (20,4%)	0,211

*Fisher's Exact Test

3.4.5.1. B. Táblázat. MM és MDS betegek vas anyagsere paramétereinek összevetése a génstatus és a transzfúziós egységek számával

	Serum vas (umol/l)		Transferrin saturatio (%)		átlagosan beadott VTT egységek száma a kórlefolyás során
	VTT előtt	VTT után	VTT előtt	VTT után	
MM betegek					
HFE+/HFE- (n= 7+27)	13,4±7,2	17,3±11,1	26,6±12,4	55,4±19,3	13±11,2
MDS betegek					
HFE- (n=15)	19,8±8,5*	29,2±7,6	39,9±16,7	72,4±25,5	36,8±33,3**
HFE+ (n=15)	26,8±11,7*	32,25±11,9	50,9±27,7	67,4±20,4	11,6±12,2**

VTT: vér transzfúziós terápia. A jelölt értékek: átlag ± SD a serum vas felső normal értéke: 26,9 umol/l és transferrin saturatoria: 45%. *p=0,03 és **p=0,02 meghatározása Student-T teszt segítségével.

3.4.5.1. C. Táblázat. HFE variáns (+) and HFE vad (-) MM betegek klinikai adatai

	Nő/FFI	IgG/IgA/ könnyű lánc	WBC x10 ⁹ /l átlag±SD
HFE+ (n=9)	7/2	6/2/1	3,4±0,9* (2,0-4,89)
HFE- (n=33)	19/14	22/9/2	5,7±1,7* (1,5-8,8)

* **P=0,001** (Student féle T-test). HFE+: heterozygota vagy compound heterozygota, HFE C282Y és/vagy H63D variáns hordozó; HFE-: vad típus HFE C282Y / H63D variánsra nézve.

61 MDS-ből 30 (49%) és 49 MM-ből csupán 10 (20%) bizonyult HFE variánsnak. 61 MDS betegből 30 HFE+ volt: 1 H63D homozygota, 24 H63D heterozygota, 6 C282Y heterozygota, 1 compound heterozygota. 49 MM betegből 10 HFE + volt: 6 H63D heterozygota, 1 H63D homozygota és 3 C282Y heterozygota. Ezzel összefüggésben a serum vas és transferrin saturációs értékek MM-ban a normál tartományban voltak, míg MDS-ben értékük rendre magas volt. A MDS csoportban a betegek 50%-a HFE + volt, a kontrollok 30%-ával szemben. A MM-ás csoportban a HFE mutációk száma nem csak a MDS-hez képest, de még a kontrollokénál is alacsonyabbnak bizonyult. Azt találtuk, hogy a betegek vasanyagcsereje

szignifikánsan korrelál HFE genetikai variáns statusukkal s ez a két betegcsoportban szignifikánsan eltért. Ez az észlelés megfelelt a MM betegeknél tapasztalható alacsony serum vas és transferrin saturációs értékeivel és a MDS esetekhez képest kisebb vasraktározódásra való hajlammal. A MDS csoportban szintén korreláltak a vas anyagcsere paraméterei és a HFE status a transzfúziót követő vastúlterhelődés mértékével. MDS-ben a vastúlterhelődéshez az esetek 50%-ában, tehát a HFE mutáció is hozzá járul. MM-ban vastúlterhelődéssel nem kell számolni: ennek egyik oka feltehetően a Hepcidin upreguláció, a másik: a HFE mutáció ritka volta a betegek körében. A MM betegek azon kisebb hányadánál, akik egyidejűleg HFE variánsok voltak, alacsonyabb WBC-t mértünk a diagnóziskor. A HFE variáns MM esetekben, a csontvelő infiltráció mértékével nem arányosan csökkent WBC felveti MM és MDS együttes jelenlétének lehetőségét. A **3.4.5.1. C. Táblázat** a HFE génstatus és a kezdeti WBC összefüggéseit mutatja MM-ban. Az alacsony kezdeti WBC köztudottan rossz prognosztikus faktor MM-ban. Korábbi dolgozatunkban nem találtunk összefüggést a csontvelő infiltrációjának mértéke és a kezdeti WBC között ([19].**Várkonyi J, Bajzik E, Fazakas Á., Sipka S, Karádi I. Short or long survival in multiple myeloma. A simple method for determining prognosis. Pahology Oncology Research. 15: 383-387,2009).**

Mindezek alapján feltételezhető, hogy azon HFE variáns MM betegek esetében, akiknek a diagnóziskor alacsony a WBC, nem felismert myelodysplasia állhat a háttérben, s ezért ezek a betegek terápiás szempontból külön megítélés alá kellene, hogy tartozzanak.

3.4.5.2. HFE ALLÉLFREKVENCIA MYELOPROLIFERATÍV BETEGSÉGEKBEN

[20] Andrikovics H, Meggyesi N, Szilvási A, Tamáska J, Halm G, Lueff S, Nahajevszky S, Egyed M, Varkonyi J, Mikala G, Sipos A, Kalász L, Masszi T, Tordai A. HFE C282Y Mutation as a genetic modifier influencing disease susceptibility for JAK2 V617F Positive chronic myeloproliferative disease. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 18/3/:929-34,2009. közlemény alapján.

Amikor munkacsoportunk azt tanulmányozta, milyen arányban fordul elő a HFE gén polymorphismusa a myeloproliferatív megbetegedésekben, az alábbi eredményeket kaptuk:

3.4.5.2. Táblázat. HFE allélfrekvencia myeloproliferatív betegségekből

POLYMORPHISMUS		C282Y	H63D
	esetszám	allélfrekvencia ± 95% CI	allélfrekvencia ± 95% CI
VÉRADÓ	171	4,7±2,3	12,0±3,5
JAK2 POZITÍV MPN	249	1,6±1,1	13,5±3,1
PVR	175	1,7±1,4	12,0±3,5

Látható, hogy a C282Y polymorphismusra nézve még a normal kontrollnál is alacsonyabb allélfrekvenciát találtunk. A H63D tekintetében, mely a vastűlterhelődésre való hatás vonatkozásában alatta marad az előbbinek, magasabb allélfrekvenciát tapasztalunk. Ennek a jelentősége egyelőre nem tisztázott.

3.4.5.3. HFE GÉN MUTÁCIÓ, MINT POTENCIÁLIS MDS MARKER

[21]. **Várkonyi J, Andrikovics H, Tordai A. Hemochromatosis gene mutation- Could it be a disease marker for myelodysplasia? Leukemia Research. 33/1/: 201-202, 2009. közlemény alapján.**

Mivel MDS-ben a HFE génmutáció előfordulása kiemelkedően a leggyakoribb a többi vizsgált hematológiai megbetegedéshez képest, publikációmban felvettem azt a gondolatot, mely szerint nem lehetne-e a HFE génmutáció a betegség egy markere, különösen azokban az esetekben, amelyekben éppen nincs kimutatható karyotípus eltérés. Az elképzelést még az is erősítette, hogy az ismert karyotípus eltérések sem fordulnak elő 50%-nál nagyobb arányban a betegek között.

3.4.5.3. Tablázat. A karyotípus meghatározáson felül a HFE gén mutáció analízis MDS-ben hozzájárulhat az egyes esetek eredményesebb besorolásához ebben a heterogén beteg csoportban.

Karyotípus	HFE mutált	HFE vad típus
Aberrans (n=22)	9 (41%)	13 (59%)
Normal (n=27)	14 (52%)	13 (48%)

Aberrans: -5/5p-; -7/7q-; +8-; del20q; Normal: nincs jelen kóros karyotípus; HFE mutált: C282Y és/vagy H63D variáns jelenléte.

A kérdés ma, új molekuláris genetikai ismeretek birtokában, mint amilyen az új generációs sequenálás, úgy módosulhat, hogy mint a multifaktoriális betegségeknél általában, a HFE génmutáció egyéb hajlamosító tényezőkkel együtt hozzájárulhat a betegség kialakulásához, de feltétlenül hozzájárul a betegségben amúgy is tapasztalható vastülterhelődéshez. Mindezt a felvetés továbbra is érvényesnek tartható. Ebben a közleményben volt alkalmam megválaszolni azt az egyik citálóm (32. Speletas, M) által megfogalmazott felvetést, miszerint a MDS beteg csoportban általunk észlelt 50%-os előfordulási arány nem reprodukálható Görögországban. Ebben arról írok, hogy a hemokromatózis földrajzilag csökkenő előfordulást mutat az Északról Dél felé haladva és nem véletlen ezért, hogy Északról (33. Nearmann ZP, Kanadal) és Nyugat-Európából (34. Dine G, Franciaország) származó publikációk osztják az általam észlelteket, míg a déli államokban a vastülterhelődés leggyakoribb oka inkább a

thalassaemia. Ázsiában az I-es típusú hemokromatózis gyakorlatilag nem fordul elő, úgyhogy a MDS pathomechanizmusában abban a régióban ez a tényező elhanyagolható jelentőségű.

3.5. PROGNOZTIKUS TÉNYEZŐK MYELODYSPLASIA KÖRLEFOLYÁSA SORÁN

3.5.1. PROGNOZTIKUS FAKTOROK MDS-BŐL TRANSZFORMÁLÓDOTT SECUNDER ACUT MYELOID LEUKEMIA (sAML) ESETÉBEN.

[22]. Okuyama N, Sperr WR, Kadar K, Bakker S, Szombath G, Handa H, Tamura H, Kondo A, Valent P, Várkonyi J, van de Loosdrecht A, Ogata K. Prognosis of acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndromes: A multicenter retrospective study. Leukemia Research. 37: 862– 867, 2013. közlemény alapján.

Ebben a retrospektív jellegű nemzetközi tanulmányban arra kerestük a választ, vajon milyen tényezők befolyásolják a szekunder acut myeloid leukemia (sAML) kimenetelét. Az irodalom ugyanis bőségesen ontja az un de novo leukemiák prognózisára vonatkozó adatokat, de a sAML esetén nem ez a helyzet. Általánosan elfogadott az a megállapítás ugyanis, hogy a sAML a de novonál mindenképpen rosszabb prognózisú, de ennek az elemzése ezidáig elmaradt. Ebben a tanulmányban tehát 189 japán, holland, osztrák és magyar sAML betegek adatainak elemzése történt meg az életkor, az alkalmazott kezelés, a komorbiditás figyelembevételével a túlélési eredmények tükrében. A WHO/FAB klasszifikáció szerint történt a besorolás, és az IPSS/WPSS szerint a várható kimenetel meghatározása. A FFI/Nő arány 112/77, az átlag életkor a diagnóziskor 68 év volt. Az AML kialakulásig eltelt idő átlagosan 274 nap volt (16–4583). A kezelési kategóriák definíciója: (1) best supportive care (BSC: legjobb támogató gondozás) a hydroxyureát is beleértve, mely a leukocytosis szabályozására került alkalmazásra; (2) disease-modifying therapies (DMT: betegséget befolyásoló szerek) beleértve a konvencionális – és alacsony adagú kemoterápiát, az allogén őssejt transplantációt (allo-SCT) és más kezelési módokat.

3.5.1. Táblázat. A sAML kialakulásáig eltelt időt befolyásoló tényezők

	p érték
életkor (év): <60 vs. ≥60	0,3741
nem	0,7543
de novoMDS vs. sMDS	0,1601
cytogenetikai kategória	0,0012
IPSS	0,0013
WPSS	0,0008
kezelési mód az MDS stadiumban	0,7298

Amint látjuk és amint várható volt, a cytogenetika, az IPSS és WPSS kategóriáké a vezető szerep a leukémiás transzformációig eltelt időtartam, s egyben gyakorlatilag a túlélés meghatározásában. A továbbiakban nem belemerve a tanulmány adatainak részletes statisztikai elemzésébe, inkább összefoglalnám annak megállapításait: 1/ az átlagos túlélés az AML felismeréstől átlag 142 (2–3983) nap volt. 2/ a cytogenetikai adatok, az IPSS és a WPSS, melyek a leukémiás transzformációig eltelt idő tekintetében meghatározók, nem azok az AML transzformációt követő túlélési idővel terápiától függetlenül, legyen az BSC vagy DMT. 3/ a BSC-ben részesültek esetében a túlélés a vérlemezke számmal egyenes ($p < 0,014$) és a blastok arányával fordított ($p = 0,0083$) összefüggésben volt: a vérlemezke szám független prognosztikus tényezőnek bizonyult a túlélés meghatározásában. 4/ a betegségmódosító kezelésben részesültek csoportjában az életkor és a terápia jellege nyomott a latba 0,0001 és 0,0002-es p értékkel, ugyanakkor az allo-SCT-ben részesültek esetén kimagaslóan jobbak voltak az eredmények. 5/ A 60 évnél idősebbek körében a terápia jellege nem, hanem inkább a performance status és az MDS komorbiditási index bizonyult független prognosztikus tényezőnek ($p = 0,0069$; $0,0422$). Ezzel ellentétben a 60 évnél fiatalabbak esetében pedig éppen a kezelés típusa bizonyult prediktív jelentőségűnek ($p < 0,0001$): az allo-SCT –ben részesültek túlélése volt a leghosszabb: 1136 vs. 153 nap. A tanulmányból levonható következtetések: A 60 évnél fiatalabb MDS/AML beteg esetében első lépésben az allo-SCT lehetőségét kell mérlegelni. Az idősebbek esetében, amennyiben az allo-SCT nem jön szóba, a konvencionális kemoterápia nem jelent előnyt a cytopenia okozta komplikációk miatt. Pont ezek az esetek azok, melyek profitálhatnak a hypomethyláló szerek alkalmazásától.

3.5.2. A CHELAT KEZELÉS PROGNOSZTIKUS JELENTŐSÉGE MDS-BEN

Az alábbi, 2001-ben a Blood-ban megjelent abstract szöveget azért gondoltam a disszertációba beépíteni, mert ezt megelőzően az irodalomban, tudomásom szerint nem volt hasonló jellegű észlelésről közlés.

[23].Várkonyi J, Tarkovác G, Benedek Sz, Demeter J, Varga F, Fekete S, Andrikovics H, Tordai A. HFE gene mutations and the effect of deferoxamine therapy in myelodysplastic syndrome. Blood 98/11/:277B. Abstr. 4844, 2001. alapján.

44 MDS betegnél történt HFE gén vizsgálat a C282Y és H63D pont mutációra nézve. Köztük 5 C282Y, 15 H63D heterozygota és egy H63D homozygota paciens volt. A magyar lakosság allélfrekvenciájával való összevetés során, mely szerint a C282Y tekintetében ez: $3,7 \pm 3,0\%$, a H63D tekintetében pedig $14,4 \pm 5,5\%$, jelentősen magasabb allél frekvenciát találtunk a vizsgált MDS populációban. 20 betegnek voltak elérhetők a klinikai adatai az elemzés számára (12 RA, 7 RARS, 1 RAEB), ebből 9 alap vas értéke a normal szint felett volt és 12 magasabb transferrin saturations értékkel rendelkezett. 2-16 egység transzfúzióját követően a betegek 60%-a bírt magasabb vas és 100% magasabb transferrin saturations értékkel. Azok a betegek, akik deferoxamine (DFO) kezelésben részesültek, átlagosan 8 hónap transzfúziómentes periodust értek el ezt követően, szemben azokkal, akik nem kaptak DFO-t. Ez utóbbi csoportnál a transzfúziómentes időszak maximum 5 hónapig tartott. Ezt a 2001-es abstractot azzal zártuk, hogy 1/a betegségre jellemző vastúlterhelődést a véradáson túl a gyakrabban előforduló HFE géneltérés is súlyosbítja, 2/ a vastérhelődésre a transferrin saturatio jobban utal, mint a vas érték és 3/hogy minden alacsony rizikójú, tehát hosszabb túlélésre prognosztizálható MDS beteg, aki rendszeresen kap transzfúziót, részesüljön chelát kezelésben. Egy másik, 2009-ben megjelent kongresszusi abstractban egy tanulmányunk adataink elemzése során, mint azt az alábbi táblázat mutatja, összefüggést találtunk az ineffektív, de fokozott erythropoiesis és a vastérhelődés, s ez által a chelát kezelés szükségessége között.

[24]. Várkonyi J, Farkas P, Kollai G, Szombath G, Tordai A, Andrikovics H, Sipos A, Szepesi A. Indications for iron chelation therapy- the Budapest Study Group protocol proposal. 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS). Patras, Greece, May 6-9, 2009. Leukemia Research. 33 /S1/: P100, S117-118, 2009. alapján.

3.5.2. Táblázat. Javaslat vas-chelat kezelés megkezdésére vonatkozóan myelodysplasiában

	EPO	HFE C282Y/H63D	JAK2 V617F	Ring sideroblasts
A: kezdettől fenáll az IO rizikó	alacsony/normal	mutáns	wt	Jelen van
B: nincs kezdettől IO rizikó	magas	wt	mutáns	Nincs jelen

Rövidítés: IO: vastúlterhelődés, ICT: vas chelát kezelés, EPO: erythropoietin, HFE: hemochromatosis gén, wt: vad típus, JAK2: Janus kináz 2 gén

Hozzánk hasonlóan több szerző, mint Nearman ZP (33) és Rose C (35) is arról számolt be, hogy a RARS subtípus eleve fokozott rizikót jelent a vasterhelődésre, míg ez kevésbé mondható el pl. az 5q- szindrómára; vagy méginkább a magas EPO-val járó hypoplasticus MDS-re. Ez utóbbi esetekben a vasterhelődés kizárólagosan a sorozatos transzfúziók adásából ered. A HFE gén mutáció és a MDS-ban tapasztalható vasterhelődést a megelőző fejezetekben tárgyaltam. A fenti tapasztalatokból leszűrhető ajánlás, tehát a következő képpen fogalmazódott meg ebben az abstractban: A- esetben a diagnózis felállításától indokolt vaschelat kezelés (ICT). B -esetben ICT akkor indokolt, ha a serum ferritin egyezményes meghatározás alapján a kritikus szint fölé kerül. 2009-ben, amikor ezt publikáltuk, MDS-re vonatkozó chelációs algoritmus vagy javaslat nem volt. Jóval később, amikor az oralis szer, a deferazirox megjelent, alakult ki az álláspont, mely szerint az 2000 ug/l-es ferritin felett adható. A magam részéről azt remélem, ez az előírás változik, s a limit meghatározásánál a fent vázolt szempontok is figyelmet kapnak. 2009 óta közismertté vált, hogy a vasterhelés csökkentése önmagában túlélési előnyt jelentő terápia. Ennek a klinikai észrevételnek molekuláris magyarázatát a későbbiekben találtam meg Messa E. és mtsai közleményében (36), mely szerint a vassal chelátot képzők alkalmazásának kedvező hatása MDS-ben részben a felesleges vastól való mentesítés, s ez által az oxidatív ártalom eliminálásán felül a NFkappa B hatásos gátlásán keresztül is megvalósul. Az NF kappa B proapoptotikus hatását küszöböli ki ugyanis MDS-ben, ezáltal csökken az anémia mértéke. A chelátkezelés túlélésben okozott jótékony hatását azóta többen megerősítették (37, 35, 38). Ebben a fejezetben nem megkerülhető Elizabeth Nemeth dolgozata, melyben az MDS-ben fennálló ineffectiv haemopoiesissel összefüggésben tárgyalja a hepcidin és EPO szint változását (3). Ez az összefüggés nem olyan egyértelmű MDS-ben, mint vashiányban, ahol a magas EPO szint

alacsony hepcidin szinttel jár. Hemokromatózisban, mint azt tudjuk, alacsony, gyulladásban pedig magas hepcidin szint észlelhető, ugyancsak ezért MM-ban is, ahol szinte soha nem látunk vasterhelődést. MDS-ben, ebben a heterogén betegségben az EPO és a hepcidin szint a különböző hatások eredőjeként alakul.

4. MYELOMA MULTIPLEX TERÉN VÉGZETT KUTATÓMUNKA

A Myeloma Multiplex (MM) a plasmasejtek malignus transzformációja következtében kialakuló, ezidáig meg nem gyógyítható megbetegedés. A második leggyakoribb rosszindulatú hematológiai betegség a non-Hodgkin lymphomák után 0,4 - 5/100 000 új esettel évente (39). A hematológiai malignus kórképek közel 10%-át, az összes daganatos megbetegedés 1 %-át jelentik. Jellemzően az idősebb korosztályt érinti, előfordulása az életkor előrehaladtával nő. A diagnózis felállításakor az átlag életkor 70 év, a betegek 2/3-a a diagnóziskor 65 éven felüli (40, 41, 42). A Nemzeti Rákregiszter adatai alapján hazánkban évente 560-570 új esetet regisztrálnak (<http://onkol.hu/nemzeti-rakregiszter>).

4.1. A MYELOMA PATHOGENESISÉBEN SZEREPET JÁTSZÓ GÉNPOLYMORPHISMUSOK KUTATÁSA

4.1.1. GLUTATHION S-TRANSFERÁZ (GST) ENZIMEKRE VONATKOZÓ GÉNPOLYMORPHISMUS VIZSGÁLATOK

[25].Várkonyi J, Jánoskúti L, Szakály D, Újvári B, Pánczél P, Hosszúfalusi N, Farkas P, Mikala G, Tordai G, Schoket B, Karádi I: Glutathione S-Transferase Gene Polymorphisms in Multiple Myeloma. In: Glutathione: Biochemistry, Mechanisms of Action and Biotechnological Implications. Nikolaos Labrou and Emmanouil Flemetakis (Eds). ISBN 978-1-62417-460-5. Chapter 12. p.223-229. 2013. Nova Publishers könyvfejezet alapján.

A metabolizáló enzimeket kódoló génekre vonatkozóan ismert polymorphismusok léteznek. Ezek a környezeti ártalmak, karcinogenek, kemoterapeutikumok eliminációjára, lebontására vonatkozóan a populáció egyedei között fennálló variabilitásért tehetők felelőssé. Ugyancsak ez a változatosság járulhat ahhoz, hogy a populáció egyedei különböző mértékben hajlamosak daganatos betegségek kialakulására.

Tanulmányunkban GSTM1, GSTT1 és a GSTP1 ILe105Val gének polymorphismusát vizsgáltuk 100 myelomás beteg és malignus- vagy immunológiai betegségben nem szenvedő kórházi kontroll esetében. Nem találtunk szignifikáns különbséget a betegek és a kontrollok között (4.1.1. A. Táblázat), ugyanakkor a GSTT1/GSTM1 null variánsok túlélése szignifikánsan rövidebbnek bizonyult (4.1.1. B. Táblázat).

4.1.1. A. Táblázat. GSTM1, GSTT1 és GSTP1 Ile105Val genotípus eloszlása A vizsgált myelomás (n=100) és a kontroll populációban (n=99)

	MM esetek (n=100)		kontroll csoport (n=99)	
	esetszám	%	esetszám	%
GSTM1 Pozitív	48	48,0	51	51,5
GSTM1 Null	52	52,0	48	48,5
GSTT1 Pozitív	73	73,0	74	74,7
GSTT1 Null	27	27,0	25	25,3
GSTP1 Ile/Ile	50	50,0	49	49,5
GSTP1 Ile/Val	44	44,0	42	42,4
GSTP1 Val/Val	6	6,0	8	8,1

A beteg- és a kontroll csoport genotípus frekvencia tekintetében nem tért el egymástól statisztikailag szignifikáns módon $p > 0,1$

4.1.1. B. Táblázat. GSTP1 és a GSTM1/GSTT1 genotípusok kombinációja a túlélés viszonylatában

	GSTP1 Ile/Val (n=17)	GSTM1 /GSTT1/ GSTP1 Ile/Ile (n=7)	GSTT1/GSTM1 1/1 (n=15)	GSTT1/GSTM1 0/1 vagy 1/0 (n=20)	GSTT1/GSTM1 0/0 (n=3)
átlagos túlélés (hó)	37 (1-202)	76 (27-168)	37 (1-168)	44 (1-202)	25 (2-87)

1/1 : enzimtermelő 0/0: null genotípus-enzim nem termelő 1/0: valamelyik enzimet termeli

Metabolizáló enzimekre vonatkozó génpolymorphismus vizsgálatainkkal arra a következtetésre jutottunk, hogy nem valószínűsíthető szerepük a myeloma pathogenezisében, mivel nem volt a polymorphismus frekvenciák tekintetében különbség a kontroll és a betegcsoport között. Ugyanakkor azt is elmondhatjuk, hogy a GSTT1/GSTM1 null genotípus, azaz ezeket az enzimeket nem termelő myelomások túlélése a legkedvezőtlenebb.

A GSTT1/GSTM1 enzimeket termelők, akik a GSTP1 Ile genotípust homozygota formában hordozzák, a legjobb túléléssel számolhatnak. Bár az esetszám nagyon kicsi, mégis ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a polymorphismusok által determinált metabolizmus különbözőség a terápiára adott előnyösebb vagy éppen kedvezőtelenebb válaszból nyilvánulhat meg.

4.1.2. MYELOMA KIALAKULÁSÁRA HAJLAMOSÍTÓ CYTOKINEKRE VONATKOZÓ, ŐSI HAPLOTÍPUSON BELÜLI GÉNEK POLYMORPHISMUSÁNAK VIZSGÁLATA

[26]. Kádár K, Kovács M, Karádi I, Melegh B, Pocsai Zs, Mikala G, Tordai A, Szilágyi Á, Ádány R, Füst G, Várkonyi J. Polymorphisms of TNF-alpha and LT-alpha genes in multiple myeloma. Leukemia Research. 32: 1499-1504, 2008. közlemény alapján.

Az IL-6 a myelomás sejtek növekedését elősegítő egyik legfontosabb cytokin. Elsősorban a csontvelői strómasejtek és a makrofágok termelik, de a cytokin produkció autocrin módon is folyik. Az IL-6 a receptorán keresztül (CD126) aktiválva a JAK/STAT3 és PI3K/AKT jelutakat a myeloma sejtek proliferációját és túlélését eredményezi, ugyanakkor gátolja a Fas-indukálta apoptózist (43). A TNF- α -t, mely szintén fokozza az IL-6 termelést, elsősorban a csontvelői strómasejtek és a tumoros csontvelői mikrokörnyezeten belül a makrofágok (tumor-asszociált makrofágok) termelik nagy mennyiségben, de maguk a myelomasejtek is expresszálják. Elősegíti a myelomás sejtek túlélését, proliferációját és migrációját (44). A TNF- α a csontreszorpció mediátora, az osteoclastok differenciálódását fokozza, a kifejezett osteolyticus elváltozásokkal járó MM betegek esetében emelkedett szérumszinteket mértek (45). Az egyetlen őstől származó, az emberi evolúció korai időszakában kialakult és azóta csupán minimális módosulásokon átesett hosszú DNS szekvenciákat ősi haplotípusnak nevezik (46). A TNF- α fehérjét kódoló TNF gén a 6-os kromoszóma rövid karján, a 6p21.33 régióban, a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) III régióban helyezkedik el. A TNF- α és LT- α (LTA) gének egymás mellett helyezkednek el és variáns alléljaik jellemzően kapcsoltan öröklődnek közös haplotípust alkotva. A LT- α a TNF- α -hoz hasonlóan proinflammatorikus cytokin, és a TNF -hez hasonlóan IL-6 termelést indukál. A TNF gén transzkripciójának szabályozása alapvető a termelődő TNF fehérje mennyisége átíródása szempontjából. A promotor régió -308-as pozíciójának biallélikus G/A polymorphismusa az asszociációs

vizsgálatok által egyik legtöbbet vizsgált SNP (15). A báziscsere következtében konformáció változás, s ez által a különböző nukleáris faktorok kötődése, affinitása módosul (47,48). A -308A allélról igazolódott, hogy fokozott TNF- α termeléssel jár együtt (49). A promoter régió másik gyakran vizsgált polymorphismusa a -238-as pozícióban megfigyelt G/A polymorphismus. A -238G allél emelkedett TNF cytokin termeléssel jár (50). A TNF- α és a LT- α azonos cytokin családba tartoznak, szerkezetbeli és funkcionális homológia van köztük, mindketten azonos receptorokon keresztül fejtik ki hatásukat. A LT- α gént kódoló régiójában elhelyezkedő +252G allél hordozása emelkedett cytokin termeléssel jár (51, 52). A TNF -308 és LTA 252 SNP-ket, illetve a TNF -308A és LTA 252G ritka allélokat tartalmazó úgynevezett fokozott cytokin termeléssel járó haplotípusokat több tanulmány vizsgálta már, az eredmények azonban ellentmondóak voltak. Davies és mtsai a TNF -308A (TNF2)-LTA 252G ritka allélokat tartalmazó haplotípus gyakoribb előfordulását írta le MM betegek esetében az egészséges kontroll csoporthoz képest (53), más szerzők nem tudták megerősíteni ezt az összefüggést (27). Ugyanakkor Morgan és mtsai a MM csökkent rizikóját találták a TNF -308A (TNF2) ritka allél hordozása esetén (54).

Munkánk során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy az emelkedett TNF- α szinttel járó polymorphismusok önmagukban külön-külön, vagy inkább haplotípusban játszhatnak-e szerepet a MM pathogenesisében. A TNF- α fehérjét kódoló TNF -308G>A (rs180629) és LTA +252A>G, (rs909253) polymorphismusok meghatározása történt MM betegek és egészséges kontroll személyek esetében. PCR-RFLP metodikát alkalmaztunk Day és Seidemann szerint. (55, 56). A vizsgálatban 1997 és 2005 között klinikánkon kezelt 94 myelomás beteg szerepelt. A stádium meghatározás a Durie és Salmon (DS) besorolás alapján történt. Betegadatok: 94 MM, Nő/FFI: 28/66, átlag életkor: 68 év (59-73), nehéz lánc szerint γ / α / μ : 66 (70%) / 27 (29%) / 1 (1%), könnyű lánc szerint: κ / λ : 69 (73%) / 25 (27%), DS I / II / III szerint: 18 (19%) / 42 (45%) / 34 (36%). A 141 kontroll csoport nem és korcsoport szerint megfeleltetett személyből állt, Nő/FFI: 81 / 60, átlagéletkor: 68,9 év (62,9-74). A TNF -308A, HSP70-2 1267G, RAGE -429C, és LTA 252G allélok szimultán hordozása esetén feltételeztük az AH8.1 hordozó állapotot.

4.1.2.1. Táblázat. A TNF -308A allél, LTA 252G allél, a TNF -308-LTA 252G haplotípus és 8.1 ősi haplotípus előfordulási gyakorisága MM betegek és kontroll személyek esetében

Genotípus	Variáns allél gyakorisága		p érték
	Betegek (n=94)	Kontroll (n=141)	
TNF-308 G>A	9 (9,6%)	30 (21,3%)	0,027
LTA +252 A>G	43 (45,9%)	72 (51,1%)	0,642
TNF-308A-LTA 252G haplotípus	9 (9,6%)	29 (20,6%)	0,041
8.1 ősi haplotípus	5 (9,45%)	11 (7,7%)	0,792
HSP 70-2 1267 A>G	60(63,5%)	76(53,8%)	0,242
RAGE-429 T>C	25 (26,1%)	43(30,8%)	0,690

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 TNF2-LTA 252G haplotípust hordozók és nem hordozók előfordulási gyakoriságát összehasonlítva az MM betegek (9,6%) és a kontrollok (20,6%) között szignifikánsan alacsonyabb volt az előfordulás az MM betegek esetében ($p=0,041$). Ezzel szemben az ősi 8.1 haplotípus hordozók előfordulási gyakorisága közel azonos volt a két csoportban. A klinikai paraméterek vonatkozásában sem a betegség stádiuma, sem a paraprotein típusa, valamint a túlélési idő sem mutatott összefüggést bármely vizsgált allél vagy haplotípus előfordulási gyakoriságával.

Statisztikai analízis: Fisher-féle egzakt teszt, vagy Pearson Chi-négyzet teszt alkalmazása történt a vizsgált csoportok összehasonlítása során. A $p < 0,05$ -nél kisebb értéket tekintettünk szignifikánsnak. Minden egyes polymorphismus esetén Pearson Chi-négyzet próbával teszteltük a Hardy-Weinberg eloszlás meglétét. A betegek és a kontroll csoport életkorának összehasonlítására Mann–Whitney-tesztet használtunk. A statisztikai analízist a GraphPad Prism 3.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, www.graphpad.com) és SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago IL) programok segítségével végeztük. A páronkénti kapcsolttságot és a kapcsolttság erejét (D' érték) az Arlequin (<http://anthro.unige.ch/arlequin>) program

segítségével számítottuk ki. Ugyanezt a programcsomagot használtuk a haplotípus meghatározására is.

Saját eredményeik alapján a TNF -308A (TNF2) ritka allélhordozás szignifikánsan ($p=0,027$) alacsonyabb frekvenciával fordult elő a MM betegek csoportjában a hasonló életkorban lévő magyar egészséges populációhoz képest. Az esélyhányados alapján az MM előfordulásának rizkója a ritka allél hordozása esetén közel kétszer alacsonyabb volt, mint a gyakori allélt (TNF -308G) hordozók esetében. Hasonló összefüggést mutattunk ki a TNF2-LTA 252G haplotípus esetén is ($p=0,041$). A variáns allél hordozása inkább védő hatásúnak bizonyult MM esetében. A TNF -308A allélra vonatkozó eredményünk teljesen összhangban volt Morgan és mtsai eredményével.

4.1.3. MYELOMA MULTIPLEXBEN AZ IL-6 PROMOTER ÉS AZ IL-6R GÉNPOLYMORPHISMUS VIZSGÁLATA MYELODYSPLASIÁS SYNDROMÁVAL VALÓ ÖSSZEHASONLÍTÁSBAN (Lásd: 3.2.2-es fejezet)

4.1.4. MYELOMA MULTIPLEXBEN A HEMOKROMATÓZIS GÉN VARIÁNSOK VIZSGÁLATA MYELODYSPLASIÁS SYNDROMÁVAL VALÓ ÖSSZEHASONLÍTÁSBAN (Lásd: 3.2.3-as fejezet)

4.1.5. A MYELOMA MULTIPLEX PATHOGENESISÉBEN SZEREPET JÁTSZÓ GENOMELTÉRÉSEK (GWAS)

[27]. 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, Várkonyi J, Orciuolo E, Dumontet C, Gemignani F, Rossi AM, Landi S, Petrini M, Houlston RS, Hemminki K, Canzian F. Impact of polymorphic variation at 7p15.3, 3p22.1 and 2p23.3 loci on risk of multiple myeloma. *Brit J. Haematol.* 158: 798-814, 2012. közlemény alapján

A molekuláris biológiai technika fejlődésével a SNP-k kimutatása automatizálhatóvá vált. Egyetlen chippel több százezer SNP-t lehet kimutatni. A teljes genom asszociációs vizsgálat (GWAS) a humán genom variációit vizsgálja. Fenotípusos jelleget hordozó (beteg) személyeket és kontroll populációt genotípezálnak az előbb említett chipek segítségével.

Megkeresik, hogy melyik marker különbözik a két populáció között. Ha a különbség statisztikailag szignifikáns, akkor kapcsolódás állapítható meg a kérdéses marker és a vizsgált jelleg (betegség) között. Az elmúlt évek során a GWAS vizsgálatok óriási lehetőséget nyújtottak a multifaktoriális betegségek genetikai hátterének tisztázásában és lehetővé tették azoknak a feltételezett genetikai variációknak a vizsgálatát, amelyeknek szerepe lehet az egyes daganatokra való hajlam kialakulásában.

2011-ben, az első teljes genom asszociációs vizsgálat myelomában három SNP-t azonosított, amely az eredmények alapján szignifikáns összefüggést mutatott a betegség kialakulásával (57). Ezek új genetikai régiók voltak, amelyek eddig még nem szerepeltek a myeloma pathomechanizmusával összefüggésben. Felmerült, hogy az eredmények megismétlése és megerősítése más, független populációkban nagymértékben hozzájárulhat a kapott asszociáció megbízhatóságához, valódiságához. Ezt vállalta fel a 2011-ben megalakult nemzetközi együttműködés, a Nemzetközi Myeloma Multiplex Konzorcium: International Multiple Myeloma Research [IMMEnSE], melynek tagjaként, 139 magyar MM beteg és 104 kontroll személy anonim módon megadott adatainak és génmintájának kiküldésével járultunk hozzá.

4.1.5. Táblázat. MM betegek és kontroll személyek demográfiai jellemzői

	MM BETEGEK			KONTROLL SZEMÉLYEK			
Ország	Nem F/N (Össz)	Átlag életkor ($\pm$ SD)	Medián életkor (tartomány)	Nem F/N (Össz)	Átlag életkor ($\pm$ SD)	Medián életkor (tartomány)	Kontroll
HU	49/90 (139)	66,2 ($\pm$ 11,4)	68 (34-90)	50/54 (104)	73,4 ($\pm$ 10,1)	74,5 (51-95)	kórházban fekvő betegek
Összes	581/558 (1139)	60,9 ($\pm$ 10,6)	61 (27-93)	703/649 (1352)	62,0 ($\pm$ 13,3)	63 (18-98)	

A vizsgálat, amelyben részt vettünk, egy 1000 főnél nagyobb számú beteganyagon kívánta megerősíteni az MM-re vonatkozó első teljes genom asszociációs vizsgálat eredményét, amely 3 polymorphismus vizsgálatát célozta meg az MM kialakulására hajlamosító genetikai variációként.

4.1.5.1. A 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) ÉS 2p23.3 (rs6746082) SNP AZONOSÍTÁSA MYELOMÁS BETEGEK ESETÉBEN

1139 MM beteg és 1352 kontroll személy vérmintája került genotípezálásra, amely mintákat a résztvevő centrumok biztosították. 1990 és 2010 között diagnosztizált MM betegek kerültek bevonásra, a diagnózis a 2003-as IMWG (International Myeloma Working Group) 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.

DNS mintavétel és genotípus meghatározás. A perifériás vérből nyert DNS minták az SE TUKEB 263-1/2015 etikai engedély alapján kerültek kiszállításra, majd Heidelbergben, a Német Rákkutató Központban (DKFZ) kerültek tárolásra és később genotípezálásra. A genotípezálás 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 genotípezálása a kereskedelembe elérhető array-el (Illumina, San Diego CA, USA) történt.

Statisztikai analízis. A kontroll mintáknál minden esetben vizsgáltuk a Hardy-Weinberg egyensúlytól való eltérés meglétét, vagy hiányát. Cochran–Mantel–Haenszel (M-H) tesztet és Breslow-Day (B-D) tesztet alkalmaztunk az egyes szubpopulációkon belüli heterogenitás meghatározására minden SNP esetében. Meta-analízist végeztünk minden SNP esetében, két másik GWAS vizsgálat és a jelen vizsgálat eredményeit közös esélyhányadosra összevonva. A meta-analízisen belüli heterogenitás ellenőrzésére Cochran's Q és I^2 statisztikai számításokat végeztünk. Minden számításunkat illesztettük életkor, nem, és a régiónak megfelelő eredet szerint a STATA software (StataCorp, College Station, TX) felhasználásával.

Mind a három vizsgált SNP gyakrabban fordult elő az MM betegek csoportjában a kontroll személyekhez képest. A vizsgált betegek és kontroll személyek genotípus és allélfrekvencia előfordulási gyakoriságát mutatja a 4.1.5.1. Táblázat. A legerősebb asszociációt az rs4487645 SNP mutatta a 7p15.3 lókuszon, a myeloma előfordulása szempontjából közel 1,4-szeresen emelkedett kockázattal a C allélnak megfelelően (esélyhányados [OR] = 1,37, 95%-os

konfidencia intervallum [CI]: 1,21–1,56, $p = 7,96 \times 10^{-7}$. A második legerősebb kapcsolat az rs6746082 SNP, 2p23.3 lókuszon A allélja esetében látható (OR = 1,22, 95% CI: 1,05–1,41, $p = 0,008$). A szignifikancia mértékét el nem érő kapcsolat figyelhető meg az rs1052501 SNP –nek megfelelően a 3p22.1 lókuszon (OR = 1,12, 95% CI: 0,98–1,30, $p = 0,098$).

4.1.5.1. Táblázat. A myeloma rizikóval korábban beazonosított géneltérések, mint a 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) és 2p23.3 (rs6746082) lókuszon genotípusainak és allél frekvenciáinak előfordulása az IMMEnSE populációban.

SNP	MM betegek (%)	Kontrollok (%)	OR* 95%	C.I.*	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	1,73x10⁻⁵
A	557 (26,2)	876 (32,9)	1	-	-
C	1567 (73,8)	1788 (67,1)	1,37	1,21- 1,56	7,96x10⁻⁷
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

A táblázat a genotípus- és alléloszlást mutatja myelomas betegekben és a kontrollokban. A referencia allél Broderick és mtsai szerint lett kiválasztva (57). *OR= Odds Ratio, 95% C.I. = Konfidencia intervallum. A = adenin, G = guanin, C = citozin

A legerősebb kapcsolatot az rs4487645 mutatta a 7p15.3 lókuszon. Ez az SNP a DNAH11 génhez tartozik (dynein axoneural heavy chain 11), ami a dynein nehézlánc mikrotubulus dependens ATP-áz motor fehérjét meghatározó gén, amely kapcsoltsági kiegyensúlyozatlansági blokkban van a CDCA7L (cell division cycle associated 7-like) génnel, amely egy myc interakciós fehérjét kódol, és így elősegítheti a myc gén által okozott transzformációs folyamatokat. Myc dereguláció jellemzi a plasmasejtes daganatokat. Az újabb vizsgálatok szerint az MGUS-ból az MM-be történő progresszió során megjelenik a génexpressziós vizsgálatokon a myc jelút fokozott aktivációja (58). A myc jelút kiemelt szerepe alapján az utóbbi időben kifejlesztett szelektív myc inhibitorok ígéretes új terápiás lehetőségek lehetnek a myeloma kezelésében. A másik szignifikáns asszociációt mutató SNP az rs1052501 a 3p22.1 lókuszon, amely az ULK4 génhez tartozik. A gén egy szerin-treonin proteinkináz kódol, amely kulcsregulátora az mTOR mediált autofágiának. Az autofágiával kapcsolatos géneket összefüggésbe hozták a daganatok keletkezésével, progressziójával és a kemoterápiára adott válasszal. Az mTOR gátlók szintén új terápiás célpontok myelomában.

4.1.5.2. A TELOMERÁZ GÉNPOLYMORPHISMUS ÉS A TELOMER HOSSZÚSÁG PATHOGENETIKAI SZEREPE MYELOMA MULTIPLEXBEN

[28]. Campa D, Martino A, Varkonyi J, Lesueur F, Jamorziak K, Landi S, Jurczynski A, Margues H, Andersen V, Jurado M, Brenner H, Petrini M, Vogel U, Garcia-Sanz R, Buda G, Gemignani F, Rios R, Vangsted AJ, Dumontet C, Martinez-Lopez J, Moreno MJ, Stepien A, Watek M, Moreno V, Dieffenbach AK, Rossi AM, Butterbach K, Jaconóbsen SE, Goldsmidt H, Sainz J, Hillengass J, Orciuolo E, Dudzinski M, Weinhold N, Reis RM, Canzian F. Risk of multiple myeloma is associated with polymorphisms within telomerase genes and telomere length. *International Journal of Cancer* 136 (5) E351-E358, 2015. közlemény alapján

A telomeráz hosszúság fennmaradása biztosítja a daganatos sejt túlélését. Ebben a folyamatban van szerepe a telomeráz reverz transcriptáz (TERT) és a telomeráz RNS komponens (TERC) géneknek. Ezeknek a géneknek, de különösen a TERT locusban észlelhető változatosság igazoltan hajlamot jelenthet valamely tumoros betegségre (mell-, ovarium-, prostata-, tüdő-, pancreas-, hólyag, - és agyi glioma) vagy éppen ellenkezőleg, védelmet biztosít bizonyos daganatok kialakulása ellen. (59, 60, 61, 62, 63, 64).

A TERT és a TERC alkotják a telomeráz komplexet, melynek szabályos működése elengedhetetlen a telomer végek újonképződéséhez. Kis változás az aktivitásukban jelentősen befolyásolja homeostasisukat. A telomereknek kulcs szerepük van különböző sejtfolyamatokban, mint a chromosomák szétválása és az utódsejtbe kerülése során a sejtosztódáskor. Telomer dysfunkcióra számos példát látunk a daganatok keletkezése során (65, 66).

50063 myelomás betegminta analízise történt meg német, olasz, portugál, spanyol, francia, magyar, lengyel, dán együttműködés nyomán. Tőlünk 159 beteg és 105 kontroll minta került a Heidelbergi laboratóriumba. Az összes országból bekerült minta szerint: MM: FFI/NÓ: 52%/48%; kontroll: 49%/51%, MM: átlag életkor 61 év (54-68 év); kontroll: 55 (44-65 év). Módszer: azokat az SNP-ket vették figyelembe, melyeknek korábban daganatos betegséggel való kapcsolatuk igazolódott a TERT génre (59,60) és a TERC génre vonatkozóan (67,68) egyaránt. A selectio eredményeként a TERT génben 29 SNP, a TERC régióban 7 SNP vizsgálatára került sor. A perifériás vérmintából genomikus DNS szeparálása TaqMan Kapar technológia alkalmazásával történt a Heidelbergi laborban. A telomer hosszúság meghatározása RT-PCR, qPCR módszerekkel történt. SYBR zöld festék került alkalmazásra a fluorescencia detektálásra. Minden minta 3-as parallel mérése történt meg és a két legközelebbi eredmény átlagát vették figyelembe. Statisztikai analízis során az összes minta Hardy-Weinberg equilibriumban volt a kontrollal. Minden eredményt az életkorra, nemre és az eredetre vonatkoztattak.

4.1.5.2. A. Táblázat. Az IMMEnSE populáció demográfiai jellemzői

	Myeloma betegek	kontrollok	összesen
Németország	585	902	1487
Olaszország	258	237	495
Portugália	68	99	167
Spanyolország	319	427	746
Franciaország	127	191	318
Magyarország	159	105	264
Lengyelország	433	320	753
Dánia	318	515	833
összesen	2267	2796	5063
Nemek szerint			
FFI	52%	49%	
Nő	48%	51%	
Életkor szerint*	61 (54-68)	55 (44-65)	

*A betegek életkora a diagnózis idején, a kontrollok esetében a bevonás időpontjában

A telomer hosszúság vizsgálatánál a kiemelkedően leggyakoribb SNP rs10936599 esetében Chubb és mtsai (69) eredményeivel metaanalízisben 6112-es myeloma mintaszámot értünk el 12905 kontroll mintaszámmal. Metananalízist folytattunk le Hosnijeh és mtsai (70) eredményeivel a telomer hosszúság és myeloma riziko biztos felmérése érdekében. A statisztikai analízis a STATA software (StataCorp, College Station, TX) segítségével történt. Bioinformatikai analízist tett szükségessé a legkiemelkedőbb rizikót jelző rs2242652 SNP. Az összes SNP Hardy Weinberg equilibriumban volt a kontrollal. A parallel minták concordancia aránya 99%-nál magasabb volt. Az SNP-k és a myeloma rizikó meghatározásánál a szignifikancia határát 0,0028 –nál vontuk meg.

4.1.5.2. B. Táblázat. Myeloma rizikó a TERT és TERC gén régiók SNP-el való összevetésben

GÉN	SNP	Allél M/m	MM esetek/kontroll			Mm+mm vs MM OR 95% (CI)	p érték
			homo (MM)	hetero (Mm)	homo (mm)		
TERT	rs10069690	C/T	957/1137	574/810	100/143	0,86 (0,65-1,12)	0,03
	rs2242652	C/T	1432/1715	588/866	72/107	0,81 (0,72-0,929)	0,001
	rs2736100	G/T	559/714	958/1285	535/634	1,018 (0,88-1,16)	0,88
	rs2853677	A/G	614/821	919/1258	425/510	1,05 (0,92-1,20)	0,44
	rs4583925	G/A	1845/2398	237/284	9/10	1,09 (0,91-1,32)	0,34
	rs2853690	C/T	1562/1317	543/499	60/41	0,96 (0,83-1,11)	0,61
	rs2853691	T/C	1062/835	791/677	210/181	0,93 (0,81-1,07)	0,31
TERC	rs12696304	G/C	1199/1453	726/1052	156/192	0,83 (0,74-0,94)	0,003
	rs10936599	C/A	1311/1329	694/864	119/140	0,82 (0,72-0,93)	0,002

M= major allél; m=minor allél. Mm vs MM/mm= heterozygota vs homozygota hordozó

OR= Odds ráció (95%-os fiducia intervallum)

Vizsgálatainkkal csökkent myeloma rizikót hordozó rs2242652 TERT variáns ($p=0,001$) és rs12696304 TERC SNP variáns ($p=0,003$) jelenlétét tudtuk kimutatni. A TERT rs10069690 SNP szintén csökkent myeloma rizikóval volt összefüggésbe hozható, ám bár ez az allél linkage disequilibriumban lévén az rs2242652-vel, ugyanazt a locus asszociációt jelenti. Az rs10936599 és rs12696304 ($p<0,005$) konvencionális mértékben áll összefüggésben a rövid telomer hosszúsággal, ezáltal a csökkent myeloma rizikóval. Az adatok további elemzése során szignifikánsan inverz korreláció derült ki az életkor és a telomer hosszúság között.

Összefoglalva: TERT és TERC locusok elemzése során szignifikáns összefüggést igazoltunk a hosszú telomerek és a myeloma rizikó között. Megállapítottuk, hogy a TERC allél rs10936599 SNP rövid telomerrel és csökkent myeloma rizikóval, a rs2242652 allél szintén csökkent myeloma rizikóval társul. Ez utóbbi SNP variáns a DNase I hypersensitiv régióban, fokozott transkripció aktivitással bíró területen helyezkedik el, mely számos transkripció faktornak kitett régió. Kote-Jarai és mtsai (60) szerint ez az allél csökkent TERT expresszióval, ezáltal a transzkripció faktorok kötődésének gátlásával, Bojesen és mtsai (59) szerint a fokozott silencing és ez által truncált TERT hasított variáns generálásával járul hozzá a gén expresszió down reguláláshoz.

Mivel a kemoterápia és a mintavételben kis eltérés is hozzájárulhat a telomer hosszúság változásához, a heidelbergi kollegák a telomer hosszúság megállapításánál csak a helyben, kezeletlen betegektől vett minták alapján dolgoztak. Az így kapott eredmények komparabilisak voltak az irodalomban egyéb daganatok kapcsán közölt eredményekkel. Ugyancsak komparabilisak az eredmények abban, hogy a hosszú telomer fokozott myeloma rizikóval jár, mert markere az intenzíven osztódó sejteknek, amelyek ez által nagyobb kockázattal akquirálnak mutációkat és generálnak tumoros sejtvonalakat. A telomer hosszúság vizsgálatának különös jelentőséget ad az, hogy mivel a telomeráz reaktiváció, és a telomeráz mediálta telomer hosszabítás myeloma tulajdonság, ezért TERT gátló szerek klinikai alkalmazására intenzív kutató munka folyik.

4.1.6. FAMILIARIS MYELOMA

Korábbi, a PhD dolgozatomban is szereplő tanulmányomban 1981-1991 között 111 myelomás beteg adatainak retrospektív analízise történt meg myelomán kívüli másik daganat előfordulására vonatkozóan a betegek és elsőfokú rokonaik körében. Az akkori felmérés szerint 30 beteg 46 rokona 39 különböző daganatos betegségben szenvedett, míg 28 myelomás egyén 29 egyéb daganatos betegséggel is rendelkezett (71). Ezeket az adatokat akkor összevetve az 1985-ös év nemzeti daganat regiszterének 100.000 lakosra vonatkozó daganatos morbiditási adatával, az derült ki, hogy a myelomás beteg és családja mintegy 40-szeres daganat rizikóval rendelkezik. A fenti tanulmányt kiegészítettük egy prospektív, 14 myelomás beteg 16 első fokú egészséges rokonának p53 mutáció-analízisével PCR-SSCP módszerrel. A vizsgálat p53 génmutációt az adott populációban nem azonosított. Ez az eredmény egybehangzott Avet –Loiseau H 1999-es közleményének megállapításával, miszerint a p53 deletio nem gyakori jelenség myelomában (72).

A myeloma multiplex adja az összes daganatos halálozás mintegy 1%-át. A betegség családi halmozódása ritka, mégis ha előfordul, segíthet magára a betegségnek a kialakulására vonatkozóan adalékul szolgálni.

4.1.6.1. ÖRÖKLÖTT TULAJDONSÁGOK ÉS A KÖRNYEZETI ÁRTALMAK EGYÜTTES HATÁSA

Az alábbi tanulmányunkban két testvérpár esetében kerestünk a jelenségre magyarázatot.

[29]. Várkonyi J, Farkas P, Tamáska J, Masszi T, Gopcsa L, Padanyi A, Rajczy K. Familial Multiple Myeloma. Two more families. Centr. Eur. J. Med. 4/4/: 501-505. 2009.

Az anamnesis felvétele során a myelomás testvérpárok életük első 20 évében tudtak beszámolni chronicus környezeti ártalom expozíciójáról: passzív dohányzásról az egyik és aromás szénhidrogén- festékek expozíciójáról a másik esetben. A myeloma jellege tekintetében az első testvérpár megegyezett: mindketten IgG kappa típusú betegségben betegedtek meg, a másik testvérpár csak a könnyű lánc tekintetében (kappa) egyezett. Az öröklött genetikai háttér vizsgálata során derült ki, hogy az első pár egy HLA haplotípusban megegyezett, a második azonban csak néhány azonos HLA antigént hordozott (HLA-B51,

DR4, DRw53, DQ3). A négy beteg közül három GST metabolizáló enzim tekintetében volt „null” genotípusú, a GSTP1 enzim tekintetében páronként azonos genotípussal bírtak.

4.1.6. Táblázat. Metabolizáló enzim genotípus a két myeloma tetsvérpárban

testvérpárok	GSTT1	GSTM1	GSTP1
1/1	0	0	Ile/Val
1/2	1	1	Ile/Val
2/1	1	0	Ile/Ile
2/2	1	0	Ile/Ile

Összefoglalva a két eset példa lehet arra, hogy (közel) azonos genetikai háttér (öröklött hajlam) és az élet első 20 évében elszenvedett egyazon környezeti ártalom együttesen vezethet későbbi életkorban azonos malignus betegség kialakulásához.

10 évvel később, az IMMEnSE konzorciumi tagság adott arra lehetőséget, hogy ezt a jelenséget nagyszámú betegen vizsgáljuk.

4.1.6.2. A DIS GÉN ELTÉRÉSE FAMILIÁRIS MYELOMÁBAN

[30]. Pertesi M., ...Várkonyi J., ... Dumontet C. Exome sequencing identifies germline variants in DIS3 in familial multiple myeloma. Leukemia. 33 : 2324-2330, 2019. közlemény alapján.

Az irodalomban korábbi esettanulmányok jelezték a családi myeloma Mendeli öröklésmenetét (73), de ennek génszintű igazolása még nem történt meg, bár az irodalomban több tanulmány is ezt célozta. Eddig GWAS eljárással 23 locust igazoltak MM rizikó tekintetében, de csupán 16%-ról bizonyosodott be, hogy öröklődik (74). A myelomát többnyire polygénus megbetegedésnek feltételezték eddig (75).

Az IMMEnSE konzorcium a 13q22.1-re lokalizált DIS3 gén vizsgálatát célozta meg, melynek somatikus mutációja gyakorta kimutatható myelomában, és melynek loss-of-function verziója legalább 2 myelomás családban jelen volt. Végül az IMMEnSE kohort négy családjában meg

is találták 2,6% (4/154). A 13q14 deletio esetén a DIS3 vesztés következtében kialakult myeloma betegség alapján feltételezhető, hogy a gén tumor supressor funkciót lát el.

Összefoglalva: myelomára hajlamosító tényezők kutatása során kézenfekvőnek látszott familiáris myelomában szenvedő személyek génszintű vizsgálata. Számunkra a szervezetbe bekerült mérgeanyagok detoxifikálásban szerepet játszó un. metabolizáló enzimek polymorphismus-vizsgálatára és HLA-analízis elvégzésére volt lehetőségünk. Nem volt meglepő, hogy a familiáris myelomában érintettek a fenti vizsgálatok eredménye tekintetében hasonlóságot mutattak. Aztán 10 évvel későbbi, már az IMMEnSE konzorcium tagjaként végzett tanulmányunk a betegségekre való fokozott rizikó háttérében DIS3 vesztést tudtunk kimutatni, mely arra utal, hogy a gén hiányában, a tumor supressor hatás gyengülése vezethet a betegség kialakulásához.

4.2. PROGNOZTIKUS TÉNYEZŐK MYELOMA MULTIPLEXBEN

4.2.1. AZ AMWBC PONTRENDSZER

[31].Várkonyi J, Bajzik E, Fazakas Á, Sipka S, Karádi I. Short or Long Survival in Multiple Myeloma. A Simple Method for Determining the Prognosis. Pathol. Oncol. Res. 15:383–387, 2009. közlemény alapján.

1981-1996 között a Semmelweis Egyetem III.sz. Belklinikáján gondozott 104 myelomás beteg (FFI/Nő: 62/42, átlag életkor: 63 év (36–90 év), IgG: 67, IgA: 28, IgM:3, könnyű lánc myeloma: 6) adatainak elemzése vezetett arra a felismerésre, hogy 1/ az albumin csökkenése, párhuzamos az M-componens emelkedésével-azaz egyaránt jelzik a betegség progresszióját és 2/ az eleve alacsony albuminnal és alacsony fehérvérsejt számmal diagnózisra került myelomások prognózisa a legrosszabb az akkor elérhető kezelési protokollok mellett. Elsősorban azt kellett igazolni, hogy az albumin csökkenése nem a fokozott vesztés eredménye és hogy a csontvelő infiltrációtól függetlenül alacsony fehérvérsejt szám pedig nem pl. antineutrophil antitestek termelődésének köszönhető. Miután mindezt igazoltuk (24h-ás vizelet fehérje ürítés illetve anti-neutrophil antitest meghatározással), megállapítottuk, hogy az addig érvényben levő Durie-Salmon (DSS) model amennyire alkalmas volt a tumor massa jelzésére, annyira nem volt az a prognózis becslésére.

A myelomás betegek túlélése annakidején, az ASCT és a célzott kezelések előtti időszakban átlagosan 3 év volt. Ezen belül azonban voltak hosszan túlélők (akár 10 évig is), az esetek kb. 1-3 százaléka, de voltak sokan olyanok (az esetek mintegy 50%-a), akiket az első két évben elvesztettünk. Fontos volt, tehát tudni a diagnóziskor, ki mire számíthat. Az albumin és az M-componens hányadosából, valamint a diagnóziskor észlelt fehérvérsejtből alkotott score jól elkülönít a túlélés szempontjából három stádiumot.

4.2.1. A. Táblázat. AMWBC prognosztikus score kiszámítása

score	0	1
WBC	$\geq 4,5 \times 10^6/l$	$< 4,5 \times 10^6/l$
A/M	≥ 1	< 1

0 pont jó prognózis, 1 pont intermedier prognózis, 2 pont rossz prognózis

4.2.1. B. Táblázat. Az AMWBC és a DSS score összehasonlítása a túlélés becslése tekintetében.

AMWBC score	0	1	2
túlélés (hónap)	45,6	38,7	23,8
DSS score	I	II	III
túlélés (hónap)	43,3	48,9	28,4

A $4,5 \times 10^9/l$ WBC alattiak szignifikánsan ($p=0,016$) rövidebb ideig éltek (átlagosan: 24,2 hó), míg a $WBC > 4,5 \times 10^9/l$ átlag: 41,7 hónapig élt. Az $A/M \leq 1$ 1,5 évnél rövidebb ideig élt ($p=0,00048$), míg a $A/M \geq 1$ átlagosan 3 évig.

Tanulmányunkban felhívtuk a figyelmet az akkoriban elterjedt SWOG ISS score-jának hiányosságaira (pl. vesebetegségben nem értékelhető) és ajánlottuk az AMWBC score használatát egyszerűsége és költséghatékonysága okán. Kritikai megjegyzés: az AMWBC score könnyű lánc myelomában értelemszerűen nem alkalmazható.

4.2.2. AZ A/M PONTRENDSZER MYELOMA MULTIPLEXBEN AZ ÚJ TERÁPIÁS MODALITÁSOK IDEJÉN

[32]. Kádár K, Wolf K, Tábori J, Karádi I, Várkonyi J. The Albumin and Monoclonal Protein Ratio as Prognostic Marker for Multiple Myeloma in the Era of Novel Agents. Pathology & Oncology Research 18/3/: 557-561, 2012. közlemény alapján.

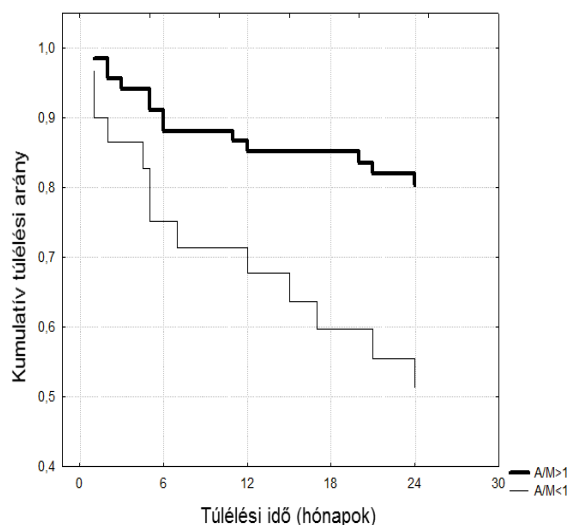
A retrospektív tanulmányban 103 konszekutív, 1996 és 2006 között a SE. III. sz. Belklinikán újonnan diagnosztizált és kezelt MM beteg adatai szerepeltek. 47 konvencionális kemoterápiában részesült, 56 célzott kezelést kapott (Thalidomid, Bortezomib). Ebben a tanulmányunkban a korábbi AMWBC score érvényességét vizsgáltuk az újabb terápiás lehetőségek időszakában. A kezelés megkezdése előtt minden beteg esetében meghatároztuk az AMWBC pontértéket. Az A/M arányt és az AMWBC pontértéket a túlélés vonatkozásában értékeltük. A betegek túlélésénél a diagnózis időpontjától a halál időpontjáig, vagy az utolsó követés dátumáig eltelt időszakaszt vettük figyelembe. 2 éves és 5 éves túlélési periódusokat vettünk alapul. A túlélést Kaplan-Meyer analízis szerint értékeltük, az egyes csoportok közötti statisztikai szignifikanciát log-rank teszt alapján számítottuk ki. A folytonos változók közötti kapcsolatot a nem-paraméteres Spearman féle rank korrelációs eljárással számoltuk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

Eredményeink szerint a diagnóziskor mért $A/M < 1$ arány szignifikánsan rosszabb prognózist jelentett mind a 2 évnél ($p=0,006$), mind az 5 évnél ($p=0,005$) választott túlélési végpontoknál (4.2.2.1 Ábra). Ez a szignifikáns különbség megmaradt a csak újfajta terápiában részesülő betegcsoport esetében is (4.2.2.2. Ábra).

4.2.2.1. Ábra. Az A/M hányados és a túlélés az összes myelomás beteg esetében (n=103)

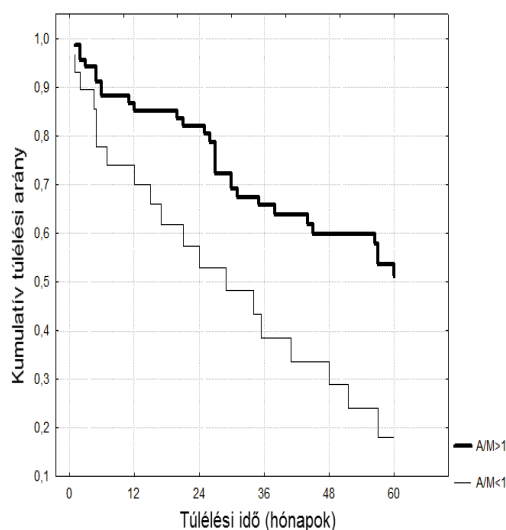
2 éves túlélési végpont

$p=0,00604$



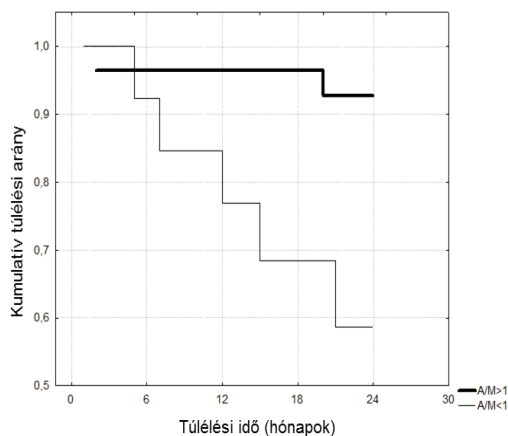
5 éves túlélési végpont

$p=0,0051$

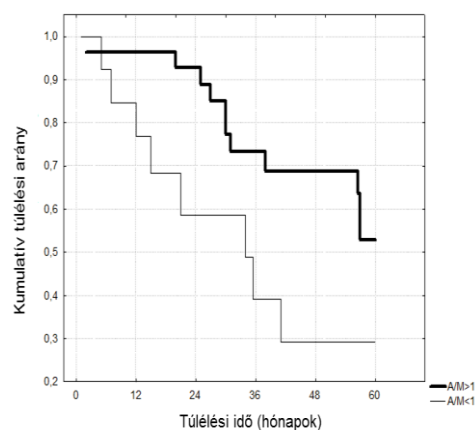


4.2.2.2. Ábra. Az A/M hányados és a túlélés összefüggése az új szerekekkel kezelt MM betegek esetében (n=56)

2 éves túlélési végpont



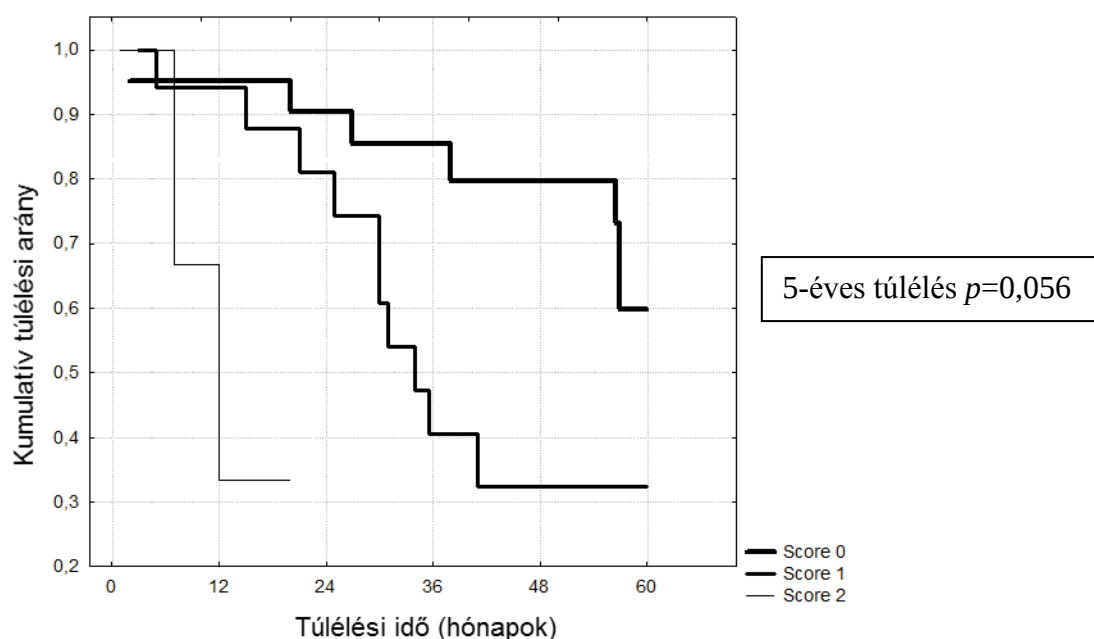
5 éves túlélési végpont $p=0,07$



Vizsgálatunk során kimutattuk, hogy a diagnóziskor észlelt $A/M < 1$ érték esetén a túlélés szignifikánsan rosszabb, mint az $A/M > 1$ esetében. A törtben szereplő mindkét tényező külön-külön szerepelt már klinikai stádium meghatározásokban, de az albumin és az M komponens együttes használatáról azonban nincs irodalmi adat. Mindkét paraméter a betegség pathomechanizmusában kulcsfontosságú citokin, az IL-6 hatását tükrözi, egyrészt a kóros plasmasejtek által termelt monoklonális protein mennyiségének növekedésén keresztül,

másrészt a májban az albumin termelésének a gátlásán keresztül (albumin, mint negatív fázis fehérje). A tört formájú alkalmazásban ezek a hatások még markánsabban nyilvánulnak meg. A 2009-ben, a POR-ban publikált, a hagyományos kezelésben részesült myelomások körében bevált AMWBC score az 5-éves túlélés tekintetében az új, célzott kezelések időszakában is megállja a helyét, a 2-éves túlélési végpontra vonatkozóan azonban nem tesz hozzá az A/M score értékéhez (4.2.2.3. Ábra).

4.2.2.3. Ábra. AMWBC pontérték és túlélés az új terápiás szerekkel kezelték esetében (n=56).



5. MASTOCYTOSIS KUTATÁSA TERÉN KIFEJTETT TEVÉKENYÉG

A mastocytosis clonalis transzformáció következtében megváltozott hízósejtek (mastocyták, MC) felszaporodása következtében kialakuló ritka megbetegedés, mely az érintett szervek funkciókárosodásában részben úgynevezett hízósejt aktivációs tünetekben nyilvánul meg. A hízósejtek granulumaikban biológiailag aktív anyagokat tárolnak, mint histamin, serotonin, heparin, tryptáz, leukotriének, prosztaglandinok, cytokinek, interleukinok. Ezek megfelelő stimulusra (normalis körülmények között), vagy a betegség fennállása esetén spontán degranuláció útján a szövetek közé áramolva lokális, vagy systemás hatást váltanak ki. E folyamat eredményeképpen a betegségre igen jellegzetes klinikai kép alakul ki.

A hízósejtek a CD 34+ multipotens hemopoetikus őssejtből (stem cell) származnak, differenciálódásuk, érésük különböző cytokin hatások eredőjeként történik. A hízósejtek növekedésében és aktiválódásában az ún. őssejt faktornak (stem cell factor, SCF) és az azt kötő tirozin kináz (TK) receptornak, a c-KIT-nek tulajdonítunk döntő jelentőséget. A KIT ligand, azaz a SCF kötődése révén a receptor dimerizálódik, ezáltal aktivál egy belső TK útvonalat, mely a receptor foszforilációját idézi elő. Ez a jelátvitel elengedhetetlen a CD34+ és CD117+ masztocita prekursorok proliferációjához, szöveti migrációjához, ezáltal érett hízósejteké történő alakulásához (76).

A receptor génállományában bekövetkezett Asp816Val (D816V) kodon mutáció hatására konstitutív autofoszforiláció megy végbe, mely következtében ligand independens KIT aktiválódás, korlátlan hízósejt proliferáció és aktiváció következik be (77).

A mastocytosis ritka megbetegedés, felismerése gyakran késik vagy elmarad. Pontos adat a betegség előfordulásáról nem ismert. Hozzávetőlegesen az évente jelentkező új esetek számát 5-10 /1 millió lakosban határozta meg az European Competence Network on Mastocytosis (ECNM).

A betegség diagnózisa és osztályozása a klinikai tünetek nyomán az érintett szervből vett szövettani minta (bőr, csontvelő, máj, bél, nyirokcsomó, stb) vizsgálatán, illetve a klinikai lefolyás üteme szerint történik. Bőrre lokalizált (CM) és systemás kórformákat (SM) különböztetünk meg, utóbbi esetben a csontvelő, máj, gasztrointesztinális rendszer, nyirokcsomók érintettsége is kimutatható. Van azonban bőrérzettség nélküli systemas forma is, amikor a felismerés a legnehezebb. A csak bőrre lokalizált formák gyermekkortól

előfordulnak és spontán gyógyhajlamot mutatnak. A felnőttkorra átnyúló forma általában idővel systemás betegségbe fordul (78,79). A systemás (SM) kategórián belül megkülönböztetünk: indolens systemás (ISM), smoldering systemás (SSM), agresszív systemás (ASM), hematológiai betegséggel társuló systemás (SM-AHN), hízósejtes sarcoma (MCS), hízósejtes leukémia (MCL), és extracutan mastocytosis formákat.

5.1. MASTOCYTOSISRA HAJLAMOSÍTÓ TÉNYEZŐK KUTATÁSA: IL-6/IL-6R GÉNPOLYMORPHISMUS VIZSGÁLATOK

[33]. Rausz E, Szilágyi Á, Nedoszytko B, Lange M, Nedoszytko M, Lautner-Csorba O, Falus A, Aladzsity I, Kokai M, Valent P, Marschalko M, Hidvégi B, Szakonyi J, Csomor J, Várkonyi J. Comparative analysis of IL-6 and IL-6 receptor gene polymorphisms in mastocytosis. *Brit J Haematol.* 160:216-219, 2013.közlemény alapján.

SM - ban szenvedő betegek szérum IL-6 szintje az egészségesekhez képest magasabb értéket mutat, mely mértéke korrelál a tünetek, a betegség súlyosságával (80). Az IL-6 hízósejtekre részben indirekt módon, a multipotens hemopoetikus őssejt differenciálódására hatva, részben közvetlenül a masztociták érését befolyásolva fejt ki hatását. Az IL-6 cytokint és receptorát kódoló génszakaszban bekövetkező SNP-k hatására a cytokin szérumban mérhető koncentrációja változhat, melynek következtében a hízósejtekre gyakorolt hatása módosul. Az IL-6 gén -174 lókuszan bekövetkező Guanin / Citozin csere következtében az IL-6 transzkripciójának mértéke megváltozik. Az adott lókuszon G allél jelenléte magasabb IL-6 szinttel hozható összefüggésbe (81,82). Az IL-6 receptor (IL-6R) gén exonjának funkcionális polymorphismusa (Asp358Ala) az IL-6 membránhoz történő kapcsolódásának megváltozásához vezet (83). Mivel a solubilis IL-6R a szérumban keringő IL-6-ot megköti, az IL-6 szintje a keringő receptor mennyisége-, illetve annak sequestrációs hatása szerint módosul (84). Az IL-6R polymorphismusát vizsgálva többen is közöltek, hogy a „C” allél az IL-6 magasabb szérumszintjét eredményezi (85). A fentiek alapján feltételeztük, hogy mastocytosis kialakulása összefüggésben állhat a hízósejtekre ható IL-6 termelődésének / serum szintjének mértékét befolyásoló SNP változásokkal.

Munkánk során az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

1/ Kimutatható-e különbség az IL-6 gén -174 G/C polymorphismus frekvenciájában a mastocytosisban szenvedő betegek és egészséges kontrollok között.

2/ Kimutatható-e különbség a mastocytosisban szenvedő betegek és egészséges kontrollok között az IL-6R gén leggyakrabban vizsgált Asp358Ala (A/C) polymorphismus frekvenciájában.

Beteganyag és módszer

Az IL-6 -174 G/C, és IL-6R Asp358Ala (A/C) SNP vizsgálatba három országból származó betegek mintája került az ECNM-en belüli kollaboráció eredményeként: Magyarországról (Budapest), Ausztriából (Bécs) és Lengyelországból (Gdansk). A 66 beteg közül; 19 osztrák, 24 lengyel és 23 magyar nemzetiségű, nemük szerint: 26 FFI/ 40 NŐ. A betegek átlagéletkora 42,9 év volt (18-80 év között). A betegek WHO klasszifikáció szerinti megoszlása: 27 CM, 27 ISM, 3 SSM, 6 SM-AHN, 2 ASM és 1 MCL. A kontroll csoportba 99 malignus-, és immunológiai betegségektől mentes, átlagos kórházi beteget választottunk. A nem szerinti megoszlás 45 FFI/ 54 nő; átlagéletkoruk 68,0 év volt (37-91 év). A kontroll populáció genotípus eloszlása Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. A genomiális DNS mintát a fehérvérsejtekből nyertük, a Miller féle egyszerű kizózásos technika szerint eljárva (86).

A genotípus meghatározása a Semmelweis Egyetem III. Belgyógyászati Klinika Kutatólaboratóriumában történtek. Az ETT TUKEB 5824-0/2011-EKU (175/PI/11) és az Ethical Committee for Scientific Research in Medical University of Gdansk NKEBN/732/2005 számú engedélyek alapján.

Statisztikai módszerek. Adatainkat MedCalc 9.3.3.0. programot használva elemeztük. A Hardy-Weinberg equilibriumtól való eltérések és egyezések becslését és az asszociáció analízist chi-négyzet próbával végeztük, „Graphpad Prism v. 4.0” és „Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v. 13.0” programmal hajtottuk végre. Minden tesztünk két szálon futott, a statisztikai szignifikanciát $p < 0,05$ esetében mondtuk ki.

Eredmények: az IL-6 gén -174 G/C polymorphismusában nem találtunk szignifikáns eltérést a betegek és a kontrollok között (5.1.1. Táblázat, 5.1.1. Ábra).

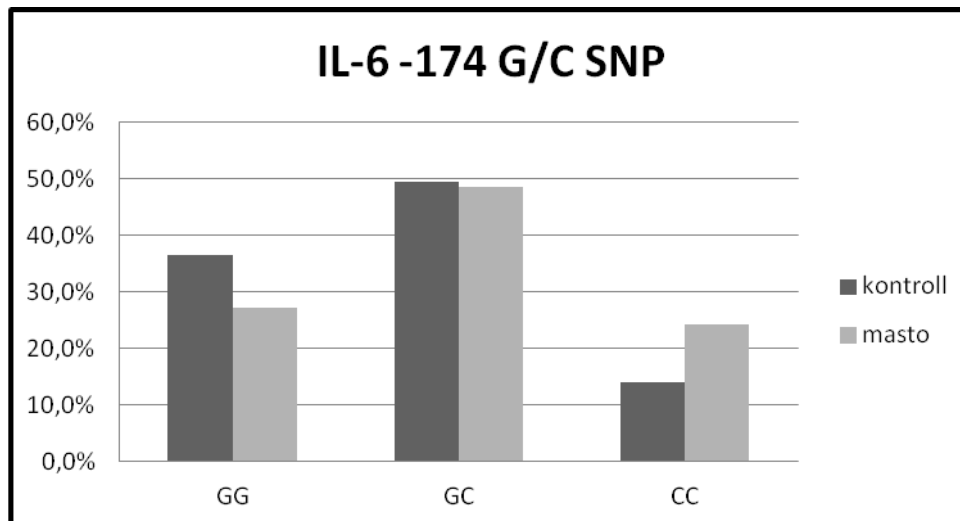
5.1.1. A IL-6 -174 G/C SNP VIZSGÁLATA MASTOCYTOSISBAN

5.1.1. Táblázat. IL-6 gén -174 G/C SNP vizsgálati eredmények mastocytosisban

	mastocytosis n=66	kontroll n=99	p érték
IL-6 -174 G/C genotípus			
GG	18 (27,3%)	36 (36,4%)	0,1988
GC	32 (48,5%)	49 (49,5%)	
CC	16 (24,2%)	14 (14,1%)	
allél			
G	68 (51,5%)	121 (61,1%)	0,0843
C	64 (48,5%)	77 (38,9%)	

A genotípusok Hardy-Weinberg egyensúlyban vannak.

5.1.1. Ábra. IL-6 -174 G/C SNP – eredmények mastocytosisban.



5.1.2. IL-6R Asp358Ala (A/C) SNP VIZSGÁLATA MASTOCYTOSISBAN

Az IL-6R gén Asp358Ala (A/C) SNP esetében a betegek körében az AA genotípus és az A allél előfordulása ritkább volt, mint az egészséges kontrollok között ($p=0,0317$ és $p=0,0229$). Odds rációja (OR) az AA genotípusúak körében 0,4019 volt (95% konfidencia intervallum CI=0,2013-0,8021; $p=0,0088$), a „C” allél hordozása (AC+CC) esetén a mastocytosis gyakrabban fordult elő (OR=2,488; 95% CI=1,247-4,967; $p=0,00888$). (5.1.2. Táblázat).

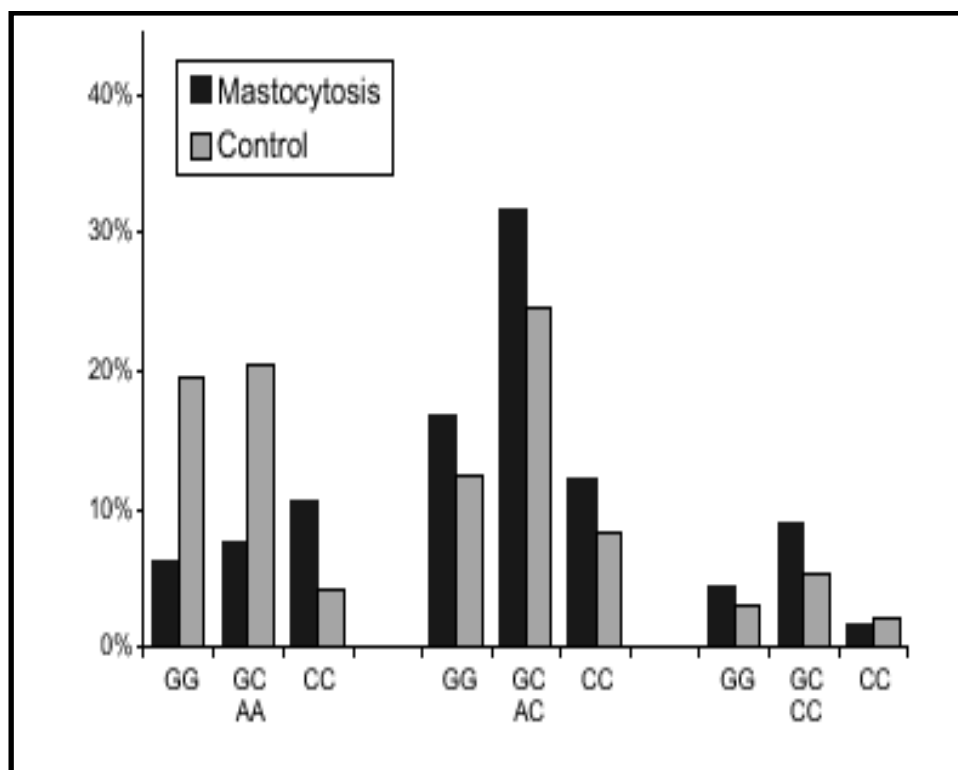
5.1.2. Táblázat. IL-6R Asp358Ala (A/C) SNP vizsgálat- eredmények mastocytosisban.

	mastocytosis n=66	kontroll n=99	p érték
IL-6R -358 A/C genotípus			
AA	16 (24,2%)	43 (44,3%)	0,0317
AC	40 (60,6%)	44 (45,4%)	
CC	10 (15,2%)	10 (10,3%)	0,00888
allél			
A	72 (54,5%)	130 (67%)	0,0229
C	60 (45,5%)	64 (33%)	

5.1.3. AZ IL-6 -174 G/C ÉS AZ IL-6R A358C SNP-K EGYÜTTES ELEMZÉSE

Az IL-6 és IL-6R génpolymorphismusának együttes elemzése során szembetűnik, hogy a mastocytosis leggyakrabban az IL-6 gén GC allél és az IL-6R gén AC allél együttes hordozása esetén fordult elő. A betegségre leginkább az IL-6R gén AC heterozigóta formája volt a jellemző. A mastocytosis kialakulását legritkábban az IL-6 gén CC és az IL-6R gén CC allél együttes hordozása esetében mutattuk ki. A betegségre nézve védő hatású lehet az IL-6R gén CC homozigóta formája, hiszen ebben az esetben volt legalacsonyabb százaléku a mastocytosis előfordulása. Az ábrán az is látszik, hogy a kontrollhoz képest az IL-6R AA genotípusa az IL-6 G-alléljével társultan ritka konstetlláció mastocytosisban (számított érték szerint $p=0,0003$. OR: 0,2348).

5.1.3. Ábra. Az IL-6 -174 G/C és az IL-6R Asp358Ala (A/C) SNP-k előfordulása



Felső sor: IL6-174 G/C polymorphismus, genotípus. Alsó sor: IL6R Asp358Ala (A/C) SNP, genotípus. χ^2 tesztel értékelve

Összefoglalva: A mastocytosis betegcsoportban leggyakrabban az IL-6 gén GC allél és az IL-6R gén AC allél együttes hordozása esetén fordult elő. A betegségre leginkább az IL-6R gén AC heterozigóta formája volt a jellemző. A betegek között az „AA” genotípus (azaz az „A” allél hordozása) előfordulását találtuk legritkábbnak, mely gyakoriság az IL-6 -174 lókuszon jelen lévő „GG” genotípussal való kombinációban elemezve tovább csökkent. Ez alapján feltételezzük, hogy e két genotípus együttes jelenléte védő hatást jelenthet a betegség kialakulásával szemben. Az esetszám további emelésével, az egyes subtípusokról további értékes információhoz juthatunk ebben a ritka megbetegedésben és ezt csak nemzeti és nemzetközi összefogással, különböző hematológiai intézetek együttműködésével látjuk megvalósíthatónak.

5.2. A KLINIKAI ADATOK KÓRJÓSLATI JELENTŐSÉGE MASTOCYTOSISBAN

5.2.1. A FÉFFI/NŐI NEMI KÜLÖNBSÉG KÓRJÓSLATI JELENTŐSÉGE A SEMMELWEIS MASTOCYTOSIS HÁLÓZATI REGISZTER ALAPJÁN

A már 12 éve működő egyetemi mastocytosis hálózatban regisztrált 73 beteg adatait foglaltuk össze az alábbi táblázatban. Ebből kiderül, hogy a betegségre vonatkozóan női dominancia érvényesül és, hogy a csak bőrre lokalizált forma jelentkezése a fiatal korra, a systemás betegsége pedig az idősebb korra esik. Azt a tendenciát is észlelhetjük, hogy az agresszívebb formák, mint az ASM és SM-AHN férfiakban gyakrabban fordulnak elő. Anyagunkban eddig hízósejtes leukemia nem fordult elő. Nem tüntettem fel a bőrérzékenység mellett mastocytosis aktivációs tünetekkel élő betegeinket, mert ezek átmeneti formát képviselnek a systemás forma felé, ugyan a c-kit mutációjuk negatív, de az ilyen esetben, vagy bármely más okból (pl. a beteg kérésére) halasztott csontvelő biopsia miatt besorolásuk nem egyértelmű. A pályázat leadásának időpontjában mastocytosis regiszterünkben 113 beteget tartunk nyilván.

5.2.1. Táblázat. A Semmelweis Mastocytosis Hálózat beteg regiszterének adatai a férfi/női nemre és a diagnóziskori életkorra vonatkozóan

	CM n=37	ISM n=18	ASM n=10	SM-AHN n=7
F/FI/NŐ	n=12/25	n=5/13	n=6/4	n=5/2
Átlag életkor (év)				
F/FI	27 (4-50)	47,6 (41-56)	61 (49-81)	75 (71-81)
NŐ	31 (4-53)	42 (29-69)	58,5 (50-64)	62,5 (58-67)

Az agresszív formákban a férfiak számaránya nagyobb szemben a CM és ISM formákkal, ahol a nők aránya több. Az is látható, hogy a férfiakban a CM formák korábbi életkorban jelennek meg, ugyanakkor az agresszívebb formák megjelenése náluk a későbbi életkorra tolódik. Ezeknek a jelenségeknek az értelmezése nagyobb betegszámot és hosszabb megfigyelési időt igényelnek, melyre kiváló lehetőséget teremt az ECNM fóruma.

5.2.2. AZ EOSINOPHILIA, MINT KEDVEZŐTLEN PROGNOSZTIKAI TÉNYEZŐ MASTOCYTOSISBAN

5.2.2.1. EGY ESET KÓRLEFOLYÁSA ALAPJÁN

[34]. Várkonyi J, Szombath G, Vályi-Nagy A, Csomor J, Egedi K, Kovalszky I, Tölgyesi K, Szerafin L, Tóth L, Soós Gy, Masszi T. Progresszív kórlefolymást mutató szisztémás masztocitózis. Orv. Hetil. 159:192-196, 2018.közlemény alapján

Ebben a közleményben egy férfibeteg esetét ismertettük szerzőtársainkkal, akinél a bőrtünetek hosszas (40 éves) fennállása után a kórkép agresszív mastocytosisba transzformálódott és ezt jól jelezték a labor leletei is, különösen a tryptáz érték és az eosinophilia, mely az alkalmazott kezelés ellenére a klinikai progresszióval párhuzamosan tovább emelkedett.

5.2.2.1. Táblázat. Agresszív mastocytosisba transzformálódott férfibeteg labor eltérései.

Laboratóriumi vizsgálatok	Laboratóriumi leletek		Referenciaértékek
	megjelenéskor	a progresszió időszakában	
WBC	7,8	11,98	4,0-10,0x10 ⁹ /L
Eosinophil	12	33	0-5%
Hgb	86	73	140-175 g/L
Thrombocyta	115	31	150-400x10 ⁹ /L
SAP	150	130	40-129 U/L
tryptáz	611		<20ng/ml

WBC: white blood cell (fehérvérsejt), Hgb: hemoglobin,

SAP: serum alkalikus phosphatase

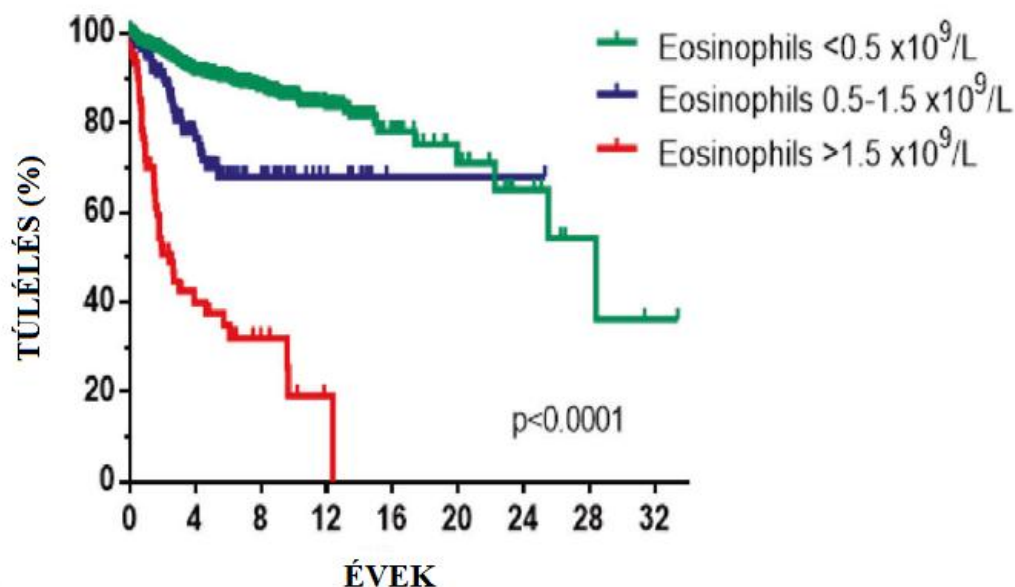
5.2.2.2. AZ ECNM BETEGREGISZTER ADATOK ALAPJÁN

Multicentrikus mastocytosis betegnyilvántartás létrehozása Európában című kezdeményezéshez, a magyar betegadatokat az ECNM regiszterébe való feltöltéséhez a TUKEB 2582-3/2015/EKU (581/2014) engedély alapján kaptunk zöld utat.

[35]. Kluin-Nelemans HC, Reiter A, IBERhaus A, van Anrooij B, Hartmann K, Span LFR, Gorska A, Nidoszytko M, Lange M, Scaffiidi L, Zanotti R, Bonadonna P, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Shoumarlieh K, von Bubnoff N, Parente R, Triggiani M, Schwaab J, Jawhar M, Caroppo F, Fortina AB, Brockow K, Zink A, Fuchs D, Kilbertus A, Javuz AS, Doubek M, Mattsson M, Hagglund H, Panse J, Sabato V, Aberer E, Niederwieser D, Breynaert C, Várkonyi J, Kennedy V, Lothoraly O, Jakob T, Hermine O, Rossignol J, Arock M, Gotlib J, Valent P, Sperr RW. Prognostic impact of eosinophils in mastocytosis: analysis of 2350 patients collected in the ECNM registry. *Leukemia*, 34: 1090-1101,2020. közlemény alapján.

A nemzetközi együttműködéssel megalakult mastocytosis beteg regiszter (ECNM) a közlemény megírása idején már 2986 beteg adatot tartalmazott. Ebből eosinophil sejtszámra vonatkozó adat 2350 esetben szerepelt. Az esetek 90%-ban normal, 6,8%-ban mérsékelten és 3,1%-ban jelentősen emelkedett eosinophil sejteszámot (eo) találtak. Eosinophil szám $>0,5 \times 10^9/l$ jelentett eosinophiliát, mérsékelt eosinophilia $0,5-1,5 \times 10^9/l$; és hypereosinophilia $1,5 \times 10^9/l$ feletti értéknél volt kimondható. A magasabb eo szám döntően az előrehaladott systemás formákra volt jellemző; organomegáliával, dysmyelopoiesissel társult. Mediátor tünetek vagy allergia nem kísért. A diagnózis felállításakor észlelt eosinophiliának erős prognosztikus jelentősége derült ki ($p < 0,0001$) a túlélésre vonatkozóan (5.2.2.2. Ábra).

5.2.2.2. Ábra. A diagnóziskor mért eosinophil sejtszám mértéke és a túlélés kapcsolata systemás mastocytosisban.



Összefoglalva: az általunk korábban közölt egy eset, majd a nemzetközi betegregiszter adta lehetőség alapján csaknem 3000 beteg adatainak elemzése azt mutatta, hogy systemás mastocytosisban az eosinophil számnak prognosztikus jelentőséget tulajdoníthatunk. Egyelőre ennek a jelenségnek az ismerete nem jár azonnali terápiás konzekvenciával, de a nemzetközi együttműködés révén ennek a ritka betegségnek a jobb megismerése remélhetőleg végül erre az eredményre fog vezetni.

5.3. ISMERETTERJESZTŐ TEVÉKENYSÉG MASTOCYTOSISBAN

Mint az közismert, egy rika betegség időben történő felismeréséhez és megfelelő kezeléséhez a betegségről való ismeretanyag bővítésén keresztül vezet az út. Nincs ez másként mastocytosis esetében sem. A jellemző bőrtünettel élők előbb – utóbb felismerésre kerülnek, de azok, akik systemás betegséggel küzdenek bőrtünet nélkül vagy a mastocytá aktivációs tünetet produkálják időről – időre, sokszor nem vagy csak későn kerülnek felismerésre. Erre legekleatásabb példa a darázsméreg allergia vagy bármely okból bekövetkező anaphylaxia, amely ezt a kórképet jellemzi. Ezeknek a betegeknek fontos lenne a deszenzibilizálás illetve, hogy tartsanak maguknál noradrenalin fecskendőt készenlétben roham esetére. Tudjuk, hogy a c-kit D816V mutáció az esetek mintegy 50%-ában van jelen. Nincs tehát a betegségnek a klinikumon, tryptáz szint meghatározáson kívül olyan specifikus markere, mint

pl. CML-ben a bcr/abl génátrendeződés. A pathogenezis kutatás mellett ezért az ismeretterjesztést tekintettem a legfontosabb feladatommak. Erről a munkámról ad tanubizonyyságot a publikációs listában szereplő magyar közlemények sora, melyekben a betegség leírásán túl az évente megrendezésre kerülő ECNM találkozókra adok rövid összefoglalót. A 2008-ban Budapesten megrendezésre került éves ECNM találkozót családom és kedves kollegák segítségével bonyolítottam le. A Semmelweis Mastocytosis hálózati munkarend bevezetése óta, mely bőrgyógyász, hematológus és pathologus együttműködésén alapul, a betegség felismerése, és kezelése olajozottan történik. Egyetemünkön a betegség génszintű diagnosztikája, majd 2019-től a tryptáz meghatározás (Vásárhelyi Barnának és csapatának köszönhetően) rendelkezésre áll. A betegek tájékozódását segítő angol nyelvű anyagot magyarra fordítottam és a nemzetközi betegszervezet ezt a magyar betegek számára elérhetővé tette: www.mastocytosis.eu/countries/hungary.php honlapon. 2019-ben a MOHA (Magyar OnkoHematológiai Betegek ernyőszervezete) rendezésében a betegek és hozzátartozóik számára megtartott előadásom az interneten megtekinthető.

6. A KUTATÓMUNKA EREDMÉNYEI. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1/ GSTT1null variánsnak GSTP1 Ile/Ile variánssal történő kombinációja gyakoribb az MDS beteg csoportban, mindazonáltal ez az eltérés nem bizonyult szignifikánsnak.

2/ MDS-ben TNF- α -308 GG, GA és AA genotípusok eloszlása csaknem megegyezett a kontrolléval. A -238-as allélfrekvencia előfordulásában volt különbség, ami azonban nem érte el a szignifikancia mértékét. A mi vizsgálataink alapján azokhoz csatlakozunk, akik szerint a gén polymorphismusa önmagában nem játszik szerepet a betegség kialakulásában, tehát a keringő TNF- α szint önmagában ehhez nem elegendő; inkább poszttranszkripció szabályozás, a TNF receptorok expressziójának mértéke, számos epigenetikai tényező, vagy mindezek együttes hatása lehet a kérdés kulcsa.

3/ IL-6 174G/C promotor és IL-6R Asp358Ala polymorphismus MDS-ben MM-al való összevetésben. A vizsgált gén polymorphismusokra vonatkozóan a két betegség valamint a kontroll között nem volt különbség.

4/ MDS betegek mintegy felében valamely, a vasterhelődés tekintetében releváns HFE gén mutációja (C282Y vagy H63D) jelen van

5/ Azok a MDS betegek, akik a HFE génmutációt hordozzák, részben már ab ovo magasabb vas értékekkel kerülnek felismerésre, illetve kevesebb egység transzfúzióját követően érik el a kritikus transferrin telítettséget a HFE vad típust hordozókhoz képest.

6/ Vastöbbletre hajlamosító állapot egyszersmind réz hiánnyal is társulhat. A réz szint meghatározása, dysplasiás eltérések esetében a vizsgálati algoritmusba történő felvételre; pótlása pedig igazolt rézhiányban mindenképpen javasolható

7/ A MM-ás csoportban a HFE mutációk száma nem csak a MDS-hez képest, de még a kontrollokénál is alacsonyabbnak bizonyult. Azt találtuk, hogy a betegek vasanyagcseréje szignifikánsan korrelál HFE genetikai variáns statusukkal: az MM betegek alacsony serum vas és transferrin saturációs értékeivel. MM-ban vastúlterhelődéssel nem kell számolni.

8/ MDS/AML esetén a 60 évnél idősebbek körében nem a terápia jellege, hanem inkább a performance status és a MDS komorbiditási index bizonyult független prognosztikus

tényezőnek ($p = 0,0069$; $p = 0,0422$). Ezzel ellentétben, a 60 évnél fiatalabbak esetében pedig éppen a kezelés típusa bizonyult prediktív jelentőségűnek ($p < 0,0001$): az allo-SCT –ben részesültek túlélése volt a leghosszabb: 1136 vs. 153 nap.

9/ Azok az MDS betegek, akik deferroxamine (DFO) kezelésben részesültek, hosszabb transfúzió-mentes periodust értek el ezt követően, szemben azokkal, akik nem kaptak chelát kezelést.

10/ Az MDS betegségre jellemző vastúlterhelődést a véradáson túl a gyakrabban előforduló HFE géntérés is súlyosbítja.

11/ A vasterhelődésre a transferrin saturáció jobban utal, mint a vas érték.

12/ Javaslat: minden alacsony rizikójú, tehát hosszabb túlélésre prognosztizálható MDS beteg, aki rendszeresen kap transfúziót, részesüljön chelát kezelésben.

13/ GSTM1, GSTT1 és a GSTP1 Ile105Val génnek polymorphismus vizsgálatával nem találtunk szignifikáns különbséget a MM betegek és a kontrollok között. Ugyanakkor a GSTT1/GSTM1 null variánsok túlélése szignifikánsan rövidebbnek bizonyult, viszont akik a GSTP1 Ile genotypust homozygota formában hordozzák, a legjobb túléléssel számolhatnak. Bár az esetszám nagyon kicsi, mégis ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a polymorphismusok által determinált metabolizmus különbözőség a terápiára adott előnyösebb vagy éppen kedvezőtlenebb válaszban nyilvánulhat meg.

14/ A TNF -308A (TNF2) ritka allél hordozása szignifikánsan ($p = 0,027$) alacsonyabb frekvenciával fordult elő a MM betegek csoportjában a hasonló életkorban lévő magyar egészséges populációhoz képest. Az esélyhányados alapján az MM előfordulásának rizkója a ritka allél hordozása esetén közel kétszer alacsonyabb volt, mint a gyakori allélt (TNF -308G) hordozók esetében. Hasonló összefüggést mutattunk ki a TNF2-LTA 252G haplotípus esetén is ($p = 0,041$). A variáns allél hordozása inkább védő hatásúnak bizonyult MM esetében.

15/ A GWAS vizsgálat tárgya a 7p15.3 (rs4487645), 3p22.1 (rs1052501) és 2p23.3 (rs6746082) lókuszek genotípusainak és allél frekvenciák előfordulásának vizsgálata volt MM betegek és kontroll személyek esetében.

A legerősebb asszociációt az rs4487645 SNP mutatta a 7p15.3 lókuszon, a myeloma előfordulása szempontjából közel 1.4 szerezsen emelkedett kockázattal a „C” allélnak megfelelően (esélyhányados [OR] = 1.37, 95%-os konfidencia intervallum [CI]: 1,21–1,56, $p = 7,96 \times 10^{-7}$). A második legerősebb kapcsolatot az rs6746082 SNP, 2p23.3 lókusz „A” allélja esetében látható ([OR] = 1,22, 95% ; [CI]: 1,05–1,41, $p = 0,008$). A szignifikancia mértékét el nem érő kapcsolat figyelhető meg az rs1052501 SNP –nek megfelelően a 3p22.1 lokuszon ([OR] = 1,12, 95%; [CI]: 0,98–1,30, $p = 0,098$).

16/ TERT és TERC lokuszok elemzése során szignifikáns összefüggést igazoltunk a hosszú telomerek és a myeloma rizikó között. Vizsgálatainkkal csökkent myeloma rizikót hordozó rs2242652 TERT variáns ($p = 0,001$) és rs12696304 TERC SNP ($p = 0,003$) tudtunk kimutatni.

17/ Familiaris myeloma két esete alapján vetődött fel, hogy (közel) azonos genetikai háttér (öröklött hajlam) és az élet első 20 évében elszenvedett egyazon környezeti ártalom együttesen vezethet későbbi életkorban azonos malignus betegség kialakulásához.

18/ Nemzetközi együttműködés, az IMMEnSE konzorciumi tagság révén nagy esetszámon sikerült azonosítani familiaris myelomára hajlamosító tényezőként a 13q14 deletio esetén bekövetkező a DIS3 vesztést, mely tumor supresszor gén loss-of-functioja következtében vezet a myeloma betegség kialakulásához.

19/ Az AMWBC score myeloma prognózisának becslése tekintetében a DSS modellhez képest jobban elkülöníti a három különböző túlélést mutató stádiumot.

20/ Kimutattuk, hogy a diagnóziskor észlelt $A/M < 1$ érték esetén a túlélés szignifikánsan rosszabb, mint az $A/M > 1$ esetében.

21/ Mastocytosis tanulmányunkban az IL-6 gén -174 G/C polymorphismusában nem találtunk szignifikáns eltérést a mastocytosis betegek és a kontrollok között. Az IL-6R gén Asp358Ala (A/C) SNP esetében a betegek körében az AA genotípus és az A allél előfordulása ritkább volt, mint az egészséges kontrollok között ($p = 0,0317$ és $p = 0,0229$). A „C” allél hordozása (AC+CC) esetén a mastocytosis gyakrabban fordult elő (OR=2,488; 95% CI=1,247-4,967; $p = 0,00888$). Az IL6 és IL-6R gén polymorphismusának együttes elemzése során szembetűnt, hogy a mastocytosis leggyakrabban az IL-6 gén GC allél és az IL-6R gén AC allél együttes

hordozása esetén fordult elő. A betegségre leginkább az IL-6R gén AC heterozigóta formája volt a jellemző. A masztocitózis kialakulását legritkábban az IL-6 gén CC és az IL-6R gén CC allél együttes hordozása esetében mutattuk ki. A betegségre nézve védő hatású lehet az IL-6R gén CC homozigóta formája.

22/ A mastocytosis esetek adatainak elemzése alapján észleltük, hogy a cutan forma a nők között, míg az agresszív systemás forma inkább az idősebb férfiak között gyakoribb.

23/ Egyedi eseten majd nagy betegszámon, az ECNM betegregiszter adatai alapján kimutattuk, hogy mastocytosisban az eosinophilia rossz prognosztikus jel

7. IRODALOMJEGYZÉK

- 1. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo RJ, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClellan E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Prass CE, Quintana L, Starnes SM, Schatzman RC, Brunke KJ, Drayna DT, Risch NJ, Bacon BR, Wolff RK. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. Nat Genet. 13: 399–408, 1996.**
- 2. Domenico ID Ward DM, Kaplan J: Hepcidin regulation: ironing out the details. J Clin Invest. 117: 1755–1758, 2007.**
- 3. Németh E. Iron regulation and erythropoiesis. Curr Opinion in Hematol. 15/3:169-175, 2008.**
- 4. Shaheen NJ, Silverman LM, Keku T, Lawrence L, Rohlfes EM, Martin CF, Galanko J, Sandler RS. Association Between Hemochromatosis (HFE) Gene Mutation Carrier Status and the Risk of Colon Cancer. JNCI. 95/2/:154-159, 2003.**
- 5. Fargion S, Valenti L, Fracanzani AL. Hemochromatosis gene (HFE) mutations and cancer risk: Expanding the clinical manifestations of hereditary iron overload. Hepatology. 51/4/:1119–1121, 2010.**
- 6. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood: 127: 2391-2405, 2016.**
- 7. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood. 89 /6/ : 2079-2088, 1997.**
- 8. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A et al. Time dependent prognostic score system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. J. Clin Oncol. 25: 3503-3510, 2007.**

9. Dahabreh IJ, Giannouli S, Gota V, Voulgarelis M. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and myelodysplastic syndrome risk: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cancer*: 126: 1716–1723, 2010.
10. Minghao Fang, Wen Zeng, Lifang Huang, Shuang Qin, Jianfeng Zhou, Hanying Sun, Fankai Meng. Association between glutathione S-transferase T1 null genotype and risk of myelodysplastic syndromes: a comprehensive meta-analysis. *Tumor Biol.* 34: 2747–2752, 2013.
11. Gersuk GM, Beckham C, Loken MR, Kiener P, Anderson JE, Farrand A, Troutt AB, Led- Better JA, Deeg HJ. A role for tumour necrosis factor-alpha, Fas and Fas-ligand in marrow failure associated with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol.* 103:176–188, 1998.
12. Raza A, Mundle S, Shetty V, Alvi S, Chopra H, Span L, Parcharidou A, Dar S, Venugopal P, Borok R, Gezer S, Showel J, Loew J, Robin E, Rifkin S, Alston D, Hernandez B, Shah R, Kaizer H, Gregory S. Novel insights into the biology of myelodysplastic syndromes: Excessive apoptosis and the role of cytokines. *Int J Hematol.* 63: 265–278, 1996.
13. Kitagawa M, Saito I, Kuwata T, Yoshida S, Yamaguchi S, Takahashi M, Tanizawa T, Kamiyama R, Hirokawa K. Overexpression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha and interferon (IFN)-gamma by bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*, 11 /12/: 2049-2054, 1997.
14. Verhoef GE, De Schouwer P, Ceuppens JL, Van Damme J, Goossens W, Boogaerts MA. Measurement of serum cytokine levels in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia.* 6: 1268–1272, 1992.
15. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet.* 1 /5/: 353, 1992.

16. Day CP, Grove J, Daly AK, Stewart MW, Avery PJ, Walker M. Tumour necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism and decreased insulin resistance. *Diabetologia*. 41: 430–434, 1998.
17. Demeter J, Messer G, Rajczy K, Patscht K, Péntes M, Kenéz A, Karádi I. Polymorphism of the TNF-alpha, the IL-6 promoter and the IL-1 receptor antagonist at the DNA level in a Hungarian population and relation to infectious, autoimmune and malignant diseases. *Magy Belorv Arch*. 53: 185–193, 2000.
18. Sfiridaki A, Miyakis S, Tsirakis G, Alegakis A, Passam AM, Kandidaki E, et al. Systemic levels of interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in patients with multiple myeloma may be useful as prognostic indexes of bone disease. *Clin Chem Lab Med*. 43: 934–938, 2005.
19. Kuku I, Bayraktar MR, Kaya E, Erkurt MA, Bayraktar N, Cikim K, et al. Serum proinflammatory mediators at different periods of therapy in patients with multiple myeloma. *Mediators Inflamm*. 3: 171–174, 2005.
20. Alexandrakis MG, Passam FH, Ganotakis ES, Sfiridaki K, Xilouri I, Perisinakis K, et al. The clinical and prognostic significance of erythrocyte sedimentation rate (ESR), serum interleukin-6 (IL-6) and acute phase protein levels in multiple myeloma. *Clin Lab Haematol*. 25: 41-46, 2003.
21. Sefer D, Marisavjlevic D, Bogdanovic A, Andrejevic S, Boskovic D, Suvajdiid N, et al. Circulating interleukin-6 (IL-6) in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia Res*. 23: 78, 1999.
22. Meyers CA, Albitar M, Estey E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 104: 788–793, 2005.
23. Ershler WB, Keller ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu Rev Med*. 51:245–270, 2000.

24. Cozen W, Gebregziabher M, Conti DV, Van Den Berg DJ, Coetzee GA, Wang SS, et al. Interleukin-6-related genotypes, body mass index, and risk of multiple myeloma and plasmacytoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*15: 2285–2291, 2006.
25. Dring AM, Davies FE, Rollinson SJ, Roddam PL, Rawstron AC, Child JA, et al. Interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha polymorphisms in monoclonal gammopathy of uncertain significance and multiple myeloma. *Br J Haematol.* 112: 249–251, 2001.
26. Mazur G, Bogunia-Kubik K, Wrobel T, Karabon L, Polak M, Kuliczowski K, et al. IL-6 and IL-10 promoter gene polymorphisms do not associate with the susceptibility for multiple myeloma. *Immunol Lett.* 96: 241–246, 2006.
27. Zheng C, Huang DR, Bergenbrant S, Sundblad A, Osterborg A, Bjorkholm M, et al. Interleukin 6, tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 beta and interleukin 1 receptor antagonist promoter or coding gene polymorphisms in multiple myeloma. *Br J Haematol.* 109: 39–45, 2000.
28. Andrikovics H, Kalmár L, Bors A, Fandl B, Petri I, Kalász L, Tordai A. Genotype screening for hereditary Hemochromatosis among voluntary blood donors in Hungary. *Blood Cells, Molecules and Diseases.* 27: 334-341, 2001.
29. Reddy V, Prchal JT. Copper deficiency masquerading as myelodysplastic syndrome. *Blood.* 100: 1493-1495, 2002.
30. Huff JD, Keung YK, Thakuri M, Beaty MW, Hurd DD, Owen J, Molnár I. Copper deficiency causes reversible myelodysplasia. *Am J Hematol.* 82 /7/: 625-630, 2007.
31. Curtis L. Nutrition, copper and myelodysplasia. *Transfusion Medicine.* 18 /5/: 315-316, 2008.
32. Speletas M, Kioumi A, Mandala E, Katodritou E, Papaioannou G, Ritis K et al. Prevalence of hemochromatosis gene (HFE) mutations in Greek patients with myelodysplastic syndromes. *Acta Haematol.* 110: 53-54, 2003.

33. Nearman ZP, Szpruka H, Serio B, Warshawsky I, Theil K, Lichtin A, et al. Hemochromatosis – associated gene mutations in patients with myelodysplastic syndromes with refractory anemia with ringed sideroblasts. *Am J Hematol.* 82: 1076-1079, 2007.
34. Dine G, Genty V, Rehn Y, Brahimi S. Iron overload MDS and HFE gene mutations: what relation? *Leukemia Res* 27 /1/: S122, 2003.
35. Rose C, Brechignac S, Vassilief D, Beyne-Rauzy O, Stamatoullas A, Larbaa D et al. Positive Impact of iron Chelation Therapy (CT) on survival in Regularly transfused MDS patients. Prospective analysis by the GFM. *Blood.* 110 : 2491, 2007.
36. Messa E, Cartura S, Maffé C, Pautasso M, Bracco E, Roetto A, Messa F, Arruga F, Defilippi I, Rosso V, Zanone C, Rotolo A, Greco E, Pellegrino RM, Alberti D, Sagilo G, Cilloni D. Deferasirox is a powerful NFκB inhibitor in myelodysplastic cells and in leukemia cell lines acting independently from cell iron deprivation by chelation and reactive oxygen species scavenging. *Haematologica.* 95 /8/:1308-1316, 2010.
37. Leitch HA. Improving clinical outcome in patients with myelodysplastic syndrome and iron overload using chelation therapy. *Leuk. Res.* 31: S3: S7-9, 2007.
38. Wimazal F, Noesslinger T, Baumgartner C. et al. Deferasirox induces regression of iron overload in patients with myelodysplastic syndromes. *European Journal of Clinical Investigation* 39: 406-411, 2009.
39. Raab MS, Podar K, Breitkreutz I, Richardson PG, Anderson KC. Multiple Myeloma. *The Lancet.* 374 /9686/: 324-339, 2009.
40. Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med.* 364 /11/: 1046-1060, 2011.
41. Parkin D, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *Cancer J Clin.* 55 /2/: 74-108, 2005.

42. National Cancer Institute. Surveillance epidemiology and end results program. SEER stat fact sheets on multiple myeloma. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html>; (hozzáférés: 2013. április 24.).

43. Dankbar B, Padró T, Leo R, Feldmann B, Kropff M, Mesters RM, et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood*. 95 /8/: 2630–2636, 2000.

44. Jourdan M, Tarte K, Legouffe E, Brochier J, Rossi JF, Klein B. Tumor necrosis factor is a survival and proliferation factor for human myeloma cells. *Eur Cytokine Netw*. 10 /1/: 65–70, 1999.

45. Giuliani N, Lisignoli G, Colla S, Lazzaretti M, Storti P, Mancini C, Bonomini S, Manferdini C, Codeluppi K, Facchini A, Rizzoli V. CC-Chemokine ligand 20/macrophage inflammatory protein-3 α and CC-chemokine receptor 6 are overexpressed in myeloma microenvironment related to osteolytic bone lesions. *Cancer Res*. 68 /16/: 6840–6850, 2008.

46. Degli-Esposti MA, Leaver AL, Christiansen FT, Witt CS, Abraham LJ, Dawkins RL. Ancestral haplotypes: conserved population MHC haplotypes. *Hum Immunol*. 34 /4/: 242-252, 1992.

47. Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The -308 tumor necrosis factor- α promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol*. 34 /5/: 391-399, 1997.

48. Baseggio L, Bartholin L, Chantome A, Charlot C, Rimokh R, Salles G. Allele-specific binding to the -308 single nucleotide polymorphism site in the tumour necrosis factor- α promoter. *Eur J Immunogenet*. 31/1/: 15-19, 2004.

49. Wilson AG, de Vries N, Pociot F, di Giovine FS, van der Putte LB, Duff GW. An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor α promoter region is strongly associated with HLA A1, B8, and DR3 alleles. *J Exp Med*. 177 /2/: 557-560, 1993.

50. Huizinga TW, Westendorp RG, Bollen EL, Keijsers V, Brinkman BM, Langermans JA, Breedveld FC, Verweij CL, van de Gaer L, Dams L, Crusius JB, Garcia-Gonzalez A, van Oosten BW, Polman CH, Peria AS. TNF-alpha promoter polymorphisms, production and susceptibility to multiple sclerosis in different groups of patients. *J Neuroimmunol.* 72: 149–153, 1997.

51. Messer G, Spengler U, Jung MC, Honold G, Blomer K, Pape GR, et al. Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF-beta gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF-beta production. *J Exp Med.* 173: 209–219, 1991.

52. Bouma G, Crusius JB, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, von Blomberg BM, Kostense PJ, Giphart MJ, Schreuder GM, Meuwissen SG, Peña AS. Secretion of tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol.* 43 /4/: 456-463, 1996.

53. Davies FE, RollinsonSJ, RawstronAC, RomanE, RichardsS, Drayson M, et al. High-producer haplotypes of tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha are associated with an increased risk of myeloma and have an improved progression-free survival after treatment. *J Clin Oncol.*18: 2843–2851, 2000.

54. Morgan GJ, Adamson PJ, Mensah FK, Spink CF, Law GR, Keen LJ, et al. Haplotypes in the tumour necrosis factor region and myeloma. *Brit J Haematol.* 129: 358–365, 2005.

55. Day CP, Grove J, Daly AK, Stewart MW, Avery PJ, Walker M. Tumour necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism and decreased insulin resistance. *Diabetologia.* 41: 430–434, 1998.

56. Seidemann K, Zimmermann M, Book M., Meyer U, Burkhardt B, Welte K, Reiter A, Stanulla M. Tumor necrosis factor and lymphotoxin alfa genetic polymorphisms and outcome in pediatric patients with non- Hodgkin's lymphoma: results from Berlin-Frankfurt-Munster Trial NHL-BFM 95. *J Clin Oncol.* 23: 8414-8421, 2005.

57. Broderick P, Chubb D, Johnson DC, Weinhold N, Forsti A, Lloyd A, Olver B, Ma YP, Dobbins SE, Walker BA, Davies F E, Gregory WA, Child JA, Ross FM, Jackson GH, Neben K, Jauch A, Hoffmann P, Muhleisen TW, Nothen MM, Moebus S, Tomlinson IP, Goldschmidt H, Hemminki K, Morgan GJ, Houlston RS. Common variation at 3p22.1 and 7p15.3 influences multiple myeloma risk. *Nature Genetics*. 44: 58–61, 2011.

58. Chng WJ, Huang GF, Chung TH, Ng SB, Gonzalez-Paz N, Troska-Price T, Mulligan G, Chesi M, Bergsagel PL, Fonseca R. Clinical and biological implications of MYC activation: a common difference between MGUS and newly diagnosed multiple myeloma. *Leukemia*. 25: 1026–1035, 2011.

59. Bojesen SE, Pooley KA, Johnatty SE et al. Multiple independent variants at the TERT locus are associated with telomere length and risk of breast and ovarian cancer. *Nat Genet*. 45: 371-84, 2013.

60. Kote-Jarai Z, Olama AA, Giles GG et al. Seven prostate cancer susceptibility loci identified by a multi-stage genome wide association study. *Nat Genet*. 43: 785-91, 2011.

61. McKay JD, Hung RJ, Gaborieau V et al. Lung cancer susceptibility locus at 5p15.33. *Nat Genet*. 40: 1404-1406, 2008.

62. Petersen GM, Amundadottir I, Fuchs CS et al. A genome wide association study identifies pancreatic cancer susceptibility loci on chromosome 13q22.1, 1q32.1 and 5p15.33. *Nat Genet*. 42: 224-228, 2010.

63. Rajaraman P, Medin BS, Wang Z et al. Genome wide association study of glioma and meta-analysis. *Human Genet*. 131: 1877-1888, 2012.

64. Rothman N, Garcia-Closas M, Chatterjee N et al. A multi-stage genome wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci. *Nat Genet*. 42: 978-984, 2010.

65. McEachern MJ, Krauskopf A, Blackburn EH. Telomeres and their control. *Annu Rev Genet*. 34: 331-58, 2000.

66. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet.* 13: 693-704, 2012.
67. Codd V, Nelson CP, Albrecht E et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet.* 45: 422-427, 2013.
68. Nan H, Qureshi AA, Prescott J et al. Genetic variants in telomere-maintaining genes and skin cancer risk. *Hum Genet.* 129: 247-53, 2011.
69. Chubb D, Weinhold N, Broderick P et al. Common variation at 3q26.2, 6p21.33, 17p11.2 and 22q13.1 influences multiple myeloma risk. *Nat Genet.* 45: 1221-1225, 2013.
70. Hosnijeh FS, Matullo G, Russo A et al. Prediagnostic telomere length and risk of B-cell lymphoma – Results from the EPIC cohort study. *Int J Cancer.* 135 /12/: 2910-2917, 2014.
71. Várkonyi J, Demeter J, Kovalszky I, Nemeth A, Raposta T. Increased cancer risk in the family of multiple myeloma patients. *Haematologia.* 31 /1/: 45-50, 2001.
72. Avet-Loiseau H, Li J-H, Godon C et al. P53 deletion is not frequent event in multiple myeloma. *Brit J Haematol.* 106: 717-719, 1999.
73. Morgan GJ, Johnson DC, Weinhold N, Goldschmidt H, Langren O, Lynch HT et al. Inherited genetic susceptibility to multiple myeloma. *Leukemia.* 28: 518-524, 2014.
74. Went M, Sud A, Försti A, Halvarson B-M, Weinhold N, Kimber S et al. Identification of multiple risk loci and regulatory mechanisms influencing susceptibility to multiple myeloma. *Nat Commun.* 9: 3707, 2018.
75. Halvardsson B-M, Wihlborg A-K, Ali M, Lemonakis K, Johnsson E, Niroula A. et al. Direct evidence for a polygenic etiology in familial multiple myeloma. *Blood Adv.* 1: 619-623, 2017.

76. Valent P, Akin C, Speer WR, Mayerhofer M, Fodinger M, Fritzsche- Polanz R, Sotlar K, Escribano L, Arock M, Horny HP, Metcalfe DD. Mastocytosis: pathology, genetics and current options for therapy. *Leuk Lymphoma*. 46 /1/: 35-48, 2005.
77. Laine E, Chauvot de Beauchêne I, Perahia D, Auclair C, Tchertanov L. Mutation D816V Alters the Internal Structure and Dynamics of c-KIT Receptor Cytoplasmic Region: Implications for Dimerization and Activation Mechanism. *PloS Comput Biol*. 7/6 /: e1002068 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002068, 2011.
78. Duckworth AK, Bhatti A, Barnes C. Diffuse cutaneous mastocytosis in fraternal twins. *Int J Dermatol*. 48 /2/:170-172, 2009.
79. Briley LD, Phillips CM. Cutaneous mastocytosis: a review focusing on pediatric population. *Clin Pediatr*. 47/8/: 757-761, 2008.
80. Brockow K, Aktin C, Huber M, Metcalfe DD. IL-6 levels predict disease variant and extent of organ involvement in patient with mastocytosis. *Clin Immunol*. 115 /2/: 216-223, 2005.
81. Fishman D, Faulds G, Jeffrey R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphires S, Woo P. The effect of novel polymorphism in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest*. 102 /7/: 1369-1376, 1998.
82. Rivera Chavez FA, Peters-Hybki DL, Barber RC, O'Keefe GE. Interleukin -6 promoter haplotypes and interleukin -6 cytokine responses. *Shock*. 20: 218-223, 2003.
83. Galicia JC, Tai H, Komatsu Y, Shimada Y, Akazawa K, Yoshie H. Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced. *Genes & Immunity*. 5/ 6/: 513-516, 2004.
84. Rose-John S, Scheller J, Elson G, Johnes SA. Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *J Leuk Biol*. 80 /2/: 227-334, 2008.

- 85. Reich D, Patterson N, Ramesh V, De Jager PL, McDonald GJ, Tandon A, Choy A, Hu D, Tamraz B, Pawlikoshka L, Wasser-Fyr C, Huntsman S, Waliszewska A, Rossin E, Li R, Garcia M, Reiner A, Ferrell R, Cummings S, Kwok PY, Harris T, Zmuda JM, Ziv E. Admixture mapping of an allele affecting interleukin 6 soluble receptor and interleukin 6 levels. *Am J Hum Genet.* 80/ 4/: 716-726, 2007.**
- 86. Miller SA , Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16: 1215, 1988.**

8. PUBLIKÁCIÓS LISTA

Doktori értekezéssel összefüggő és abban szereplő publikációk a megjelenés sorrendjében

[1]. Várkonyi J, Kaltwasser JP, Seidl C, Kollai G, Andrikovics H, Tordai A. A case of non-HFE juvenile haemochromatosis presenting with adrenocortical insufficiency. *Brit J Haematol.* 109: 252-253, 2000.

[2].Varkonyi J, Lueff S, Szűcs N, Pozsonyi Z, Tóth A, Karádi I, Pietrangelo A. Hemochromatosis and Hemojuvelin G320V homozygosity in a Hungarian woman. *Acta Haematol.* 123:191-193, 2010.

[3].Várkonyi J: Az örökletes (klasszikus) Haemochromatosis. *Magyar Családorvosok Lapja.* 4: 10-12, 2008.

[4]. Teixeira E, Borlido-Santos J, Brissot P, Butzeck B, Courtois F, Evans RW, Fernau J, Nunes JA, Mullett M, Paneque M, Pineau B, Porto G, Sorrill R, Sanchez M, Swinkels DW, Toska K, Varkonyi J. and the EFAPH European Federation of Associations of Patients with Hemochromatosis. The Importance of the General Practitioner as an Information Source for Patients with Hereditary Haemochromatosis. *Patient Education and Counseling.* 96: 86–92, 2014.

[5].Valent P, Orazi A, Büsche G, Schmitt-Gräff A, George TI, Sotlar K, Streubel B, Beham-Schmid C, Cerny-Reiterer S, Krieger O, van de Loosdrecht A, Kern W, Ogata K, Wimazal F, Csomor J, Várkonyi J, Sperr WR, Werner M, Kreipe H,Horny HP. Standards and Impact of Hematopathology in Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Oncotargets and Therapy.* 1/7/: 483-496, 2010.

[6]. Ingram W, Lea NC, Cervera J, Germing J, Fenaux P, Cassinat B, Kiladjian JJ, Varkonyi J, Antunovic P, Westwood NB, Arno MJ, Mohamedali A, Gaken J, Kontou T, Czepulkowski BH, Twine NA, Tamaska J, Csomor J, Benedek S, Gattermann N, Zipperer E, Giagounidis A, Garcia-Casado Z, Sanz G, Mufti GJ. The JAK2 V617F mutation identifies a subgroup of MDS patients with isolated deletion 5q and a proliferative bone marrow. *Leukemia.* 20:1319-1321, 2006.

[7]. Várkonyi J. The Myelosysplastic Syndromes 2011. Springer
ISBN 978-94-007-0439-8.

[8]. Várkonyi J. Az anémiák kórisméje és kezelése. Semmelweis Egyetem kötelező szintfenntartó belgyógyászati tanfolyama. 2011. November 24-26. MBA Supplementum 1: 5-7, 2011.

[9]. Várkonyi J. A myelodysplasiás szindróma korszerű kezelése. Medical Tribune 13: 13-14, 2015.

[10]. Várkonyi J. Myelodysplasiák. In: Tulassay, Zs (szerk.) Klinikai belgyógyászat. Budapest, Magyarország: Medicina Könyvkiadó Zrt. pp. 555-558, 2017.

[11]. Várkonyi J., Szakály D, Jánoskúti L, Hosszúfalusi N, Pánczél P, Karádi I, Schoket B. Glutathione S-Transferase Enzyme Polymorphisms in a Hungarian Myelodysplasia study population. Pathology, Oncology & Research. 14/ 4 /: 429-433, 2008.

[12]. Kádár K, Demeter J, Andrikovics H, Tordai A, Kovács M, Füst G, Karádi I, Várkonyi J. TNFalpha promoter gene polymorphism in patients with Myelodysplastic Syndrome. Acta Haematol. 113: 262-264, 2005.

[13]. Aladzsity I, Kovács M, Semsei Á, Falus A, Szilágyi Á, Karádi I, Varga G, Füst G, Várkonyi J. Comparative analysis of IL6 promoter and receptor polymorphisms in myelodysplasia and multiple myeloma. Leukemia Research. 33 /11/:1570-1573, 2009.

[14]. Várkonyi 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. 85: 869–871, 2006.

[15]. Várkonyi J., Tarkovác G, Karádi I, Andrikovics H, Varga F, Varga F, Demeter J, Tordai A. High incidence of hemochromatosis gene mutations in the myelodysplastic syndrome: The Budapest study on 50 patients. Acta Haematol. 109: 64-67, 2003.

[16]. Várkonyi J., Bekő G, Kollai G, Karádi I. The iron-copper regulation in the myelodysplastic syndromes. Trace elements in the food chain. Vol 3. Deficiency or excess

of trace elements in the environment as a risk of health. Eds. Szilágyi M, Szentmihályi K. pp. 407- 411. ISBN 978-963-7067-19-8. Publisher: Working Committee on Trace Elements of the Hungarian Academy of Sciences (HAS) and Institute of materials and Environmental Chemistry of the HAS, Budapest, Hungary, pp. 407-411. 2009.

[17]. Varkonyi J, Szabó t, Sebestyén P, Tordai A, Andrikovics H, Kollai G, Karádi I. New aspects of copper and iron metabolism in the myelodysplastic syndromes. Chemotherapy. 52: 66-68, 2006.

[18]. Varkonyi J. Chronic deficiency states-initially reversible metabolic changes resulting in true myelodysplasia. Hungarian Medical Journal. 2: 329-330, 2008.

[19]. Várkonyi J, Bajzik E, Fazakas Á., Sipka S, Karádi I. Short or long survival in multiple myeloma. A simple method for determining prognosis. Pathology Oncology Research. 15: 383-387, 2009.

[20]. Andrikovics H, Meggyesi N, Szilvási A, Tamáska J, Halm G, Lueff S, Nahajevszky S, Egyed M, Varkonyi J, Mikala G, Sipos A, Kalász L, Masszi T, Tordai A. HFE C282Y Mutation as a genetic modifier influencing disease susceptibility for JAK2 V617F positive chronic myeloproliferative disease. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 18/3/: 929-934, 2009.

[21].Várkonyi J, Andrikovics H, Tordai A. Hemochromatosis gene mutation- Could it be a disease marker for myelodysplasia? Leukemia Research. 33/1/: 201-202, 2009.

[22]. Okuyama N, Sperr WR, Kadar K, Bakker S, Szombath G, Handa H, Tamura H, Kondo A, Valent P, Várkonyi J, van de Loosdrecht A, Ogata K. Prognosis of acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndromes: A multicenter retrospective study. Leukemia Research. 37: 862– 867, 2013.

[23]. Várkonyi J, Tarkovács G, Benedek Sz, Demeter J, Varga F, Fekete S, Andrikovics H, Tordai A. HFE gene mutations and the effect of deferoxamine therapy in myelodysplastic syndrome. Blood. 98/11/:277B. 4844, 2001.

[24]. Várkonyi J, Farkas P, Kollai G, Szombath G, Tordai A, Andrikovics H, Sipos A, Szepesi A. Indications for iron chelation therapy- the Budapest Study Group protocol proposal. 10th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS). Patras, Greece, May 6-9, 2009. Leukemia Research. 33 /S1/: P100, S117-118, 2009.

[25]. Varkonyi J, Jánoskúti L, Szakály D, Újvári B, Pánczél P, Hosszúfalusi N, Farkas P, Mikala G, Tordai G, Schoket B, Karádi I: Glutathione S-Transferase Gene Polymorphisms in Multiple Myeloma. In: Glutathione: Biochemistry, Mechanisms of Action and Biotechnological Implications. Nikolaos Labrou and Emmanouil Flemetakis (Eds). ISBN 978-1-62417-460-5. Chapter 12. p.223-229. 2013. Nova Publishers.

[26]. Kádár K, Kovács M, Karádi I, Meleg B, Pocsai Zs, Mikala G, Tordai A, Szilágyi Á, Ádány R, Füst G, Várkonyi J. Polymorphisms of TNF-alpha and LT-alpha genes in multiple myeloma. Leukemia Research. 32: 1499-1504, 2008.

[27]. 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. Impact of polymorphic variation at 7p15.3, 3p22.1 and 2p23.3 loci on risk of multiple myeloma. Brit J Haemtol. 158: 805-809, 2012.

[28]. Campa D, Martino A, Varkonyi J, Lesueur F, Jamorziak K, Landi S, Jurczyszyn A, Margues H, Andersen V, Jurado M, Brenner H, Petrini M, Vogel U, Garcia-Sanz R, Buda G, Gemignani F, Rios R, Vangsted AJ, Dumontet C, Martinez-Lopez J, Moreno MJ, Stepien A, Watek M, Moreno V, Dieffenbach AK, Rossi AM, Butterbach K, Jacobsen SE, Goldschmidt H, Sainz J, Hillengass J, Orciuolo E, Dudzinski M, Weinhold N, Reis RM, Canzian F. Risk of multiple myeloma si associated with polymorphisms telomerase genes and telomere length. International Journal of Cancer. 136 /5/: E351-E358, 2015.

[29]. Várkonyi J, Farkas P, Tamáska J, Masszi T, Gopcsa L, Padanyi A, Rajczy K. Familial Multiple Myeloma. Two more families. Centr Eur J Med. 4/4/: 501-505, 2009.

[30.] Pertesi M, Vallée M, Wei X, Revuelta MV, Galia P, Demangel D, Oliver J, Foll M, Chen S, Perrial E, Garderet L, Corre J, Leleu X, Boyle EM, Decaux O, Rodon P, Kolb B, Slama B, Mineur P, Voog E, Le Bris C, Fontan J, Maigre M, Beaumont M, Azais I, Sobol H, Vignon M, Royer B, Perrot A, Fuzibet J-G, Dorvaux V, Anglaret B, Cony-Makhoul P, Berthou C, Desquesnes F, Pegourie B, Leyvraz S, Mosser L, Frenkiel N, Augeul-Meunier K, Leduc I, Leyronnas C, Voillat L, Casassus P, Mathiot C, Cheron N, Paubelle E, Moreau P, Bignon Y-J, Joly B, Bourquard P, Caillot D, Naman H, Rigaudeau S, Marit G, Macro M, Lambrecht I, Cluquennois M, Vincent L, Helias P, Avet-Loiseau H, Moreno V, Reis RM, Varkonyi J, Kruszewski M, Vangsted AJ, Jurczyszyn A, Zaucha JM, Sainz J, Krawczyk-Kulis M, Wątek M, Pelosini M, Iskierka-Jażdżewska E, Grząsko N, Martinez-Lopez J, Jerez A, Campa D, Buda G, Lesueur F, Dudziński M, García-Sanz R, Nagler A, Rymko M, Jamroziak K, Butrym A, Canzian F, Obazee O, Nilsson B, Klein RJ, Lipkin SM, McKay JD, Dumontet C. Exome sequencing identifies germline variants in DIS3 in familial multiple myeloma. *Leukemia*. 33: 2324-2330. 2019.

[31]. Várkonyi J, Bajzik E, Fazakas Á, Sipka S, Karádi I. Short or Long Survival in Multiple Myeloma. A Simple Method for Determining the Prognosis. *Pathol Oncol Res*. 15: 383–387, 2009.

[32]. Kádár K, Wolf K, Tábori J, Karádi I, Várkonyi J. 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, 2012.

[33]. Rausz E, Szilágyi Á, Nedoszytko B, Lange M, Nedoszytko M, Lautner-Csorba O, Falus A, Aladzity I, Kokai M, Valent P, Marschalko M, Hidvégi B, Szakonyi J, Csomor J, Várkonyi J. Comparative analysis of IL6 and IL6 receptor gene polymorphisms in mastocytosis. *Brit J Haematol*. 160: 216-219, 2013.

[34]. Várkonyi J, Szombath G, Vályi-Nagy A, Csomor J, Egedi K, Kovalszky I, Tölgyesi K, Szerafin L, Tóth L, Soós Gy, Masszi T. Progresszív kórlefolyást mutató szisztémás masztocitózis. *Orv Hetil*. 159: 192-196, 2018.

[35]. Kluin-Nelemans HC, Reiter A, Illerhaus A, van Anrooij B, Hartmann K, Span Lambertus F R, Gorska A, Nedoszytko M, Lange M, Scaffidi L, Zanutti R, Bonadonna

P, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Parente R, Triggiani M, Schwaab J, Jawhar M, Caroppo F, Fortina Anna Belloni, Brockow K, Zink A, Fuchs D, Kilbertus A, Yavuz Akif Selim, Doubek M, Mattsson M, Hagglund H, Panse J, Sabato Vito, Aberer E, Niederwieser D, Breynaert C, Várkonyi J, Kennedy V, Lortholary O, Jakob T, Hermine O, Rossignol J, Arock M, Gotlib J, Valent P, Sperr WR. Prognostic impact of eosinophils in mastocytosis: analysis of 2350 patients collected in the ECNM Registry. *Leukemia*. 34 : 1090-1101, 2020.

9.TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

Impakt faktorok		
PhD (2001) impakt faktor (IF)	4,76	
MTA doktori értekezés PhD utáni közleményeinek összes IF értéke	115,514	
MTA doktori értekezés sokszerzős publikációinak IF értéke	35,210	
Idézettség	összes	független
MTA doktori értekezés sokszerzős publikációinak idézettsége	46	
MTA doktori értekezés közleményeinek idézettsége	651	527
Speciális tudománymetriai adatok	száma	összes hivatkozás
összes folyóirat cikk	70	
szerkesztett könyvek	1	
könyvrészletek	4	
elő szerző folyóiratok	31	196
utolsó szerzős folyóiratok	11	65
PhD (2001) utáni folyóirat cikkek	57	573
Utolsó 10 év folyóirat cikkek	29	205
A legmagasabb hivatkozású közlemény hivatkozásainak a száma (az összes százalékában)	87	13,36%
WOS/Scopusban nem szereplő hivatkozások		78
Hirsch index	15	
g index	24	

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Illő, hogy az ember megemlékezzen mindazokról, akik a segítették a pályáján.

A szakmai sikerek elérésében elsődleges a tanárok, pályatársak segítsége, de én mindenekelőtt drága jó férjemnek, Quittner Jánosnak mondok köszönetet, aki nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre. Messzemenően támogatott, legfőbbképpen azzal, hogy szeretetteljes, nyugodt családi háttérrel biztosított a számomra.

Professzoraim, sorrendben Gráf Ferenc, Romics László, Fehér János, Jakab Lajos, Karádi István és Masszi Tamás támogatásáért tartozom köszönettel. A kutatómunkában együttműködő partnereim közül kiemelten tartozom köszönettel Tordai Attilának, Andrikovics Hajnalkának, Prohászka Zoltánnak, Schoket Bernadettnek és Falus Andrásnak, akik a klinikus által feltett kérdések nyomán gén-polymorphismus vizsgálatok elvégzéséhez biztosították a laboratóriumi háttérrel. Demeter Judit professzor asszonynak köszönöm, hogy a kezdeti időszakban hozzásegített kellő számú betegminta eléréséhez és hogy többször kért fel postgraduális szintű előadás tartására.

Megemlékezem Füst György professzoráról, aki statisztikai elemzésben nyújtott segítséget. Kiemelten tartozom köszönettel Szilágyi Ágnesnek, Kókai Mártának, Aladzsity Istvánnak, sikeresen végzett PhD hallgatóimnak Rausz Eszternek és Kádár Katalinnak szorgalmas munkájukért. Köszönöm Peter Valent professzornak (Bécs), hogy csatlakozhattam az általa vezetett ECNM és az MDS munkacsoportokhoz, ugyancsak neki, valamint Ghulam Muftinak, Chaim Hershkonnak és a többi szerzőtársnak az MDS könyv létrejöttében; az IMMENSE konzortiumban Federico Canziannak, hogy csatlakozásra kért fel a GWAS tanulmányok lefolytatásához. A Semmelweis Mastocytosis hálózat beindításáért, majd működtetéséért Csomor Juditnak, Marschalko Mártának, Hidvégi Bernadettnek és Kovalszky Ilonának tartozom köszönettel. A mindennapi munkában az I. Patológiai Intézetben Barna Gábor, Szepesi Ágota, Bödör Csaba és csapata, hematológus kollegáim: Horváth Laura, Szombath Gergely, Farkas Péter, Kollai Géza, Varga Gergely, Masszi András segítő társaim. Nővéreink Kondor Irén és Berkes Krisztina vezetésével, az ambulancián Perényiné Jóború Erika, Andi, Szilvi, titkárnőink: Csűrös Ági, Csábi Valéria, Nagy Szilvia és Éder Edina voltak segítségemre. A HBE egyesület működtetéséért Ábele Mária, Mörtl Mária, Tóth Ágnes, Törökyné Ilike és Kurucz Virág valamint a Családi Orvos Tanszék részéről Prof. Kalabay László és Kun Levente nevét kell említenem köszönettel. A MOHA front embere: Kéri Ibolya révén a mastocytosis betegek is forumhoz jutottak. A könyvtárban Kovács Margit és Házkötő Ani voltak segítségemre. Végezetül köszönöm fiamnak, Quittner Zoltánnak, aki értelmet adott az életemnek és erőt a továbblépéshez.