

**DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**Új prognosztikai markerek vizsgálata B-sejtes lymphoproliferatív  
kórképekben**

**Dr. Pál Ildikó**

**Témavezető: Dr. Váróczy László**



**DEBRECENI EGYETEM**

**KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen**

**2020**

## **Új prognosztikai markerek vizsgálata B-sejtes lymphoproliferatív kórképekben**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Pál Ildikó, okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskolája (klinikai  
vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Dr. Váróczy László, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Szűcs Gabriella, MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Kiss Csongor, MTA doktora

Prof. Dr. Takács István, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „B”  
Épület II. emeleti oktató terem

2020. július 14. 12 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Földeák Dóra Melinda, PhD

Dr. Varga Gergely, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Szűcs Gabriella, MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Kiss Csongor, MTA doktora

Prof. Dr. Takács István, PhD

Dr. Földeák Dóra Melinda, PhD

Dr. Varga Gergely, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A”  
Épület tanterme

2020. július 14. 14 óra

## 1. Bevezetés

A B-sejtes lymphoproliferatív kórképek a B-sejt fejlődés bármely szakaszából kiindulhatnak. PhD dolgozatom ezen kórképek közül a diffúz nagy B-sejtes lymphoma (DLBCL) és a myeloma multiplex (MM) sajátosságait tárgyalja.

A DLBCL a leggyakoribb lymphoma, az összes non-Hodgkin-lymphoma legalább 25-40 %-át teszi ki, a diagnóziskori medián életkor 64 év. A DLBCL típusos esetben gyorsan kialakuló nyirokcsomó megnagyobbodással jár, mely az esetek többségében a nyakon vagy a hasban jelenik meg vagy mediastinalis lymphoma esetén a mediastinumban, de extranodális érintettség is előfordulhat. A jellegzetes B-tünetek csak az esetek 30%-ában jelentkeznek, láz, éjszakai izzadás és fogyás képében. A DLBCL gyanúját a fizikális vizsgálat veti fel, amikor fájdalommentlen nyirokcsomó megnagyobbodás jelentkezik, melyhez gyakran társulnak a jellegzetes B-tünetek. A DLBCL diagnózisa szövettani mintavételen alapul. A szövettani minta leggyakrabban nyirokcsomóból származik. A szövettani diagnózis mellett a laboratóriumi eltérések is fontosak, ugyanis emelkedett LDH és  $\beta$ 2-microglobulin szintet észlelhetünk, mely mellé még csontvelői érintettség esetén pancytopenia is társulhat. A betegség kiterjedésének vizsgálatára és a stádium meghatározására képalkotó vizsgálatokat végzünk, így ultrahang, röntgen, CT, MR és PET-CT vizsgálatokat. A képalkotók közül a PET-CT a legérzékenyebb módszer, melyet a betegség kezdetén, valamint a kezelés hatékonyságának megítélésére alkalmazunk. A klinikai stádium megállapítása Ann Arbor-i stádium meghatározáson alapul, melyet 2014-ben a Lugano-klasszifikáció módosított, ugyanis a stádium meghatározásban már a PET-CT is hivatalosan szerepel. A betegség prognózisának megítélésére az International Prognostic Index (IPI) használatos.

A diffúz nagy B-sejtes lymphoma agresszív lymphoma révén mielőbbi kezelést igényel. Elsődlegesen anti-CD20 antitest, azaz rituximab alapú immunkemoterápiát alkalmazunk. Az R-CHOP (rituximab, cyclophosphamid, doxorubicin, vincristin, prednison) kezelés az arany standard kemoterápia DLBCL esetén, de számos új kezelési módra is lehetőségünk van, így például a bcl-2-gátló venetoclax, valamint a PD-1-gátlók, CAR-T-sejtek (kiméra antigén receptor T-sejt terápia), brentuximab vedotin, blinatumomab is rendelkezésre állnak. Refrakter esetekben az autológ őssejt-transzplantáció hatékony kezelési mód lehet.

A kezelés hatékonyságát gyógyszermetabolizmus gén polimorfizmusok is befolyásolják, amelyek nemcsak a gyógyszerek, hanem carcinogének lebontásában is szerepet

játszanak. A metabolizmusban részt vevő enzimek közül kiemelendő a citokróm P450 (CYP), glutathion-S-transzferáz (GST), N-acil-transzferáz (NAT) enzim. A CYP enzimek oxidáció indukciója révén segítik elő a szervezetre káros anyagok eliminálását. A GST pedig glutationnal történő konjugáció révén fejt ki hatását.

A myeloma multiplex az összes malignus betegség 1-2%-át, míg az összes hematológiai kórkép 17%-át teszi ki. Az időskor betegsége, a medián életkor a diagnóziskor 66 év, csak 2%-a a betegeknek 40 évnél fiatalabb, illetve 10%-a 50 évnél. MM esetén a tüneteket a különböző szervek, csontok plazmasejtes infiltrációja és a monoklonális fehérjék felhalmozódása okozza. A legfőbb tünetek közé soroljuk az úgynevezett CRAB tüneteket, melyek a hyperkalcaemiát, veseelégtelenséget, anaemiát és csontléziókat jelentik. Az MM diagnózisához szükséges CRAB tünetek mellett egyéb eltérések is jelen lehetnek, így például előfordulhat neuropathia, valamint az immundeficiencia következtében az infekciók is gyakoribbak. Myeloma multiplex esetén a betegség gyanúját a fokozott vörösvértest süllyedés vetheti fel, mely mellé az anaemia, veseelégtelenség, hypercalcaemia laboratóriumi eltérései társulhatnak. Emelkedett szérum totál protein szint és hypalbuminaemia jellemző, valamint előfordulhat magasabb LDH, húgysav és  $\beta$ 2-microglobulin szint. A szérum és vizelet elektroforézis segít a monoklonális fehérje jelenlétének igazolásában és típusának meghatározásában. A diagnózishoz elengedhetetlen a csontvelői mintavétel, melynek mikroszkópos elemzése történik meg, illetve a mintából áramlási citometria és FISH vizsgálat történik. Képpalkotó vizsgálatok közül első körben röntgenvizsgálatot végzünk, de a röntgennél sokkal érzékenyebb a CT, MR és a PET-CT vizsgálat. A myeloma multiplex diagnózisa az IMWG ajánlása alapján történik. A betegség stádiumának megállapítására az International Staging System (ISS) szolgál. Myeloma multiplexben kezelés előtt elsőként azt kell meghatározni, hogy a beteg autológ őssejt-transzplantációra alkalmas-e. Autológ transzplantációra jelölt betegeknél indukciós kezelésként proteoszóma-gátló alapú tripletet alkalmazunk, melyet legalább 4-6 cikluson keresztül adunk remisszió elérése céljából, ezt követően elvégezzük az őssejtgyűjtést és lehetőség szerint az autológ őssejt-transzplantációt. A nagy dózisú kondicionáló kemoterápia és autológ őssejt-szupportáció után, válogatott esetekben (magas rizikójú betegek) konszolidáló terápiát adunk, és ma már szinte minden beteg részesül fenntartó kezelésben. Ha a beteg nem alkalmas transzplantációra, akkor első vonalban alkalmazhatunk proteoszóma-gátló vagy immunmoduláns szer alapú kezelést. A fentiekben túl újabb gyógyszeres kezelések is rendelkezésre állnak, így például az anti-CD38 antitest, daratumumab, a SLAMF7-gátló elotuzumab, a hiszton-deacetiláz-gátló panobinostat,

a PD-1-gátló pembrolizumab, illetve a CAR-T-sejt terápia refrakter-relabáló myelomában is ígéretes eredményekkel kecsegtet. MM-ben a terápia hatékonyságát számos tényező befolyásolja. Az imidek a cereblon-béta-katenin-útvonalon keresztül hatnak. A thalidomid cereblonhoz kötődik a szervezetben. A cereblon-thalidomid komplex az E3 ubiquitin ligáz funkcióját gátolja, a myeloma sejtekre pleiotrop hatást fejt ki, mely folyamat a p21 up- és interleukin-8 down-regulációján keresztül a G0/G1 átmenet felfüggesztéséhez vezet. A myeloma sejtek képesek rezisztenssé válni az imidekkel szemben, melynek módja teljesen nem tisztázott. Feltehetően a béta-katenin szintje emelkedik, mely a magba transzportálódik és antiapoptotikus faktorok szintézisét fokozza.

## 2. Célkitűzések

A Debreceni Egyetem Klinikai Központ Belgyógyászati Intézet B Épület Hematológiai Tanszékén végzett kutatásunk céljai a diffúz nagy B-sejtes lymphomás és myeloma multiplexes betegek vonatkozásában a következők voltak:

1. Hogyan befolyásolja a különböző gyógyszermetabolizmus gének (CYP2E1, GSTP1, NAT1 és NAT2) polimorfizmusa a diffúz nagy B-sejtes lymphomás betegek terápiára adott válaszát és túlélését R-CHOP kezelés mellett

2. A CRBN, CTNBN1 és GSTP1 gén polimorfizmusok hatásának vizsgálata myeloma multiplexes betegek terápiára adott válaszára és túlélésére thalidomid és lenalidomid vagy cyclophosphamid, adriamycin, melphalan kezelés mellett

3. A fiatalkori, 40 éves vagy annál fiatalabb myeloma multiplexes betegek túlélési adatainak, betegség lefolyásának és jellegzetességeinek összehasonlítása az időskori betegség jellemzőivel

### 3. Betegek és módszerek

1. A DLBCL-es betegek vizsgálatakor 51 beteget vontunk be, akiknél 2011. február és 2016. november között diagnosztizáltuk a kórképet. A DLBCL-es betegek klinikai jellemzőit illetően a betegek korát, nemét, IPI értékét, terápiás válaszát és túlélését elemeztük. A teljes túlélés (OS) számításánál a beteg bármilyen okból bekövetkezett haláláig eltelt időt vettük figyelembe. Az eseménymentes túlélés meghatározásánál a relapszusig, a beteg haláláig vagy bármilyen esemény bekövetkezéséig eltelt időt számítottuk. A gyógyszermetabolizáló enzim gének polimorfizmusának meghatározása PCR (polymerase chain reaction) módszerrel történt. Perifériás vérmintából történt a DNS kivonása QiaAmp DNA Mini Kit segítségével (Qiagen GmbH, Germany). A genotípus meghatározás Real-Time PCR segítségével történt, mely gyorsabb eljárás a hagyományos restrikciós enzimes emésztésen alapuló formáknál. Az SNP-k meghatározása allél diszkriminációs assay felhasználásával valósult meg. Az Applied Biosystem szolgáltatta a polimorfizmusokra specifikus PCR primereket és TaqMan próbát (Foster City, CA). A Real-Time PCR kivitelezése egy Corbett Rotor-Gene RG-3000 berendezésben történt. A reakció egy 20 microliteres közegben ment végbe, mely tartalmazta a következő komponenseket: TaqMan Universal Master Mix (2x, 4331182, Applied Biosystems), TaqMan Genotyping Assay (20x) és genomiális DNS. Az Universal Master Mix pedig a következőket tartalmazta: AmpliTaq Gold DNS polimeráz, AmpErase UNG, dNTP dUTP-vel, passzív referencia és puffer komponensek. A reakciókat duplán raktuk fel. Az optimális AmpErase UNG aktivitás és AmpliTaq Gold DNS polimeráz aktiváció érdekében a ciklus egy 95 Celsius fokos 10 perces inkubációval indult. A bevezető lépés után 40 PCR ciklus futott. Mindegyik PCR reakció 15 másodpercig tartó 92 Celsius fokra melegítésből és 60 fokra történő hűtésből állt, melynek célja a lágyítás és kinyerés.

2. A myeloma multiplexes betegek esetén a cereblon-béta-katenin polimorfizmusok vizsgálatakor 97 beteg adatát dolgoztuk fel, akiknél 2012. január és 2016. december között diagnosztizáltuk a kórképet. A klinikai jellemzők vonatkozásában a betegek életkorát, nemét, a betegség stádiumát, a betegek terápiára adott válaszát és túlélését vizsgáltuk. Az ISS stádium megállapítása az IMWG kritériumok alapján történt, a FISH eredményeket pedig t(4;14), t(14,16) és del(17p) esetén tekintettük kedvezőtlennek. A teljes túlélés

meghatározásánál a bármilyen okból bekövetkezett halálozásig eltelt időt vettük számításba, míg a progressziómentes túlélés esetén a relapszusig eltelt időszakot.

A DNS mintákat perifériás vérmintából nyertük ki QiaAmp DNA Blood Mini Kit segítségével (Qiagen GmbH, Germany). LightSNip assay-eket alkalmaztunk a CRBN (rs121918368 C>T), CTNNB1 (rs4135385 A>G, rs4533622 A>C) és GSTP1 105 (rs1695 A>G) és GSTP1 114 (rs1138272 C>T) (TIB-MolBiol, Berlin, Germany) polimorfizmusok meghatározásához, mely egy LightCycler 480 RealTime PCR készülékben történt (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Az eljárások a gyártó ajánlása alapján történtek. A PCR reakció 20 microliteres közegben ment végbe, mely Light Cycler Fast Start DNA Master HybProbe–ot tartalmazott (Roche Diagnostics).

**3.** A fiatalkori myeloma multiplexes betegek sajátosságainak vizsgálata során a 40 éves vagy annál fiatalabb betegek adatait tekintettük át. A betegeknél az MM diagnózisa 2006. január 01. és 2015. december 31. között született. A diagnózis felállítása az IMWG kritériumoknak megfelelően történt. Azon betegek, akiknél MGUS, smouldering myeloma vagy szoliter plasmocytoma igazolódott, nem vettek részt a tanulmányban. A citogenetikai eltérések vizsgálata fluoreszcens in situ hibridizáció segítségével történt. A betegek kezelése a legújabb ajánlások szerint történt.

### **Statisztikai elemzés**

Az adatok elemzéséhez SPSS22 statisztikai programot használtunk. A kategorikus változók gyakoriságát khi-négyzet, illetve Fischer-féle exact-teszttel vizsgáltuk. A folyamatos változók eloszlását Kolmogorov-Szmirnov-teszttel ellenőriztük, normális eloszlás esetén független mintás t-próbát, egyébként Mann-Whitney-tesztet használtunk a csoportok összehasonlításánál. A túlélések meghatározása Kaplan-Meier-módszerrel, az összehasonlítás logrank teszttel történt. A különbséget  $p < 0,05$  esetén vettük szignifikánsnak.

#### 4. Eredmények

1. Ötvenegy DLBCL-es beteg, 32 férfi és 19 nő esetét vizsgáltuk. A betegek átlagéletkora 53,1 év volt. A betegek 1-8 ciklus (átlagosan 6,2 ciklus) R-CHOP14 vagy R-CHOP21 kemoterápiát kaptak. A tanulmányt 2016 májusával bezárólag végeztük, az átlagos követési idő 3,78 év volt. Az esetek 42%-ában non-GC típusú betegséget diagnosztizáltunk, 24%-ban centrum germinatívum típust, a fennmaradó hányad sejteredete nem volt meghatározható. A terápiás választ és túlélési adatokat a CYP2E1, GSTP1, NAT1 és NAT2 polimorfizmusok vonatkozásában vizsgáltuk.

A CYP2E1 gén esetén, amely a citokróm P450 rendszer egyik fontos tagját kódolja, a TT genotípust találtuk dominánsnak betegeink körében. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a klinikai jellemzők és terápiás válasz tekintetében az AA, AT és TT genotípusú betegek között. A betegek eseménymentes túlélésének vonatkozásában azt találtuk, hogy a túlélés AA genotípusú betegekben kedvezőbb az AT és TT genotípushoz viszonyítva, habár az eredmény nem volt szignifikáns ( $p=0,604$ ). A teljes túlélés vonatkozásában hasonló összefüggést találtunk, ugyanis az AA csoportban kaptunk jobb eredményeket ( $p=0,645$ ).

A GSTP1 gén esetén a homozigóta AA genotípus bizonyult gyakoribbnak a vizsgált populációban, csupán 5 beteg hordozott kettő G allélt. A klinikai jellemzők és terápiás válaszok hasonlóan alakultak a különböző genotípusú csoportokban. A teljes túlélés vizsgálatakor a G allélt hordozókban alakult kedvezőbben a túlélés ( $p=0,647$ ), míg eseménymentes túlélés esetén az A allélt hordozókban ( $p=0,350$ ), habár az eredmények nem voltak szignifikánsak.

NAT1 gén esetén AA homozigóta beteg nem fordult elő. Valamilyen kedvező választ, így parciális vagy komplett remissziót leginkább az AG heterozigóta csoportban tudtunk elérni. A NAT1 gén polimorfizmusai és a betegek eseménymentes és teljes túlélése között nem találtunk egyértelmű összefüggést ( $p=0,939$ ,  $p=0,761$ ).

A NAT2 gént illetően a betegek többsége heterozigótának bizonyult. A terápiás válasz a GG homozigóta populációban volt kedvezőbb. Nemesak a terápiás válasz, hanem a teljes és eseménymentes túlélés vizsgálata során is a GG homozigóta csoport adatai alakultak kedvezőbben ( $p=0,932$ ,  $p=0,949$ ).

2. A cereblon-béta-katenin gének polimorfizmusainak vizsgálatához kilencvenhét 2012. január és 2016. december között diagnosztizált myeloma multiplexes beteget vontunk be a vizsgálatba. A betegek átlagéletkora a diagnózis idején 62,47 év volt, a férfi:nő arány 43:54-nek adódott. Az ISS stádiumok megoszlása a következőképpen alakult: ISS1 27,8%, ISS2 42,3%, ISS3 29,9%. 67 beteg esetén történt FISH vizsgálat, melyek közül 42 esetben (62,7%) kedvezőtlen prognosztikai marker jelenléte igazolódott. A betegek thalidomid-alapú (59 eset), lenalidomid-bázisú (18 eset) vagy alkiláló szert tartalmazó (57 eset) kemoterápiás kezelésben részesültek. 38 beteg másod- vagy harmadvonalbeli kezelést is kapott.

A vizsgált populációban a CTNNB1 (rs4135385) AA, AG és GG genotípusok megoszlása 48,5%, 47,4% és 4,1% volt. Az AA genotípusú betegek idősebbnek bizonyultak a G allélt hordozó csoporthoz viszonyítva (64,5 év vs 61 év,  $p=0,05$ ). Az ISS stádium és FISH eredmények alakulását beteginkben a CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmusa nem befolyásolta.

Az rs4533622 polimorfizmust illetően betegeink leginkább heterozigóták voltak (AC 50,5%), kisebb hányaduk CC (31%) és AC (18,5%) genotípusú volt. A C alléllra nézve homozigóta csoportban a betegség szignifikánsan fiatalabb életkorban jelentkezett (59,1 év vs 65,7 év,  $p=0,015$ ). Továbbá a nőbetegek leginkább AA genotípusúnak adódtak. A béta-katenin előző polimorfizmusához hasonlóan az rs4533622 polimorfizmus sem befolyásolta az ISS alakulását és a FISH vizsgálatok eredményét.

A CRBN (rs121918368) polimorfizmusának vizsgálatokor minden betegünk CC genotípusú volt, így ezen polimorfizmus összefüggéseit a betegség klinikai lefolyásával, a betegek terápiára adott válaszával, valamint a betegek túlélési adataival nem vizsgáltuk.

A GSTP1 105 polimorfizmus vizsgálatokor 54 beteg (55,7%) volt AA (Ile/Ile) homozigóta, 33 beteg (34%) AG (Ile/Val), míg 10 beteg (10,3%) GG (Val/Val) genotípusú. Nemcsak a GSTP1 105, hanem a GSTP1 114 polimorfizmust is vizsgáltuk, a betegek megoszlása a következőképpen alakult: CC (Ala/Ala) 85 eset (87,6%), CT (Ala/Val) 12 eset (12,4%). Egyik GSTP1 polimorfizmus esetén sem találtunk összefüggést betegeink körében a klinikai jellemzőkkel, terápiás válasszal vagy túléléssel.

A már említett CTNNB1, CRBN és GSTP1 polimorfizmusok függvényében vizsgáltuk a betegek terápiára adott válaszát és progressziómentes túlélését is. A CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmus esetén AA genotípusú betegekben az imid-alapú kemoterápia hatékonyabbnak

bizonyult ( $p < 0,05$ ) és a betegek progressziómentes túlélése ( $p = 0,032$ ) is kedvezőbb volt. Az egyváltozós Cox analízis (HR: 2,371 [1,026-5,477],  $p = 0,043$ ) és többváltozós analízisek alapján (HR: 2,544 [1,099-5,933],  $p = 0,029$ ) a CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmusa független prognosztikai tényező lehet az ISS stádium és FISH eredmények vonatkozásában. II. vagy III. stádiumú betegekben a G allélt hordozókban kedvezőtlenebb volt a túlélés az AA csoporthoz viszonyítva. Ezzel ellentétesen a CTNNB1 másik polimorfizmusa nem befolyásolta szignifikánsan a thalidomid vagy lenalidomid alapú kezelés hatékonyságát. A progressziómentes túlélés kedvezőbben alakult az AA genotípusú csoportban, de a túlélési görbék nem térnek el egymástól jelentős mértékben. Nem találtunk szignifikáns összefüggést a béta-katenin polimorfizmusok és az imid-terápia mellékhatásai között. A GSTP1 polimorfizmusok vonatkozásában sem találtunk szignifikáns összefüggést a terápia hatékonyságában és a betegek túlélési adataiban.

**3.** A Debreceni Egyetem Klinikai Központ Belgyógyászati Intézet Hematológiai Tanszékén gondozott 312 myeloma multiplexes beteg közül mindösszesen 16 (5,1%) beteg, 10 férfi és 6 nő bizonyult 40 évesnek vagy annál fiatalabbnak a diagnóziskor. 8 betegnek IgG, 3 betegnek IgA, 3 betegnek könnyűlánc, 2 betegnek pedig non-szekretoros myeloma multiplexe volt. FISH vizsgálat 11 esetben történt, 6 esetben hiperdiploiditást igazoltunk, t(4;14) transzlokációt három, del(17p) eltérést pedig 2 esetben találtunk. CRAB eltérések közül leggyakrabban, 14 betegnél csonteltérés igazolódott, ezt követte 3 esetben a hypercalcaemia, majd az anaemia 2 betegben, végül pedig a veseelégtelenség 2 esetben. 5 beteg legalább kettő eltéréssel rendelkezett a CRAB kritériumok közül. Az ISS stádiumok megoszlása a következőképpen alakult: 7 páciens ISS1, 5 ISS2 és 4 ISS3 stádiumú volt. Indukciós kezelésként 12 esetben alkalmaztunk bortezomib tartalmú kombinációkat, így VTD (bortezomib-thalidomid-dexamethason), PAD (bortezomib-doxorubicin-dexamethason), CyBorDex (cyclophosphamid-bortezomib-dexamethason) vagy VTD-PACE kezelést (bortezomib-thalidomid-dexamethason-cisplatin-doxorubicin-etoposid-cyclophosphamid), 2 betegnek thalidomid-dexamethason kezelést és 2 betegnek VAD (vincristin-doxorubicin-dexamethason) kezelést indítottunk. 2 beteg progresszió miatt még az indukciós kezelés időszaka alatt elhunyt, egyikük esetén plazmasejtes leukaemia igazolódott. 14 esetben autológ őssejt-transzplantációt végeztünk nagy dózisu (200 mg/m<sup>2</sup>) melphalan kondicionáló kezelést követően. 10 páciens esetén konszolidáló vagy fenntartó kezelésre is szükség volt AH SCT után, mely kezeléseket vagy bortezomib-alapú kombinációkat jelentettek vagy monoterápiában alkalmazott thalidomid vagy interferon kezelést.

Össességében mintegy 294 beteg autológ őssejt-transzplantációját végeztük el Tanszékünkön. 132 beteg (45%) esetén más kórházban történt a diagnózis felállítása. Összehasonlítottuk a fiatal betegek kezelési eredményeit azon betegekével, akik autológ őssejt-transzplantációban részesültek, de 40 évnél idősebbek voltak a diagnózis felállítása idején.

Terápiás hatékonyság vonatkozásában nem találtunk szignifikáns eltérést a fiatal és 40 éven felüli korcsoport között, habár a fiatalok gyakrabban részesültek fenntartó vagy konszolidáló terápiában. Összehasonlítottuk a két csoport túlélési adatait is. Az 5 éves teljes túlélés a 40 éves és 40 év alatti csoportban 83% volt, míg a 40 év feletti csoportban 35%-nak adódott. Az 5 éves progressziómentes túlélés 48% és 35% volt.

## 5. Megbeszélés

A B-sejtes lymphoproliferatív kórképek prognózisát számos tényező befolyásolja, melyek közül egyre többet ismerünk meg. Egyre nagyobb figyelem irányul a genetikai vizsgálatokra, így a különböző gyógyszermetabolizáló gének polimorfizmusának vizsgálatára, és egyéb, a betegség kimenetelét befolyásoló faktorok keresésére, melyek segítségével lehetőség szerint a betegek kezelése hatékonyabbá válhat, ezáltal az eseménymentes és teljes túlélés ideje is növelhető.

Munkánk során a diffúz nagy B-sejtes lymphoma és myeloma multiplex prognosztikai faktorainak vizsgálatával foglalkoztunk, ugyanis a betegség kimenetelét meghatározó tényezők figyelembe vételével és vizsgálatával személyre szabott orvoslásra is lehetőségünk nyílik.

A dolgozatom alapjául szolgáló tanulmányok egyikében a DLBCL-es betegek R-CHOP terápiára adott válaszát és túlélését vizsgáltuk gyógyszermetabolizáló gén polimorfizmusok függvényében. Számos enzim felelős a patomechanizmus szempontjából fontos toxikus anyagok eliminálásáért, így például a CYP, GSTP és NAT enzimek. Az említett enzimek hibás működése felelős lehet a lymphomageneziséért, de mivel a gyógyszerek metabolizmusában is fontos szerepük van, így a terápia hatékonyságát és ezáltal a betegek túlélését is befolyásolják. A citokróm P450 enzimek a detoxifikálás első fázisában vesznek részt, míg a glutathione-S-transzferáz enzimek a második szakaszban a glutathionnal történő konjugációért felelősek. Tanulmányunkban a CYP2E1 (rs2070673), GSTP1 (rs1695), NAT1 (rs4986782) és NAT2 (rs1208) gének polimorfizmusait vizsgáltuk 51 diffúz nagy B-sejtes lymphomás beteg esetén. A CYP2E1 a CYP enzim család olyan tagja, mely leginkább a májban expresszálódik, és szerepet játszik a nitrózaminok és a szervezetbe jutó kis méretű toxikus molekulák metabolizmusában. A CYP2E1 polimorfizmusa befolyásolja a DLBCL kialakulását és az alkalmazott R-CHOP kezelés hatékonyságára is hatással van, ugyanis a cyclophosphamid és rituximab lebontásában is szerepel. A vizsgált beteganyagunkban azt találtuk, hogy a T allélra nézve homozigóta betegek terápiára adott válasza és eseménymentes túlélése kedvezőbben alakult, viszont a teljes túlélés esetén nem találtunk különbséget a 3 csoport között. Utóbbi oka lehet az is, hogy a betegek teljes túlélését számos egyéb, a betegségtől, kezeléstől független tényező is befolyásolja. A glutathion-S-transzferáznak is fontos szerepe van a gyógyszerek lebontásában, ezáltal a DLBCL-ben alkalmazott R-CHOP

kezelés hatékonyságában és a terápia során fellépő mellékhatások jelentkezésében. Irodalmi adatok alapján a GSTP1 AG genotípus esetén kisebb a non-Hodgkin-lymphoma kialakulásának rizikója. Betegeink körében csupán 5 esetben találtunk GG genotípust, a betegek többsége AA homozigóta volt. Nem találtunk számottevő különbséget a különböző genotípusú csoportokban a klinikai adatok, terápiás válasz és túlélési adatok vonatkozásában. A NAT1 és NAT2 enzim szintén fontos szerepet tölt be a toxikus ágensek eliminálásában. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a NAT1 az előzőeken kívül fontos szereppel bír a sejtnövekedésben és az etoposid rezisztencia kialakulásában. Saját tanulmányunkban a betegek jelentős része GG genotípusú volt. Vizsgálataink alapján az A allél hordozása kedvezőbb túlélést jelentett a betegek számára, illetve AG heterozigóta betegekben R-CHOP kezelést követően nem szignifikánsan, de nagyobb arányban értünk el komplett remissziót. A NAT2 enzim vonatkozásában is hasonló eredményt kaptunk, ugyanis az A allél jelenléte hosszabb túléléssel társult.

Dolgozatom másik fő része a myeloma multiplex volt, részben a fiatalkori myeloma multiplexes betegek jellegzetességeit vizsgáltuk meg, illetve a cereblon-béta-katenin gén polimorfizmusok hatását tanulmányoztuk MM-es betegekben.

Kilencvenhét MM miatt gondozott beteg esetén cereblon-béta-katenin és glutathion-S-transzferáz polimorfizmusok szerepét vizsgáltuk a terápiás válasz és túlélés tekintetében. Napjainkban egyre nagyobb szerep jut a személyre szabott kezelésnek, melynek alkalmazásával a terápia hatásossága növelhető. Számos tanulmány vizsgálta a cereblon szerepét myeloma multiplexben. A CRBN alacsony expressziója esetén a thalidomid vagy lenalidomid kezelés szignifikánsan kevésbé hatékony, illetve magasabb az imid rezisztencia kialakulásának esélye is. A betegeink mindannyian CC genotípusúak voltak a CRBN gén vonatkozásában, így további vizsgálatokat nem végeztünk.

A béta-katenin útvonal szintén fontos szereplője a myeloma multiplex kialakulásának és kezelhetőségének. A CTNNB1 (rs4533622) polimorfizmus a betegség klinikai viselkedésében játszik szerepet, míg az rs4135385 polimorfizmus a betegségre predisponáló faktor is lehet. Betegeink esetén azt találtuk, hogy a CTNNB1 (rs4533622) kapcsán az A allélt hordozó betegekben fiatalabb életkorban jelentkezett a betegség, illetve a férfiak kevésbé hordoznak A allélt. Ezeket az összefüggéseket eddig még nem írták le myeloma multiplexben. Tanulmányok szerint a CTNNB1 (rs4533622) AA genotípus esetén a betegek kedvezőbben reagáltak az első vonalban alkalmazott thalidomid-tartalmú kezelésre. A CTNNB1

(rs4533622) polimorfizmus a betegség ISS stádiumát is befolyásolja, ugyanis A allél jelenléte esetén magasabb ISS stádiumba volt sorolható a betegség. Irodalmi adatok szerint az AA homozigóta betegekben kedvezőbben alakult a terápiás válasz, viszont nagyobb arányban alakult ki neutropenia is ezekben a betegekben. A mi kohorszunkban nem tudunk a betegség stádiuma, valamint a kezelésre adott válasz és a különböző génpolimorfizmusok között szignifikáns összefüggést találni. Számos tanulmány vizsgálta a CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmusnak a szerepét a malignus betegségek kialakulásában. A Wnt/béta-katenin útvonal szereplői részt vesznek a sejtek proliferációjában, differenciációjában, illetve az apoptózis indukcióban, valamint a szövetspecifikus őssejtek differenciálódásában, így például a colon epithelium, bőr, csontvelői őssejtek kialakulásában. A Wnt útvonal funkciójának csökkenése esetén a carcinogenesis rizikója emelkedik. Így tehát a béta-katenin nemcsak a terápia hatékonyságát, hanem a myeloma kialakulását is befolyásolja. Egy tanulmány szerint a CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmus myeloma multiplexben befolyásolta a CTD kezelés hatékonyságát. Eredményeink megerősítették az előbbi feltevést, ugyanis betegek között is az AA homozigóta betegekben alakult kedvezőbben az Imid kezelést követő terápiás válasz és progressziómentes túlélés is. A CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmus független prognosztikai tényezőnek is tekinthető az ISS stádiumon és FISH eredményen kívül. Kohorszunkban nem találtunk szignifikáns összefüggést az imid kezelés mellékhatásai és a CTNNB1 polimorfizmusok között. A glutathion-S-transzferáz is fontos szerepet játszik a carcinogenesisben és a kemoterápia hatékonyságában. A GSTP1 105 variáns esetén az enzim detoxifikáló funkciója csökken, így a citosztatikus enzimek hatékonysága növekszik. Azokban a betegekben, akik GSTP1 105 lle homozigóták, mind a progressziómentes, mind pedig a teljes túlélés is kedvezőbben alakul alkiláló vagy antraciklin-alapú kezelés esetén. Vizsgálati anyagunkban nem tudtuk a GSTP1 105 és GSTP1 114 polimorfizmus hatását igazolni a terápiás válasz és túlélés tekintetében.

További vizsgálatunk célja az volt, hogy megnézzük a 40 éves és annál fiatalabb korban diagnosztizált betegek jellegzetességeit és összehasonlítsuk a túlélési adataikat az idősebb betegek túlélésével. A 40 évnél fiatalabb betegek aránya 2%-ra tehető. 10 éves követési idő alatt 16 fiatal beteget találtunk betegek között, mely az adott megfigyelési időszak alatt az összes beteg 5,1%-át jelentette, mely magasabb más centrumok adatainál. Számos centrum vizsgálatai igazolták, hogy a fiatalabb életkorban jelentkező betegségben gyakoribbak a csonttérések, plasmocytomák, mely megfigyelést egy lengyel munkacsoport megerősített 173 fiatal beteg vizsgálata kapcsán. Ugyanez a kutatócsoport 52 esetben

diagnosztizált myeloma multiplexet 30 éves kor előtt, mely betegekben 22% volt a könnyűlánc betegség gyakorisága, illetve a Mayo Klinika vizsgálatában ebben a korcsoportban a plazmasejtes leukaemia és a myelomához társuló veseelégtelenség magasabb arányban jelent meg. Saját betegcsoportunkban a CRAB tünetek közül a csonteltérések voltak jellemzőek, habár az alacsony betegszám miatt szignifikanciát nem tudtunk számítani. Csupán 1 esetben fordult elő plazmasejtes leukaemia. Egy osztrák munkacsoport vizsgálta először a fiatalabb korú myelomás betegek citogenetikai eltéréseit és hasonlította össze az idősebb páciensek jellemzőivel, de nem találtak szignifikáns eltérést a két csoport között. Vizsgálatunk során 10 beteg esetén történt citogenetikai vizsgálat, és mind standard, mind pedig magas rizikójú betegséget is találtunk. Minden betegünk autológ őssejt-transzplantáció várományosa volt, 2 esetben azonban nem tudtuk elvégezni a gyors lefolyás, primer refrakter betegség miatt. Az alkalmazott terápia megfelelt az IMWG ajánlásainak, 2007 előtt VAD protokollt alkalmaztunk, majd azt követően thalidomid és bortezomib alapú kezelések kerültek előtérbe. Egy tanulmány azt is vizsgálta, hogy konvencionális kemoterápiát követően végzett AHSCT során hogyan alakult a betegek túlélése az idősebb korcsoportéhoz viszonyítva, és eredményeik szerint a két populáció között érdemi eltérés nem igazolható, habár a progressziómentes és teljes túlélés kedvezőbben alakult a 40 éves és 40 éven aluli csoportban. Az irodalomban közölt eredmények a fiatal és idős betegek terápiás válasz és túlélési adatainak összehasonlítása tekintetében nem egységesek.

A myeloma multiplexes betegek kezelési eredményei és túlélési adatai jelentősen javultak, köszönhetően az újabb kezelési módszerek, így proteaszoma-inhibitorok, immunmoduláns szerek és monoklonális antitestek bevezetésének. Az újabb, hatékonyabb kezelési lehetőségek ellenére a myeloma multiplex még mindig gyógyíthatatlan hematológiai betegség. Habár számos terápiás szer áll rendelkezésre, a fiatal betegek, különösen a magas rizikójú betegek kezelésére nincsen egyértelmű ajánlás. A fiatal betegek esetén mindenképpen az autológ őssejt-transzplantáció elvégzése a cél. A transzplantációt követő konszolidáló és fenntartó kezelés alkalmazása is indokoltnak tűnik. Napjainkban a leginkább elfogadott fenntartó kezelés a lenalidomid terápia. Betegeink közül 7 esetben alkalmaztunk valamilyen fenntartó terápiát AHSCT után, így bortezomib, lenalidomid, thalidomid, interferon kezelést. MM esetén az allogén őssejt-transzplantáció lehet az egyedüli kuratív megoldás, viszont ezen kezelési modalitás rutinszerű alkalmazásáról a magas mortalitási ráta miatt megoszlanak a vélemények. A fiatal betegek körében nem alkalmaztunk allogén transzplantációt, mivel a betegek állapota nem tette ezt lehetővé. Az allogén transzplantáció bevezetését viszont

tervezzük olyan fiatal betegekben, akik az autológ AHST után hamar relabálnak. Tanulmányunk nehézségét az alacsony betegszám jelenti, de vizsgálatunk rávilágított arra, hogy fontos lenne a fiatal betegek számára is terápiás ajánlás bevezetése.

Vizsgálataink azt mutatják, hogy mind diffúz nagy B-sejtes lymphomában, mind pedig myeloma multiplexben a személyre szabott orvoslásnak nagy szerepe lenne, ugyanis a munkám során részletezett polimorfizmus vizsgálatok segítségével hatékonyabbá válhatna a betegek kezelése és javítható lenne a túlélésük is.

## Összefoglalás, új eredmények

Tudományos munkáink legfontosabb eredményei:

1. Vizsgálataink felvetették a CYP2E1, GSTP1, NAT1 és NAT2 gének polimorfizmusainak szerepét a DLBCL-es betegek R-CHOP terápiára adott válaszában és túlélésében, viszont eredményeink tekintettel a kis betegszámra, nem voltak szignifikánsak.

2. A cereblon-béta-katenin útvonal gének polimorfizmusai befolyásolják a myeloma multiplexes betegek túlélését, ugyanis a CTNNB1 (rs4135385) polimorfizmus esetén AA genotípusú betegeknél idősebb korban jelentkezik a betegség, ugyanakkor szignifikánsan hatékonyabb a thalidomid és lenalidomid kezelés, és kedvezőbb az eseménymentes túlélés. A CTNNB1 (rs4533622) polimorfizmus esetén A allél hordozásakor idősebb korban diagnosztizáljuk a betegséget és férfiakban gyakoribb a C allél előfordulása.

3. Fiatal, azaz 40 éves vagy annál fiatalabb korban igen ritkán diagnosztizálunk myeloma multiplexet, de szükség van minél innovatívabb terápiák bevezetésére, a fiatal betegek számára terápiás ajánlás készítésére. Eredményeink alapján a fiatal betegek több alkalommal kaptak konszolidáló/fenntartó kezelést, illetve a medián teljes túlélésük kedvezőbben alakult a 40 évnél idősebb betegekhez viszonyítva.

## 7. Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni mindazoknak a segítségét, akik hozzásegítettek doktori értekezésem megírásához.

Elsősorban hálával tartozom témavezetőmnek, Váróczy László Tanár Úrnak, aki már harmadéves orvostanhallgató korom óta támogatja tudományos munkámat. Kezdetben tudományos diákköri munkámat, majd PhD munkámat is segítette tanácsaival, ötleteivel, építő jellegű kritikáival, és azzal, hogy mind a mai napig ösztönzött arra, hogy nemcsak a tudományos tevékenység, hanem a mindennapi orvosi munka során is képezem magam. Első osztályvezetőmként az orvosi munka megkezdéséhez is hozzásegített, illetve neki köszönhetően keltette fel a hematológia az érdeklődésemet.

Köszönettel tartozom Illés Árpád Professzor Úrnak, aki lehetővé tette, hogy a Belgyógyászati Intézet B Épületének Hematológiai Tanszékéhez tartozzak. Professzor Úrnak köszönhetően végezhetem itt nemcsak az orvosi, hanem tudományos munkámat is. Tevékenységemet mindig figyelemmel kísérte, tanácsaival, ötleteivel hozzásegített ahhoz, hogy közleményeim, előadásaim létrejöhessenek.

A munkám létrejöttéhez nélkülözhetetlen polimorfizmus vizsgálatokat köszönöm Nagy Béla Adjunktus Úrnak és Zilahi Erika Adjunktus Nőnek, akik nemcsak a laboratóriumi vizsgálatok elvégzésével járultak hozzá dolgozatom elkészüléséhez, hanem azzal is, hogy a közlemények megírása kapcsán is tanácsokkal láttak el.

Köszönettel tartozom a statisztikai számítások és ábrák elkészítéséért Hodosi Katalinnak.

Köszönöm továbbá közleményeim társszerzőinek, hogy hozzájárultak közleményeim megírásához. Köszönetet mondok munkatársaimnak, akik a mindennapi munkámat segítették.

Hálával tartozom családtagjaimnak, hogy szeretetükkel mindvégig mellettem álltak és kitartásra ösztönöztek mind a mindennapi munkám, mind pedig a tudományos tevékenységem végzése során.



Nyilvántartási szám: DEENK/2/2020.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Pál Ildikó  
Neptun kód: VFILOV  
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Pál, I.**, Szilágyi, B., Nagy, B. J., Pál, T., Hódosi, K., Illés, Á., Váróczy, L.: The Impact of Beta-Catenin and glutathione-S-transferase Gene Polymorphisms on the Treatment Results and Survival of Multiple Myeloma Patients.  
*Pathol. Oncol. Res. [Epub ahead of print]*, 1-6, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-019-00747-5>  
IF: 2.433 (2018)
2. **Pál, I.**, Illés, Á., Váróczy, L.: Multiple Myeloma of the Young: a Single Center Experience Highlights Future Directions.  
*Pathol. Oncol. Res. [Epub ahead of print]*, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-018-0526-1>  
IF: 2.433
3. **Pál, I.**, Illés, Á., Gergely, L., Pál, T., Radnay, Z., Szekanecz, Z., Zilahi, E., Váróczy, L.: The Impact of Drug Metabolism Gene Polymorphisms on Therapeutic Response and Survival in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients.  
*Isr. Med. Assoc. J.* 20 (4), 217-221, 2018.  
IF: 0.828

### További közlemények

4. **Pál, I.**, Illés, Á., Nagy, B. J., Szilágyi, B., Váróczy, L.:  $\beta$ -katenin és glutathion-S-transzferáz génpolimorfizmusok vizsgálata myeloma multiplexben.  
*Hematol. Transzfuziol.* 51 (2), 77-85, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/2068.2018.51.2.5>





5. Kovács, Z., Simon, Á., Szabó, Z., Nagy, Z., Váróczy, L., **Pál, I.**, Csánky, E., Guttman, A.: Capillary electrophoresis analysis of N-glycosylation changes of serum paraproteins in multiple myeloma.  
*Electrophoresis*. 38 (17), 2115-2123, 2017.  
IF: 2.569
6. **Pál, I.**, Szamosi, S., Hódosi, K., Szekanecz, Z., Váróczy, L.: Effect of Fc[gamma]-receptor 3a (FCGR3A) gene polymorphisms on rituximab therapy in Hungarian patients with rheumatoid arthritis.  
*RMD Open*. 3 (2), 1-4, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/rmdopen-2017-000485>
7. **Pál, I.**, Pusztai, A., Csomor, P., Szekanecz, Z.: Rheumatoid arthritises biobankkal szerzett tapasztalataink: 204 beteg biológiai mintáinak és klinikai adatainak összevetése.  
*Orvosi Hetilap*. 158 (7), 279-286, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2017.30.650>  
IF: 0.322
8. Radnay, Z., Udvardy, M., Papp, M., Hársfalvi, J., Rejtő, L., **Pál, I.**, Illés, Á., Kiss, A.: Evaluation of Mannose-Binding Lectin is a Useful Approach to Predict the Risk of Infectious Complications Following Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation.  
*Transplant. Proc.* 48, 3397-3405, 2016.  
IF: 0.908
9. **Pál, I.**, Illés, Á., Pál, T., Váróczy, L.: Refrakter-relabáló plazmasejtes myeloma kezelésével szerzett tapasztalataink.  
*Hematol. Transzfuziol.* 48, 96-101, 2015.
10. **Pál, I.**, Zilahí, E., Illés, Á., Gergely, L., Radnay, Z., Váróczy, L.: Gyógyszermetabolizmus-gének polimorfizmusának vizsgálata diffúz nagy B-sejtes lymphomás betegeinknél.  
*LAM*. 24 (12), 577-583, 2014.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,493**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 5,694**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományos metrika ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2020.01.06.

