

Prognosztikai faktorok vizsgálata krónikus lymphoid leukemiában

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Dr. Kovács Gábor

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ,

I. sz. Belgyógyászati Klinika



Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Haematológia Program

Doktori Iskola Vezető: Prof. Dr. Sümegi Balázs

Program vezető: Dr. med. habil. Alizadeh Hussain PhD

Témavezető: Prof. Dr. Losonczy Hajna

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

2017

1. Bevezetés

A krónikus lymphoid leukémia (CLL) indolens hematológiai malignitás, melyet alapvetően lassú lefolyás, hosszú túlélés jellemez, egyes betegeknél azonban a progresszió gyors, a várható túlélés rövid. A betegség **klinikai stádiumbeosztásai** (Binet, Rai) definiálták annak korai (Rai 0, Binet A), intermedier (Rai I-II, Binet B), valamint előrehaladott (Rai III-IV, Binet C) stádiumait, az ehhez tartozó becsülhető túléléseket. E beosztások azonban (különösen a ma már korai stádiumban diagnosztizált betegek esetében) nem jelezték előre a várható progressziót. Szükségessé vált olyan faktorok meghatározása, melyek a diagnóziskor előre vetítik a betegség várható lefolyását.

Biológiai faktorok, mint a betegek **életkora**, **neme**, a betegség **csontvelői** illetve **nyirokcsomói infiltrációjának mintázata** összefüggést mutatnak a várható prognózissal.

Biokémiai faktorok, mint a **szérum béta-2-mikroglobulin** (sB2M), **laktát-dehidrogenáz** (LDH), **timidin-kináz** (sTK), illetve a plazma **szolubilis CD23-szint** (sCD23) korrelációt mutatnak a teljes tumortömeeggel és a várható túléléssel is.

Citokémiai paraméterek, mint a sejtfelszíni **CD38 pozitivitás** negatív prognosztikai szerepét 20%-os cut-off felett Ibrahim publikálta, 30%-os cut-off felett ugyanezt Damle is megerősítette. A **zéta-asszociált-fehérje-70** (ZAP-70) fokozott expressziójának klinikummal való negatív összefüggését 2003-ban Crespo bizonyította.

A metafázis citogenetikai vizsgálatok megjelenésével a betegek 40-50%-ában sikerült genetikai eltérést kimutatni. Az interfázis citogenetikai vizsgálatok (fluorescens in situ hybridizáció [FISH]) elérhetővé válásával már a betegek 80%-ában volt genetikai eltérés detektálható: 55%-ban a 13-as, 18%-ban a 11-es kromoszóma hosszú karjának deléciója (**del(13q)** és **del(11q)**), 16%-ban a 12-es kromoszóma triszómiája (**+12**), 7%-ban a 17-es kromoszóma rövid (**del(17p)**) és 6%-ban a 6-os kromoszóma hosszú karjának deléciója (**del(6q)**). Az átlagos kezelés mentes periódust és túlélést vizsgálva a normál kariotípus és a del(13q) önálló jelenléte jó, míg a del(11q), del(17p) megjelenése rossz prognosztikai jelnek bizonyultak. A +12 és a del(6q) prognosztikai szerepe azonban vitatott maradt.

Az immunglobulin-nehézlánc-gén (**IgHV**) polimeráz láncreakciót (PCR) követő direkt szekvenálása során igazolást nyert, hogy a betegek 45.2%-ában $\geq 98\%$ szekvencia azonosság mutatkozik a germline nehézlánc génnel (unmutated [UM] *IgHV* gén státusz), míg 54.8%-ban $>2\%$ szomatikus mutáció (mutated [M] *IgHV* gén státusz) volt kimutatható. Előbbi betegek átlagos túlélése 95 hónap, utóbbiaké 293 hónapnak bizonyult. Az *IgHV* gén szekvencia analízise

során további vizsgálatok történtek a nehézlánc géncsalád típusának meghatározása irányában. Igazolást nyert, hogy a V₃₋₂₁ szekvencia fennállása M státusz mellett is a prognózisra negatív hatású.

A betegség kezelésében ugyanakkor dinamikus fejlődés történt. A kemoterápiát monoklonális antitest kezeléssel kombinálva szignifikánsan hosszabb túlélés (overall survival [OS]) volt elérhető. Bizonyítást nyert, hogy több új, célzott terápia (kináz inhibitorok, bcl-2 gátlók stb.) mellett szignifikánsan hosszabb progresszió mentes túlélés (progression free survival [PFS]) érhető el. Az új kezelési lehetőségek hatékonyságának gyors mérésére, egyben a kezelés után várható további prognózis megítélésére volt szükség. Ennek fényében készült az amerikai Nemzeti Rákkutató Központ (National Cancer Institute [NCI]) támogatásával a CLL Munkacsoport 1988-as és 1996-os irányelve, melyek meghatározták a betegség kezelése után kialakult főbb **klinikai terápiás válaszok** ismérveit (komplett [CR] és parciális remisszió [PR], nem-reagáló és progrediáló betegség [PD]). Miután a kezelés utáni terápiás válaszok jól korreláltak a kezelés után várható prognózissal, túléléssel, a kezelés hatékonyságának mérésében az érdeklődés középpontjába kerültek.

A terápiás válasz mélységének pontosabb megítélésére adott lehetőséget a perifériás vérből elvégzett áramláscitometriai vizsgálat a CLL-es sejtek detektálására. A módszer standardizálásával definiálhatóvá vált a minimális reziduális betegség (minimal residual disease [MRD]) fogalma, az MRD negativitás kritériuma ($<10^{-4}$ CLL fenotípusú B-lymphocyt / összes leucocyt). A Nemzetközi CLL Munkacsoport (International Workshop on CLL [IWCLL]) az MRD definícióját is magába foglaló újabb irányelvet adott ki 2008-ban, mely ajánlasként tartalmazta CR esetén perifériás vérből az MRD mérését, tovább finomítva a terápiás választ az MRD-pozitív és negatív CR-al. Prognózis szempontjából egyértelműen hosszabb PFS és OS volt igazolható MRD negativitás elérése esetén. Miután az MRD mérés lehetőséget ad a kezelés hatékonyságának, a kezelés után várható prognózisnak, túlélésnek mielőbbi becslésére, úgy a US Food and Drug Administration (FDA), ahogy a European Medicines Agency (EMA) is fontolóra vette annak klinikai vizsgálati végpontként történő alkalmazását. Fentiek miatt kezdetben az MRD-t a CR-t elért betegek esetében, a remisszió mélységének további megítélésére használták. A vizsgálatok megindulásával azonban nemcsak CR-t elért betegek esetében, de PR esetén is észlelhető volt MRD negativitás kialakulása úgy csontvelői mintán, mint perifériás vér vizsgálata esetén. Nyitott kérdés maradt a kezelés utáni túlélés becslésében a terápiás válasz és az MRD egymáshoz viszonyított és a prognózis megítélésében betöltött szerepe.

2. A kutatás célkitűzései

Kutatásaink céljául tűztük ki a fenti prognosztikai faktorok és azok klinikai kórlefoyasra gyakorolt hatásának vizsgálatát, a prognózisban szerepet játszó további tényezők felderítését. Vizsgálatainkat két betegpopuláción végeztük: a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ (PTE KK) I. sz. Belgyógyászati Klinikájának CLL miatt gondozott 241, valamint a német CLL munkacsoport (German CLL Study Group – GCLLSG) két fázis III vizsgálatának CLL miatt kezelt 554 betegén.

Előbbi betegcsoport vizsgálata során a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Az irodalmi adatokban igazolt prognosztikai faktorok szerepe bizonyítható-e saját beteganyagunkon?
2. Az irodalmi adatokban nem egyértelmű prognosztikai jelentőséggel bíró faktorok milyen összefüggést mutatnak a kórlefoyással saját beteg populációnkban?
3. A prognosztikai faktorok közül melyek mutatnak független korrelációt a betegség lefoyasával?
4. Változnak-e a kórlefoyas során az egyes prognosztikai faktorok?
5. Az ismert markerek mellett igazolható-e további, a prognózisban szerepet játszó új faktor szerepe?

Utóbbi betegpopuláció vizsgálata során az alábbi kérdéseket kívántuk megválaszolni:

1. A betegség kezelésére adott klinikai terápiás válasz és a perifériás vérből elvégzett MRD vizsgálat eredménye közül melyik mutat szorosabb korrelációt a betegség további prognózisával?
2. Az MRD-negatív PR-t vagy az MRD pozitív CR-t mutató betegek számíthatnak jobb prognózisra?
3. Igazolható-e a csontvelői MRD vizsgálat jobb prognosztikai szerepe a perifériás vérből elvégzett vizsgálathoz képest?
4. Az MRD-negatív PR-t mutató betegek csoportjában a reziduális nyirokcsomó megnagyobbodást, hepatosplenomegáliát vagy reziduális csontvelői érintettséget mutató betegek prognózisa különbözik-e egymástól? Mely kompartment érintettsége jelent rosszabb prognózist?

3. *Betegek és vizsgálatok*

3.1. *Preterapeutikus prognosztikai faktorok*

Klinikánkon 2003. május és 2012. május közötti időszakban 241 CLL miatt gondozott beteg esetében értékeltük a különböző prognosztikai faktorok klinikummal való összefüggését. Adatbázisunkban rögzítettük a betegek **nemét**, diagnóziskori **életkorát**, betegségének **Rai stádiumát**, **csontvelői infiltrációjának morfológiáját** és **sB2M szintjét**.

Flowcytometriai vizsgálatokat végeztünk etiléndiamin-tetraecetsavval (EDTA) alvadásgátolt perifériás vérből FACScan és FACSCalibur (Becton Dickinson) flowcytométerek segítségével a PTE KK Patológiai, valamint Laboratóriumi Medicina Intézetében **CD38** és **ZAP-70** expresszió meghatározására. Vizsgálataink során a CD38 és ZAP70 pozitivitás definiálására két cut-off értéket ($\geq 20\%$ és $\geq 30\%$) alkalmaztunk, ezek klinikummal való összefüggését egyaránt elemeztük.

Heparinnal alvadásgátolt perifériás vérből 3 napos in vitro tetradecanoyl-0-phorbol-13-acetát (TPA) stimulációt követően **metafázis citogenetikai vizsgálatokat** végeztünk G-sávozással. A mintából izolált sejteken lókusz-specifikus próbák felhasználásával (Vysis Inc, Downers Grove, USA) FISH vizsgálatokat végeztünk a **del(13q14)** (D13S319), a **del(11q22)** (LSI ATM), **del(17p13)** (LSI p53), valamint a **+12** (CEP12) kimutatása céljából.

Fenti vérmintából fehérvérsejt izolálást követően a PTE KK Patológiai Intézetében teljes dezoxiribonukleinsav (DNS) izolálás után FR1 és JH konszenzus primerek segítségével polimeráz láncreakciót (PCR) követően direkt szekvenálást végeztük az **IgHV gén mutációs státuszának** meghatározása céljából.

A vizsgálatok során kapott eredmények mellett rögzítettük a vizsgált időintervallumban az egyes betegek esetében a diagnózistól az első kezeléséig eltelt időt (time-to-first-treatment [TTFT]) és a betegek teljes túlélési idejét ([OS] = a diagnózistól a bármely okból bekövetkezett halálig eltelt idő) .

3.2. *Postterapeutikus prognosztikai faktorok*

További vizsgálataink során a GCLLSG két fázis III vizsgálatának (CLL8: fludarabin [F] és cyclophosphamid [C] kombinációban rituximabbal [R] [FCR] versus [vs.] FC; CLL10: FCR vs. bendamustin [B] és R [BR]) adatbázisában szereplő 554 beteg esetében elemeztük az egyes

betegek kezelés előtti prognosztikai faktorainak, valamint a kezelés után észlelt minimális reziduális betegségének és klinikai válaszána kórlefolyással való összefüggését.

A prognózist esetlegesen befolyásoló **terápia előtti faktoraink** a populáció esetében a betegek életkora, neme, általános állapota (az Eastern Cooperative Oncology Group [ECOG] ajánlása szerint), társbetegségei (a Cumulative Illness Rating Scale [CIRS] alapján), a betegség Binet stádiuma, a sB2M és sTK, a del(13q), del(11q), del(17p), +12, az *IgHV* státusz voltak. A serum paraméterek meghatározása és FISH vizsgálatok a Kölni Egyetemi Klinikán zajlottak, az *IgHV* génátrendeződés vizsgálata az Ulmi Egyetemi Klinikán történt.

A prognózist esetlegesen befolyásoló hatása miatt a vizsgált betegpopuláción elvégzett analízis során az alkalmazott **kezelés típusát** (FC, FCR és BR) és a **klinikai vizsgálati populációt** (CLL8 és CLL10 trial) is figyelembe vettük.

Kezelés utáni prognosztikai markerként **MRD** vizsgálatok perifériás vérből - valamint emellett egyes betegek esetén csontvelő aspirátumból is - történtek flowcytometriai vizsgálattal, 3 hónappal az utolsó kezelés megkezdését követően (final restaging [RE]) a GCLLSG MRD Laboratóriumában (Kiel) a korábban definiáltak szerint.

A kezelés utáni **klinikai válasz** besorolását a vizsgáló orvos jelentése alapján központi, vizsgálotól független orvosi értékeléssel végeztük az IWCLL 2008 kritérium rendszere alapján, a kezelés befejezésekor (end of treatment [EOT]). Az inkomplett csontvelői regeneráció mellett komplett remisszióba került betegek (complete remission with incomplete bone marrow recovery [CRi]) terápiás válaszát CR-nak tekintettük.

Az egyes betegek esetén rögzítettük a PFS-t (randomizációtól a progresszió megjelenéséig vagy a beteg bármely okból bekövetkező haláláig eltelt idő) és OS-t (randomizációtól a beteg bármely okból bekövetkező haláláig eltelt idő).

3.3. Statisztikai analízis

Túlélési görbéinket Kaplan-Meier analízissel kalkuláltuk és két-mintás, nem stratifikált log-rank teszttel hasonlítottuk össze. Cox regressziós modellel egyváltozós analízist végeztünk az egyes prognosztikai faktorok TTFT-re, PFS-re és OS-ra gyakorolt hatásának igazolására. Az analízisek során a fenti intervallumokra szignifikáns hatást mutató faktorok alkalmazásával többváltozós Cox regressziós analízist végeztünk stepwise-szelekcióval, a független prognosztikai faktorok azonosítására. Szignifikánsnak tekintettük az összefüggést $p < 0.05$ esetén.

4. Eredmények

4.1. Preterapeutikus prognosztikai faktorok

A 241 CLL miatt gondozott betegünk esetében az átlagos életkor 64.6 év volt (életkor: 33-89 év). A vizsgált betegpopulációban enyhe férfi túlsúly (n=136, 56%) mutatkozott, a betegek túlnyomó többségénél a betegséget korai stádiumban diagnosztizáltuk (Rai 0: n=112, 46.5%, Rai I: n=78, 32.4%). Csontvelő vizsgálatra 106 beteg esetében (diffúz infiltráció 51 eset [48%]), sB2M meghatározásra a betegség diagnózisakor 212 esetben (>3.5 mg/l 41 eset [19%]) volt módunk. CD38 mérés 222 esetben történt ($\geq 20\%$ 84, míg $\geq 30\%$ 67 eset). ZAP70 pozitivitást mind 20%, mind 30%-os cut-off érték mellett igen magas arányban észleltünk ($\geq 20\%$ 85.4%, $\geq 30\%$ 78.9%). Kromoszóma vizsgálatok 150 beteg esetében történtek, 2 esetben a vizsgálat nem volt informatív. A módszerrel 71 esetben (47.3%) tudtunk genetikai eltérést kimutatni. Leggyakoribb visszatérő eltérésnek a del(13q) (n=27, 18%), del(11q) (n=16, 10.7%), +12 (n=15, 10%), del(17p) (n=6, 4%) és del(6q) (n=7, 4.7%) bizonyultak. 34 esetben további ritka, szórványos eltéréseket tapasztaltunk. Részletes FISH vizsgálatokat a del(13q), del(11q), del(17p), valamint +12 irányában 101 beteg esetében tudtuk teljesen elvégezni, melyek közül 81 esetben (80.2%) volt eltérés kimutatható. Az elvégzett genetikai vizsgálatok során összességében az egyes genetikai eltérések az alábbi gyakorisággal voltak észlelhetők: del(13q) 52.4%, del(11q) 17.2%, +12 11.0%, del(17p) 8.8%, del(6q) 4.7%. Az *IgHV* gén szekvenálása (86 eset) során $\geq 98\%$ cut-off alkalmazása mellett betegeink 58.2%-ánál (n=50) volt UM státusz igazolható. *IgHV* szekvencia analízis során a vizsgált 86 beteg esetében 41 különböző *IgHV* géncsalád megjelenését észleltük. Leggyakrabban V₁₋₆₉ (17/86, 19.8%), sorrendben másodikként a V₃₋₂₁ szekvencia (5/86, 5.8%) volt azonosítható. A vizsgált betegpopuláció átlagos követési ideje 5.7 év (0-27.7 év) volt. A vizsgálati periódusban a betegek 33.2%-a (n=80) exitált. Kezelést a betegek 49.8%-a (n=120) igényelt.

4.1.1. Prognosztikai faktorok vizsgálata

A **Kaplan-Meier analízis**sel kalkulált túlélési görbék összehasonlításával szignifikánsan rövidebb TTFT és OS volt észlelhető férfi nem, magasabb Rai stádiumú betegség, emelkedett sB2M, diffúz jellegű csontvelői infiltráció, CD38 pozitivitás (20% és 30% cut-off mellett egyaránt), del(13q) nem önálló jelenléte, valamint UM *IgHV* státusz mellett. A döhneri hierarchikus modell alapján csoportosítva a genetikai eltéréseket szintén szignifikáns különbség mutatkozott az egyes csoportok TTFT-je és OS-e tekintetében.

ZAP70 pozitivitás egyik cut-off (20% és 30%) használata mellett sem mutatott szignifikáns összefüggést sem a TTFT-vel, sem az OS-sel. További analízisünkben emiatt a ZAP70 prognosztikai vizsgálatától eltekintettünk.

Az egyes faktorok jelenlétének **TTFT**-re gyakorolt hatását tovább elemezve **univariate analízist** végeztünk, melynek során eddigi változóinkat a betegek életkorával, mint folytonossági változóval egészítettük ki. A hierarchikus modell egyes csoportjait a korábbi analízis során jó prognosztikai markernek bizonyult del(13q) önálló genetikai abnormalitással rendelkező csoporthoz hasonlítottuk. Az analízis során a férfi nem (HR: 1.71, $p=0.005$), a sB2M emelkedett szintje (HR: 4.65, $p=0.000$), a diffúz morfológiájú csontvelői infiltráció (HR: 2.24, $p=0.000$), az intermedier és előrehaladott Rai stádiumú betegség (Rai I-II: HR: 4.05, $p=0.000$ és Rai III-IV: HR: 12.02, $p=0.000$), a CD38 pozitivitás 20 illetve 30%-os cut-off mellett (HR: 2.57, $p=0.000$ és HR: 2.90, $p=0.000$), a del(17p) (HR: 3.00, $p=0.002$), a del(11q) (HR: 4.76, $p=0.000$), valamint a döhneri +12 csoportba tartozás (HR: 2.80, $p=0.011$) és az UM *IgHV* státusz (HR: 4.20, $p=0.000$) TTFT-re gyakorolt szignifikáns negatív hatása volt igazolható. Tekintve, hogy a hierarchikus modellben +12 csoportba került betegek esetében társult egyéb genetikai eltérés is jelen lehet, ennek kiküszöbölésére külön is megvizsgáltuk a +12 önálló előfordulását mutató betegcsoport eredményeit a referencia csoporthoz képest. A kis számú ($n=9$) eset ellenére szignifikánsan rövidebb TTFT volt kimutatható (HR: 3.31, $p=0.009$).

Fentiekhez hasonlóan tovább vizsgáltuk az iménti faktorok jelenlétének hatását az **OS**-re. Szignifikánsan rövidítette az OS-t a férfi nem (HR: 1.64, $p=0.035$), a betegek előrehaladott életkora (HR: 1.04, $p=0.001$), emelkedett sB2M szintje (HR: 4.18, $p=0.000$), a betegség intermedier és előrehaladott stádiuma (Rai I-II: HR: 2.97, $p=0.000$ és Rai III-IV: HR: 11.80, $p=0.000$), a csontvelői diffúz infiltráció megjelenése (HR: 2.41, $p=0.002$), a CD38 pozitivitás 20 és 30%-os cut-off alkalmazása mellett (HR: 1.79, $p=0.015$ és HR: 1.97, $p=0.006$), a del(17p) (HR: 4.01, $p=0.000$), del(11q) (HR: 3.38, $p=0.001$) valamint az UM *IgHV* státusz (HR: 5.15, $p=0.000$). Sem a hierarchikus modell +12 csoportja, sem a +12 önálló előfordulása nem mutatott szignifikánsan rövidebb OS-t a referencia csoporthoz képest (HR: 1.90, $p=0.192$ és HR: 2.10, $p=0.206$).

Az egyes prognosztikai faktorok egymástól független, a betegség lefolyására gyakorolt önálló hatásának vizsgálatára a továbbiakban **multivariate analízist** végeztünk. Tekintettel arra, hogy az univariate analízis során a TTFT-vel és OS-al szorosabb kapcsolatot CD38 30%-os cut-off mellett észleltünk, multivariate analízis során a vizsgált faktornál ezt a cut-off-ot alkalmaztuk. Mivel a csontvelő biopszia a betegség diagnosztikájának nem része, így a betegek nagyobb

hányadánál (n=135, 56%) a vizsgálatra nem került sor. A faktor vizsgálatától a multivariate analízis során, az esetszámot jelentősen csökkentő hatása miatt eltekinteni kényszerültünk. Analízisünket a többi, az univariate analízis során a TTFT-re szignifikáns hatással bíró faktorok bevonásával végeztük. A **TTFT**-re független, negatív hatást mutató faktornak bizonyult: a férfi nem (HR: 2.57, $p=0.005$), az intermedier és előrehaladott Rai stádiumú betegség (Rai I-II: HR: 2.25, $p=0.022$ és Rai III-IV: HR: 7.46, $p=0.000$) és az UM *IgHV* státusz (HR: 4.22, $p=0.000$).

Fentiekhez hasonlóan az **OS**-ra független, negatív hatást gyakorló faktornak bizonyult: a betegek diagnóziskori életkora (HR: 1.06, $p=0.002$), az intermedier és előrehaladott Rai stádiumú betegség (Rai I-II: HR: 2.66, $p=0.028$ és Rai III-IV: HR: 9.69, $p=0.000$), a del(17p) jelenléte (HR: 4.46, $p=0.000$) és az UM *IgHV* státusz (HR: 4.18, $p=0.000$).

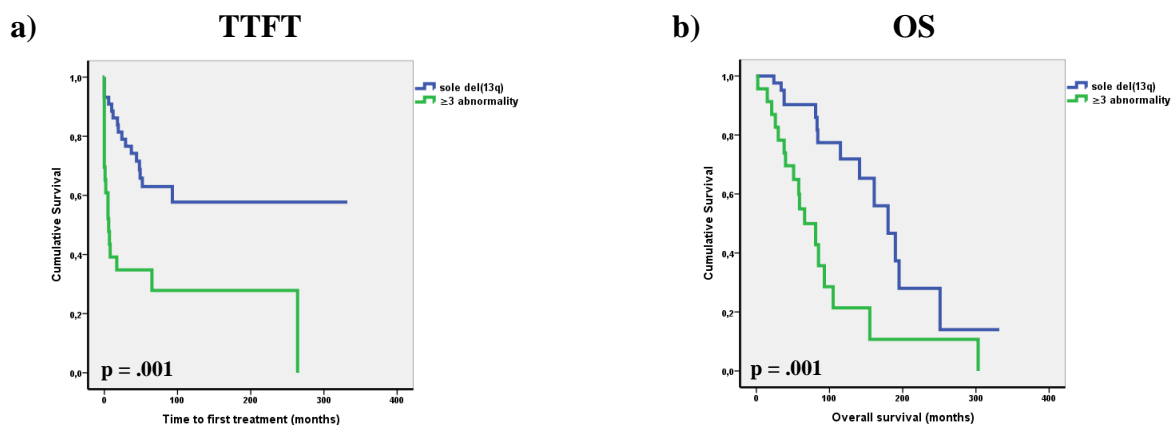
4.1.2. Ismételt vizsgálatok

Szórványos esetekben, progresszió észlelésekor lehetőségünk volt egyes prognosztikai vizsgálatok ismétlésére is. Ismételt **csontvelő vizsgálatra** a kezelés megkezdése előtt 5 esetben került sor. Mindegyik esetben korábbi noduláris jellegű infiltráció volt megfigyelhető, 3 betegnél a progresszió kapcsán a betegség diffúz csontvelői infiltrációját tapasztaltuk. **SB2M**-t a betegség lefolyása során rendszeresen kontrolláltuk. Ez irányú adatgyűjtést és további analízist nem végeztünk, változása a betegség progressziójával, a tumor massa növekedésével, illetve kezelés utáni csökkenésével egyértelmű összefüggést mutatott. **CD38** vizsgálatot 105 betegnél ismételtük, 30%-os cut-off érték mellett a betegség progressziójakor 9 esetben (18.1%) észleltük korábbi CD38 negativitás után pozitív kialakulását. Ismételt **kromoszóma analízisre** a vizsgálati periódusban 12 betegnél került sor, 4-nél észleltünk változást: 1 esetben újkeletű del(11q) mellett t(13;18), a további 3 esetben ritka, komplex eltérések megjelenése volt megfigyelhető. Ismételt **FISH** vizsgálatra részben a betegség progressziója, részben a kezelés befejezése után került sor 33 esetben. Változást 5 betegnél (15%) észleltünk. 2-2 betegnél del(11q) illetve del(13q) megjelenése volt megfigyelhető. 1 esetben a del(13q), del(11q) eltűnését figyeltük meg nagy dózisú chlorambucil (CLB) terápia után, majd a kezelés befejezését követően újabb progresszió mellett a del(11q) ismételt megjelenését tapasztaltuk. **IgHV** vizsgálatok ismétlésére pénzügyi okokból, valamint az időközben az irodalmi adatok alapján igazolt stabilitásra tekintettel nem kerülhetett sor.

4.1.3. Kromoszóma analízis vs. fluorescens in situ hybridizáció

Kromoszóma analízis során a 150 beteg vizsgálatából 71 esetben (47.3%) mutattunk ki genetikai eltérést. A FISH vizsgálatokkal összehasonlításban 45 esetben a del(13q), 5-5 esetben a del(11q) és a del(17p), 2 esetben a +12 kromoszóma analízis során nem volt kimutatható. Szórványos esetekben a negatív FISH eredmény ellenére a vizsgált genetikai eltérés kromoszóma analízis során megfigyelhető volt: del(11q) 2 eset, del(13q), del(17p) és +12 1-1 eset. Ritka eltérések elsősorban komplex abnormalitások részeként 34 beteg esetében voltak kromoszóma analízissel megfigyelhetők (ld. korábban), szórványos előfordulásuk miatt statisztikai analízisükre nem volt mód. Leggyakrabban del(6q) (7 eset – 4.7%) előfordulását észleltük, ennek statisztikai elemzésére azonban az alacsony esetszám, társult egyéb genetikai eltérések befolyásoló hatása miatt nem volt lehetőségünk.

Komplex karyotípus abnormalitások prognózisban betöltött esetleges szerepének vizsgálata céljából megvizsgáltuk azon betegek csoportját, akiknél ≥ 3 különböző genetikai eltérést tapasztaltunk. A vizsgált csoportba 23 beteg került, melyek közül 21 (91%) esetben a komplex eltérést a kromoszóma analízis igazolta. Ezen betegek esetében egyértelműen rövid TTFT (medián 6 hónap) és OS volt igazolható (medián 66 hónap) (Ábra 1/a-b.). A del(13q) egyedüli abnormalitást mutató csoporttal összehasonlításban, komplex eltérést mutató betegeinknél szignifikánsan rövidebb TTFT és OS volt megfigyelhető (HR: 3.12, 95% $p=0.001$ és HR: 3.40, $p=0.001$). Az alacsony betegszám miatt a vizsgált csoport további multivariate analízisre nem volt alkalmas.



Ábra 1/a-b.: A ≥ 3 genetikai eltérés (vs. del (13q) önálló abnormalitás) jelenlétének hatása az **a)** TTFT-re és **b)** OS-re

4.1.4. IgHV szekvencia analízis

Az *IgHV* szekvencia analízis során betegeink esetén 41 különböző *IgHV* géncsaládot azonosítottunk. Leggyakrabban V₁₋₆₉ (17/86, 19.8%) megjelenését észleltük, mind a 17 esetben UM státusz volt detektálható. Előfordulás tekintetében a második leggyakoribb *IgHV* géncsalád a V₃₋₂₁ szekvencia (5/86, 5.8%) volt. Az 5 esetből 4 betegnél UM státuszt igazoltunk.

Mindkét géncsalád esetében rövid TTFT (V₁₋₆₉ mellett a medián 26 hónap; V₃₋₂₁ mellett 17 hónap) és OS volt igazolható (V₁₋₆₉ mellett a medián 85 hónap; V₃₋₂₁ mellett 29 hónap). Univariate analízist végezve a del(13q) önálló abnormalitást mutató betegcsoporttal összehasonlításban, mindkét géncsalád megjelenése statisztikailag igazolhatóan negatívan befolyásolta a TTFT-t (V₁₋₆₉ esetén HR: 4.27, $p=0.000$, V₃₋₂₁ esetén HR: 3.88, $p=0.035$) és OS-t (V₁₋₆₉ esetén HR: 3.86, $p=0.003$, V₃₋₂₁ esetén HR: 14.26, $p=0.000$). Az alacsony esetszám miatt további multivariate analízisre nem volt módunk.

4.2. Postterapeutikus prognosztikai faktorok

A német CLL munkacsoport 2 fázis III vizsgálatának (CLL8 és CLL10) beteganyagán vizsgáltuk az első vonalbeli kezelés után perifériás vérből mért MRD és az észlelt klinikai válasz prognosztikai szerepét, egymáshoz való viszonyát. A vizsgálatba került 554 beteg átlag életkora 61 (33-81) év volt, a betegségben jellemző férfi túlsúly mutatkozott ($n=427$ [77%]). A betegek ECOG szerinti státuszának mediánja 0 (0-2), CIRS score szerinti társbetegségeinek mediánja 2 (0-7) volt. A betegség Binet stádiuma a kezelés megkezdésekor a populációban az alábbiak szerint alakult: Binet A 76 (13.7%), Binet B 284 (51.4%) és Binet C 193 (34.9%). Az egyes genetikai eltérések gyakorisága: del(13q) 206 eset (38.4%), del(11q) 133 eset (24.8%), +12 58 eset (10.8%), del(17p) 8 eset (1.5%), míg normál genetika 131 esetben (24.4%) volt megfigyelhető. Az *IgHV* 326 esetben (62.2%) volt UM státuszú. 388 beteg (74.0%) esetén volt a sTK (>10 U/l), 177 esetben (33.8%) a sB2M (>3,5 g/l) emelkedett. A kezeléseket után a betegek 40.6%-a (225) CR-ba, 59.4%-a (329) PR-ba került, MRD negativitást 347 beteg ért el (62.7%). A betegpopuláció medián PFS-e 51 hónap volt, medián OS-t a betegek még nem érték el.

4.2.1. Prognosztikai faktorok vizsgálata

Univariate analízis során a del(13q) egyedüli megjelenése (HR: 1.41, $p=0.009$), a del(17p) (HR: 11.75, $p<0.001$), a del(11q) (HR: 1.81, $p<0.001$), az UM *IgHV* státusz (HR: 2.45, $p<0.001$), a kezelés típusa (FC vs. FCR: HR: 1.43, $p=0.012$ és BR vs. FCR: HR: 1.62, $p=0.002$),

a klinikai válasz (HR: 2.06, $p < 0.001$) és az MRD (HR: 3.30, $p < 0.001$) mutatott a **PFS**-el összefüggést. **OS** vonatkozásában a betegek kora (HR: 1.66, $p = 0.022$), társbetegségei (HR: 1.21, $p = 0.002$), a del(17p) (HR: 7.31, $p < 0.001$), az *IgHV* mutációs státusz (HR: 3.41, $p < 0.001$), a klinikai válasz (HR: 1.63, $p = 0.030$), valamint az MRD (HR: 2.20, $p < 0.001$) mutatott prognosztikus értéket.

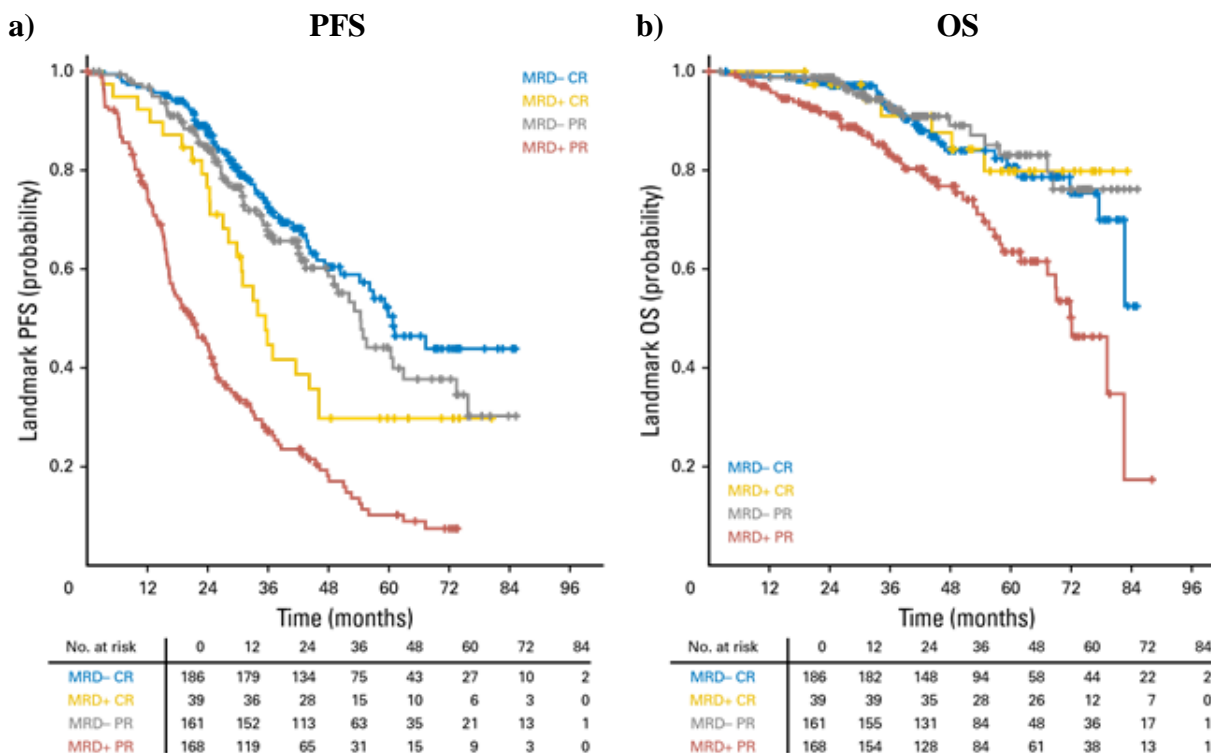
Multivariate analízis során a **PFS**-re független hatást a del(17p) (HR: 9.67, $p < 0.001$), a del(11q) (HR: 1.32, $p = 0.049$), az *IgHV* státusz (HR: 2.40, $p < 0.001$), a kezelés típusa (BR vs. FCR) (HR: 1.63, $p = 0.003$), a klinikai válasz (HR: 1.48, $p = 0.007$) és az MRD mutatott (HR: 3.55, $p < 0.001$). Legerősebb hatás a del(17p), az MRD és az *IgHV* vonatkozásában volt észlelhető. **OS** tekintetében a betegek kora (HR: 1.65, $p = 0.038$) és CIRS score (HR: 1.21, $p = 0.010$) mellett a legerősebb független hatással a del(17p) (HR: 5.02, $p < 0.001$), az *IgHV* (HR: 3.35, $p < 0.001$) és az MRD (HR: 2.34, $p < 0.001$) voltak.

4.2.2. MRD és klinikai válasz

A perifériás vérből elvégzett MRD és klinikai válasz alapján csoportosítva betegeinket 186 MRD-negatív CR (33.6%), 161 MRD-negatív PR (29.1%), 39 MRD-pozitív CR (7.0%) és 168 MRD-pozitív PR (30.3%) volt észlelhető. Landmark analízis során fenti sorrendnek megfelelően a medián PFS 61, 54, 35 és 21 hónapnak adódott, a medián OS-t előbbi 3 csoport nem érte el, MRD-pozitív PR-t mutató betegek esetében 72 hónap volt.

Univariate analízis során, az MRD-negatív CR-t mutató betegek csoportját referenciaként használva, szignifikánsan rövidebb **PFS** volt megfigyelhető MRD-pozitív CR (HR: 1.99, $p = 0.004$) és MRD-pozitív PR eseteiben (HR: 4.27, $p < 0.001$). Ezzel szemben nem volt szignifikáns különbség kimutatható MRD-negatív CR-t és PR-t mutató betegek között (HR: 1.24, $p = 0.228$). Ezen túlmenően MRD-negatív PR és MRD-pozitív CR mutató betegeink összehasonlításában utóbbi csoport esetében szignifikánsan rövidebb PFS volt kimutatható (HR: 0.63, $p = 0.048$).

OS tekintetében elvégzett univariate analízis az MRD-negatív CR csoporttal összehasonlításban, szignifikánsan rövidült OS-t csak MRD-pozitív PR esetén igazolt (HR: 2.38, $p = 0.001$). MRD-negatív PR és MRD-pozitív CR esetén a referencia csoporthoz képest túlélési különbség nem volt bizonyítható (HR: 0.85, $p = 0.612$ és HR: 0.92, $p = 0.853$) (**Ábra 2/a-b.**).



Ábra 2/a-b.: Landmark analízis (a) PFS és (b) OS irányában a klinikai válasz és perifériás vér MRD eredmény alapján

4.2.3. Perifériás vér és csontvelői MRD

A csontvelői és perifériás vérből mért MRD válasz összehasonlítására tovább vizsgáltuk azon betegeink eredményeit, akiknél ezirányban is részletes vizsgálat történt (n=351).

Szignifikánsan hosszabb **PFS** volt igazolható azon 143 (40.7%) beteg esetében, akiknél a csontvelői és perifériás vér MRD vizsgálata is negatívnak bizonyult, szemben azokkal, akiknél a negatív perifériás vér eredmény mellett csontvelői MRD-pozitivitás volt megfigyelhető (medián NR vs. 43 hónap, HR: 3.13, $p=0.005$). Mindkét kompartment pozitivitása esetén a PFS 23 hónapnak bizonyult.

A PFS tekintetében elvégzett **multivariate** modellt a csontvelői MRD eredménnyel kiegészítve mind a csontvelői, mind a perifériás vér MRD-pozitivitás független prognosztikai tényezőnek bizonyult (HR: 3.08, $p<0.001$ és HR: 2.13, $p<0.001$).

Csontvelői MRD eredmény és klinikai válasz alapján csoportosítva betegeinket a medián PFS-t a betegek MRD-negatív CR és PR esetén sem érték el, MRD-pozitív CR esetén ez 36, MRD-pozitív PR esetén 26 hónapnak bizonyult. Hasonlóan a perifériás vérből mért eredményeinkhez csontvelői MRD negativitás esetén PFS tekintetében nem volt szignifikáns

különbség a CR-t és PR-t elért betegek csoportja között (HR: 1.19, $p=0.638$), míg MRD-pozitív CR és PR esetén a PFS szignifikánsan rövidebbnek bizonyult mint MRD-negatív CR esetén (HR: 3.15, $p<0.001$ és HR: 5.81, $p<0.001$). Szintén a perifériás vér MRD eredményeihez hasonlóan csontvelői MRD-negatív PR-t elért betegeink esetében PFS szignifikánsan hosszabbnak bizonyult, mint CR-t elért, de csontvelői MRD-pozitivitást mutató betegeink esetében (HR: 0.38, $p=0.003$).

4.2.4. A reziduális betegség kompartmentjének prognosztikai hatása

További analízisünkben megvizsgáltuk a PR-t elért MRD-negatív betegek esetében a reziduális betegség által érintett kompartment (lép, nyirokcsomó, csontvelő) prognózisra gyakorolt esetleges hatását. A 161 beteg közül 78 (48.4%) esetében lépmegnagyobbodás, 25 esetben nyirokcsomó-megnagyobbodás (15.5%), 18 esetben csontvelői infiltráció (11.2%), míg 40 esetben (24.8%) fentiek közül több kompartment érintettsége állt a PR háttérében. A fenti csoportosítási sorrendben a medián PFS 63, 31, 49 és 52 hónap volt, medián OS-t a csontvelői érintettséget mutató betegeken túl (68 hónap) a többi csoport nem érte el.

Univariate analízis során összehasonlítva az MRD-negatív CR-t elért betegek csoportjával szignifikánsan rövidebb PFS csak a **nyirokcsomó-megnagyobbodást mutató** csoportban volt észlelhető (HR: 2.60, $p<0.001$), a többi csoport vonatkozásában szignifikáns különbséget kimutatni nem tudtunk (lépmegnagyobbodás HR: 0.79, $p=0.354$, csontvelői érintettség HR: 1.39, $p=0.412$, több kompartment érintettsége esetén HR: 1.42, $p=0.217$).

Kiegészítve összehasonlításunkat az MRD-pozitív CR-t és az MRD-negatív PR-t elért betegek eredményeinek összevetésével, ebben az esetben is szignifikánsan hosszabb PFS-t mutattak az egyedüli **lépmegnagyobbodással járó**, de MRD negativitást elért esetek (HR: 0.40, $p=0.061$).

A perifériás vér MRD eredmény helyett csontvelői MRD eredményt alapul véve a fenti eltérés változatlanul kimutatható volt. Hasonlóképpen a lépmegnagyobbodás mértékének esetleges befolyásoló hatását kiküszöbölendő, megvizsgáltuk betegeink fenti eredményeit a radiológiai eredmény alapján leírt lépmegnagyobbodást 12, 14 és 16 cm-es cut-off szerint definiálva, mely mellett eredményeink változatlanok maradtak.

5. Megbeszélés

5.1. Preterapeutikus prognosztikai faktorok

A 241 CLL-es beteget számláló betegpopulációnk esetében megerősítettük a **férfi nem** negatív prognosztikai szerepét TTFT és OS tekintetében is. A férfi nem egyéb faktoroktól független negatív hatását multivariate analízis során csak TTFT esetén tudtuk igazolni. Az OS vonatkozásában hiányzó független hatás háttérében állhat, hogy betegeink esetén is a férfi nem mellett gyakrabban észleltük a negatív prognosztikai szerepű *IgHV* UM, del(17p) és del(11q) megjelenését.

A betegek előrehaladott **életkora** vizsgálataink során más szerzőkkel összhangban szintén negatív prognosztikai szerepűnek bizonyult. Ezt OS tekintetében az univariate és multivariate analízisünk is megerősítette.

A diagnóziskor észlelt **betegség stádium** (Rai, Binet) betegeink esetében is a több szerző által megerősített szoros összefüggést mutatta a betegség prognózisával, melyet a multivariate analízis TTFT és OS vonatkozásában is igazolt..

SB2M emelkedett szintjének (>3.5 mg/l) prognózisra gyakorolt negatív hatását is megerősíteni tudtuk, jóllehet a marker független prognosztikai szerepe TTFT és OS tekintetében nem volt bizonyítható. Ennek háttérében állhat, hogy a sB2M emelkedése a tumor massa növekedésével, így a betegség fent leírt stádiumával korrelál.

Megerősíteni tudtuk, hogy a diffúz **csontvelő infiltráció** TTFT és OS vonatkozásában is negatív prognosztikai hatású.

CD38 mérése során szemben a 20%-os cut-off értékkel, a 30%-os cut-off kórlefolyással való szorosabb összefüggését tudtuk megerősíteni. További analízisünk során azonban a marker független prognosztikai szerepe sem TTFT, sem OS vonatkozásában nem volt igazolható. Ez összhangban áll Hamblin és társai (tsai) által közölt eredményekkel, mely szerint a CD38 meghatározás szoros korrelációt elsősorban az *IgHV* státusszal mutat.

ZAP70 prognosztikai szerepét megerősíteni nem tudtuk, melynek sikertelenségét magyarázhatja a ZAP70 meghatározás flowcytometriai módszerrel történő vizsgálatának nehéz reprodukálhatósága. A marker esetleges immunhisztokémiai, Western blot meghatározására nem volt módunk.

A genetikai eltérések döhneri hierarchikus modell szerinti csoportosítása vonatkozásában kiemelendő, hogy univariate analízissel nemcsak a **del(13q)** és a **normál genetika** pozitív, valamint a **del(11q)**, **del(17p)** negatív, de a **+12** negatív prognosztikai szerepét is (az irodalomban vitatott eredmények mellett) bizonyítottuk. Igazoltuk továbbá a +12 önálló előfordulás mellett is fennálló ezirányú negatív prognosztikai hatását. OS vonatkozásában megerősítettük a del(13q) és normál genetika prognózisra gyakorolt pozitív, a del(11q) és del(17p) negatív hatását. A del(17p) betegink esetében is OS tekintetében független markernek bizonyult. Az alacsony betegszám miatt a **del(6q)** prognosztikai szerepe betegink esetén statisztikailag nem volt megítélhető, azonban a tapasztalt klinikai kórlefolyás az irodalommal összhangban nem szólt egyértelműen negatív hatás mellett.

Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy a **többszörös (≥ 3) genetikai eltéréssel** rendelkező betegek esetében szignifikánsan rövidebb TTFT és OS észlelhető, így a többszörös genetikai abnormalitások - függetlenül azok típusától - negatív prognosztikai hatással bírnak. A kombinált eltérések az esetek 91%-ában csak kromoszóma analízis során igazolódtak, ezért a vizsgálat elvégzése elsősorban fiatal, kuratív célú aktív kezelésre alkalmas betegek esetében – a vizsgálat technikai nehézségei ellenére – javasolható.

Ismételt vizsgálatokra csak kis esetszám mellett volt módunk. Kromoszóma analízis során 33%-ban, FISH vizsgálattal 15%-ban észleltük új eltérések megjelenését progressziókor.

IgHV gén mutációs státuszának analízise során, $\geq 98\%$ cut-off alkalmazása mellett, saját beteganyagunkon Hamblin és tsai által észlelt adatokhoz képest és Tobin és tsai adataival összhangban magasabb arányban (n=50, 58.2%) UM státuszt igazoltunk. Megerősítettük a marker kitűnő prognosztikai szerepét, amennyiben az irodalmi adatokkal összhangban szoros, független hatást tudtunk kimutatni multivariate analíziseink során is mind TTFT, mind OS vonatkozásában.

Elemelve a **specifikus nehézlánc géncsalád típusát**, a V₁₋₆₉ és V₃₋₂₁ szekvenciák megjelenése mellett megerősíteni tudtuk azok ismert, negatív prognosztikai szerepét úgy a TTFT tekintetében, mint OS vonatkozásában.

5.2. Postterapeutikus prognosztikai faktorok

A német CLL kutatócsoport két prospektív fázis III vizsgálatának beteganyagán a perifériás vérből mért **MRD** és a **klinikai válasz** tekintetében is univariate analízis során meg tudtuk erősíteni azok prognosztikai szerepét, úgy PFS, mint OS vonatkozásában. Multivariate analízisünk megerősítette PFS tekintetében az MRD prognózist befolyásoló hatását, tisztázta a

klínikai válasz ezirányú szerepét. Vizsgálatunkban a PFS-el és OS-al legszorosabb korrelációt a del(17p), az MRD és az *IgHV* mutatta. OS tekintetében a klínikai válasz prognózist befolyásoló szerepe, más szerzőkkel összhangban, vizsgálatunk során sem volt igazolható.

Az **MRD és klínikai válasz** egymáshoz való viszonyát vizsgálva igazoltuk, hogy a jelentős betegszám ellenére sincs szignifikáns különbség az MRD-negatív CR-t és PR-t mutató betegek PFS-e tekintetében. Ezzel szemben a korábbi észlelésekhez hasonlóan szignifikáns különbség volt PFS vonatkozásában a CR-be került betegek MRD-negatív és MRD-pozitív csoportja között. Ezen túlmenően is igazoltuk, hogy MRD-negatív PR-be került betegek jobb prognózisra számíthatnak, mint CR-t elért, de MRD-pozitivitást mutató betegek. Eredményünkkel egyben megerősítettük, hogy - szemben az EMA ajánlásával - MRD vizsgálat nem csak CR-t elért, de minden responder beteg esetén indokolt.

A **perifériás vér és csontvelői MRD** prognózisban betöltött szerepét analizálva szignifikánsan hosszabb PFS-t igazoltunk mindkét kompartment MRD negativitása vs. perifériás vér negativitása mellett észlelt csontvelői pozitivitás mellett. Multivariate modellünket a csontvelői MRD eredménnyel kiegészítve mindkét kompartmentben mért MRD független prognosztikai szerepét igazoltuk, a PFS-el szorosabb összefüggést a csontvelői MRD mérés mutatta. Fenti eredményeink megerősítik az MRD mérés klínikai válaszhoz, valamint a csontvelői MRD mérés perifériás MRD méréshez képest jobb prognosztikai szerepét.

MRD-negatív PR-be került betegek esetében elemezve az egyes **reziduális kompartmentek prognosztikai hatását** igazoltuk, hogy a **lépmegnagyobbodás** önmagában nem rövidíti a PFS-t az MRD-negatív CR-t elért betegekhez képest. Egyben igazoltuk, hogy ezen betegek szignifikánsan hosszabb PFS-re számíthatnak, mint a CR-t elért, de MRD-pozitivitást mutató betegek. Igazolható volt továbbá, hogy a fenti megfigyelés független a splenomegalia definíciójaként alkalmazott cut-off értéktől. Fentiek alapján feltételezhető, hogy a kemoimmunoterápiát követő reziduális lépmegnagyobbodás önmagában nem jelenti a CLL fennállását. A betegség biológiai aktivitása reziduális splenomegalia esetén MRD vizsgálattal jobban megítélhető. Igazoltuk, hogy az egyedüli **reziduális nyirokcsomó-megnagyobbodás** PR esetén szignifikánsan rövidíti a PFS-t az MRD-negatív CR esetekhez képest. A prognózis tekintetében észlelt különbség magyarázatául szolgálhat a nyirokcsomók közelmúltban leírt kulcsszerepe a tumor proliferációban és betegség progresszióban. Feltételezhető, hogy a nyirokcsomói környezet a reziduális CLL-es sejtek gyorsabb osztódását, a betegség gyorsabb relapsusát eredményezheti.

6. Összefoglalás

Analízisünkkel megerősítettük, hogy a betegek életkora, neme, a betegség Rai stádiuma, a csontvelői infiltráció morfológiája, a sB2M, a CD38, a normál genetika, a del(13q), del(11q), del(17p), az *IgHV* mutációs státusza, valamint a V₃₋₂₁, V₁₋₆₉ szekvenciák jelenléte a betegség prognózisát befolyásoló tényezők. Igazoltuk, hogy a CD38 pozitivitás 30%-os cut-off mellett a prognózissal szorosabb korrelációt mutat, mint 20% esetén.

Igazoltuk, hogy a +12 jelenléte - önálló előfordulás esetén is – TTFT tekintetében egyértelműen negatív prognosztikai szerepű. Emiatt a marker vizsgálata az eltéréssel rendelkező betegek szorosabb klinikai kontrollja miatt javasolható.

Genetikai vizsgálataink (mindenekelőtt kromoszóma analízis) során **igazoltuk, hogy a többszörös (≥3) genetikai eltérések, függetlenül azok típusától, a prognózist TTFT és OS tekintetében is rontják.** Emiatt kromoszóma vizsgálat fiatal betegek, elsősorban kuratív célú terápia lehetősége esetén javasolható.

Megerősítettük progresszió esetén újkeletű, negatív prognosztikai faktorok megjelenését. Emiatt – del(11q), del(17p) esetén a terápiás konzekvenciájára is tekintettel- a markerek ismételt meghatározása kezelés megkezdése előtt a klinikai gyakorlatban is indokolt.

Megerősítettük, hogy az *IgHV* mutációs státusza a kórlefojlyással kifejezetten szoros összefüggést mutat. Emiatt, valamint hogy a vizsgálat a B-sejt jelátviteli mechanizmus gátlásával ható új szerek (pl. ibrutinib, idelalisib) várható hatékonyságának becslésére is alkalmas lehet, a vizsgálat elvégzése a klinikai gyakorlatban is javasolható.

További analízisünkkel megerősítettük, hogy a kezelés után elért terápiás válaszhoz képest, a perifériás vérből elvégzett MRD, valamint utóbbihoz képest a csontvelői MRD a várható kórlefojlyással szorosabb összefüggést mutat.

Elsőként igazoltuk, hogy az MRD-negatív, PR-t elért betegek esetén szignifikánsan jobb prognózis várható, szemben a CR-t elért, mégis MRD pozitivitást mutató esetekkel. Ezzel -szemben a jelenlegi ajánlásban foglaltakkal- **igazoltuk, hogy MRD vizsgálat nemcsak CR-t, de PR-t elért betegek esetében is indokolt.**

Az MRD-negatív PR-t elért betegek esetében **elsőként igazoltuk, hogy a splenomegalia önmagában nem rontja a betegség prognózisát, míg reziduális nyirokcsomó megnagyobbodás megléte esetén korábbi progresszió várható.**

7. Köszönetnyilvánítás

A klinikánkon folyt kutatáshoz az Egészségügyi Minisztérium által támogatott „Chronicus lymphoid leukaemia (CLL) multiklinikai prospektív vizsgálata” című pályázat is hozzájárult.

Köszönöm a segítségét a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ I.sz. Belgyógyászati Klinika, valamint a Hematológiai Tanszék dolgozóinak, kollégáimnak, kiemelten Prof. Dr. Losonczy Hajnának, aki bevezetett a klinikai hematológiába, munkám során mindenben rendületlenül segített, valamint Prof. Dr. Tóth Kálmánnak, Dr. Alizadeh Hussainnek, akik az itthoni és külföldi munkám során is mindvégig támogattak.

Köszönöm támogatását hazai munkacsoportom korábbi és jelenlegi tagjainak: Dr. Molnár Lenkének, Dr. Dávid Mariannak, Dr. Nagy Ágnesnek, Dr. Szomor Árpádnak, Dr. Vidra Tímeának, Dr. Kosztolányi Szabolcsnak, Dr. Csalódi Renátának, Dr. Tóth Orsolyának, Dr. Szendrei Tamásnak, Dr. Pammer Juditnak és Dr. Gulyás Ernának.

A flowcytometriai vizsgálatok elvégzésében köszönöm segítségét néhai Prof. Dr. Magyarlaci Tamásnak és Dr. Jáksó Pálnak, a genetikai vizsgálatok elvégzésében Prof. Dr. Pajor Lászlónak, Prof. Dr. Méhes Gábornak, Dr. Kajtár Bélának, Dr. Kereskai Lászlónak, Dr. Alpár Donátnak, Kalász Veronikának, Lacza Ágnesnek, Kiss Robertának és Deák Lindának, a statisztikai elemzések elvégzésében Dr. Farkas Kornéliának és Dr. Póto Lászlónak.

A GCLLSG vizsgálatait a Zentrum Klinische Studien (ZKS), Köln, és a Kompetenznetz Maligne Lymphome (KML), Köln, segítette. A CLL8 és CLL10 vizsgálat a Roche, Mundipharma cégek, valamint a Német Szövetségi Oktatási és Kutatási Minisztérium kutatási támogatásával jöhettek létre.

Köszönöm segítségét a német CLL kutatócsoport minden tagjának, kiemelten a GCLLSG és az Uniklinik Köln, I. sz. Belgyógyászati Klinika vezetőjének, Prof. Dr. Michael Halleknek, aki németországi munkámat lehetővé tette, abban mindenre kiterjedően támogatott, valamint Dr. Barbara Eichhorstnak, Dr. Anna-Maria Finknek és Dr. Sebastian Böttchernek, akiknek a közös munka létrejöttében, elkészítésében nélkülözhetetlen szerepük volt.

Köszönöm támogatását a német kollégáimnak: Dr. Valentin Goedenek, Dr. Kirsten Fischernek, Dr. Paula Cramernek, Dr. Julia von Tresckownak és Dr. Christian Maurernek, valamint a statisztikai elemzések elvégzésében Sandra Kluthnak és Jasmin Bahlonak.

Nem utolsó sorban köszönet illeti családom minden tagját, akik a munka elkészültéig is kitartóan támogattak.

8. *Publikációs lista*

8.1. *Thesishez kapcsolódó közlemények*

- 1 **Kovács G.**, Molnár L., Dávid M., Nagy Á., Szomor Á., Pajor L., Méhes G., Kajtár B., Jáksó P., Lacza Á., Magyarlaki T., Losonczy H.: Új prognosztikai faktorok vizsgálata krónikus lymphoid leukaemiában. *Hemat Transzf* 2005; 38: 218-224
- 2 Méhes G., **Kovács G.**, Kajtár B., Lacza Á., Várnai A., Losonczy H., Pajor L.: Karyotype complexity and VH gene status in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica/the hematology journal* 2006; 91, 1430-1431
- 3 Kajtár B., Jáksó P., Kereskai L., Lacza Á., Méhes G., Bodnár MA., Dombi JP., Gasztonyi Z., Egyed M., Iványi JL., **Kovács G.**, Marton É., Palaczki A., Petz S., Tóth P., Sziládi E., Losonczy H., Pajor L.: Prognosztikai faktorok komplex vizsgálata krónikus lymphocytás leukémiában. *Orv Hetil* 2007; 148, 16.: 737- 743
- 4 Losonczy H., **Kovács G.**, Kajtár B., Méhes G., Szendrei T., Potó L., Molnár L., Nagy Á., Dávid M., Szomor Á., Kosztolányi Sz., Csalódi R., Tóth O., Pajor L.: Új prognosztikai faktorok diagnosztikai és klinikai jelentősége krónikus lymphocytás leukaemiában. *Magyar Belorvosi Archívum* 2009; 62: 187- 195
- 5 **Kovacs G.**, Robrecht S, Fink AM, Bahlo J, Cramer P, von Tresckow J, Maurer C, Langerbeins P, Fingerle-Rowson G, Ritgen M, Kneba M, Döhner H, Stilgenbauer S, Klapper W, Wendtner CM, Fischer K, Hallek M, Eichhorst B, Böttcher S. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol.* 2016 Aug 29. pii: JCO671305. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27573660.

Impakt faktor:

20.982

8.2. *Thesishez kapcsolódó idézhető absztraktok*

- 1 Deák L., Kalász V., Jáksó P. **Kovács G.**, Losonczy H., Méhes G.: Citogenetikai vizsgálatok krónikus lymphocytás leukaemiában (CLL). *Magyar Belorvosi Archivum* 2003, 1. Suppl., 56:13
- 2 **Kovács G.**, Méhes G., Magyarlaki T., Losonczy H.: Prognosztikai faktorok vizsgálata chronicus lymphoid leukmiában. *Magyar Onkológia* 2004, 1. Suppl., 48: 20
- 3 **Kovács G.**, Méhes G., Kajtár B., Pajor L., Deák L., Kalász V., Moilnár L., Dávid M., Nagy Á., Szomor Á., Losonczy H.: Genetikai vizsgálatok chronicus lymphoid leukemiában. *Magyar Belorvosi Achivum* 2005, 1. Suppl., 58: 139
- 4 **Kovács G.**, Pajor L., Méhes G., Kajtár B., Lacza Á., Deák L., Kalász V., Pótó L., Molnár L., Dávid M., Nagy Á., Szomor Á., Szendrei T.; Losonczy H.: Genetikai vizsgálatok klinikai jelentősége krónikus lymphoid leukemiában. *Hemat Transzf* 2006, 1. Suppl., 39: 31
- 5 Losonczy H., **G. Kovács**, B. Kajtár, G. Méhes, L. Molnár, M. Dávid, Á. Nagy, Á. Szomor, T. Szendrei, L. Potó, L. Pajor: Influence of favourable and unfavourable genetic prognostic markers and CD 38 expression in chronic lymphocytic leukemia on treatment free interval and overall survival. Single center experience between 2002-2006 *Blood Reviews* 2007, 21: Suppl 1 Abstract No: P171

- 6 **Kovács G**, Pajor L, Méhes G, Kajtár B, Alpár D, Lacza Á, Deák L, Kalász V, Kiss R, Hermes J, Molnár L, Dávid M, Nagy Á, Szomor Á, Kosztolányi Sz, Csalódi R, Tóth O, Szendrei T, Potó L, Losonczy H.: Új prognosztikai faktorok klinikai jelentősége krónikus lymphoid leukemiában. *Hemat Transzf* 2008;41:50
- 7 **Kovács G**, Losonczy H, Molnár L, Dávid M, Nagy Á, Szomor Á, Kosztolányi Sz, Csalódi R, Tóth O, Szendrei T, Pajor L, Méhes G, Alpár D, Kalász V, Kiss R, Kajtár B.: A del(11q) klinikai jelentősége krónikus lymphoid leukemiában. *Hemat Transzf* 2010;43:35
- 8 **Kovacs G**, Boettcher S, Bahlo J, Kluth S, Ritgen M, Fink Am, Stodden I, Cramer P, Von Tresckow J, Maurer C, Doehner H, Stilgenbauer S, Kneba M, Fischer K, Hallek M, Eichhorst B: Value of Minimal Residual Disease (MRD) Negative Status at Response Evaluation in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Combined Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group (GCLLSG). American Society of Hematology 56th Annual Meeting 2014, San Francisco.

8.3. Thesishez nem kapcsolódó egyéb közlemények

- 1 Molnár L., Nagy Á., Dávid M., Szomor Á., Méhes G, **Kovács G.**, Losonczy H.: Imatinib kezelési eredmények krónikus myeloid leukaemia késői krónikus fázisában, interferon- α kezelés után. *Orv Hetil* 2004; 145(17): 901-907
- 2 **Kovács G.**, Gasztonyi B., Battyány I., Nagy Á., Buzogány I., Kassai M., Hunyady B., Losonczy H.: Fiatalkori penisthrombosis. *LAM* 2005 15(12): 933-936
- 3 Szendrei T., Magyarlaci T., **Kovács G.**, Nagy Á., Szomor Á., Molnár L., Dávid M., Tökés Füzesi M., Rideg O., Pótó L., Pajor L., Kajtár B, Losonczy H.: Multidrogrezisztencia-vizsgálatok krónikus lymphoid leukaemiában. *Orv Hetil* 2008; 149: 161-167
- 4 Tóth O., Dávid M., Nagy Á., Szomor Á., Lima N., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Csalódi R., Szendrei T., Réger B., Losonczy H.: Rotációs thrombelastographia alkalmazása a familiáris thrombophilia diagnózisában. *Hemat Transzf* 2008; 41: 155-163
- 5 Cramer P, Isfort S, Bahlo J, Stilgenbauer S, Döhner H, Bergmann M, Stauch M, Kneba M, Lange E, Langerbeins P, Pflug N, **Kovacs G**, Goede V, Fink AM, Elter T, Fischer K, Wendtner CM, Hallek M, Eichhorst B. Outcome of advanced chronic lymphocytic leukemia following different first-line and relapse therapies: a meta-analysis of five prospective trials by the German CLL Study Group (GCLLSG). *Haematologica*. 2015 Nov;100(11):1451-9. doi: 10.3324/haematol.2015.124693. PubMed PMID: 26315931; PubMed Central PMCID: PMC4825288.
- 6 Fischer K, Bahlo J, Fink AM, Goede V, Herling CD, Cramer P, Langerbeins P, von Tresckow J, Engelke A, Maurer C, **Kovacs G**, Herling M, Tausch E, Kreuzer KA, Eichhorst B, Böttcher S, Seymour JF, Ghia P, Marlton P, Kneba M, Wendtner CM, Döhner H, Stilgenbauer S, Hallek M. Long-term remissions after FCR chemoimmunotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood*. 2016 Jan 14;127(2):208-15. doi: 10.1182/blood-2015-06-651125. PubMed PMID: 26486789.
- 7 Eichhorst B, Fink AM, Bahlo J, Busch R, **Kovacs G**, Maurer C, Lange E, Köppler H, Kiehl M, Sökler M, Schlag R, Vehling-Kaiser U, Köchling G, Plöger C, Gregor M, Plesner T, Trneny M, Fischer K, Döhner H, Kneba M, Wendtner CM, Klapper W, Kreuzer KA, Stilgenbauer S, Böttcher S, Hallek M; international group of investigators.; German CLL Study Group (GCLLSG).. First-line chemoimmunotherapy with

bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2016 Jul;17(7):928-42. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30051-1. PubMed PMID: 27216274.

- 8 Maurer C, Langerbeins P, Bahlo J, Cramer P, Fink AM, Pflug N, Engelke A, von Tresckow J, **Kovacs G**, Stilgenbauer S, Wendtner CM, Müller L, Ritgen M, Seiler T, Fischer K, Hallek M, Eichhorst B. Effect of first-line treatment on second primary malignancies and Richter's transformation in patients with CLL. *Leukemia.* 2016 Oct;30(10):2019-2025. doi: 10.1038/leu.2016.113. PubMed PMID: 27133817.

Impakt faktor: 57.125

Összesített impakt faktor: 78.107

8.4. Thesishez nem kapcsolódó idézhető absztraktok

- 1 Kecskés M., Dávid M., Molnár L., Nagy Á., Szomor Á., **Kovács G.**, Vidra T., Losonczy H., Meyer M.: Autoszomális domináns öröklődésmentet mutató, enyhe vérzékenységgel járó familiáris macrothrombocytopenia. *Magyar Belorvosi Archivum* 2001, 1. Suppl., 54: 24
- 2 Szomor Á., Molnár L., Nagy Á., Dávid M., Hussain A., Kecskés M., Vidra T., **Kovács G.**, Kereskai L., Pajor L., Losonczy H.: Granulocytás sarcoma (extramedullaris myeloid tumor) akut myeloid leukaemiában. *Magyar Belorvosi Archivum* 2001, 1. Suppl., 54: 43.
- 3 Szomor Á., Molnár L., Nagy Á., Dávid M., Alizadeh H., Kecskés M., Vidra T., **Kovács G.**, Losonczy H.: Philadelphia-negatív krónikus myeloproliferatív betegségek kezelése alfa-interferonnal. *Magyar Belorvosi Archivum* 2001, 2. Suppl., 54: 66.
- 4 **Kovács G.**, Kereskai L., Molnár L., Nagy Á., Szomor Á., Losonczy H.: Akut myeloid leukaemia extramedullaris relapszusa – esetismertetés. *Magyar Belorvosi Archivum* 2002, 1. Suppl., 55: 70.
- 5 Molnár L., Dávid M., Nagy Á., Szomor Á., **Kovács G.**, Losonczy H.: Fludarabin kezeléssel szerzett tapasztalataink CLL-ben és indolens lymphomában. *Magyar Onkológia* 2002, 1. Suppl., 46: 99.
- 6 Molnár L., Losonczy H., Dávid M., Nagy Á., Szomor Á., **Kovács G.**: Hazai tapasztalatok STI571 (Imatinib) kezeléssel CML krónikus fázisában. *Magyar Belorvosi Archivum* 2002, 3. Suppl., 55: 97.
- 7 Molnár L., Jáksó P., Méhes G., **Kovács G.**, Szomor Á., Losonczy H., Pajor L.: Klonalitásvizsgálatok myelodysplasiás szindrómában citogenetiai és X-kromoszóma-inaktivációs módszerekkel. *Magyar Belorvosi Archivum* 2003, 1. Suppl., 56: 25
- 8 **Kovács G.**, Molnár L., Kereskai L., Losonczy H.: Krónikus myeloproliferatív betegség kapcsán észlelt fatális hypercalcaemia esete. *Magyar Belorvosi Archivum* 2003, 1. Suppl., 56: 52
- 9 Vidra T., Dávid M., Szomor Á., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Szalontay Cs., Losonczy H.: Kemoterápiás score alkalmazása a perifériás őssejtgyűjtés sikerének prognosztizálására. *Magyar Onkológia* 2004, 1. Suppl., 48: 19

- 10 Molnár L., Nagy Á., Dávid M., Szomor Á., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Kajtár B., Losonczy H.: Imatinib – kezeléssel szerzett tapasztalataink CML-ben első és második vonalbeli alkalmazás során. Hemat Transzf 2005, 1. Suppl., 38: 56
- 11 Molnár L., Szomor Á., Dávid M., Nagy Á., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Losonczy H.: Köpenysejtes lymphoma kezelésével szerzett tapasztalataink. Hemat Transzf 2006, 1. Suppl., 39: 41
- 12 Nagy Á., Csalódi R., Kereskai L., Kajtár B., Molnár L., **Kovács G.**, Kosztolányi Sz., Szomor Á., Dávid M., Losonczy H.: Folliculáris lymphomás betegek immunokemoterápiája. Hemat Transzf 2006, 1. Suppl., 39: 43
- 13 Nagy Zs., Szomor Á., Kereskai L., Benkő I., **Kovács G.**, Molnár L., Losonczy H.: Bronchus-asszociált lymphoma (BALT) kezelésében szerzett tapasztalataink. Hemat Transzf 2006, 1. Suppl., 39: 44
- 14 Szendrei T., Magyarlaki T., **Kovács G.**, Pótó L., Nagy Á., Szomor Á., Molnár L., Dávid M., Losonczy H.: Multidrog rezisztencia vizsgálatok krónikus lymphoid leukémiában. Hemat Transzf 2006, 1. Suppl., 39: 55
- 15 Vidra T., Dávid M., Szomor Á., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Szalontay Cs., Pótó L., Losonczy H.: Össejtgyűjtést megelőző kemoterápia toxikus hatásának jóslása pontrendszerrel. Hemat Transzf 2006, 1. Suppl., 39: 64
- 16 Szendrei T., T. Magyarlaki, **G. Kovács**, Á. Szomor, Á. Nagy, L. Molnár, M. Tőkés-Füzesi, O. Rideg, L. Potó, H. Losonczy: Multidrog resistance in chronic lymphocytic leukemia. Blood Reviews 2007, 21: Suppl 1 Abstract No: P202
- 17 Pammer J., Nagy Á., Molnár L., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Csalódi R., Vidra T., Losonczy H., Dávid M., Szomor Á.: Autológ hemopoetikus össejtátültetés Hodgkin-lymphomában: pécsi eredmények. Hemat Transzf 2008, 1. Suppl., 41: 19
- 18 **Kovács G.**, Szomor Á., Nagy Á., Kosztolányi Sz., Csalódi R., Szóts M., Illés Z., Tóth M., Gömöri É., Kereskai L., Kravják A., Dávid M.: Klinikánk intravaszkuláris lymphomás esetei. Magyar Belorvosi Archivum 2008, 3. Suppl., 61: 76.
- 19 Kosztolányi Sz., Nagy Á., Szomor Á., Csalódi R., **Kovács G.**, Melegh B., Dávid M.: BRCA-gén mutációs vizsgálat 3 primer tumorra rendelkező 50 éves nőbetegben. Magyar Belorvosi Archivum 2008, 3. Suppl., 61: 75-76.
- 20 Csalódi R., Szomor Á., **Kovács G.**, Kosztolányi Sz., Kereskai L., Dávid M.: Többszöri extranodális relapszus diffúz nagy B-sejtes lymphomában. Magyar Belorvosi Archivum 2008, 3. Suppl., 61: 47-48.
- 21 Dávid M., Szomor Á., Alpár D., Kajtár B., Nagy Á., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Csalódi R., Hermes J., Tábori J., Szalontay Cs., Pajor L., Losonczy H.: A plazmasejt-daganatok autológ össejt-transzplantációjával szerzett tapasztalatok a PTE I. sz. Belgyógyászati Klinikáján. Hemat Transzf 2008. Suppl 1: 49-50.
- 22 Szendrei T, Magyarlaki T, **Kovács G**, Nagy Á, Szomor Á, Dávid M, Tőkés-Füzesi M, Rideg O, Pótó L, Losonczy H.: Multidrogrezisztencia-vizsgálatok krónikus lymphoid leukaemiában. Magyar Belorvosi Archivum. 2008; 61:113.
- 23 Szomor Á, Nagy Á, **Kovács G**, Kosztolányi Sz, Vidra T, Kereskai L, Csalódi R, Losonczy H, Dávid M: T-sejtes non hodgkin lymphomás betegek autológ hemopoetikus össejt-transzplantációs eredményei. Magyar Belorvosi Archivum 2008;61:115
- 24 David M., Kosztolanyi Sz., Szomor A., Alpar D., Kajtar B., Nagy A., **Kovacs G.**, Csalodi R., Hermes J., Tabori J., Szalontay Cs., Losonczy H., Pajor L.: Genetic prognostic

- factors and the outcome of autologous stem cell transplantation in plasma cell disorders. Bone marrow transplantation. 2009; 1. Suppl.: 43:149.
- 25 Nagy Á., Losonczy H., **Kovács G.**, Csalódi R., Tóth O., Kosztolányi Sz., Szomor Á., Dávid M.: Esszenciális thrombocytás betegek Thromboreductin-kezelésével szerzett tapasztalataink. Hemat Transzf 2009. Suppl. 1:48.
 - 26 Szomor Á., Szendrei T., Nagy Á., Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Molnár L., Csalódi R., Tóth O., Vidra T., Kereskai L., Losonczy H.: Autológ haemopoeticus összejtranszplantáció (ASCT) agyi érintettséggel járó non-Hodgkin-lymphomás betegeknél. Hemat Transzf 2009. Suppl. 1:53.
 - 27 **Kovács G.**, Nagy Á., Szomor Á., Losonczy H., Csalódi R., Tóth O., Kosztolányi Sz., Dávid M.: A thromboticus thrombocytopeniás purpura rituximab kezeléssel szerzett tapasztalataink 3 eset kapcsán. Hemat Transzf 2011. Suppl. 1. 44:96.
 - 28 Kosztolányi Sz., **Kovács G.**, Tóth O., Szomor Á., Nagy Á., Molnár L., Losonczy H., Dávid M.: Essentialis thrombocytæmia anagrelid-kezelése, eredményeink. Hemat Transzf 2011. Suppl. 1. 44:45-46.
 - 29 Farkas L., Szabó E., Kajtár B., Kereskai L., Bártai Á., Reményi P., Molnár L., **Kovács G.**, Csalódi R., Nagy Á., Kosztolányi Sz., Tóth O., Losonczy H., Dávid M., Szomor Á.: Késői relapszus autológ haemopoeticus összejtranszplantáció után anapláziás nagysejtes lymphómában. Hemat Transzf 2011. Suppl. 1. 44:86.
 - 30 Szomor Á., Kosztolányi Sz., Csalódi R., **Kovács G.**, Nagy Á., Tóth O., Pammer J., Losonczy H., Dávid M.: Autológ haemopoeticus összejtranszplantáción átesett lymphomás betegeink kondicionáló kezelésével szerzett tapasztalataink. Hemat Transzf 2013. Suppl. 1. 46:120-121.
 - 31 Losoczy H., **Kovács G.**: A CLL naprakész kezelési lehetőségei. Hemat Transzf 2013. Suppl. 1. 46:82.
 - 32 Eichhorst B, Fink Am, Busch R, **Kovacs G**, Maurer C, Lange E, Köppler H, Kiehl Mg, Soekler M, Schlag R, Vehling-Kaiser U, Köchling Gra, Plöger C, Gregor M, Plesner T, Trneny M, Fischer K, Döhner H, Kneba M, Wendtner Cm, Klapper W, Kreuzer Ka, Stilgenbauer S, Böttcher S, Hallek M: Frontline Chemoimmunotherapy with Fludarabine (F), Cyclophosphamide (C), and Rituximab (R) (FCR) Shows Superior Efficacy in Comparison to Bendamustine (B) and Rituximab (BR) in Previously Untreated and Physically Fit Patients (pts) with Advanced Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Final Analysis of an International, Randomized Study of the German CLL Study Group (GCLLSG) (CLL10 Study). American Society of Hematology 56th Annual Meeting 2014, San Francisco.
 - 33 **G Kovacs**, J Bahlo, S Kluth, P Cramer, AM Fink, K Fischer, C Gross-Ophoff-Mueller, P Langerbeins, C Maurer, J Tresckow, CM Wendtner, S Stilgenbauer, M Hallek, B Eichhorst, V Goede: Prognostic Impact and Risk Factors of Reducing Prescribed Doses of Fludarabine, Cyclophosphamide and Rituximab (FCR) during Frontline Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). American Society of Hematology 57th Annual Meeting 2015, Orlando.