

Hazai populációk immungenetikai jellemzése a vérképző őssejtdonor szelekció javítása érdekében

Doktori tézisek

Inotai Dóra

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Prof. Dr. Tordai Attila, MTA doktora, egyetemi tanár,
intézetigazgató

Hivatalos bírálók: Dr. Kriván Gergely, PhD, osztályvezető főorvos
Dr. Miklós Katalin, CSc

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Benyó Zoltán DSc egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Folyovich András, PhD, osztályvezető főorvos
Prof. Dr. Vásárhelyi Barna, MTA doktora, egyetemi
tanár, intézetigazgató

Budapest
2018

1 BEVEZETÉS

A humán leukocita antigének (HLA) egyeztetése a recipiens és a donor tekintetében alapvetően befolyásolja a transzplantáció sikerességét. A HLA-génkomplex a 6. kromoszóma rövid karján helyezkedik el. A HLA-molekulák rendkívül konzervált felépítésűek, ugyanakkor a peptidkötő hely kialakításában nagyfokú változatosságot mutatnak. Az azonosított HLA allélek száma folyamatosan nő, amely leginkább az egyre fejlettebb molekuláris biológiai módszereknek köszönhető. 2017 decemberéig 12631 db HLA I-es osztályú, valamint 4700 HLA II-es osztályú allélt írtak le. A hematopoetikus őssejt transzplantációban (HSCT) legfontosabb szerepet játszó, úgynevezett fő HLA-lókuszok: HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 és DPB1. Null alléleknek a HLA gének olyan variánsait nevezzük, amelyek fehérjeterméke rendkívül kis koncentrációban, vagy egyáltalán nem fejeződik ki a sejt felszínén. Ha a donornak van HLA null allélje és a recipiens rendelkezik ennek az allélnek az átlagos expressziós szinten kifejeződő terméket kódoló variánsával, ez utóbbit a donor T-limfocitái felismerik és súlyos akut graft versus host betegséget okozhatnak. Ellenkező esetben, vagyis, ha a recipiensnek van sejt felszínen nem kifejeződő HLA allélje, akkor host versus graft irányban térnek el a HLA allélek egymástól, amely viszont a graft kilökődését eredményezheti. A HLA-C*04:09N allél egyike a leggyakoribbak null alléleknek. A HLA-C*04:09N allél egyetlen nukleotidban különbözik az átlagos expressziójú molekulát kódoló HLA-C*04:01 alléltól. A következő haplotípusokban fordul elő leggyakrabban: A*02:01/A*23:01~B*44:03~DRB1*07:01~DQB1*02.

Néhány éve a populációgenetikai vizsgálatok fókuszpontjába kerültek a HLA gének. Az allél- és haplotípus gyakoriság vizsgálatok rávilágíthatnak adott populáción belül genetikai különbségekre vagy éppen a nagy földrajzi távolság ellenére a közös eredet jelenlétére. 2009-ben nemzetközi munkacsoportok alakultak a HLA-NET hálózat keretében, amelynek eredménye lett számos

publikáció olyan európai országok HLA diverzitásáról, amelyekről korábban nagyon kevés vagy egyáltalán nem állt adat rendelkezésre. A magyar populáció adatait feldolgozó jelen tanulmány is ebbe a folyamatba illeszthető be. Az elmúlt néhány száz évben bekövetkezett egyik legjelentősebb népvándorlási folyamat eredményeként Európában és Magyarországon is a legnagyobb kisebbséget a roma etnikai csoport alkotja. Számos HLA géndiverzitási és egyéb tanulmány eredményei alapján azt mondhatjuk, hogy bizonyos mértékű genetikai keveredés történt a roma nép és más népcsoportok között, de eközben az eredeti karakterjegyeket is megőrizték.

A HLA-rendszer vizsgálatának három fő klinikai vonatkozása van. Egyrészt, számos autoimmun betegséggel kapcsolatban vizsgálták a HLA allélek feltételezett hajlamosító szerepét. Másrészt, az ún. szolid szervek (vese, szív, tüdő, máj, hasnyálmirigy) átültetése során a HLA-antigének egyeztetésén kívül jelentősége van a preformált HLA-ellenes antitestek jelenlétének, amelyek rontják a beültetett szerv hosszútávú túlélését. Harmadrészt, a hematopoetikus őssejt átültetés, amelynek során, a szolid szervátültetéstől eltérő módon, kétirányú felismerési (kilökődési) folyamat történhet a sejtek felszínén lévő antigénként viselkedő HLA molekulák miatt. Az átültetett donor eredetű őssejtekből differenciálódott T-sejtek vagy a grafftal egyidejűleg bekerült érett T-sejtek idegenként ismerhetik fel a recipiens eredetű sejtek felszínén található HLA molekulákat és ez a folyamat immunreakciót válthat ki. Ezt a folyamatot nevezzük graft versus host betegségnek (GVHD). Természetesen a szervezetben jelenlévő recipiens eredetű immunrendszer sejtjei is felismerhetik a donor eredetű sejtek felszínén lévő antigéneket, ezt a folyamatot nevezzük host versus graft (HVG) reakciónak (kilökődés). A fentiekből következik, hogy a HSCT során kiemelt jelentősége van a HLA antigének egyeztetésének a recipiens és a donor között. Összesített túlélési adatok alapján – különösen rövidtávon – a legideálisabb donor a HLA identikus testvér donor, a betegeknek azonban csak kb. 30 %-a rendelkezik ilyen típusú donorral. Ezért nagy jelentősége van a

nemzetközi regisztereknek, amelyekben több mint 30 millió nyilvántartott őssejtdonor van. E nagy szám ellenére azonban továbbra is vannak olyan betegek, akiknek nem áll rendelkezésre HLA identikus donor. Ezért az alternatív őssejtforrásoknak is egyre fontosabbá válnak, különösen a haploidentikus donorból történő átültetések száma nőtt dinamikusan az elmúlt években. Az őssejtdonor regisztereknek azonban továbbra is nagy jelentőségük lesz. A regiszterekben történő donorkeresésnél különösen fontos, hogy a recipiens etnikai hátterével azonos származású donorok között célzottan történjen a keresés, mivel különböző populációk eltérő genetikai profillal rendelkezhetnek. Így jelentősen lerövidülhet a keresési folyamat, amely megnövelheti a beteg gyógyulási esélyeit. A fent említettekből látható, hogy ugyan a legtöbb HLA diverzitással foglalkozó tanulmánynak az elsődleges célja, hogy a populációk eredetéről, illetve a migráció során bekövetkezett genetikai keveredésről szolgáltatson új információt, ezzel egyidejűleg számos hasznos adattal segíti a megfelelő őssejtdonor keresés folyamatát.

2 CÉLKITŰZÉSEK

A HLA-C*04:09N alléllal kapcsolatos vizsgálatok során az alábbi célokat fogalmaztuk meg:

1. a HLA-C*04:09N allél azonosítására alkalmas módszer létrehozása
2. a HLA-C*04:09N allél gyakoriságának meghatározása a magyar populációban (n=7345).
3. a HLA-C*04:09N allélt hordozó haplotípusok gyakoriságának meghatározása a magyar populációban

Szinte mindegyik európai populáció HLA frekvencia adata elérhető szakirodalomban vagy online HLA-adatbázisban. Magyar HLA allélcsoport gyakoriság adatokat reprezentatív mintaszámon korábban nem közöltek.

Munkánk egy új és átfogó képet kíván adni a magyar populáció és Magyarország legnagyobb etnikai kisebbségét alkotó magyar roma populáció elhelyezkedéséről a HLA allélcsoportok genetikai térképén.

4. Munkánk célja volt, hogy 2402 magyar önkéntes hematopoetikus őssejtdonor körében megállapítsuk a HLA-A, HLA-B és HLA-DRB1 lókuszokban az allélcsoport frekvenciákat.
5. Másik célunk volt, hogy egy 186 főből álló magyarországi roma populációban meghatározzuk a HLA-A, HLA-B és HLA-DRB1 lókuszokban az allélcsoport gyakoriságokat.
6. A magyar kohorszban és a magyarországi roma csoportban a populációgenetikai paraméterek meghatározásához és ezek összehasonlításához az alábbi céljaink voltak:
 - A. a HWE egyensúlytól való eltérés meghatározása a vizsgált populációkban
 - B. a kapott allélcsoport frekvencia (AF) értékek összehasonlítása
 - C. a kumulatív allélcsoport frekvencia értékek meghatározása a vizsgált populációkban
 - D. a géndiverzitás és a becsült heterozigótaság meghatározása a vizsgált populációkban
7. Munkánk további célja volt, hogy szisztematikus összehasonlítást végezzünk a két magyarországi csoport, továbbá közép- és délkelet-európai kohorszok (Csehország, Ausztria, Horvátország, Szerbia, Románia) és más roma eredetű csoportok (spanyolországi roma, Észak-Gudzsarát (India)) között. Annak érdekében, hogy feltérképezzük a genetikai kapcsolatokat a kilenc populáció között, célunk volt:
 - A. a kilenc csoport páronkénti és lókuszonkénti összehasonlítása az F-statisztika segítségével, amely az allélcsoport frekvenciákat veszi alapul.

B. a genetikai távolságok meghatározása lókuszonként a kilenc populáció között, valamint a távolságok grafikus ábrázolása két dimenzióban.

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Vizsgált csoportok

A HLA-C*04:09N allélgyakoriság és haplotípus vizsgálatokhoz három csoportot analizáltunk. Az első csoport 1953 fő nem rokon önkéntes csontvelői őssejtdonorból állt. Ezen kívül megvizsgáltunk 717 HSCT-re váró beteget, a harmadik csoport (n=4675) klinikai szempontból változatos volt, többek között, HSCT-re, illetve szolid szervtranszplantációra váró betegeket is tartalmazott.

A HLA-A, -B és –DRB1 vizsgálatokhoz összesen 2402 egészséges, nem rokon, önkéntes magyar őssejt donor tipizálási eredményeit vizsgáltuk. A donorok 57%-a férfi, 43%-a nő, életkoruk 18 és 62 év között volt. A Magyar Őssejtdonor Regiszterbe 1990 és 2012 között jelentkeztek. Ez a csoport reprezentálja a magyar átlagpopulációt, mindegyikük magyar állampolgár, de nem zárható ki, hogy donornak jelentkezett olyan személy is, aki más etnikai közösséghez tartozik. Ezen a csoporton kívül 186 egészséges, önkéntes, magyar roma őssejt donor HLA-A, -B és –DRB1 allélcsoport frekvencia adatait analizáltuk. A donorok toborzása 2004 és 2005 között történt két földrajzi régióból, egyrészt Hajdú-Bihar megyéből, másrészt Mohácsról és környékéről. A csoport tagjai önbevallás útján vallották magukat romának. A vizsgált személyek 60%-a férfi és 40%-a nő, az életkor pedig 18 és 62 év között alakult. Ezen kívül vizsgálatainkat kiterjesztettük Magyarországgal közvetlenül vagy közvetetten szomszédos országokra (Csehország, Ausztria, Horvátország, Szerbia és Románia), továbbá egy spanyolországi roma csoportra és a roma népcsoport feltételezett őshazájában, az Indiában elhelyezkedő észak-gudzsarati csoportra. A nem magyarországi populációk HLA frekvencia adatai egyrészt nemzetközi

szakirodalomban publikált eredmények, másrészt az *www.allelefrequencies.net* HLA adatbázisban található meg.

3.2 Molekuláris biológiai módszerek

A HLA tipizálás során kétféle DNS-alapú módszerrel (PCR-SSP, PCR-SSO) határoztuk meg a kifelbontású HLA eredményeket. Mindkét esetben a primerek adott HLA lókusz esetén az antigénkötő zsebet meghatározó exonok amplifikálására vannak tervezve. A HLA-C*04:09N jelenlétének direkt meghatározásához létrehoztunk egy új allélspecifikus PCR rendszert. A HLA-C*04:09N jelenlétének igazolására Sanger szekvenálást alkalmaztunk.

3.3 Statisztikai módszerek

A Hardy-Weinberg egyensúly meghatározására, a HLA-A, -B, és -DRB1 allélcsoport gyakoriságok számítására, valamint a heterozigótaság mértékének megállapítására a HLA-specifikus Gene[RATE] programot használtuk a magyarországi populációknál. A populációkban jelenlévő diverzitás számszerűsítésére a kumulatív allélcsoport frekvenciákat számítottuk ki és ábrázoltuk az allélcsoportok számának a függvényében. Az egyes allélcsoport frekvencia értékek páronkénti összehasonlítását a vizsgált csoportokban chi-négyzet próbával végeztük el a GraphPad InStat program segítségével. A vizsgált populációk között fennálló genetikai rokonsági fok meghatározására F-statisztikát használtunk, amelynek során kilenc csoportot páronként és lókuszonként hasonlítottuk össze egymással az Arlequin program segítségével. Az F-statisztika az allélcsoport gyakoriságokat veszi alapul, és az F_{ST} érték a populáció differenciációs index, amely dimenzió nélküli szám. A Reynolds-féle genetikai távolság (DR) közvetlenül az F_{ST} értékekre épül. A populációk között lévő genetikai távolságokat a nem-metrikus sokdimenziós skálázás (NMDS) módszerével ábrázoltuk két dimenzióban az R program segítségével. Az NMDS olyan elemzési technika, amelynek segítségével egy halmaz objektumainak

páronkénti távolságait ismerve, azok geometriai reprezentációját adatredukciós eljárással készítjük el.

4 EREDMÉNYEK

4.1 HLA-C*04:09N allél vizsgálatok

Létrehoztunk a HLA-C*04:09N jelenlétének meghatározásához egy új allélspecifikus PCR rendszert. Mivel a C*04:09N allél előfordulását irodalmi adatok alapján le tudtuk szűkíteni két haplotípusra, így az allélspecifikus PCR-t csak azokban a vizsgált személyekben kellett elvégezni, akik rendelkeztek a A*02/A*23, B*44, DRB1*07, DQB1*02 allélkombinációval és a szerológiai HLA tipizálás alapján nem lehetett kizárni a null allél jelenlétét. A 7345 főből álló beteganyagban egyetlen esetben azonosítottunk HLA-C*04:09N allélt. Ez alapján a HLA-C*04:09N allél gyakorisága a magyar populációban 0,0068% (1/14690). A becsült haplotípusgyakoriság az A*02, B*44, DRB1*07, DQB1*02 allélkombináció esetén 0,34%, A*23, B*44, DRB1*07, DQB1*02 allélkombináció esetén 0,78%.

4.2 HLA-A, -B és -DRB1 allélcsoport vizsgálatok

4.2.1. A magyar populáció és magyar roma csoport összehasonlítása

A magyar populációban (HUN) és a magyar roma csoportban (HUN-GYP) a genotípus eloszlás mindhárom vizsgált lókusznál Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. A DNS-alapú kifelbontású HLA-A, -B, -DRB1 adatokat retrospektíven elemeztük. A HLA-A lókusznál a húsz különböző allélcsoport közül valamennyit azonosítottunk a magyar csoportban, és mindössze 15 allélcsoportot a magyar roma csoportban. Mindkét mintában az A*02 allélcsoport mutatta a legnagyobb frekvenciát (HUN: 29,2% és HUN-GYP: 30,4%), a második leggyakoribb allélcsoport az A*01 lett (15,2% és 27,4%), azonban a magyar roma csoportban szignifikánsan nagyobb volt ez az érték ($p < 0.0001$). A magyar populációban a harmadik legnagyobb gyakorisági

értéket az A*03 mutatta (11,8%), viszont a magyar roma csoportban ez az érték szignifikánsan kisebbnek bizonyult (3,5%) ($p < 0.0001$). Másrészt, az A*11 allélcsoport 18,8%-ban volt jelen és ezzel az értékkel a harmadik leggyakoribb allélcsoport a magyar roma mintában. A magyar csoportban ezzel szemben az A*11 szignifikánsan ritkábban volt jelen (6,0%) ($p < 0.0001$). A magyar roma csoportban egyáltalán nem volt kimutatható az A*29, A*30, A*69, A*74 és A*80 allélcsoport. A HLA-B lókuszt esetében tapasztaltuk a legnagyobb diverzitást mindkét csoportban. A magyar csoportban 28 db, a magyar roma mintában 26 db allélcsoportot detektáltunk. A magyar populációban a legnagyobb mértékben reprezentált allélcsoportok a következők voltak: B*44 (12,2%), B*35 (11,3%), B*08 (10,3%), B*18 (9,6%), B*07 (8,1%) és B*51 (6,8%). Ezzel szemben a magyar roma csoportban csak a B*35 frekvenciája (11,6%) volt összemérhető ezekkel az értékekkel, a B*44 (5,6%) és B*08 (6,5%) allélcsoport gyakoriság értékek szignifikánsan kisebbek voltak, mint a magyar csoportban kapott értékek ($p = 0.0003$; $p = 0.024$). A magyar roma mintában a leggyakoribb allélcsoportok a következők voltak: B*52 (14,2%), B*40 (13,4%), B*35 (11,6%), B*57 (7,0%), B*08 (6,5%) és B*27% (6,2%). A magyar roma csoportban azonosított két leggyakoribb allélcsoport a magyar populációban szignifikánsan kisebb értéket mutatott (2,0% és 4,4%; $p < 0,0001$). A HLA adatbázisban hivatalosan nyilvántartott allélcsoportok közül a B*42 és B*46 nem volt kimutatható egyik vizsgált csoportban sem. A tizenhárom HLA-DRB1 allélcsoport közül mindegyiket azonosítottunk a magyar populációban. Az első hat leggyakoribb csoport a DRB1*11 (15,4%), DRB1*03 (12,4%), DRB1*13 (12,2%), DRB1*07 (11,4%), DRB1*04 (11,0%) és DRB1*15 (10,6%). Ezeket az eredményeket összehasonlítva a magyar roma csoportban kapott értékekkel (ahol összesen 11 különböző allélcsoportot azonosítottunk), azt találtuk, hogy a DRB1*13 frekvenciája szignifikánsan kisebb volt az utóbbi csoportban (6,2%; $p < 0,001$). A magyar roma mintában a DRB1*15 (17,7%) mutatta a legnagyobb frekvencia értéket, ezt követte a DRB1*03 (16,9%) és

DRB1*14 (13,5%). A DRB1*15 és a DRB1*14 ehhez képest szignifikánsan kisebb mértékben fordult elő a magyar mintában (10,6% és 5,1% ($p < 0,001$)). A magyar roma csoportban nem azonosítottunk DRB1*08 és DRB1*12 allélcsoportot.

A magyar populáció és a magyar roma populáció allélcsoport frekvencia értékeit feltöltöttük a hla-net.eu oldalra, ezáltal Magyarország felkerült Európa HLA térképére.

A HLA-A, -B, -DRB1 lókusznál számított kumulatív allélcsoport frekvencia értékek grafikus reprezentációja során mindkét csoportban a legnagyobb diverzitást és a legegyszerűsebb emelkedést a HLA-B lókusznál mutattunk ki. Szignifikáns különbséget a HLA-A lókusznál tapasztaltunk, amelynél a magyar roma csoportban sokkal meredekebb görbét kaptunk, mint a magyar populációban. Ennek oka, hogy a három leggyakoribb allélcsoporthoz tartozó kumulatív frekvencia érték a magyar csoportban 56,2%, ehhez viszonyítva a magyar roma csoportban detektált érték szignifikánsan magasabb volt (76,6%). Ezeket az eredményeket megerősíti, hogy a becsült heterozigótási értékek (H) mindkét populációban magasak voltak (HUN: HLA-A (0,86) HLA-B (0,93) és HLA-DRB1 (0,89) és HUN-GYP HLA-A (0,79) HLA-B 0,92 és HLA-DRB1 (0,87). Chi-négyzet próbával páronként összehasonlítva az eredményeket, a HLA-A lókusznál kaptunk szignifikáns különbséget a HUN-GYP csoportban szignifikánsan kisebb értéket detektáltunk a HUN csoporthoz képest (0,79 vs 0,86).

4.2.2. A magyarországi populációk összehasonlítása nemzetközi adatokkal

A két hazai csoport és az Ausztriát, Horvátországot, Csehországot, Romániát és Szerbiát reprezentáló csoportok, valamint az észak-gudzsarati és andalúziai cigány populáció között jelenlévő genetikai kapcsolatok meghatározására F-statisztikai analízist használtunk, amely az allélcsoport frekvenciákat veszi alapul. A vizsgált csoportok páronkénti és a HLA-A, -B és -DRB1 lókuszekre külön-külön összehasonlítása során kapott F_{ST} értékek és a hozzájuk tartozó p

értékek alapján a HLA-A lókuszt vizsgálata során detektáltuk a legtöbb genetikai kapcsolatot. Magyarország és Ausztria, illetve Magyarország és Csehország között egyértelmű kapcsolat figyelhető meg ($p > 0,05$), továbbá Ausztria Csehországgal, Horvátországgal és Szerbiával is rokonságot mutat ($p > 0,05$). A HLA-B és –DRB1 lókusznál mindössze két kapcsolatot azonosítottunk. Mindkét lókusznál Ausztria és Csehország ($p > 0,05$) valamint a magyarországi cigány populáció és az andalúziai cigány csoport között ($p > 0,05$) mutattunk ki genetikai rokonságot. A kilenc populáció között lévő genetikai távolságokat a nem-metrikus sokdimenziós skálázás módszerének segítségével ábrázoltuk két dimenzióban. Mindhárom lókusznál egy kifejezett tagolódás figyelhető meg az 1. tengely (MDS1) mentén. A hat nem-roma eredetű európai populáció az egyik oldalon csoportosul, miközben a két cigány és az indiai eredetű csoport a másik oldalon. A HLA-B lókuszt alapján a két cigány populáció rokonságot mutat egymással, az indiai csoporttól viszont távol helyezkedik el, ez a kapcsolat még kifejezettebb a HLA-DRB1 lókuszt esetén. Ezzel szemben a HLA-A lókusznál a 2. tengely mentén kifejezetten távol helyezkednek el egymástól. A HLA-A, -B és –DRB1 lókuszt vizsgálva az európai populációk elhelyezkedése hasonló egymáshoz képest. A magyar populáció erősen központi pozíciót foglal el, egyik oldalán a Csehország és Ausztria helyezkedik el, ez a két csoport ráadásul nagyon közel van egymáshoz. A magyar csoport másik oldalán Horvátország, Szerbia és Románia csoportosul.

5 KÖVETKEZTETÉSEK

1. Megállapítottuk a HLA-C*04:09N allél gyakoriságát reprezentatív magyar populációban. 7345 vizsgált személy közül összesen 1 esetben tudtuk a C*04:09N allélt kimutatni, ez alapján az allélgyakoriság 0,0068%. A magyar populációban kimutatott allélfrekvencia érték szignifikánsan kisebb volt nemzetközi szakirodalomban talált értékekhez képest ($p = 0,043-0,0001$, $p = 0,018$ és $p = 0,001$). Ugyanezen a vizsgált

anyagon meghatároztuk a becsült haplotípus frekvencia értékeket a HLA-A*02~B*44~C*04~DRB1*07 (0,34%) és a HLA-A*23~B*44~DRB1*07 (0,78%) haplotípusok esetében. A kapott értékek összhangban vannak a nemzetközi HLA adatbázisban (www.allelefrequencies.net) talált adatokkal.

2. Elsőként határoztuk meg a HLA allélcsoport frekvencia értékeket a HLA-A, -B és -DRB1 lókuszekben DNS alapú kifelbontású HLA tipizálási eredményeket feldolgozva a magyar populációban és Magyarország legnagyobb etnikai kisebbségében, a magyar roma csoportban. A két populációban detektált HLA allélcsoport frekvencia értékek összehasonlítása alapján, számos allélcsoport szignifikánsan gyakrabban fordult elő a magyarországi roma populációban (pl.: A*01; A*11; B*40; B*52; DRB1*14 és DRB1*15). Más allélcsoportok gyakorisága viszont a magyar populációban volt szignifikánsan magasabb (pl.: A*03; B*07; B*18; B*44 és DRB1*13).
3. A két magyarországi csoportot vizsgálva a HLA-A lókuszbán mutatkozott a legtöbb különbség. A detektált allélcsoportok számában, a kumulatív allélcsoport gyakoriságban és a heterozigótaságban detektált szignifikáns különbségek egymást alátámasztva azt mutatják, hogy a magyar roma populációban kisebb a géndiverzitás a magyar populációhoz képest a HLA-A lókuszbán. Ez feltételezhetően az alapító hatásnak (founder effect), illetve a genetikai sodródásnak a következménye, amely a cigányság Indiából történő kivándorlása során következett be, több mint ezer évvel ezelőtt. Kis populációkban erős a genetikai sodródás, ennek köszönhetően az alapító populációból bizonyos HLA allélcsoportok teljesen eltűnhettek, mások pedig felszaporodtak. Az általunk vizsgált roma populációban feltételezhetően az A*29 és A*30 allélcsoport veszett el teljesen, míg az A*02, A*01 és az A*11 gyakorisága annyira megnőtt, hogy nem csak a három legnagyobb frekvencia értéket mutatják, hanem a

detektált gyakorisági értékek összege meghaladja a 76%-ot. Az alapító hatást a cigány közösségekben felerősítette a nagymértékben jelen lévő izoláltság és endogámia is.

4. A genetikai távolságokat ábrázolva kimutattuk, hogy Magyarország közel helyezkedik el a vizsgált európai csoportokhoz a HLA-A, -B és -DRB1 lókuszok esetén. Ezt megerősíti a transzplantációs gyakorlat, amely szerint az idegen donorok nagy része európai regiszterekből származik.
5. A magyar roma populáció és a spanyol roma csoport között kis genetikai távolságot detektáltunk a HLA-B és -DRB1 lókuszoknál és ez a két csoport közel helyezkedik el az indiai csoporthoz is, amely megerősíti a roma csoportok indiai eredetét. Jelentős különbség ebben az esetben is a HLA-A lókuszánál figyelhető meg, amelynél a három roma-eredetű populáció közötti távolság szignifikáns. A fentiek alapján elmondhatjuk, hogy a HLA-A lókuszra eltérő evolúciós hatások érvényesülnek, mint a HLA-B és -DRB1 lókuszokra.
6. Klinikai következménye eredményeinknek, hogy a magyar roma etnikai közösséghez tartozó recipienseknek legnagyobb eséllyel olyan magyar önkéntes donorok között találhatnánk alkalmas donorokat, akik maguk is roma etnikai közösséghez, különösen magyar roma csoporthoz tartoznak. Ehhez a Magyar Óssejtdonor Regiszterben lévő donorok számának növelése lenne szükséges, ráadásul célzottan a roma kisebbség megszólítása jelenthetne igazi megoldást. Természetesen ez lehetőséget jelentene Európában vagy máshol élő roma betegek számára is.

6 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

▪ Az értekezés témájához kapcsolódó saját közlemények jegyzéke:

1. **Inotai D**, Szilvasi A, Benko S, Boros-Major A, Illes Z, Bors A, Kiss KP, Rajczy K, Gelle-Hossó A, Buhler S, Nunes JM, Sanchez-Mazas A, Tordai A. (2015) HLA genetic diversity in Hungarians and Hungarian Gypsies: Complementary differentiation patterns and demographic signals revealed by HLA-A, -B and -DRB1 in Central Europe. *Tissue Antigens*. 86: 115-121. **IF 2015: 2,046**
2. Bors A, **Inotai D**, Andrikovics H, Benko S, Boros-Major A, Illés Z, Szilvási A, Gelle-Hossó A, Rajczy K, Tordai A. (2015) Low occurrence of the HLA-C*04:09N allele in a large Hungarian cohort. *Tissue Antigens*. 86:(1) pp. 32-35. **IF 2015: 2,046**

▪ Az értekezés témájához nem kapcsolódó saját közlemények jegyzéke:

1. Balassa K, Andrikovics H, Remenyi P, Batai A, Szilvasi A, Bors A, Kiss KP, Rajczy K, **Inotai D**, Torbagyi E, Lengyel L, Barta A, Gopcsa L, Tordai A, Masszi T. (2018) Sex-specific survival difference in association with HLA-DRB1 *04 following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for lymphoid malignancies. *Human Immunology*. 79: 13-19.
2. Sinkovits G, Szilagyai A, Farkas P, **Inotai D**, Szilvasi A, Tordai A, Razso K, Reti M, Prohaszka Z. (2017) The role of human leukocyte antigen DRB1-DQB1 haplotypes in the susceptibility to acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Human Immunology*. 78:80-87.
3. Balassa K, Andrikovics H, Remenyi P, Batai A, Bors A, Kiss KP, Szilvasi A, Rajczy K, **Inotai D**, Gopcsa L, Lengyel L, Barta A, Reti M, Tordai A, Masszi T. (2015) The potential role of HLA-DRB1*11 in the

development and outcome of haematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Bone Marrow Transplantation*. 50:1321-1325.

4. **Inotai D**, Boros-Major A, Illes Z, Szilvasi A, Nagy G, Rajczy K, Chmel R, Langer RM, Tordai A. (2012) Decrease in cold ischemic times as a result of protocol changes of urgent immunogenetic testing during cadaveric kidney transplantation in Hungary. *Transplantation Proceedings*. 44: 2132-2135.

7 Köszönetnyilvánítás

Legelőször szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Tordai Attilának, hogy pályám kezdetén elindított a kutatói munka irányába. Kezdetől fogva támogatott, és számtalan lehetőséget biztosított számomra, amelyek segítettek tudományos fejlődésemet. Ösztönzése és bátorítása nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.

Szeretném megköszönni Prof. Dr. Alicia Sanchez-Mazas laboratóriumvezetőnek, hogy a kutatómunka kezdeti részét a Laboratory of Anthropology, Genetics and Peopling History genfi laboratóriumában végezhettem. Köszönöm José Manuel Nunes-nek és Dr. Stéphane Buhlernek a populációgenetikai módszerek elsajátításában nyújtott segítségét.

Szeretném megköszönni Dr. Szilvási Anikónak, hogy hasznos észrevételeivel végig segítette munkámat és szakmai alaposágára, támogatására mindig számíthattam.

Köszönet illeti Dr. Bors András, hogy bármikor fordulhattam hozzá szakmai tanácsért, vagy néhány frappáns észrevételért.

Köszönettel tartozom Dr. Andrikovics Hajnalkának, hogy szakmai elhivatottságával példát állított elém, javaslatai és tanácsai mindig értékesnek bizonyultak.

Köszönöm Dr. Balassa Katalinnak, hogy bármikor fordulhattam hozzá kérdésekkel, alapos válaszai, lelkiismeretessége nagyon sokat jelentettek számomra.

Szeretnék köszönetet mondani a sok segítségért a Magyar Össejtdonor Regiszter vezetőjének, Dr. Rajczy Katalinnak, valamint munkatársainak, Garamszegi Mónikának és Hossó Adriennek.

Köszönet illeti a Transzplantációs Immungenetikai Laboratórium valamennyi munkatársát, akik sokféle módon segítettek munkámat és biztosították a jó munkahangulatot.

Szeretném megköszönni férjemnek, Mesterházy Andrásnak, hogy végig bátorított és támogatott a disszertáció megírása alatt.

Végezetül köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy folyamatos érdeklődésükkel és bátorításukkal arra ösztönöztek, hogy a dolgozat mihamarabb elkészülhessen.

Doktori értekezésemet sógornőmnek, Mesterházy-Ács Zsófiának ajánlom. Az akut mieloid leukémia miatt bekövetkezett fájdalmasan korai halála még jobban fokozta elhivatottságomat, hogy ez a munka mindenképpen létrejöhessen.