

MTA Orvosi Tudományok Osztálya

Doktori Tézisek

Multidiszciplináris, innovatív megközelítés a  
tumorok világában: Biomarkerek a  
diagnosztikában, életminőség javítása rossz  
prognózisú daganatos megbetegedésekben

Dr. Dank Magdolna Vilma



Semmelweis Egyetem  
Belgyógyászati és Onkológiai Klinika

2024

# Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
2. Célkitűzések .....	5
2.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőrákban .....	5
2.2. A modulált elektro-hipertermia kezelések hatásosságának vizsgálata hasnyálmirigy adenokarcinómában.....	5
2.3. Biomarkerek vizsgálata gasztrointesztinális tumorokban .....	6
2.3.1. Vértkép és trombocita mutatók, mint a kolorektális daganatok biomarkerei.....	6
2.3.2. D-vitamin, homocisztein, PD-1 és PD-L1 vizsgálata kolorektális daganatokban ...	6
3. Módszerek .....	8
3.1. Vizsgálatok felépítése.....	8
3.1.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőrákban .....	8
3.1.2. A modulált elektro-hipertermia kezelések vizsgálata .....	8
3.1.3. Biomarkerek vizsgálata kolorektális tumorokban.....	9
3.1.3.1. Trombocita-arányok vizsgálata .....	9
3.1.3.2. Keringő D-vitamin, homocisztein, PD-1 és PD-L1 szintek vizsgálata.....	9
3.2. Klinikopatológiai paraméterek meghatározása .....	10
3.3. Biomarker meghatározások, laboratóriumi módszerek.....	11
3.4. Patológiai módszerek .....	11
3.5. Modulált elektro-hipertermia kezelés.....	12
3.6. Képpalkotó és fizikális vizsgálatok.....	13
3.7. Statisztikai analízisek .....	13
3.8. Etikai engedélyek .....	14
4. Eredmények.....	15
4.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőrákban .....	15
4.1.1. FDG-PET/CT paraméterek prediktív értéke a betegségprogresszió mérésében.....	15
4.1.2. Az ultrahang és fizikális vizsgálatok prediktív értéke a betegségprogresszióra .....	16

4.1.3. Sejtciklus markerek prediktív értéke a betegségprogresszió mérésében .....	16
4.1.4. A vizuális- és a számítógép-asszisztált patológiai analízisek összehasonlítása .....	17
4.2. A modulált elektro-hipertermia kezelések hatásosságának és biztonságosságának vizsgálata pancreas tumorban.....	17
4.2.1. Az optimális mEHT-kezelésszám meghatározása .....	18
4.2.2. Mikor érdemes bevezetni a mEHT-kezelést?.....	18
4.2.3. Inoperábilis pancreas tumorok kezelése mEHT segítségével .....	19
4.3. Biomarkerek vizsgálata gasztrointesztinális tumorokban .....	20
4.3.1. A személyre-szabott indikátor trombocitózis vizsgálata CRC-ben.....	20
4.3.2. A teljes vérkép- és relatív trombocita-arányszámok, mint a CRC biomarkerei.....	21
4.3.3. Keringő D-vitamin- és homocisztein szintek meghatározása CRC-ben .....	22
4.3.4. Szolubilis PD-1 és PD-L1 meghatározása CRC-ben .....	23
5. Új megállapítások.....	25
5.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőtumorban .....	25
5.2. Modulált elektro-hipertermia vizsgálatok PDAC-ban .....	25
5.3. Biomarker vizsgálatok.....	26
5.3.1. Vérkép és trombocitaszám mutatók, mint a CRC biomarkerei.....	26
5.3.2. A D-vitamin, a homocisztein, a PD-1 és a PD-L1 szerepe CRC-ben .....	26
6. Saját közlemények.....	28
6.1. Az értekezés alapjául szolgáló, a PhD fokozat elnyerése (2003) után született első- vagy utolsószerzős közlemények .....	28
6.2. Az értekezés alapjául szolgáló, a PhD fokozat elnyerése (2003) után született nem első- vagy utolsószerzős közlemények .....	30
7. Tudományometriai adatok.....	31
8. Köszönetnyilvánítás .....	33

# 1. Bevezetés

A daganatos megbetegedések már hosszú ideje jelen vannak az emberiség történelmében, ellenük évszázadok óta tartó küzdelem folyik. A kórképet már az ókori időkben felismerték, de a kezelés és a betegség megértése szempontjából századokon át csak lassú fejlődés történt. Az orvostudomány fejlődése során fokozatosan javultak a sebészeti / gyógyszeres / sugárterápiás és diagnosztikai eljárások, de a rák kezelésének hiányosságai továbbra is kihívást jelentettek. A 20. században a rákkutatás rohamos fejlődésnek indult. Az század első fele során megkezdődött a rákkeltő anyagok és a különböző kockázati tényezők azonosítása. A tumoros sejtek biológiájának és genetikai hátterének jobb megértése lehetőséget teremtett az új kezelési módszerek kifejlesztésére. A rákkutatás és a terápiás lehetőségek folyamatosan fejlődnek, miközben az orvosok és kutatók további erőfeszítéseket tesznek a betegség teljes körű megértéséért és hatékony kezeléséért. Az elmúlt két évtized során meghatározó fejlődésen ment keresztül a daganatok diagnosztikája és terápiája. Intézményünkben a legtöbb beteget emlő-, vastagbél- (CRC) és hasnyálmirigy (PDAC) daganattal kezeljük, így ezt a fejlődést, mely különböző mértékű, ezeknél a betegnél tudtuk megtapasztalni. A személyre szabott betegkezelés elősegítése érdekében a szolid daganatok biológiai viselkedéséről egyre részletesebb ismeretekre teszünk szert, melyek alapján teljesen egyedi, ún. személyre szabott terápiát nyújthatunk.

A szakmai munkámat bemutató időszakban az Egyetemen folyamatos dinamikus struktúraváltozás történt, ami azt eredményezte, hogy onkológiánk számos helyváltoztatása során több társ-intézménnyel is integrációba került. Ezek az integrációk tették lehetővé a szorosabb kapcsolatfelvételt a képalkotó diagnosztikával, intervenciós radiológiával, és a klasszikus belgyógyászatból kivált területekkel, mint a diabetológia, kardiológia stb. Ezek az integrációk egyben időkorlátot is eredményeztek, de pozitívan hatottak ránk a strukturált továbbgondolkodás megvalósításában, az együttműködések keresésében.

1. Az emlőtumorok kezelése során az adott terápia hatékonyságának mérése sarkalatos pont. Az onkológiai diagnosztika és kezelés fejlődésében kulcsfontosságú szerepet játszanak a képalkotó technikák [mágneses rezonancia képalkotás (MRI); 18F-fluordezoxiglükóz pozitronemissziós tomográfia (FDG-PET/CT); ultrahang (UH)], amelyek között a funkcionális képalkotás kiemelkedő helyet foglal el. Kulcsszerepet játszik az emlőrák korai felismerésében és a kezelési stratégiák meghatározásában. Ez

a technológia lehetővé teszi a daganatok biológiai aktivitásának és a szöveti változásoknak a vizsgálatát, amelyek túlmutatnak a hagyományos képalkotó módszerek által nyújtott strukturális információkon. A funkcionális képalkotás az emlőrák diagnosztikájában jelentős előrelépést jelent, mivel a strukturális képekkel szemben további, életfontosságú információkat szolgáltat a daganatok viselkedéséről és a kezelési válaszról. Az innováció és a technológiai fejlesztések tovább növelik ezen módszerek hatékonyságát és hozzáférhetőségét az emlőrák kezelésében. Tőkés Tímea és Szentmártoni Gyöngyvér PhD-hallgatóimmal a cél a funkcionális képalkotás szerepének részletes vizsgálata volt az emlőtumorok prognózisának meghatározásában. A Radiológiai Klinikával, illetve a Radiológiai és Onkoterápiás Klinikával való együttműködés keretében végeztük el ezt a feladatot.

2. Magyarországon az első hipertermiás készüléket 1996-ban telepítették le Egyetemünk Radiológiai Klinikájára, és ezzel a készülékkel én végeztem el az első lokális hipertermiás kezelést. Későbbiekben a modulált elektro-hipertermiás (mEHT) munkacsoport tagjai lettek Dr. Szász Attila Marcell, Dr. Garay Tamás, dr. Borbényi Erika, Dr. Herold Zoltán és Herold Magdolna.
3. Az I. sz. Belgyógyászati Klinikával történt integráció (mai nevén Belgyógyászati és Onkológiai Klinika) a napi gyakorlatban is alkalmazható biomarkerek, valamint a klinika profiljában tradicionálisan megjelenő D vitamin konszenzusok kapcsán a D vitamin, a homocisztein, a szolubilis PD-1 (programozott sejthalál protein 1) és PD-L1 (programozott sejthalál ligandum1), illetve ezek kapcsolata felé fordította érdeklődésünket. Ezt a munkát Mühl Dorottya PhD hallgatómmal és a II. sz. Patológiai Intézet facilitásait használva végeztük el.
4. A Somogyi Anikó Professzor Asszony vezette munkacsoporttal, Herold Zoltánnal és Herold Magdolnával, együttműködve a Belgyógyászati és Hematológiai Klinikával, további biomarkerek tanulmányozása felé fordult figyelmünk. A teljes vérkép különböző paramétereit, azok kombinációit, arányait vizsgáltuk CRC betegeknél.

## 2. Célkitűzések

### 2.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőrákban

A rutin onkológiai gyakorlatban jellemző, hogy a ránézésre közel azonos tulajdonsággal rendelkező tumorok kezelésében jelentős különbségek vannak. Ezért több prediktív és prognosztikus markert is megvizsgáltunk, hogy melyik milyen hatékonysággal rendelkezik az emlőtumoros betegek primer szisztémás terápiája során. Kérdéseink:

- A különböző molekuláris altípusokban a fizikális és ultrahang vizsgálatok segítségével előre jelezhető-e a patológiai válasz, a túlélési idő?
- Kimutatható-e összefüggés a molekuláris altípusok, a patológiai komplett remisszió és a túlélés között?
- Humán epidermális növekedési faktor receptor 2-pozitív (HER2<sup>3+</sup>) betegcsoportban miként alakul a patológiai komplett remisszió? Befolyásolja ezt a biológiai terápia alkalmazása?
- Van kimutatható összefüggés a tumorproliferációt jelző markerek (Ki-67, MCM2, ciklin A, PHH3) és a digitális patológia, a rutin vizuális analízis módszerei, az immunhisztokémiai (IHC) vizsgálatok eredménye, a primer szisztémás terápia várható kimenetele, és a rutin klinikopatológiai paraméterek között?
- Alkalmazhatóak primer szisztémás terápia során a tumorválasz objektívizálására elérhető rendszerek a PET/CT-vel végzett válaszmérésben?
- Van összefüggés a dinamikus FDG-PET/CT vizsgálatok eredménye és a korai tumorválasz, a tumorproliferációt jelző markerek között?
- Milyen diagnosztikus lehetőségek állnak rendelkezésre ellentmondásosnak tűnő klinikopatológiai tulajdonságok esetén a mindennapi klinikai gyakorlatban?

### 2.2. A modulált elektro-hipertermia kezeléseinek hatásosságának vizsgálata hasnyálmirigy adenokarcinómában

Hasnyálmirigy adenokarcinómában kevés irodalmi adat áll rendelkezésre a modulált elektro-hipertermia kezeléseivel kapcsolatban. Előzetes klinikai vizsgálatainkban az alábbi kérdésekre kerestük a választ.

- Mikor érdemes bevezetni a modulált elektro-hipertermia terápiát a hasnyálmirigy adenokarcinómában szenvedő betegek onkológiai kezelésébe?

- Az elvégzett mEHT kezelések száma milyen hatással van a betegek túlélésére?
- Vannak olyan klinikopatológiai tényezők, amik befolyásolják a mEHT kezelések hasnyálmirigy adenokarcinómában való alkalmazhatóságát?

## **2.3. Biomarkerek vizsgálata gasztrointesztinális tumorokban**

### **2.3.1. Vérkép és trombocita mutatók, mint a kolorektális daganatok biomarkerei**

A teljes vérkép paramétereiből képzett arányok jó biomarkereknek tekinthetők a kolorektális tumorokban, azonban longitudinális változásaikról keveset tudunk. Vizsgálatunk fő célja ezeknek a változásoknak a feltérképezése, illetve további, személyre szabott trombocita arányszámok létrehozása, és ezek kolorektális tumorokban való alkalmazhatóságának tesztelése. A kutatás fő kérdései:

- Egészségesekhez képest eltérően változnak a trombocitaszámok a kolorektális tumor diagnózisát megelőzően?
- Van összefüggés az újonnan meghatározott trombocita arányszámok és a kolorektális tumoros betegek túlélése között?
- Van összefüggés az újonnan meghatározott trombocita arányszámok és a kolorektális tumor különböző klinikopatológiai paramétereinek között?
- Van összefüggés az újonnan meghatározott trombocita arányszámok és a kolorektális tumor társbetegségei között?
- Miként változik a neutrofil - limfocita arány (NLR), a limfocita - monocita arány (LMR), a hemoglobin - trombocita arány (HPR), a trombocita - limfocita arány (PLR), és a vörösvértest eloszlási szélesség (RDW) - trombocita arány (RPR) a betegség előrehaladtával?
- Kimutatható összefüggés az NLR, az LMR, a HPR, a PLR, és az RPR változásai és a betegség progressziója, a betegek túlélése között?

### **2.3.2. D-vitamin, homocisztein, PD-1 és PD-L1 vizsgálata kolorektális daganatokban**

Habár kolorektális tumorban a keringő D-vitamin, homocisztein, PD-1 és PD-L1 szintekről sok irodalmi adat áll rendelkezésre, ezek időbeli változásairól rendkívül kevés adat érhető el. Biomarker vizsgálataink ezen része során arra kerestük a választ, hogy

- Milyen D-vitamin-, homocisztein-, PD-1- és PD-L1 szint jellemző a kolorektális tumoros betegekre?

- Befolyásolja a D-vitamin-, homocisztein-, PD-1- és/vagy PD-L1 szintet bármely rutin laboratóriumi és/vagy klinikopatológiai paraméter?
- Hogyan változik a D-vitamin- és/vagy a homocisztein szintje a betegség előrehaladtával?
- Befolyásolja valamelyik rutin laboratóriumi és/vagy klinikopatológiai paraméter a D-vitamin- és/vagy a homocisztein szint változását?
- Az alacsony és magas PD-1- és/vagy PD-L1 szintek kapcsolatban állnak-e valamely rutin laboratóriumi és/vagy klinikopatológiai paraméterrel?
- Befolyásolja a műtét előtti D-vitamin-, homocisztein-, PD-1- és/vagy PD-L1 szint a kolorektális tumoros betegek túlélését?
- Milyen hatása van a D-vitamin- és/vagy homocisztein szint változásának a betegek túlélésére?



## 3. Módszerek

### 3.1. Vizsgálatok felépítése

#### 3.1.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőrákban

Az onkológiai kezelésekre adott terápiás válasz vizsgálatára retrospektív obszervációs vizsgálatokat végeztünk, melyekbe az 1998 és 2013 közötti, primer szisztémás kezelésen (PST) átesett, lokálisan előrehaladott emlőtumoros betegeket vontunk be. A betegek rutin onkológiai kezelése a (mai nevén) Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Onkológiai Profilján történt. Vizsgálatainkba összesen 304 beteget vontunk be. A betegeket három alvizsgálatba vontuk be. Megjegyzendő, hogy habár számos vizsgálati eljárás ma már a rutin onkológiai gyakorlat részét képezi, a betegek vizsgálatokba történő bevonása még a Szent Gallen-i konszenzuskonferenciát megelőzően történtek.

Az FDG-PET/CT paramétereinek alapján történő terápiás válasz becslést három vizsgálati beállításban teszteltük. Első körben 42 betegnél (41 nőbeteg és 1 férfi) vizsgáltuk a maximális standard felvételi hányados ( $SUV_{max}$ ), a tumorméret, és Ki-67-pozitív sejtek arányának (Ki-67-LI) változását, a PST előtt és után mért értékek alapján. Ezt követően 43 HER2<sup>3+</sup> emlőtumoros nőbeteg adatait dolgoztuk fel. 71 betegnél pedig megvizsgáltuk, hogy a fenti paraméterek hogyan alakulnak a különböző molekuláris emlőtumor szubtypusokban.

A 304 betegből 116 fő UH- és/vagy fizikális vizsgálatának paramétereit elemeztük. Az UH- és/vagy fizikális vizsgálatokat a PST-t megelőzően, majd azt követően is elvégeztük. Fizikális vizsgálat 108 beteg dokumentációjában volt mindkét időpontban elérhető, a két időpontban elvégzett UH vizsgálat pedig 58 betegnél került rögzítésre.

A sejtciklus markerek vizsgálatát két ütemben végeztük el. Először 57 beteg Ki-67, MCM2, ciklin A, és PPH3 IHC vizsgálata készült el, melyet követően egy számítógép-asszisztált és egy vizuális kiértékelési módszert teszteltünk le. A vizsgálat második fázisában 52 betegnél a fentiek mellett az emlőtumor molekuláris szubtypusok meghatározása is megtörtént.

#### 3.1.2. A modulált elektro-hipertermia kezelése vizsgálat

A mEHT-kezelések hatásosságának és biztonságosságának vizsgálatára retrospektív obszervációs vizsgálatot terveztünk. A Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika Onkológiai Profilján 2016 és 2021 között kezelt 96 fő, előrehaladott stádiumú PDAC-beteg került bevonásra. Mind a 96 beteg, legalább 4 db, egymást követő konkomittáns mEHT-kezelésben részesült. Továbbá az intézetben ugyanezen időszak alatt megjelent ( $n = 416$ ), de

mEHT-kezelésben nem részesült betegek közül egy 86 fős, korban és nemben illesztett, előrehaladott stádiumú PDAC-kontrollcsoportot is bevontunk a vizsgálatba.

A fenti, mEHT-val kezelt kohorszból 39 fő (40,6%), inoperábilis PDAC tumorban szenvedő beteg került kiválasztásra, akiknek a klinikai adatait egy eset-kontroll vizsgálat keretében további szempontok szerint is elemeztük. A 39 kiválasztott mEHT-val kezelt inoperábilis PDAC beteg mellé az előbbi kontroll csoporttól független, 39 illesztett kontroll beteg került kiválasztásra.

### **3.1.3. Biomarkerek vizsgálata kolorektális tumorokban**

#### ***3.1.3.1. Trombocita-arányok vizsgálata***

A trombocita arányok kolorektális tumorokban betöltött szerepének vizsgálatára retrospektív, longitudinális obszervációs vizsgálatot végeztünk. Összesen 835 CRC beteg adatait rögzítettük, akik 2006 és 2018 között a Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, valamint a Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Onkológiai Profil szakambulanciáin fordultak meg. A vizsgálatba való beválasztás elsődleges feltétele volt, hogy legalább egy, a CRC diagnózisának időpontjában a Semmelweis Egyetemen készült laboratóriumi vizsgálattal rendelkezzen a beteg. A 835 betegnek összesen 4608 megjelenését (átlagosan 5,52 vizit/beteg) dolgoztuk fel.

Megvizsgáltuk továbbá, hogy hány betegnek volt elérhető olyan laboratóriumi mérési eredménye, ami a tumor kialakulását megelőzően legalább 30 hónappal korábban készült. Összesen 150 ilyen beteget sikerült azonosítanunk. A CRC betegek mellé bevontunk a vizsgálat ezen részébe közel azonos életkorú, de tumormentes személyeket is. Mivel a bevont 150 CRC beteg egy jelentős részénél (32%) állt fenn egyidejűleg 2-es típusú cukorbetegség (T2DM), a kontroll személyek kiválasztása is ennek tudatában történt. 50 fő nem-T2DM és 50 fő T2DM kontroll személy adatait rögzítettük.

#### ***3.1.3.2. Keringő D-vitamin, homocisztein, PD-1 és PD-L1 szintek vizsgálata***

Longitudinális obszervációs kohorszvizsgálatot végeztünk, melybe 86 CRC beteget vontunk be. A betegek 2017 és 2018 között a Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika Onkológiai Profilján voltak kezelve. A vizsgálatba bevont személyeknek legalább egyszeri D-vitamin- és homocisztein szint mérése állt rendelkezésre. A 86 CRC betegnek összesen 433 megjelenési adata (átlagosan 5 megjelenés/beteg) került feldolgozásra, melyek mindegyikén történt D-vitamin- és/vagy homocisztein szint meghatározás.

A 86 beteg közül 37 fő, távoli áttétes CRC beteget választottunk ki további elemzésekhez. Ezeknél a betegeknél még az első metasztatikus kezelés előtt meghatározásra kerültek a szolubilis PD-1 és PD-L1 szintek. Majd az eredeti longitudinális adatok kiegészítésre kerültek, így a 37 áttétes CRC betegnek összesen 506 laboratóriumi mérésének elemzésére adódott lehetőségünk.

### **3.2. Klinikopatológiai paraméterek meghatározása**

A vizsgálatban résztvevő tumoros és kontroll személyeknél írásbeli hozzájárulásukat követően rögzítettük testsúlyukat, testmagasságukat, majd az aktuális gyógyszerelésüket és a korábbi megbetegedéseket / műtéteteket tartalmazó részletes anamnézist vettünk fel. Az éhgyomri vérvételek során a teljes vérkép (CBC), a májenzimek, a kreatinin, az össz-koleszterin, a magas denzitású lipoprotein (HDL), az alacsony denzitású lipoprotein, a trigliceridek, a magas szenzitivitású C reaktív protein (hsCRP), a glikált hemoglobint, a pajzsmirigy-serkentő hormont, és a különböző tumorspecifikus markerek szintjének meghatározása a Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet laboratóriumaiban történt. A számított glomeruláris filtrációs ráta (eGFR) értékeket minden esetben a Krónikus Vesebetegség Epidemiológiai Együtműködés (CKD-EPI) formula alapján manuálisan számítottuk ki.

Az emlőtumoros betegről rögzítésre kerültek a core biopszia, illetve a primer tumoreltávolító műtétet követő patológiai adatok. A tumorok stádiumbeosztását a daganat eltávolítását megelőzően képalkotó vizsgálatokkal (mammográfia, emlő MRI, FDG-PET/CT), posztoperatíván pedig a szövettani és az azt kiegészítő képalkotó vizsgálatok alapján határoztuk meg. A stádiumbeosztás meghatározása az akkor érvényben lévő AJCC Staging Manual 7. kiadása segítségével történt. A betegek a vonatkozó szakmai előírásoknak megfelelően legalább 5 ciklus kemoterápiás kezelést kaptak. Az emlődaganat HER2 felülexpresszióját IHC és/vagy fluoreszcens in situ hibridizációs vizsgálattal igazoltuk.

Gasztrointesztinális tumorok: A betegség stádiumának meghatározására az American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM stádium-beosztást (8. kiadás) alkalmaztuk. CRC-ben jobb oldalinak tekintettük a daganatot, ha az a coecum-ból, a colon ascendens-ből, illetve a colon transversum proximális kétharmadából származott; és bal oldali, ha a colon transversum disztális egyharmadából, a colon descendens-ből, a colon sigmoideum-ból vagy a rectum-ból származott. PDAC-ban a tumor elhelyezkedése alapján megkülönböztettünk feji, testi és farki pancreas tumort. Rögzítésre került, hogy milyen lokációban (máj, intraabdominális, tüdő és egyéb) és mikor (szinkron vagy metakron) alakult ki áttét, illetve aszcitesz.

A kemoterápiás protokoll(ok) kiválasztása minden esetben a hazai és nemzetközi irányelveknek megfelelően történt. CRC-ben a platina-származék-alapú kemoterápiában részesülő betegek számára kötelező napi 3000 NE D<sub>3</sub>-vitamin szupplementáció volt előírva, de javasoltuk a D-vitamin szedését a többi CRC beteg számára is. A D-vitamin szupplementációjának tényét a digitális vénnyilvántartás és a betegdokumentációk alapján rögzítettük.

Túléléselemzéseink során három paramétert vizsgáltunk, a betegség-specifikus- (DSS), a progressziómentes- (PFS), és a teljes túlélést (OS). A kezelésre adott válasz értékelése a Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (RECIST) v1.1 alapján történt. A mEHT kezelésekhez kötődően definiáltuk még az első és utolsó mEHT kezelést követő túlélési eseményeket is.

### **3.3. Biomarker meghatározások, laboratóriumi módszerek**

Az LMR, NLR, PLR, HPR és RPR számítása a korábban leírtak szerint történt. A személyre szabott indikátor tromboticitózist (PIT – az angol elnevezés alapján –) a tromboticitaszámok két, adott időpont közötti változásának irányultságának és nagyságának vizsgálatára dolgoztuk ki. Létrehoztunk továbbá ún. anémia-korrigált PIT variánsokat is. Ezek a hemoglobinnal-, hematokrittal-, vörösvérsejtszámmal- és átlagos vörösvértest-térfogattal (MCV) korrigált PIT változatok voltak. Előbbiek mellett még két további, személyre szabott trombotocita-mérőszámot határoztunk meg. Az elsőben az összes, a beteg kezelése során később mért trombotocitaszám-értéket a CRC diagnózisakor mért értékkel hasonlítottuk össze (pPLT<sub>D</sub>), míg a másodikban primer tumor műtéti eltávolítását követő 4-6 héten belüli méréshez hasonlítottuk a trombotocitaszám változásokat (pPLT<sub>S</sub>).

A szérumban D-vitamin szint mérése a DiaSorin LIAISON<sup>®</sup> 25OH Vitamin D TOTAL (DiaSorin S.p.A., Saluggia, Olaszország) kemilumineszcens immunoesszé kit, a szérumban homocisztein mérése a Roche cobas<sup>®</sup> HCYS Homocysteine (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) enzimikus esszé kit segítségével, a PD-1 és PD-L1 szérumszintek meghatározása pedig az Invitrogen<sup>™</sup> PD-1 Human (ThermoFisher Scientific, katalógusszám: BMS2214, Waltham, Massachusetts, USA) és az Invitrogen<sup>™</sup> PD-L1 Human (ThermoFisher Scientific, katalógusszám: BMS2327, Waltham, Massachusetts, USA) ELISA kitekkel történt.

### **3.4. Patológiai módszerek**

A szövetminták a Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézetében (mai nevén: Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézet) tárolt, formalinban fixált, paraffinba ágyazott

blokkok voltak. A kórszövettani vizsgálat a PST-t megelőző core-biopsziás mintákon és az azt követő primer tumoreltávolító műtét szövettani specimenjein egyaránt megtörtént. Meghatároztuk a hisztológiai típust, nukleáris grade-et, tubulusformációt, mitózis indexet, gyulladással és limfoid sejt infiltrációt, az in situ komponens és a limfovaszkuláris infiltráció mértékét rögzítettük. A hormonreceptor státus, a HER2, és Ki-67 meghatározása rutin IHC vizsgálattal történt. A biológiai szubtypust a kornak megfelelő, 13. Szent Gallen-i Konszenzuskonferencia alapján határoztuk meg. A műtéti specimenek elemzése során a kutatás idejére vonatkozó 2009-es Kecskeméti Konszenzus Konferencia ajánlásai szerint azonosítottuk a patológiai választ.

A sejtciklus működését, illetve annak szakaszait specifikusan jelző fehérjék (Ki-67, MCM2, ciklin A, PHH3) expresszióját IHC módszerekkel határoztuk meg. Az IHC vizsgálatokat Kiszner és mtsai.-nak módszerével végeztük. Az antigén – antitest kötődés kimutatásához a vizsgálati mintákat Novocastra post-primer és Novolink polimer antitesttel (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Newcastle, Egyesült Királyság) kezeltük. A metszetek digitalizálása Panoramic Scan (3DHISTECH Kft., Budapest, Magyarország) metszetszkennelrel történt.

A digitalizált metszetek két módszerrel vizsgáltuk. A metszetek vizuális analízise (VA) során a Ki-67-, MCM2-, ciklin A-, illetve PHH3 pozitív festődésű sejtek százalékos arányát határoztuk meg. Míg a digitalizált metszetek számítógép-asszisztált (CA) analízisét a Panoramic Viewer v1.15.3, és annak HistoQuant v1.16.2 moduljával (3DHISTECH Kft., Budapest, Magyarország) végeztük. Az elemzés szemiautomatizált módon, a vizsgálandó régiók (ROI) manuális, szabadkézi jelölésével történt. A CA értéke a pozitív festődésű sejteket tartalmazó sejtek aránya volt.

### **3.5. Modulált elektro-hipertermia kezelés**

A konkomittáns mEHT-kezeléseket az Oncotherm EHY-2000+ és EHY-2030 (Oncotherm Kft., Budaörs) készülékkel végeztük, amelyek technológiai elve azonos. A betegek kezelése hetente kétszer, fekvő helyzetben, kezelésenként 60 percig tartott. Az első kezelési héten alacsonyabb teljesítményen végeztük a kezeléseket, a készülék teljesítményét 30 perc alatt, 60-ról 100 W-ig fokozatosan növeltük, majd a fennmaradó 30 percben fenntartottunk a 100 W-os teljesítményt. A kezelés második hetétől kezdődően a készülék teljesítményét az első 30 percben 100-ról 150 W-ig emeltük, majd a kezelés befejezéséig tartottuk a 150 W teljesítményt. Rögzítésre került az alkalmazott mEHT-kezelések száma, valamint a tumor diagnózisa és az első mEHT-kezelés között eltelt időt is.

### 3.6. Képkalkotó és fizikális vizsgálatok

Mindhárom vizsgálat (UH, fizikális és FDG-PET/CT) az első PST kezelés előtt 1-3 héttel, illetve a primer tumoreltávolító műtét előtt szintén 1-3 héttel történt. Az emlő UH és FDG-PET/CT vizsgálatok a Semmelweis Egyetem Radiológiai Klinikáján készültek. Az UH vizsgálatok az Esaote MyLAB 25 (Esaote North America, Indianapolis, IN, USA) és a Philips HD 15 (Philips Healthcare, Andover, MA, USA) készülékek készültek. Az FDG-PET/CT-t teljes test-kamerákkal, 2 készüléken (Siemens Biograph TruePoint 6 HD PET/CT, Siemens Molecular Imaging Division, Knoxville, TN, USA; és GE Discovery ST 8 PET/CT, GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA) készültek. A betegek emlőjének fizikális vizsgálata az irodalomban már korábban definiált módszerrel történt. Rögzítésre került az emlő szimmetriája/kontúrja, alakja, struktúrája, a tapintható csomó(k) száma, mérete, alakja, mobilitása és elhelyezkedése, az emlőbimbó - areoláris komplexum, illetve a bőr érintettsége. Megvizsgáltuk továbbá a nyirokcsomók státuszát is (oldalosság, tapinthatóság, méret, mobilitás stb.).

A tumorok kezelésre adott válaszána értékelését több módszer segítségével is elvégeztük. Az UH vizsgálat alapján tapasztalt teljes terápiás válasz ( $CR_{UH}$ ) definíciója az volt, hogy az utolsó ciklus PST-t követően, az első UH vizsgálathoz képest, semmilyen reziduális, UH-al detektálható elváltozást nem detektálható. Az FDG-PET/CT alapján meghatározásra kerültek standard (PERCIST és EORTC), illetve két új, a tumorválasz mérésére alkalmas saját fejlesztésű módszer is. Utóbbi kettőből az első ( $CR_{M1}$ ) a Positron Emission Tomography Response Criteria in Solid Tumors (PERCIST) rendszer egy egyszerűsített változata, míg a második ( $CR_{M2}$ ) a PERCIST és RECIST rendszerek kombinálásán alapult. Továbbá, a fizikális vizsgálatok alapján is definiáltuk a terápiás választ ( $CR_{FIZ}$ ).

### 3.7. Statisztikai analízisek

A statisztikai elemzések során két csoport összehasonlításakor kétmintás Welch-féle t-tesztet, Fisher-féle egzakt próbát,  $\chi^2$  próbát, Wilcoxon-féle kétmintás rangösszeg tesztet, Wilcoxon-féle előjeles rang próbát, illetve Bland-Altman analízist használtunk fel. Több csoport összehasonlításakor ANOVA, ANCOVA, vagy Kruskal-Wallis modelleket alkalmaztunk, post-hoc Dunnett-, Tukey-, vagy páronkénti,  $p$ -érték korrigált Wilcoxon-féle kétmintás rangösszeg tesztekkel. A különböző vizsgálati paraméterek közötti összefüggések tesztelésére Pearson korrelációt, Spearman-féle rang-korrelációt, valamint lineáris- és logisztikus regressziós modelleket alkalmaztunk. A szenzitivitások és specificitások tesztelésére „receiver operating

characteristic” (ROC) analízist végeztünk. A ROC analízisek során az optimális vágópont meghatározása a Youden-féle J-statisztikával történt. A ROC görbék összehasonlítását DeLong teszttel végeztük. A longitudinális modellezéshez random konstans lineáris kevert modelleket hoztunk létre. A túléléselemzésekhez Kaplan-Meier analízist, logrank tesztet, „egyszerű” és időfüggő együttthatóval kiterjesztett Cox túlélési modelleket, ok-specifikus competing risk modelleket, és Bayes-i joint modelleket használtunk. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha  $p < 0,05$ . A folytonos változókat átlag  $\pm$  szórással vagy medián (interkvartilis tartomány)-al, az előfordulási gyakoriságokat a megfigyelések számával, illetve a százalékos aránnyal (zárójelben), a túlélési adatokat pedig a hazard rátával (HR) és annak 95%-os konfidencia intervallumával (CI), Bayes-i elemzések esetében pedig a HR-val és annak 95%-os kredibilis intervallumával adtuk meg.

### **3.8. Etikai engedélyek**

Vizsgálatainkat a Helsinkai Bizottság által megfogalmazott irányelvek szerint végeztük. A vizsgálatok elvégzését az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (ETT TUKEB, engedélyek száma: ETT TUKEB 8951-3/2015/EKU és 28123-6/2019/EÜIG), és a Semmelweis Egyetem Tudományos Etikai Bizottsága [SE TUKEB, engedélyek száma: 21-14/1994 (utolsó módosításának kelte: 2021. január 15.), SE TUKEB 76/2007, SE TUKEB 119/2013, SE TUKEB 120/2013, SE TUKEB 133/2015, SE TUKEB 8/2017 és SE TUKEB 8-1/2017] engedélyezte. A betegadatok kezelése az Európai Unió Egységes Adatvédelmi Szabályozás (General Data Protection Regulation, GDPR) irányelveiben meghatározottak szerint történt.

## 4. Eredmények

### 4.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőrákban

#### 4.1.1. FDG-PET/CT paraméterek prediktív értéke a betegségprogresszió mérésében

Vizsgálatunk elő felébe 42 HER2-negatív emlőtumorban szenvedő beteget vontunk be. A betegek átlagéletkora  $48,3 \pm 10,7$  év volt. A PST hatására mind a primer tumorok, mind a nyirokcsomó áttétek metabolikus és méretbeli regresszióját regisztráltuk ( $p = 0,0010$ ). A daganatok Ki-67 értéke szintén szignifikáns csökkenést mutatott ( $p = 0,0010$ ). A primer tumor műtéti eltávolítását követő szövettani elemzések eredményei alapján teljes patológiai válasz (pCR) 18 betegnél (42,9%) volt megfigyelhető. A teljes és részleges patológiai remissziók együttes aránya 83,3% volt, míg 7 betegnél nem lehetett regresszióra utaló jelet azonosítani. A  $SUV_{max}$ , tumorméret és KI-67-LI változásokat megvizsgáltuk aszerint is, hogy a betegeket CR és nem-CR szerinti alcsoportokba soroltuk be. A CR alcsoportban a vizsgált paraméterek változásának mértéke szignifikánsan nagyobb volt, mint a nem-CR alcsoportban.

Ezt követően 43 fő, HER2<sup>3+</sup> emlőtumoros nőbeteg adatait vizsgáltuk meg. A vizsgálati alanyok átlagéletkora  $51,47 \pm 11,07$  év volt. pCR-t a PST csoportból 10 betegnél (38,5%), a PST + trastuzumab csoportban pedig 8 főnél (47%) sikerült elérni. Teszteltük továbbá az FDG-PET/CT pontosságát a CR és nem-CR esetek elkülönítésére. A CR<sub>M1</sub> módszer használatakor a fals negatív esetek száma magasabb volt, összefüggésben az alacsony szenzitivitással, azonban fals pozitivitás szinte alig fordult elő. Ezzel szemben, a CR<sub>M2</sub> szenzitivitás és specificitása is kellően magas volt.

Végül pedig 71 emlőtumoros beteg (életkor:  $49,3 \pm 11,5$  év) mintáit tudtuk kielemezni, hogy a molekuláris emlőtumor szubtypusokat is meghatároztuk. A molekuláris szubtypusokba történő besorolás alapján, 8 lúminális A, 17 lúminális B1 (proliferatív altípus), 19 lúminális B2 (HER2<sup>3+</sup> altípus), 10 HER2<sup>3+</sup> és 17 tripla-negatív (TNBC; bazális-szerű altípus) daganatot vizsgáltunk meg. A CR alapján ismét 2 csoportra osztottuk a betegeket. 23 betegnél volt pCR (32,4%), míg 48 (67,6%) esetben a műtéti szövettani mintában reziduális daganat volt jelen. A CR a lúminális A, B1 és B2 csoportokra kevésbé volt a jellemző, szemben a HER2<sup>3+</sup> és TNBC csoportoknál megfigyelthez képest ( $p < 0,0001$ ).

Megvizsgáltuk továbbá a  $\Delta SUV_{max}$ , a tumorméret-változás, és a két, újonnan kreált FDG-PET/CT kategorizáló módszerre gyakorolt hatását is a molekuláris emlőtumor szubtypusoknak. A  $\Delta SUV_{max}$  a HER2<sup>3+</sup> daganatokban volt a legnagyobb, míg a legkisebb csökkenést a lúminális A típusban figyeltünk meg ( $p = 0,0044$ ). Ehhez hasonlóan a tumorméret csökkenése is



kifejezettebb volt ebben a csoportban ( $p = 0,0331$ ). A két FDG-PET/CT módszer közül a CR<sub>M1</sub> szerint a két csoport statisztikailag nem különbözött ( $p = 0,7405$ ). A CR<sub>M2</sub> szerint pedig csupán marginális különbséget tudunk igazolni ( $p = 0,0529$ ) a CR és nem-CR csoportok között.

#### **4.1.2. Az ultrahang és fizikális vizsgálatok prediktív értéke a betegségprogresszióra**

116 beteg klinikopatológiai paramétereit hasonlítottuk össze az UH és fizikális vizsgálatok paramétereivel. A betegek életkora a diagnózis pillanatában  $49,9 \pm 15,8$  év volt. A PST-t megelőzően a tumor mérete fizikális vizsgálattal  $40,0 \pm 15,0$  mm, UH vizsgálattal pedig  $28,4 \pm 10,5$  mm volt. PST-t követően a betegek 27,6%-nál volt CR<sub>FIZ</sub> és 15,5%-nál CR<sub>UH</sub>. Ezzel szemben, a patológiai vizsgálatok alapján a valós tumormentes állapotot a betegek 21,5%-nál sikerült elérni. A neoadjuváns kezelést követően rögzített fizikális- ( $p < 0,0010$ ) és UH vizsgálattal ( $p = 0,0040$ ) mért tumorméret szignifikánsan korrelált a patológiai remisszióval.

#### **4.1.3. Sejtciklus markerek prediktív értéke a betegségprogresszió mérésében**

Vizsgálatunk ezen szakaszába 52 emlőtumoros nőbeteget vontunk be, akik átlagéletkora  $48,02 \pm 10,51$  év volt. A PST-t megelőző core-biopsziák szövettani vizsgálata alapján 33 daganat volt ösztrogén pozitív, 30 progreszteron pozitív, és 21 HER2<sup>3+</sup>. A molekuláris szubtypusokba történő besorolás alapján 7 lúminális A, 12 lúminális B1 (proliferatív altípus), 15 lúminális B2 (HER2<sup>3+</sup> altípus), 6 HER2<sup>3+</sup> és 12 TNBC daganatot tudunk megvizsgálni.

Vizsgáltuk a proliferációs fehérjék expressziói és a rutin klinikopatológiai paraméterek közötti összefüggéseket. Mind a négy proliferációs fehérjére jellemző volt, hogy a kisebb tumorméret mellett az átlagos expressziójuk magasabb volt, de szignifikáns különbség csak az MCM2 ( $p = 0,0225$ ) és a PPH3 ( $p = 0,0468$ ) esetében volt megfigyelhető. A grade III tumorokban mind a négy fehérje expressziója szignifikánsan magasabb volt (Ki-67:  $p < 0,0001$ ; MCM2:  $p < 0,0001$ ; ciklin A:  $p = 0,0003$ ; PPH3:  $p = 0,0424$ ). Hasonlóan, szignifikánsan magasabb expressziókat figyeltünk meg az ösztrogén- (Ki-67:  $p < 0,0001$ ; MCM2:  $p = 0,0003$ ; ciklin A:  $p = 0,0011$ ; PPH3:  $p = 0,0544$ ) és progreszteron receptor pozitív (Ki-67:  $p < 0,0001$ ; MCM2:  $p = 0,0089$ ; ciklin A:  $p = 0,0013$ ) tumorokban, és TNBC-ben (Ki-67:  $p < 0,0001$ ; MCM2:  $p < 0,0001$ ; ciklin A:  $p = 0,0046$ ; PPH3:  $p = 0,0053$ ). Továbbá, a Ki-67 expressziója szignifikánsan magasabb volt abban az esetben, ha a tumort infiltráló limfociták jelenléte volt igazolható ( $p = 0,0402$ ). Megjegyzendő, hogy a többi proliferációs fehérje expressziós szintje is tendenciózusan magasabb volt a tumort infiltráló limfociták jelenlétében, de szignifikáns különbséget ezek esetében nem tudunk igazolni.

#### **4.1.4. A vizuális- és a számítógép-asszisztált patológiai analízisek összehasonlítása**

A vizsgálat első részeként a CA módszer validációja történt meg. Az összehasonlított mintákon átlagosan 1024,3 sejtet jelöltünk meg kézi módszerrel, majd vetettük össze a számítógépes algoritmust által elvégzett jelöléssel. A CA módszerrel megjelölt immunpozitív sejtek mind a négy marker esetében megfeleltek a kézi jelölésnek (Ki-67: -0,16%; MCM2: -1,47%; ciklin A: +0,26%; PHH3: +0,71%). A fals pozitív találatok aránya a PHH3 esetén volt a legmagasabb. Az IHC negatív sejtek detektálásában a CA módszer pontossága a ciklin A és a PHH3 esetén volt csupán kellően pontos. A Ki-67 és az MCM2 esetén azonban a strómális elemek és a limfociták 11-17%-át is IHC negatív tumorsejtként jelölte meg. A CA módszer a kézi jelöléssel egyenértékű eredményt szolgáltat, amennyiben a mintában alacsony a strómális elemek aránya.

A CA és VA módszerekkel 57 emlődaganatos beteg tumorszövetmintáit hasonlítottuk össze. A betegek átlagéletkora  $48,98 \pm 10,68$  év volt. A CA által detektált IHC pozitív arány az összes proliferációs marker esetében minimálisan alacsonyabb volt. A négy marker közül a Ki-67 (átlagos eltérés: -3,94%) és az MCM2 (átlagos eltérés: -4,32%) viszonylag széles intervallumban mozgott, emiatt a két mérés nem volt teljes mértékben konzisztens egymással. A ciklin A (átlagos eltérés: -0,59%) és a PHH3 (átlagos eltérés: -0,66%) esetén a CA és VA módszer közötti kapcsolat kiegyensúlyozott volt. 22 betegnél (38,6%) figyeltünk meg pCR-t, a fennmaradó 35 esetben (61,4%) pedig reziduális daganatot igazoltunk. A CA alapján a CR-t elért betegeknél szignifikánsan magasabb Ki-67 ( $p < 0,0001$ ), MCM2 ( $p < 0,0001$ ), ciklin A ( $p < 0,0001$ ) és PHH3 ( $p = 0,0496$ ) expressziót rögzítettünk. Hasonlóan, a VA alapján is a CR-t elért betegeknél igazoltunk szignifikánsan magasabb Ki-67 ( $p < 0,0001$ ), MCM2 ( $p < 0,0001$ ), ciklin A ( $p < 0,0001$ ) és PHH3 ( $p = 0,0063$ ) expressziókat.

#### **4.2. A modulált elektro-hipertermia kezelések hatásosságának és biztonságosságának vizsgálata pancreas tumorban**

Retrospektív megfigyeléses vizsgálatunkba összesen 182, előrehaladott stádiumú ductális pancreas adenokarcinómás beteget (PDAC) vontunk be. A 182 betegből 96 fő kapott legalább négyszer mEHT-kezelést, míg a fennmaradó 86 páciens képezte a mEHT-kezelésben nem részesülő „kontroll” csoportot. Vizsgálatunk során összesen 3080 mEHT-kezelés történt. Egy beteg legkevesebb 4, legtöbb 119 kezelést kapott, a kezelések számának mediánja 24 volt. Az első mEHT-kezelést a betegek közel 80%-ánál (76 fő) a tumor diagnózisától számított első félévén belül megkezdjük. A tumor diagnózisa és az első mEHT-kezelés között eltelt idő

mediánja 72 nap volt. 12 beteg (12,5%) első mEHT-kezelése több mint egy évvel a tumor diagnózisát követően történt. A vizsgálat során, egy-egy enyhe bőrpír kivételével, nem figyeltünk meg semmilyen, a mEHT-kezelésekhez köthető nemkívánatos eseményt, súlyos nemkívánatos esemény pedig egyáltalán nem fordult elő.

#### **4.2.1. Az optimális mEHT-kezelésszám meghatározása**

Irodalmi adatok alapján a konkomittáns mEHT-kezelés akkor jár a legnagyobb előnnyel, ha minél több kezelés történik. A szükséges kezelések pontos számát eddig még nem sikerült meghatározni egyik szerv daganata esetében sem. A kérdést az alábbi módon vizsgáltuk meg. A 96 mEHT és 86 fős kontroll csoportokból további, párosított alcsoportokat hoztunk létre. 76, 57, 38 és 33 beteg kapott legalább 10, 20, 30, illetve 40 mEHT-kezelést. Majd ezeket felhasználva, 1:1 arányú, korban, nemben és tumorlokációban illesztett mEHT-kezelt – kontroll betegpárokat alakítottunk ki.

Az összes beteg vizsgálatakor nem lehetett szignifikáns eltérést igazolni a mEHT-kezelt és a kontrollbetegek túlélése között ( $p = 0,6970$ ). Hasonlóan, a legalább 10 ( $p = 0,2770$ ) vagy 20 ( $p = 0,1190$ ) mEHT-kezelésen átesett alkohorszoknál sem lehetett szignifikáns eltérést igazolni. Azonban fontos kiemelni, hogy a medián túlélés mind a 10, mind pedig a 20 mEHT-kezelésen átesett betegcsoportban magasabb volt, mintegy 3 és 6 hónappal volt hosszabb a betegek túlélése. Ezzel szemben a legalább 30 (HR: 0,5011; 95%-os CI: 0,3129 – 0,8027;  $p = 0,0041$ ) vagy 40 (HR: 0,5048; 95%-os CI: 0,3035 – 0,8397;  $p = 0,0085$ ) mEHT-kezelést kapó betegek szignifikánsan, mintegy 9 hónappal tovább éltek a kontrollcsoport betegeihez képest. Az előbbiekhöz hasonló eredményt kaptunk abban az esetben is, ha multivariáns túlélési modellekkel vizsgáltuk az mEHT túlélésre gyakorolt hatását.

#### **4.2.2. Mikor érdemes bevezetni a mEHT-kezelést?**

Kutatásunk további lényegi kérdése volt, hogy mikor érdemes bevezetni a mEHT-kezelést a PDAC-betegek terápiája során? Az ennek a kérdésnek a megválaszolására alkalmas túlélési modell eredménye alapján a mEHT-kezelés bevezetése PDAC-ben az első egy évben (0 – 6 hónap:  $p = 0,0056$ ; 6 – 12 hónap:  $p = 0,0031$ ) jár a legnagyobb előnnyel. Vizsgáltuk továbbá azt is, hogy az előbbi kérdésre a kezelések számának milyen hatása van. A kezelések számában ugyanezt a tendenciát tudtuk igazolni. Minél korábban sikerül nagyobb számú mEHT-kezelést beütemezni a diagnózist követő első évben, annál hosszabb lesz a betegek várható élettartama (0 – 6 hónap:  $p = 0,0007$ ; 6 – 12 hónap:  $p = 0,0037$ ).

#### 4.2.3. Inoperábilis pancreas tumorok kezelése mEHT segítségével

A fenti, mEHT-val kezelt előrehaladott stádiumú PDAC betegcsoportból 39 főt vontunk be az inoperábilis PDAC betegek további adatait feldolgozó eset-kontroll alvizsgálatunkba. A 39 beteghez illesztett 39 fő, nem mEHT-kezelt „kontroll” PDAC beteget a fenti „kontroll” pool-tól függetlenül válogattuk be. Az áttét, az aszcitesz, és az áttét-aszcites együttes jelenléte alapján a betegeket további alcsoportokba soroltuk be. 20 + 19 mEHT, illetve 24 + 15 „kontroll” PDAC beteg lett az „áttétes” és „nem-áttétes” csoportokba besorolva. 13 + 26 mEHT, illetve 18 + 21 beteg került az „aszcitesz” és „nincs-aszcitesz” csoportokba. Végül pedig 13 + 6 + 8 + 12 mEHT, illetve 10 + 5 + 16 + 8 „kontroll” PDAC beteg került a „se-áttét-se-aszcitesz”, „csak áttét”, „csak aszcitesz” és az „áttét és aszcitesz is van” csoportokba.

A legalább 1-éves OS ( $p = 0,0240$ ) és PFS ( $p = 0,0455$ ) idővel rendelkező betegek aránya magasabb volt a mEHT-kezelteknél, mint a „kontroll”-oknál. Hasonló tendenciát figyeltünk meg az alcsoport elemzések során is. A várható medián OS és PFS minden esetben a mEHT-kezelt csoportban volt magasabb. Amennyiben a túlélési modellt kiegészítettük és a megfigyelési időszakot ún. lépcsőfüggvénnyel két szakaszra bontottuk (0 – 23 hónap és 24 – hónap), a megfigyelési idő első felében a mEHT betegek túlélése szignifikánsan jobb (HR: 0,5968; 95%-os CI: 0,3639 – 0,9787;  $p = 0,0408$ ) volt. A második évet követően a mEHT kezelést kapó betegek klinikailag stabilabb állapotban voltak ugyan, de a két kohorsz túlélése között statisztikailag nincs különbség ( $p = 0,1360$ ). A további klinikai paraméterek közül sem a vizsgálatban résztvevők életkora ( $p = 0,7430$ ), sem a daganat elhelyezkedése (fej vs. test/fark,  $p = 0,2920$ ) nem volt szignifikáns hatással az OS-re. Ha azonban a lokalizáció szerint (feji, illetve testi / farki tumor) bontottuk két kohorszra a 78 beteget, az adjuváns mEHT-kezelés előnyösebb volt ott, ahol a daganat a hasnyálmirigy testi / farki részében helyezkedett el (HR: 0,3493, 95%-os CI: 0,1546 – 0,7890,  $p = 0,0114$ ).

Az OS vizsgálatát az alcsoportokon belül is elvégeztük. Megfigyelésünk alapján sem az áttétmentes ( $p = 0,7370$ ), sem az áttétes betegeknél ( $p = 0,2160$ ) nem volt túlélés-beli eltérés, akár mEHT-val, akár anélkül történ a kezelésük. Megjegyzendő, hogy az áttétes, de hasi folyadékkal nem rendelkező betegek szignifikánsan hatékonyabban reagáltak a mEHT-kezelésre (HR: 0,5248, 95%-os CI: 0,2757 – 0,9989,  $p = 0,0496$ ). Az aszciteszben is szenvedő betegeknél a mEHT-nek nem volt igazolható hatása ( $p = 0,6680$ ).

A mEHT-val kezelt betegeknél szignifikánsan később alakult ki a betegség progressziója (HR: 0,6173, 95%-os CI: 0,3914 – 0,9736,  $p = 0,0380$ ). Az aszcitesz jelenléte, a tumor elhelyezkedése és az életkor egyik vizsgálati alcsoportban sem befolyásolta a PFS-t. A mEHT-

kezelt, áttétmentes betegek rendelkeztek a legjobb túlélési mutatókkal (HR: 2,1690, 95%-os CI: 1,0780 – 4,3640,  $p = 0,0300$ ).

A túlélési adatokat aszerint is megvizsgáltuk, hogy az eltelt időt nem a diagnózistól, hanem az első, illetve az utolsó mEHT-kezeléstől számítottuk. Az életkor (első mEHT:  $p = 0,9890$ ; utolsó mEHT:  $p = 0,7050$ ), a tumor diagnózisa és az első mEHT-kezelés között eltelt idő (első mEHT:  $p = 0,9060$ ; utolsó mEHT:  $p = 0,7560$ ), valamint a daganat elhelyezkedése (első mEHT:  $p = 0,9550$ ; utolsó mEHT:  $p = 0,7060$ ) sem volt hatással a mEHT-val összefüggő OS-re. A várakozásoknak megfelelően, minél több mEHT-kezelést kapott a beteg, annál jobb "első mEHT-kezelés utáni OS-t" tudunk igazolni (HR: 0,9747, 95%-os CI: 0,9574 – 0,9922;  $p = 0,0048$ ). Ezzel szemben, a kezelések száma, és az "utolsó mEHT-kezelés utáni OS" között nem tudunk ilyen összefüggést kimutatni ( $p = 0,2900$ ). Mind az áttétes betegség (HR: 2,4830, 95%-os CI: 1,1900 – 5,1820,  $p = 0,0154$ ), mind az aszcitesz (HR: 2,4925, 95%-os CI: 1,2650 – 4,9090,  $p = 0,0083$ ) szignifikáns hatással volt az "első mEHT-kezelést követő OS-re". Az „utolsó mEHT-kezelés utáni OS-t” csak az aszcitesz jelenléte befolyásolta szignifikánsan (HR: 2,3849, 95%-os CI: 1,1940 – 4,7620,  $p = 0,0138$ ).

### **4.3. Biomarkerek vizsgálata gasztrointesztinális tumorokban**

#### **4.3.1. A személyre-szabott indikátor trombocitózis vizsgálata CRC-ben**

Összesen 100 kontrollszemély és 150 CRC beteg bevonásával vizsgáltuk meg a vizsgálati személyek különböző PIT variánsait. Az alábbi négy kohorszra osztottuk a betegeket: 102 CRC beteget soroltunk be a „CRC” kohorszba, a fennmaradó 48 fő pedig a „CRC + T2DM” kohorszba került. Továbbá, 50-50 fő, nem tumoros résztvevő került a „Kontroll” és a „T2DM” csoportokba. A CRC betegeknél az összes PIT variáns értéke magasabb volt, mint a kontrolloké ( $p < 0,0001$ ). A cukorbetegségnek azonban nem volt igazolható hatása a PIT variánsokra sem a tumoros ( $p \geq 0,1762$ ), sem pedig a kontroll ( $p = 0,9999$ ) kohorszokban. Túlélési modelljeink alapján a PIT összes variánsa szignifikáns hatással volt a betegek túlélési idejére ( $p < 0,0001$ ). Minél magasabb volt a PIT értéke, annál rövidebb túlélési idő volt várható. A T2DM egyik modellben sem volt hatással a túlélésre.

Vizsgáltuk, hogy a PIT meghatározása során felhasznált laboratóriumi mérések alapján, a vizsgálati csoportoknál időarányosan milyen trombocitaszám-változási tendencia figyelhető meg. A kontrollszemélyeknél egy enyhe, de folyamatos csökkenés volt megfigyelhető ( $p < 0,0100$ ). Ezzel szemben, a CRC betegeknél a paraméterek folyamatos emelkedését figyeltük meg ( $p < 0,0001$ ).

Az alábbiakat igazoltuk a PIT variánsok és a klinikopatológiai paraméterek összefüggéseiről. A primer tumor méretének növekedésével az összes PIT variáns értéke növekedett ( $p < 0,0001$ ). Két nagy klasztert figyeltünk meg: a T1 és T2 stádiumok ( $p \geq 0,4750$ ), illetve a T3 és T4 stádiumok ( $p \geq 0,1283$ ) értékei nagyon hasonlóak voltak. A regionális nyirokcsomóáttét-mentes betegek PIT variáns-értékei szignifikánsan alacsonyabbak, mint a nyirokcsomóáttéteseké ( $p < 0,0100$ ). A távoli áttétek jelenlétében a PIT ( $p = 0,0140$ ), a  $PIT_{RBC}$  ( $p = 0,0360$ ) és a  $PIT_{MCV}$  ( $p = 0,0440$ ) értékei voltak szignifikánsan magasabbak.

#### **4.3.2. A teljes vérkép- és relatív trombocita-arányszámok, mint a CRC biomarkerei**

Retrospektív vizsgálatunk ezen részében a bevont 835 beteg összesen 4608 CBC mérését rögzítettük. Átlagosan  $5,52 \pm 3,94$  mérés/beteg (min.: 1, max.: 28) történt. A betegek átlagéletkora  $65,31 \pm 11,00$  év volt a CRC diagnózisakor, és a 835 vizsgált személyből 367 fő (43,95%) volt nő. Igazolni tudtuk, hogy az újonnan definiált két relatív trombocita mutató közül a magasabb  $pPLT_D$ -értékek a vizsgálati alanyok rövidebb túlélését jelezte előre.

A CBC arányok változásait, illetve azok túléléssel kapcsolatos összefüggéseit két módszerrel elemeztük. Először kevert hatásos lineáris modelleket alkalmaztunk. A modellek eredménye alapján a túlélő betegek és a nem-daganatos eredetű ok(ok) miatt elhunyt betegek CBC arányainak változása nem különbözött: Az idő előrehaladtával a  $pPLT_D$ , a  $pPLT_S$ , az NLR és a PLR lassan, de folyamatosan csökkent, a HPR és az RPR lassú, de folyamatos emelkedése várható, míg az LMR lényegében konstansnak tekinthető. Ezzel szemben, a CRC miatt elhunyt betegeknél a  $pPLT_D$ ,  $pPLT_S$ , LMR és NLR lassú csökkenését követően egy hirtelen, gyors növekedése történik a beteg halála előtt. A legtöbb ilyen típusú változást a daganat diagnózisát követő első 36 hónapban figyeltük meg. A hosszú túlélőkre ez a hirtelen, gyors emelkedés kevésbé volt jellemző, és a korábbi tendenciával ellentétes hirtelen változás a HPR, RPR és PLR értékeknél volt inkább megfigyelhető.

Másodsorban Bayes-i joint modelleket, valamint az időfüggő kovariánssal kiegészített competing risk modelleket alkalmaztunk. Előbbivel csak az OS, míg utóbbival a DSS is vizsgálható volt. A joint modellek eredményei alapján az RPR kivételével valamennyi CBC arány klinikailag szignifikáns hatással volt az OS-re. Az emelkedő  $pPLT_D$ ,  $pPLT_S$  és NLR, illetve a csökkenő LMR, HPR és PLR tendenciák a vizsgálati alanyok rövidebb túlélését jelezték előre. A másik túlélési modell típus is megerősítette a  $pPLT_D$ ,  $pPLT_S$ , LMR, NLR és HPR értékekre vonatkozó megfigyeléseket. Ezzel a modell típusal a PLR-nek csupán marginális hatását tudtuk igazolni, a joint modellekhez képest azonban az RPR változása szignifikáns volt.

### 4.3.3. Keringő D-vitamin- és homocisztein szintek meghatározása CRC-ben

A vizsgálatba 86 CRC beteget vontunk be. A betegeket az áttétek és az onkológiai kezelés során kapott D-vitamin szupplementáció alapján négy csoportba soroltuk be. Az "adjuváns D-vitamin szupplementáció nélkül" (Adj-ND) csoportba 19, az "adjuváns D-vitamin szupplementációval" (Adj-D) csoportba 25, az "áttétes D-vitamin szupplementáció nélkül" (Met-ND) csoportba 10, az "áttétes D-vitamin szupplementációval" (Met-D) csoportba pedig 32 vizsgálati résztvevő került.

Összehasonlítottuk a betegek onkológiai kezelését megelőző D-vitamin- és homocisztein szintjeit. Mind a D-vitamin ( $p = 0,0749$ ), mind pedig a homocisztein ( $p = 0,0535$ ) szintjében csupán marginális különbségeket tudunk igazolni a kezelési csoportok között. A homocisztein szintek szignifikánsan magasabbak voltak, ha a daganat a jobb kolonfélben helyezkedett el ( $p = 0,0174$ ). A D-vitamin- és homocisztein szintek változásait lineáris kevert hatásos modellek segítségével elemeztük. A modellek eredményei alapján az Adj-ND betegek D-vitamin-szintje egy megközelítőleg állandó érték körül ingadozott ( $p = 0,2640$ ). Az Adj-D kohorszba tartozó betegeknél egy konstans emelkedés volt megfigyelhető ( $p = 0,0261$ ). A Met-ND csoportban a D-vitamin szintek folyamatos csökkenése, míg a Met-D kohorszban egy visszafogott növekedést lehetett igazolni. A homocisztein esetében az összes vizsgált csoportban egy pipa-szerű alakot (hirtelen csökkenés lassú helyreállással) figyeltünk meg. A Met-D csoport kiindulási értéke szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a másik három csoportban megfigyelt ( $p = 0,0195$ ).

Vizsgáltuk a D-vitamin- és/vagy homocisztein szintek OS-re, illetve PFS-re gyakorolt hatását. Vizsgálatunk várt eredménye volt, hogy az áttétes csoportokban rövidebb volt a betegek túlélési ideje. Az áttétmentes csoportokban a szérum D-vitamin szint emelkedése pozitív prognosztikai jel (HR: 0,9130, 95%-os CI: 0,8511 – 0,9794,  $p = 0,0111$ ). A Met-D csoportban a D-vitamin szupplementáció ellenére sem sikerült jobb túlélést igazolni (HR: 0,9979, 95%-os CI: 0,8622 – 1,1567), a D-vitaminnal nem kezelt áttétes csoporthoz képest sem. A PFS és a D-vitamin szintek változásai között nem volt összefüggés (HR: 0,9868, 95%-os CI: 0,9482 – 1,0270,  $p = 0,5150$ ). A homocisztein szintek emelkedése negatív hatással volt mind az OS-re (HR: 1,0940, 95%-os CI: 1,0250 – 1,1680,  $p = 0,0067$ ), mind a PFS-re (HR: 1,0845, 95%-os CI: 1,0221 – 1,1510,  $p = 0,0073$ ). Az túléléselemzéseket elvégeztük úgy is, hogy mind a D-vitamin, mind a homocisztein szint, mint magyarázó változó bekerült ugyanabba a modellbe (bivariáns túlélési modell). Az így kapott eredmények alapján is a D-vitamin szintek emelkedése a túlélés pozitív (HR: 0,9173, 95%-os CI: 0,8567 – 0,9822,  $p = 0,0133$ ), a homocisztein pedig negatív (HR: 1,0890, 95%-os CI: 1,0140 – 1,1690,  $p = 0,0193$ ) prediktora.

#### 4.3.4. Szolubilis PD-1 és PD-L1 meghatározása CRC-ben

Harminchét áttétes CRC beteget vontunk be a vizsgálatba. A betegek kezelés előtti átlagos PD-L1 szintje  $16,01 \pm 1,09$  pg/mL, PD-1 szintje pedig  $27,73 \pm 1,20$  pg/mL volt. Szignifikánsan alacsonyabb PD-L1-szintet igazoltunk metakron áttét mellett ( $p = 0,0412$ ). A PD-L1 szint alacsonyabb volt azoknál a betegeknél is, akiknél a betegség progressziója a megfigyelésünk későbbi szakaszában nem következett be ( $p = 0,0443$ ). Pozitív összefüggést mutattunk ki a PD-L1 és a hsCRP ( $p = 0,0011$ ), a glutamát-oxálacetát aszpartát aminotranszferáz ( $p = 0,0253$ ), a glutamát-piruvát-aminotranszferáz ( $p = 0,0386$ ) és a gamma-glutamil-transzferáz ( $p = 0,0103$ ) között. A PD-1 és a vizsgált paraméterek között nem volt szignifikáns összefüggés. A magasabb kiindulási PD-L1 szintekhez szignifikánsan rövidebb DSS (HR: 1,0396; 95%-os CI: 1,0073 – 1,0730;  $p = 0,0160$ ) és PFS (HR: 1,0498; 95%-os CI: 1,0130 – 1,0880;  $p = 0,0074$ ) társult. A magasabb kiindulási PD-1 szintek egyedül a DSS rizikójának marginális növekedésével jártak együtt (HR: 1,0269; 95%-os CI: 0,9987 – 1,0559;  $p = 0,0617$ ). A PD-1-nek nem volt hatása a PFS-re ( $p = 0,1580$ ).

A májástétek jelenléte szignifikánsan magasabb PD-L1 plazmaszintekkel ( $p = 0,0499$ ) és marginálisan magasabb PD-1 szintekkel ( $p = 0,0618$ ) járt együtt. Ezzel szemben, ha a betegnek tüdőástéte alakult ki, mind a PD-L1, mind a PD-1 szintje alacsonyabb volt, de szignifikáns különbség csak a PD-L1 esetében volt igazolható ( $p = 0,0209$ ). Nem tudtunk különbséget igazolni, ha peritoneális (PD-1:  $p = 0,4985$ ; PD-L1:  $p = 0,1100$ ) vagy egyéb szervekben alakult ki áttét (PD-1:  $p = 0,3282$ ; PD-L1:  $p = 0,5953$ ), de az előrehaladott lokális invázió (PD-1:  $p = 0,4778$ ; PD-L1:  $p = 0,3973$ ) sem befolyásolta a mért értékeket. A többszörös áttétek mellett a PD-1 szint marginálisan magasabb volt (ástét egy szervben:  $22,89 \pm 9,44$  pg/mL; ástét legalább két szervben:  $30,06 \pm 12,55$  pg/mL;  $p = 0,0630$ ).

A tumorterhelés és a két fehérje túlélésre kifejtett hatását is vizsgáltuk. Egyváltozós, a tumorterhelés paramétereire korrigált túlélési modellekben a PD-L1 erős hatással volt a DSS-re és a PFS-re is, függetlenül az áttétek elhelyezkedésétől, a RAS-mutácitól, illetve attól, hogy a tumor operálható volt-e vagy sem. A PD-1-nek nem volt hatása a PFS-re, de májástétek mellett, illetve az inoperábilis tumorok mellett magasabb PD-1-szintek, és rosszabb DSS várható. A magasabb PD-L1-szintek többváltozós modellek alapján is a betegek rövidebb túlélési idejét prognosztizálták, míg a plazma PD-1-szintek esetében ilyen hatás nem volt igazolható.

A PD-1 és PD-L1 szintek fentebb részletezett különbségei alapján feltételeztük, hogy a vizsgált populációt érdemes lehet magas és alacsony plazmaszintű alcsoportokra osztani. A PD-1 esetén a 26 pg/mL, míg a PD-L1 esetében a 13 pg/mL lett a cut-off. Ezek alapján a betegeket 2 – 2



alcsoportha soroltuk be: 19 beteg a 'PD-L1 < 13 pg/mL', 18 beteg a 'PD-L1 > 13 pg/mL', 18 beteg a 'PD-1 < 26 pg/mL', és 19 beteg a 'PD-1 > 26 pg/mL' alcsoportba került.

A klinikailag rosszabb (kórosabb) értékek a magas PD-L1 alcsoportra voltak jellemzőek. A 'PD-L1 > 13 pg/mL' alcsoportban szignifikánsan magasabb volt a hsCRP szint ( $p = 0,0478$ ), az összfehérvérsejt-, a monocita-, a trombocitaszám, a glutamát-oxálacetát aszpartát aminotranszferáz, a glutamát-piruvát-aminotranszferáz, a gamma-glutamil-transzferáz, a laktát-dehidrogenáz, a homocisztein- és a CEA szintek pedig tendenciózusan magasabbak, az albumin pedig tendenciózusan alacsonyabb volt. A 'PD-1 < 26 pg/mL' alcsoportban az alacsonyabb PD-1 szintek tendenciózusan magasabb D-vitamin-, valamint alacsonyabb homocisztein-, hematokrit-, hemoglobin- és éhgyomri glükóz szinttel jártak együtt.

Rövidebb DSS közel kétszer nagyobb valószínűséggel fordult elő a 'PD-L1 > 13 ng/mL' alcsoportban (HR: 1,9830; 95%-os CI: 1,0120 – 3,8850;  $p = 0,0462$ ). Hasonlóan, progresszió is sokkal gyakrabban következett be a 'PD-L1 > 13 pg/mL' alcsoportban (HR: 2,4027; 95%-os CI: 1,2080 – 4,7800;  $p = 0,0125$ ). A két PD-1 alcsoport között nem volt különbség sem a DSS-ben ( $p = 0,8330$ ), sem a PFS-ben ( $p = 0,7300$ ).

Vizsgáltuk a paraméterek longitudinális változását is. A 37 áttétes CRC beteg összesen 506 megjelenését dolgoztuk fel (átlagosan  $13,68 \pm 7,94$  vizit). A 'PD-L1 > 13 ng/mL' alcsoportban konstans magasabb fehérvérsejt- ( $p = 0,0267$ ), monocita- ( $p = 0,0206$ ), limfocita- ( $p = 0,0317$ ) és trombocitaszámot ( $p = 0,0021$ ), vörösvértest-eloszlás szélesség- ( $p = 0,0022$ ), hsCRP- ( $p = 0,0132$ ) és laktát-dehidrogenáz ( $p = 0,0123$ ) szinteket, illetve konstans alacsonyabb átlagos korpuszkuláris hemoglobin- ( $p = 0,0374$ ), átlagos korpuszkuláris hemoglobin koncentráció- ( $p = 0,0355$ ), MCV- ( $p = 0,0707$ ), albumin ( $p = 0,0181$ ), és HDL-koleszterin ( $p = 0,0593$ ) szinteket figyeltünk meg. A hemoglobin- ( $p = 0,0569$ ) és a hematokrit ( $p = 0,0711$ ) értékek konstans marginálisan alacsonyabbak voltak a magasabb PD-L1 alcsoportban. A D-vitamin ( $p = 0,2163$ ) és homocisztein ( $p = 0,0979$ ) szintek nem különböztek a két PD-L1 alcsoport között. Általánosságban, a 'PD-L1 > 13 ng/mL' alcsoport betegeinél a laborparaméterek változása a klinikailag rosszabb állapot felé változott. Ugyanezeket az összehasonlításokat elvégeztük a két PD-1 alcsoportban is. A 'PD-1 > 26 pg/mL' csoportban szignifikánsan konstans alacsonyabbak voltak a trombocitaszámok ( $p = 0,0061$ ). A D-vitamin- és a homociszteinszint itt sem különbözött a két alcsoport között. További különbséget a két PD-1 alcsoport között nem találtunk.

## 5. Új megállapítások

### 5.1. Terápiás válasz előrejelzése emlőtumorban

- Az FDG-PET/CT alkalmas modalitás a terápiás válasz mérésére.
- A  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$  pontosabb prediktora a patológiai remisszióknak, mint a tumorméret csökkenése.
- A két, újonnan definiált, a tumorválaszt kiértékelő módszer közül a 2. módszer (RECIST és PERCIST kombinálása) bizonyult hatékonyabbnak a patológiai teljes terápiás válasz előrejelzésére.
- Mind a  $\Delta\text{SUV}_{\text{max}}$ , mind a tumorméret csökkenése szignifikánsan eltér az egyes molekuláris emlőtumor szubtypusok esetében. A legnagyobb várható csökkenések a TNBC és HER2<sup>3+</sup>, a legkisebb csökkenés pedig a lumenális A csoportban várható.
- A fizikális- és az UH vizsgálat jó prediktora a patológiai teljes terápiás válasznak.
- A sejtciklus teljes (Ki67, MCM2), G1 utáni (Cyclin A) vagy M-fázisban (PHH3) expresszáldó nukleáris fehérjemarkerek és a vizsgált tumorok képalkotó vizsgálatok alapján meghatározott T-stádiuma, a tumor grade-je, hormonreceptor-státusza, tripla-negativitása, molekuláris szubtypusa, illetve a tumort infiltráló limfociták száma között szignifikáns összefüggéseket igazoltunk.
- Emlődaganatokban a digitális patológiai módszerek jól alkalmazhatóak a proliferációs markerek expressziójának értékelésére.
- A CA módszer pontossága nagyban függ a kijelölt ROI-k stromális sejt tartalmától.
- A CA módszerrel meghatározott expressziós érték mindegyik sejtciklus marker esetében alacsonyabbnak bizonyult, mint a VA módszer.
- Mind a négy vizsgált sejtciklus marker a patológiai teljes terápiás válasz megfelelő prediktorának bizonyult.

### 5.2. Modulált elektro-hipertermia vizsgálatok PDAC-ban

- A konkomittáns mEHT az áttét- és ascitesz-mentes PDAC-ban bír a legnagyobb klinikai haszonnal.
- Áttétes és/vagy ascitesz-es PDAC betegekben a mEHT túlélés- és életminőségbeli javulást eredményez.

- A legalább 30 mEHT-kezelésen átesett PDAC betegek medián túlélési ideje szignifikánsan hosszabb, közel a kétszerese a mEHT-kezelésben nem részesültekénél.
- Alacsonyabb számú minimális mEHT kezelés mellett is már tendenciózusan hosszabb túlélés igazolható a PDAC betegekben. Legalább 10 kezelést követően 3, legalább 20 kezelést követően pedig 6 hónappal hosszabb a medián túlélés.
- A mEHT-kezelést PDAC-ban a betegség diagnózisához képest minél előbb, lehetőleg 6 hónapon belül javasolt megkezdeni.

### **5.3. Biomarker vizsgálatok**

#### **5.3.1. Vértkép és trombocitaszám mutatók, mint a CRC biomarkerei**

- Több új CBC arányt határoztunk meg, ezek a PIT, annak anémia korrigált változatai ( $PIT_{RBC}$ ,  $PIT_{Hgb}$ ,  $PIT_{Htc}$  és  $PIT_{MCV}$ ), továbbá a  $pPLT_D$  és a  $pPLT_S$ .
- Míg a PIT értéke egészségesekben a trombocitaszámok életkorral történő folyamatos csökkenésére utal, CRC-ben ennek az ellentéte figyelhető meg.
- A PIT variánsok és a CRC-re jellemző klinikopatológiai tulajdonságok között szoros összefüggés figyelhető meg.
- A magasabb PIT,  $PIT_{RBC}$ ,  $PIT_{Hgb}$ ,  $PIT_{Htc}$ ,  $PIT_{MCV}$ ,  $pPLT_D$  és a  $pPLT_S$ , értékek a túlélés rossz prognosztikai jelei.
- Longitudinális elemzéseink alapján az LMR, az NLR és a HPR változások jó indikátorai a CRC progressziójának.
- A CRC korai, a diagnózist követő első 3 évben belül bekövetkező progressziója jól jellemezhető a  $pPLT_D$ , a  $pPLT_S$ , az LMR és az NLR változásaival.
- A hosszabb ideig tartó betegségben a HPR szint késői csökkenése előjelezheti a betegek állapotában bekövetkező progressziót.

#### **5.3.2. A D-vitamin, a homocisztein, a PD-1 és a PD-L1 szerepe CRC-ben**

- A D-vitamin szupplementáció legnagyobb klinikai előnye az áttétmentes CRC betegeknél van.
- Az áttétek negatív hatását ellensúlyozandó javasolt, hogy áttétes CRC-ben a D-vitamin szupplementáció napi dózist addig kell növelni, amíg egy állandó, a normál tartományon belüli titráltsági szint elérésre nem kerül.
- A kezelés hatékonyságát a D-vitamin szintek rendszeres mérésével szükséges ellenőrizni.

- A homocisztein szintek változása a klinikopatológiai jellemzőktől függetlenül egy pipa-alakú tendenciát mutatnak.
- A szérum homocisztein szint magasabb a jobb kolonfél tumoraiban.
- Az emelkedett kiindulási (diagnóziskori) PD-1 / PD-L1 plazmaszintek nemcsak a betegek rosszabb túlélését, hanem a teljes vérkép paramétereinek-, a hsCRP-, az albumin-, a laktát dehidrogenáz- és a HDL koleszterin klinikailag kóros szintjeit is előjelezhetik.
- A teljes vérkép paramétereinek-, a hsCRP-, az albumin-, a laktát dehidrogenáz- és a HDL-koleszterinszintekben igazolható különbségek, ami az alacsony és magas PD-1 / PD-L1 csoportokra jellemzőek, a betegség további lefolyása alatt is fennmaradnak.
- Erős összefüggés igazolható a plazma PD-1 / PD-L1 szintek és a magasabb tumorterhelés között.
- A PD1 / PD-L1 szintek, valamint a D-vitamin- és homocisztein szintek között nem igazolható összefüggés.

## 6. Saját közlemények

### 6.1. Az értekezés alapjául szolgáló, a PhD fokozat elnyerése (2003) után született első- vagy utolsószerzős közlemények

**Dank M**, Herold M, Garay TM, Gajdácsi J, Herold Z, Szász AM. Elektromágneses eljárások a hasnyálmirigyrák kezelésében: eminens vagy reitens? *MAGYAR ONKOLÓGIA* **2023**;67(3):194–201.

IF: –; SJR: Q4; nyilvános idézők száma: 1, független: 0, WoS/Scopus: 1.

**Dank M**, Mühl D, Herold M, Hornyák L, Szász AM, Herold Z. Does Elevated Pre-Treatment Plasma PD-L1 Level Indicate an Increased Tumor Burden and Worse Prognosis in Metastatic Colorectal Cancer? *JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE* **2022**;11(16):4815. DOI: 10.3390/jcm11164815

IF: 3,9; SJR: Q1; nyilvános idézők száma: 1, független: 1, WoS/Scopus: 1.

Mühl D, Herold M, Herold Z, Hornyák L, Szász AM, **Dank M**. Longitudinal Analysis of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 and Homocysteine Changes in Colorectal Cancer. *CANCERS* **2022**;14(3):658. DOI: 10.3390/cancers14030658

IF: 5,2; SJR: Q1; nyilvános idézők száma: 1, független: 1, WoS/Scopus: 0.

Petenyi FG, Garay TM, Mühl D, Izsó B, Karászi Á, Borbényi E, Herold M, Herold Z, Szász AM, **Dank M**. Modulated Electro-Hyperthermic (mEHT) Treatment in the Therapy of Inoperable Pancreatic Cancer Patients—A Single-Center Case-Control Study. *DISEASES* **2021**;9(4):81. DOI: 10.3390/diseases9040081

IF: –; SJR: –; nyilvános idézők száma: 8, független: 4, WoS/Scopus: 6.

Tőkés T, Tőkés AM, Szentmártoni G, Kiszner G, Mühl D, Molnár BA, Kulka J, Krenács T, **Dank M**. Prognostic and Clinicopathological Correlations of Cell Cycle Marker Expressions before and after the Primary Systemic Therapy of Breast Cancer. *PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH* **2020**;26(3):1499–1510. DOI: 10.1007/s12253-019-00726-w

IF: 3,201; SJR: Q2; nyilvános idézők száma: 14, független: 12, WoS/Scopus: 11.

Herold Z, Szász AM, **Dank M**. Evidence based tools to improve efficiency of currently administered oncotherapies for tumors of the hepatopancreatobiliary system. *WORLD JOURNAL OF GASTROINTESTINAL ONCOLOGY* **2021**;13(9):1109–1120. DOI: 10.4251/wjgo.v13.i9.1109

IF: 3,404; SJR: Q2; nyilvános idézők száma: 7, független: 3, WoS/Scopus: 5.

Szász AM, Minnaar CA, Szentmártoni G, Szigeti GP, **Dank M**. Review of the Clinical Evidences of Modulated Electro-Hyperthermia (mEHT) Method: An Update for the Practicing Oncologist. *FRONTIERS IN ONCOLOGY* **2019**;9:1012. DOI: 10.3389/fonc.2019.01012

IF: 4,848; SJR: Q1; nyilvános idézők száma: 46, független: 34, WoS/Scopus: 32.

Tőkés T, Kajáry K, Szentmártoni G, Lengyel Z, Györke T, Torgyík L, Somlai K, Tőkés AM, Kulka J, **Dank M**. Predictive and prognostic value of FDG-PET/CT imaging and different response evaluation criteria after primary systemic therapy of breast cancer. *BREAST CANCER* **2017**;24(1):137–146. DOI: 10.1007/s12282-016-0685-4

IF: 1,772; SJR: Q2; nyilvános idézők száma: 8, független: 8, WoS/Scopus: 5.

Tőkés T, Tőkés AM, Szentmártoni G, Kiszner G, Madaras L, Kulka J, Krenács T, **Dank M**. Expression of cell cycle markers is predictive of the response to primary systemic therapy of locally advanced breast cancer. *VIRCHOWS ARCHIV* **2016**;468(6):675–686. DOI: 10.1007/s00428-016-1925-x

IF: 2,848; SJR: Q1; nyilvános idézők száma: 9, független: 8, WoS/Scopus: 7.

Szentmártoni G, Tőkés AM, Tőkés T, Somlai K, Szász AM, Torgyík L, Kulka J, **Dank M**. Morphological and pathological response in primary systemic therapy of patients with breast cancer and the prediction of disease free survival: a single center observational study. *CROATIAN MEDICAL JOURNAL* **2016**;57(2):131-139. DOI: 10.3325/cmj.2016.57.131

IF: 1,619; SJR: Q2; nyilvános idézők száma: 5, független: 5, WoS/Scopus: 3.

Tőkés T, Szentmártoni G, Torgyík L, Kajáry K, Lengyel Z, Györke T, Molnár BA, Tőkés AM, Kulka J, **Dank M**. Response evaluation after primary systemic therapy of Her2 positive breast cancer - an observational cross-sectional study. *CROATIAN MEDICAL JOURNAL* **2015**;56(2):128-138. DOI: 10.3325/cmj.2015.56.128

IF: 1,483; SJR: Q2; nyilvános idézők száma: 4, független: 2, WoS/Scopus: 4.

Tőkés, T, Szentmártoni G, Torgyík L, Somlai K, Kulka J, Lengyel Z, Györke T, **Dank M**. Complexity of Response Evaluation During Primary Systemic Therapy of Breast Cancer: Scoring Systems and Beyond-Preliminary Results. *ANTICANCER RESEARCH* **2015**;35(9):5063–5072.

IF: 1,895; SJR: Q2; nyilvános idézők száma: 6, független: 6, WoS/Scopus: 6.

## **6.2. Az értekezés alapjául szolgáló, a PhD fokozat elnyerése (2003) után született nem első- vagy utolsószerzős közlemények**

Herold Z, Herold M, Lohinszky J, Szasz AM, **Dank M**, Somogyi A. Longitudinal changes in personalized platelet count metrics are good indicators of initial 3-year outcome in colorectal cancer. *WORLD JOURNAL OF CLINICAL CASES* **2022**;10(20):6825–6844. DOI: 10.12998/wjcc.v10.i20.6825

IF: 1,1; SJR: Q4; nyilvános idézők száma: 4, független: 3, WoS/Scopus: 4.

Herold Z, Herold M, Lohinszky J, **Dank M**, Somogyi A. Personalized Indicator Thrombocytosis Shows Connection to Staging and Indicates Shorter Survival in Colorectal Cancer Patients with or without Type 2 Diabetes. *CANCERS* **2020**;12(3):556. DOI: 10.3390/cancers12030556

IF: 6,639; SJR: Q1; nyilvános idézők száma: 6, független: 2, WoS/Scopus: 6.

## 7. Tudománymetriai adatok

Dank Magdolna tudományos és oktatói munkásságának összefoglalása  
MTA V. Orvostudományi Osztálya (2024.07.29)

Tudományos közlemények	Száma		Hivatkozások <sup>1</sup>	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
<b>I. Tudományos folyóiratcikk<sup>2</sup></b>	<u>165</u>			
szakcikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű		<u>71</u>	<u>2914</u>	<u>3069</u>
szakcikk hazai idegen nyelvű		0	0	0
szakcikk magyar nyelvű		<u>51</u>	<u>25</u>	<u>50</u>
szakcikk sokszerzős, érdemi szerzőként <sup>3</sup>		<u>2</u>	<u>57</u>	<u>66</u>
összefoglaló közlemény		<u>36</u>	<u>233</u>	<u>309</u>
rövid közlemény		<u>5</u>	<u>2</u>	4
<b>II. Könyvek</b>	<u>1</u>			
<b>a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként</b>	0			
idegen nyelvű		0	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv		0	0	0
<b>b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként</b>	<u>1</u>			
idegen nyelvű		0		
magyar nyelvű		<u>1</u>		
bb) Felsőoktatási tankönyv		0		
<b>III. Könyvrészlet</b>	<u>54</u>			
idegen nyelvű		<u>6</u>	0	<u>1</u>
magyar nyelvű		<u>20</u>	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet		<u>28</u>	0	0
<b>IV. Konferenciaközlemény<sup>4</sup></b>	<u>5</u>		0	0
<b>Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)</b>		<u>28</u>	0	0
<b>Tudományos közlemények összesen (I-IV)</b>		<u>197</u>	<u>3231</u>	<u>3499</u>
<b>Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)</b>	<u>225</u>		<u>3231</u>	<u>3499</u>
<b>V. További tudományos művek</b>	<u>29</u>			
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is		<u>23</u>	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok		<u>6</u>	0	0
Oltalmak (szabadalmak)		0	0	0



<b>VI. Hivatkozott absztraktok<sup>5</sup></b>	<u>8</u>		<u>63</u>	<u>68</u>
<b>Összes hivatkozás<sup>1</sup></b>			<u>3294</u>	<u>3567</u>
<b>Hirsch index<sup>6</sup></b>	<u>21</u>			
<b>g index<sup>6</sup></b>	<u>59</u>			

<b>Speciális tudományometriai adatok</b>	<b>Száma</b>	<b>Összes hivatkozás</b>
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma <sup>2</sup>	<u>45</u>	<u>356</u>
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma <sup>2</sup>	<u>40</u>	<u>171</u>
A tudományos fokozat (PhD 2003) elnyerése utáni teljes tudományos folyóiratcikkek száma	<u>147</u>	<u>1760</u>
Az utolsó 10 év (2014-) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	<u>102</u>	<u>1094</u>
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	<u>976</u>	27,36%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben		<u>92</u>
Jelentés, guideline	<u>5</u>	<u>10</u>
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő <sup>7</sup>	<u>7</u>	<u>1134</u>

### **Megjegyzések:**

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

## 8. Köszönetnyilvánítás

Orvosként az első köszönet a betegeké, hiszen a velük történt közös munka eredménye lehetett a megírt disszertáció. Tisztelem kitartásukat, erejüket, ahogyan méltósággal viselik a daganatos betegséggel járó létet.

A betegellátás komplex feladat, és csak közösen, csapatban tudunk elérni eredményeket. Köszönöm a mindenkori Intézetvetőimnek a kutatások támogatását, így jelenlegi Igazgatómnak, **Takács István Professzor Úrnak** is.

Öröm volt számomra, hogy **Somogyi Anikó Professzornővel** – akitől annak idején a propedeutikát tanultam, együtt tudtam később a tudományos életben is dolgozni.

Egy fiatal doktor tudásának pallérozásában a mentoroknak van rendkívül nagy szerepe. A számos költözés kapcsán lehetőségem adódott többel is megismerkedni. Bár a teljesség igényével nem tudom felsorolni őket, de hálás vagyok minden biztatásért, kritikáért, útterelésért. Az Egyetem előtt az Országos Onkológiai Intézetben dolgoztam egy évet, segédnővéreként, és még volt alkalmam ismerni, később együtt dolgozni **Eckhardt Sándor Akadémikus Úrral**, aki nagyon sokat tett a magyar onkológia struktúrájának megalkotásában. Később **Makó Ernő Professzor Úrnak** köszönhettem, hogy belgyógyászból elterelt az onkológia felé, és **Kopper László Professzor Úr** irányította első lépéseimet a tudományos úton.

Aki megtanított cikket olvasni, értelmezni és a saját tudás átadására képesnek lenni, **Kulka Janina Professzor Asszony**. Első angol előadásom során a kezemben lévő papírt lazán kivette, miközben mentem ki előadni... és milyen jól tette.

Hálával gondolok vissza a közös kutatásokban részt vevő Kollégákra, (abc sorrendben) **Borbényi Erikára, Garay Tamásra, Herold Magdolnára, Lohinszky Júliára, Mühl Dorottyára, Szentmártoni Gyöngyvérre, Tőkés Anna-Máriára**, és végül, de nem utolsó sorban **Tőkés Tímeára**. A cikkek hipotézisének megtervezése, az anyaggyűjtés a cikkírás nem lenne lehetséges **Szász Attila Marcell** és **Herold Zoltán** nélkül. Remélem velük még sok közös munkám lesz.

A család támogató szerepe elengedhetetlen, és az én családban a tudás megszerzése jelentette a legnagyobb érték átadást, hiszen generációk óta a családi hitvallás része volt. Köszönöm azokat a „te jól átgondoltad, ...” kezdetű mondatokat, amiket annak idején nagyon nem szerettem, de manapság magamban sokszor elmondok...