

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A poli(adenozin-difoszfát-ribóz) polimeráz expresszió prognosztikai
értékének vizsgálata hám eredetű petefészekrákban**

Dr. Molnár Szabolcs

Témavezető: Prof. Dr. Póka Róbert



DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2021

A poli(adenozin-difoszfát-ribóz) polimeráz expresszió prognosztikai értékének vizsgálata hám eredetű petefészekrákban

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

Írta: Dr. Molnár Szabolcs

okleveles orvosdoktor

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai orvostudományok doktori iskolája
(klinikai vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Póka Róbert

Az értekezés bírálói: Prof. Dr. Dezső Balázs, az MTA doktora
Prof. Dr. Gőcze Péter, az MTA doktora

A bírálóbizottság:
elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Kulka Janina, az MTA doktora
Prof. Dr. Németh Norbert, az MTA doktora

Az értekezés védésének (online formában) időpontja: 2021.november 16. 13:00

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze a molnar.szabolcs@med.unideb.hu e-mail címre a vitát megelőző munkanap (2021. november 15.) 12 óráig. A határidő lejártát követően, technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A petefészekrák előfordulási gyakoriságát tekintve a harmadik a nőgyógyászati daganatok között a méhnyak és méhtest rosszindulatú elváltozásait követően. A nők körében a hetedik leggyakoribb daganat és a nyolcadik daganatos halálok. Az elmúlt 30 évben az újonnan azonosított eseteket száma folyamatos emelkedést mutatott. A folyamat a betegek több mint kétharmadában előrehaladott stádiumban kerül felismerésre.

A betegség kezelésének alapját a citoreduktív műtét és a platina bázisú kemoterápiás kezelés alkotják évtizedek óta. A műtéti ellátás során a daganat teljeskörű eltávolítására kell törekedni, optimálisnak akkor tekintjük a beavatkozást, ha szemmel látható tumor nem marad vissza a hasüregben. A műtét során visszamaradt daganat mennyisége a betegség prognózisával szoros korrelációt mutat, ezért az egyik legfontosabb prognosztikai faktornak tekinthetjük. A betegség kezelésének másik sarkalatos pontja a platina bázisú szisztémás kezelés. A teljes tumorredukció mellett a kemoterápiára adott választ tekintjük jelentős prognosztikai faktornak a betegség kimenetele szempontjából. A terápiára adott választ a kezelés befejezését követő progressziómentes időszak hosszában mérjük, minél hosszabb ez az időszak, annál kedvezőbb a hosszú távú kimenetel. Platina érzékenyek azok a betegek tekinthetőek, akiknél a progressziómentes időszak hossza több mint 12 hónap. Jelenleg nem rendelkezünk megbízható markerekkel, amelyek segítségével a platina bázisú kezelésre adott tumorválasz előre jelezhető, becsülhető lenne.

A klasszikus daganatellenes készítmények hatása a sejtek kromoszómális integritásának felbontásán alapul, amelyet legtöbb esetben DNS sérülések kiváltása által érnek el, ezáltal a daganatos sejtek túlélési kapacitása csökken. Azonban a citotoxikus készítmények DNS károsító hatását a sejtek megfelelően működő DNS javító mechanizmusai ellensúlyozhatják. A PARP

enzim egy alternatív DNS javítási útvonal szabályozásáért felelős, szerepe nélkülözhetetlen a csak az egyik DNS szálat érintő törések felismerésében és a helyreállító folyamat elindításában. A PARP enzim gátlása az egyik legújabb terápiás lehetőség a petefészekrák kezelésében. Azon betegek körében, ahol a daganatsejtek homológ DNS javítási útvonala sérült, a PARP gátlása által olyan mértékű DNS hiba halmozható fel, amely sejthalálhoz vezet. Teoretikusan a PARP enzim túlzott kifejeződése, expressziója a daganatsejteken a DNS javító kapacitás megnövekedésével járhat, amely a DNS láncokat károsító készítmények csökkent hatékonyságához vezethet. A fokozott PARP expresszió mindezek alapján kifejezetten jó markere lehet a DNS-t károsító környezeti hatásokkal, például a petefészek daganat kezelésében gyakran alkalmazott platina bázisú kemoterapeutikumokkal szembeni csökkent érzékenységek.

Vizsgálataink elsődleges célja a tumorsejtek PARP expressziója és a betegek platina érzékenysége közötti kapcsolat tanulmányozása. Kutatásunk másodlagos céljaként a PARP immunhisztokémia prognosztikai értékének vizsgálatát tűztük ki BRCA mutációt hordozó és BRCA vad típusú betegek körében.

Kutatásunk során elsősorban olyan, a klinikumban is alkalmazható molekuláris markereket szeretnénk azonosítani, amelyek segítségével a prognózis, a várható kemoterápiás válasz, a progressziómentes időszak és a relapszus valószínűsége pontosabban előre jelezhető és a jövőben segítséget nyújthat, a petefészek daganatban szenvedő betegek optimálisabb kezelési stratégiáinak megalkotásában.

2. BETEGADATOK ÉS MÓDSZEREK

2.1. Betegpopuláció

Vizsgálatainkba a Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján 2011 és 2019 között felismert, high-grade epitheliális petefészekrákkal (HGEOC) diagnosztizált betegek kerültek beválogatásra. A vizsgálataink retrospektív jellegű kohort tanulmányok. Minden beválasztásra kerülő beteg komplett onkológiai kezelésen esett, amely primer citoreduktív műtétből állt, az aktuális Európai Nőgyógyász Onkológus Társaság (ESGO) ajánlásának megfelelően és adjuváns platina bázisú kemoterápiából. A saját gyakorlatunkban paclitaxel és carboplatin kombinációt alkalmazunk 6 ciklusban 3 hetes ciklusokban (Q3W). Minden betegnek után követési viziteken kellett részt venniük 3 havonta, amely fizikális vizsgálatból és teljesítmény státusz felmérésből állt, a petefészek specifikus tumormarkerek (Ca 125 és HE4) ellenőrzése mellett. A kiújulás klinikai gyanúja vagy a tumormarker értékek emelkedése esetén a recidívát minden esetben képalkotó vizsgálattal erősítettük meg.

2.2. Módszerek

2.2.1. PARP immunhisztokémiai vizsgálat

Vizsgálataink elvégzéséhez a Debreceni Egyetem Patológiai Intézetében archivált szövettani mintákat használtuk. A tárolt mintákon minden esetben az intézeti protokollnak megfelelő szövettani és immunhisztokémiai vizsgálat történt. A szövetminták fixálása formaldehiddel történt (4%-os foszfát pufferben) 24 óráig, majd a dehidrációt és parafinos beágyazást követően vette kezdetét a hagyományos feldolgozási folyamat. A reprezentatív mennyiségű szövetet tartalmazó blokkok kiválasztása után 4 µm vastagságú szeleteket hoztunk létre. Figyeltünk arra, hogy minden vizsgált minta a daganat kiindulási helyéről származzon és ne áttétekből. A PARP expresszió vizsgálatához szükséges immunjelölést Leica Bond MAX Immunostainert használtunk

(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Az immunjelölés során nyulakból származó poliklonális anti-PARP antitestet alkalmaztunk (ab6079 330, Abcam, Cambridge, UK). A metszeteket ezt követően hő indukálta epitóp visszanyerés céljából 10 percig 9.0 pH-n tartottuk a deparaffinálást követően. Az elsődleges antitest 1:500 alkalmazással volt optimális a Bond Refine-HRP azonosító rendszerhez (DS9800, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Az immunjelölés intenzitását és eloszlását fénymikroszkóppal vizsgáltuk (Leica DM2500 microscope, DFC 420 camera, and Leica Application Suite V3 software; Leica). A jelölés intenzitását egy négyfokozatú skála szerint osztályoztuk (0-tól 3+-ig), a 0 jelölte a rendszerben a festődés teljes hiányát, a 3+ pedig a stabil és egységes nukleáris pozitivitást a tumor sejteken. 2+ értéket kaptak azok az esetek, ahol az intenzitás gyengébb volt a maximálistól, míg 1+-t a gyengén festődő, nukleárisan egyenetlenül jelölődő tumor sejtek, amelyek azonban nagyban eltértek a 0, azaz negatív csoporttól. Az intenzitáson kívül a pozitív tumorsejtek előfordulási gyakoriságát (%) is meghatároztuk a tumorszövetben. Az immunhisztokémiai vizsgálatokat és azok értékelését a Debreceni Egyetem Patológiai Intézet munkatársaival a ETT 60355–2/2016/EKU etikai engedély alapján kollaborációban végeztük.

A végső analízis előtt a betegeket két nagy csoportra osztottuk, a PARP expresszió szempontjából mindent vagy semmi alapon pozitív és negatív alcsoportokra. A pozitív csoportot azok az esetek alkották, ahol a mintában a daganatos sejtek legalább 10%-ánál minimum 1+ erősségű pozitivitást találtunk az immunhisztokémiai vizsgálat során, minden egyéb eset a negatív csoportba került. A hipotézisünk a határvonal megalkotásánál az volt, hogy egy ekkora PARP pozitív sejtpopuláció, a PARP által indukált platina rezisztencia miatt, a platina bázisú kezelés során történő pozitív szelekciójukkal megfelelő kiindulási pontként szolgálhatnak a korai kiújulás elősegítésében.

2.1.2. BRCA státusz vizsgálata

A BRCA specifikus elemzés során a beteg előzetesen elvégzett BRCA eredményeit használtuk fel. A szomatikus BRCA1 és BRCA2 mutációt hordozók azonosítása az archivált tumorszövet DNS-ének bidirekcionális szekvenálásával történt, amennyiben a vizsgálat technikai okok miatt nem lehetett elvégezni a szekvenálást perifériális sejtekből végeztük el, így azonosítva a germinális mutációt hordozókat.

2.3. Adatgyűjtés és statisztikai analízis

A betegek klinikopatológiai jellemzőit több szempont szerint értékeltük és összehasonlítottuk. Vizsgálatunk elsődleges végpontja a progressziómentes túlélés (PFS) volt, amit definíció szerint az utolsó ciklus platina bázisú kezelés és a képpalkotó vizsgálattal megerősített kiújulás között eltelt időszakot takart. A vizsgálat másodlagos végpontja a betegek teljes túlélése (OS) volt. A statisztikai analízis során az átlag, medián és arány értékek kerültek meghatározásra. A folyamatos vagy kategorikus változók összehasonlításánál a statisztikailag megfelelő Student-féle t-próbát vagy Mann-Whitney tesztet és khi négyzet tesztet, vagy Fisher-féle exact tesztet alkalmaztunk. A PFS és OS összehasonlítása során túlélési görbéket vizsgáltuk Kaplan-Meier módszerrel ábrázolva és a prognosztikai változó jelentőségét Cox regressziós modellel értékeltük. A statisztikai értékeléshez az SPSS 21.0 verziójú (IBM Corp., Armonk, NY) programot használtuk, 0,05-s szignifikancia határral és 80%-s erősséggel. A kiújulás vonatkozásában a PARP pozitív hatásának vizsgálatára esélyhányados számítottunk 95%-s megbízhatósági intervallummal (95% CI), így elemezve a kiújulás esélyét, a 12 hónapnál rövidebb PFS-t, az elhalálozás rizikóját és a 32 hónapnál rövidebb OS esélyét. Második vizsgálatunkban ezeket az esélyhányadosokat a BRCA státuszra vonatkoztatva is elemeztük. Az esélyhányados számításánál a PFS tekintetében a határértéket 12 hónap jelölte, mivel ez tekinthető a platina érzékenység határának is.

3. EREDMÉNYEK

3.1. A PARP expresszió prognosztikai jelentőségének vizsgálata high-grade epitheliális petefészek daganatosbetegeknél

Első vizsgálatunkban a PARP expresszió prognosztikai jelentőségét tanulmányoztuk HGEOC-s betegek klinikai jellegzetességeinek függvényében. Adatbázisunkból 86 beteg felelt meg a beválogatási kritériumainknak, egyik beteg sem részesült a PARP IHC elvégzését megelőzően kemoterápiás kezelésben. A betegek átlag életkora $57,23 \pm 11,13$ év volt. 81,39%-a betegeknek előrehaladott stádiumban került felismerésre (FIGO IIIB-IV). A primer debulking műtét során a betegek 50%-nál ($n=43$) sikerült makroszkóposan tumormentes állapotot elérni. A medián után követési idő 32,63 hónap, a medián PFS 13,9 hónap és a medián OS 54,5 hónap volt.

A PARP expresszió alapján a betegeket két csoportra osztottuk. Az esetek 47,68%-ban ($n=41$) nem tapasztaltunk PARP expressziót vagy a festődés mértéke nem érte el a határértékünket, míg 52,32%-a ($n=45$) a PARP pozitív csoportba került. A PARP pozitív és negatív csoportok között az átlagéletkor, a szövettani típus, a grádus, a stádium megoszlás, nyirokcsomó áttét arányának tekintetében nem találtunk szignifikáns eltérést. A túlélést leginkább befolyásoló faktor, az optimális debulking műtét (R0) vonatkozásában sem különbözött szignifikánsan a két csoport (51,22% és 48,89%, $p=0,49$). A recidív esetek aránya a PARP negatív csoportban magasabb volt (71,11% és 75,61%), azonban a különbség itt sem volt statisztikailag jelentős, ezzel szemben a medián progressziómentes túlélés vonatkozásában szignifikáns eltérés mutatkozott. A PARP pozitív betegeknél a PFS medián értéke 12,2 hónap, míg a PARP negatív eseteknél 16 hónap volt ($p=0,01$). A halálesetek száma a csoportok között nem mutatott különbséget (44,44% és 46,34%, $p=0,86$), de a PFS-hez hasonlóan a teljes túlélési mutatók

szignifikánsan különböztek. A PARP pozitív csoportban a medián túlélési érték 52 hónap, míg a PARP negatív csoportban 65 hónap volt ($p=0,028$).

A statisztikai értékelésünk során, hogy megerősítsük a fenti eredményeket, esély hányadosok (OR) számításával (95% CI mellett) elemeztük a PARP pozitív hatását a kiújulás, a 12 hónapon belüli recidíva, az elhalálozás kockázata és a 32 hónapon túli teljes túlélés vonatkozásában. Ezen kívül alcsoportokat hoztunk létre a primer tumorredukciós műtét során elért tumorredukció mértéke szerint (R0 vagy R1) és az esély hányadosok segítségével megkíséreltük meghatározni azt a jól körülírt csoportot, ahol a PARP expresszió legjelentősebben hozzájárult a túlélési adatok változásához. Az elemzés során a következő eredményeket kaptuk: a PARP pozitív magát a kiújulás esélyét szignifikánsan nem változtatta meg (OR 0,79; 95% CI 0,30–2,07, $p=0,638$), azonban a 12 hónapnál rövidebb progressziómentes túlélés esélyét jelentősen növelte (OR 3,73; 95% CI: 1,50–9,26, $p=0,004$), így ebben a csoportban a platina rezisztencia gyakoribb volt, az elhalálozás kockázata a PARP pozitív betegeknél minimális kisebb volt, de nem szignifikáns (OR 0,92; 95% CI: 0,39–2,16, $p=0,859$), ezzel szemben a pozitív szignifikánsan alacsonyabb esélyt teremtett a betegek számára a 32 hónapnál hosszabb teljes túlélésre (OR 0,318; 95% CI: 0,13–0,76, $p=0,011$). A kapott eredményeket az R0 és R1 rezekció függvényében tovább vizsgáltuk, így megpróbálva kiküszöbölni a makroszkóposan szuboptimális tumoreltávolítás negatív torzító hatását eredményeinkre. A PARP pozitív a R0 csoportban szignifikánsan növelte az esélyt a 12 hónapon belüli kiújulásra (OR 7,916; 95% CI: 1,47–42,53, $p=0,016$) és ebből kifolyólag csökkentette az esélyt a 32 hónapnál hosszabb teljes túlélésre (OR 0,23; 95% CI 0,06–0,83; $p=0,025$). Az eredmények az R1 csoportban jelentősen nem különböztek.

A végső analízisünk során a betegek túlélési adatait elemeztük Kaplan-Meier görbék segítségével (log-rank teszt). A PARP negatív betegek medián progressziómentes túlélése 16

hónap volt (IQR 10,7–35,9 hónap), míg a PARP pozitív betegeknek 12 hónap (IQR 6,1–21,8 hónap). A különbség az elvégzett log-rank teszt alapján szignifikáns volt ($p=0,01$). A teljes túlélési adatokat hasonló módszerrel értékeltük és ábráztuk. A medián teljes túlélés a PARP negatív csoportban 65 hónap (IQR 43,6–110,8 hónap), a PARP pozitív csoportban 52 hónap (IQR 36,9–66,7 hónap) volt. Az elvégzett log-rank teszt alapján a különbség szignifikáns ($p=0,28$).

Minden vizsgált minta esetében a betegek nem részesültek a mintavételt megelőzően kemoterápiás kezelésben és a citoreduktív műtétet követően egységesen a *gold-standard* platina bázisú kezelést kapták. A PARP immunhisztokémiai vizsgálat a fenti eredmények tükrében segít differenciálni a platina bázisú kezelésre jól és rosszul reagáló betegek csoportját. Összefoglalva a PARP expresszió vizsgálata alapján az első vonalbeli paclitaxel-carboplatin kezelést megelőzően becsülhetővé válik a kezelésre adott válasz, a professziómentes időszak várható hossza, a festődés hiányában platina érzékeny folyamat várható, mely jó prognosztikai jelnek tekinthető a túlélés szempontjából.

3.2 A PARP expresszió prognosztikai jelentőségének vizsgálata a BRCA státusz függvényében

A második vizsgálatunk során a PARP expresszió prognosztikai értékét tanulmányoztuk a betegek BRCA státuszának függvényében. Vizsgálatunkba olyan betegeket válogattunk be, akiknek ismert volt a BRCA státusza, elérhetőek voltak az utánkövetési és túlélési adatai, illetve a PARP IHC elvégzésre került a tárolt szövetmintákon. Összesen 104 beteg felelt meg a beválogatási kritériumainknak, minden esetben a PARP IHC elvégzése pillanatában a beteg kemoterápia naiv volt, tehát korábban kezelést nem kapott. A mintákat a betegek BRCA státusza alapján differenciáltuk. A betegeink átlagéletkora $57,93 \pm 11,17$ év volt, az esetek 85,58%-ban a folyamat előrehaladott (FIGO IIIB-IV) stádiumban került felismerésre. A szövettani vizsgálat

alapján a legtöbb esetben (96,15%) szerózus folyamattal találkoztunk, a mintákat 2 fokozatú rendszerben értékelve minden esetben high-grade daganatot azonosítottunk. 56 esetben (53,85%) a primer műtét során makroszkóposan teljes tumorredukciót (R0) sikerült elérni. A medián után követési idő 33,58 hónap volt, míg a medián PFS 13,1 hónap és a medián OS 72,7 hónap.

A betegpopulációt a PARP IHC eredmények alapján két csoportra osztottuk. Az esetek 32,69%-ban (n=34) nem sikerült PARP festődést azonosítani, míg 67,31% (n=70) mutatott megfelelő PARP jelölést. A PARP negatív és pozitív csoport között nem találtunk szignifikáns különbséget a kezelés előtti jellegzetességeikben. A túlélést leginkább befolyásoló tényező, az optimális tumorredukció aránya a két csoportban hasonló volt, 58,82% a PARP negatív csoportban, 51,43% a PARP pozitív csoportban ($p=0,48$). A stádiumeloszlás vonatkozásában sem találtunk jelentős különbséget a csoportok között, a korai stádium aránya 20,59% és 11,43% volt, míg az előrehaladott 79,41% és 88,57%. A BRCA mutációt hordozók számában nem mutatkozott szignifikáns eltérést a PARP pozitív és negatív csoportokban (28,57% és 32,35%, $p=0,694$). A kiújult esetek részarányában szintén nem tapasztaltunk kifejezett különbséget a pozitív és negatív csoportban (85,71% és 76,47%), azonban a medián PFS szignifikánsan különbözött (11,9 és 20,1 hónap; $p=0,001$). A halálesetek aránya 40% volt a pozitív és 35,29% a negatív csoportban ($p=0,646$), ezzel szemben a teljes túlélés a PARP negatív csoportban jelentősen hosszabb volt (49 és 114 hónap; $p=0,014$).

Esélyhányados értékeket (OR) számítottunk (95% CI) a PARP pozitivitás hatásának vizsgálatára a kiújulás, a 12 hónapnál rövidebb PFS, a halálozás és a 32 hónapnál rövidebb teljes túlélés vonatkozásában. A statisztikai elemzést elvégeztük a BRCA státuszra kiigazítva is. A PARP pozitivitás önmagában nem eredményezett szignifikánsan magasabb kiújulási vagy halálozási arányt, azonban az esély a 32 hónapnál rövidebb teljes túlélésre jelentősen magasabb volt (OR

3,3; 95% CI 1,401-7,772; $p=0,006$). Annak tisztázása céljából, hogy a BRCA státusz és PARP expresszió között milyen kapcsolat van az összehasonlítást BRCA pozitív és negatív csoportok szerint kiigazítva is elvégeztük. A PARP expresszió a BRCA vad csoportban szignifikánsan emelte a kiújulás esélyét (OR 4,059; 95% CI 1,019-16,167; $p=0,047$) és rövidebb PFS-t eredményezett (OR a 12 hónapon belüli kiújulásra: 8,4; 95% CI 2,631-26,818; $p=0,0003$) és rövidebb OS értékeket (OR a 32 hónapon belüli kiújulásra 2,765; 95% CI 1,000-7,648; $p=0,05$). Egyebekben a különbségek nem voltak szignifikánsak.

A végső összehasonlításunkban a betegek túlélési adatait túlélési görbék segítségével vizsgáltuk (Kaplan-Meier görbék, log-rank teszt), ezek alapján szignifikáns különbséget találtunk a PFS és OS értékekben a PARP negatív és pozitív csoportok között. A medián PFS PARP negatív betegeknél 20,1 hónap volt (IQR 12,0-62,7 hónap), míg PARP pozitív betegeknél 11,9 hónap (IQR 6,4–17,5 hónap). A különbség a log-rank teszttel kalkulálva szignifikáns volt ($p=0,001$). A medián OS PARP negatív betegeknél 114,6 hónap (IQR 37,9–NA), PARP pozitívoknál 49,9 hónap (IQR: 32,5–78,2 hónap) volt. A különbséget a log-rank teszttel kalkulálva szignifikánsnak találtuk ($p=0,014$). Mindazonáltal a betegek BRCA státusa önmagában értékelve nem mutatott szignifikáns hatást a túlélési adatokra sem a PFS, sem az OS értékekben. A medián PFS BRCA vad típusú betegeknél 12,6 hónap (IQR 6,57–21,8 hónap), míg BRCA mutációt hordozó betegeknél 16,4 hónap (IQR 10,8–30,2 hónap) volt. A különbség statisztikailag nem szignifikáns ($p=0,134$). A medián OS BRCA negatívak körében 70,9 hónap (IQR 29,4–114,6 hónap), míg BRCA pozitívoknál 89,7 hónap (IQR 37,2–NA hónap). Az elvégzett log-rank teszt itt sem igazolt jelentős különbséget ($p=0,155$).

Végül megvizsgáltuk a túlélési adatokat a PARP negatív és pozitív csoportokban BRCA státuszra igazítva. Ezen elemzés alapján a PFS szignifikánsan rövidebb volt BRCA vad típusú betegeknél, ahol a tumorszövet PARP expressziót mutatott (PFS 10,7 hónap, IQR 6,3-13,9 hónap,

$p=0,0001$), emellett ebben a csoportban tapasztaltuk a legrövidebb teljes túlélési időt is (OS 47,2 hónap). Az OS vonatkozásában a BRCA mutációt hordozó betegeknél, akik PARP negatívak voltak, kaptuk a legkedvezőbb adatokat, itt az utánkövetési időszak alatt medián OS értéket nem tudtunk kalkulálni, mivel a betegek kevesebb mint 50%-ban fordult elő haláleset, ez az érték szignifikánsan kedvezőbb volt az egyéb alcsoportokénál ($p=0,05$).

A teljes betegpopulációt vizsgálva a negatív PARP eredmény jelentős túlélésbeli előnyt biztosított mind a PFS, mind az OS vonatkozásában. A genotípusra igazított alcsoport vizsgálat alapján megállapítható, hogy BRCA vad típusú betegeknél a PARP vizsgálat segítségével egy kedvezőtlen prognózisú alcsoport különíthető el. A BRCA mutáns csoportban a PARP expresszió nem volt összefüggésben kedvezőtlenebb kiújulási aránnyal, azonban marginális szignifikanciával rosszabb teljes túlélést eredményezett.

4. Megbeszélés

A hám eredetű petefészekrák kezelése korunk talán legnagyobb kihívása a nőgyógyász onkológusok számára. Mortalitása messze meghaladja az egyéb belső nemi szervekből kiinduló tumorokét. Előfordulási gyakorisága folyamatos emelkedést mutat elsősorban a fejlett nyugati társadalmakban, ami részben a várható életkor növekedésével, részben a környezeti hatásokkal magyarázható. Szűrése minden próbálkozás ellenére továbbra sem megoldott, ezért az előrehaladott stádiumú betegek aránya magas. Kezelésében a citoreduktív műtét mellett a platina bázisú kemoterápiás kezelésekre támaszkodhatunk már évtizedek óta. Egyben ez a két pillér a legmeghatározóbb a betegek túlélése szempontjából is. Kutatásunk során új prognosztikai faktorok keresését tűztük ki célul, amelyek segítségével a terápiás válasz előre jelezhető válik, a betegek kezelési terve optimalizálható.

Az epitheliális petefészek daganat genetikai háttere nagyon heterogén, nem tekinthető egységesnek. A high-grade szerózus (HGSOC) folyamat, amely az összes epitheliális petefészekrák 70%-t alkotja, jellegzetes genetikai mutációja a BRCA 1/2 fehérjéket kódoló génszakasz hibája, illetve egyéb a homológ rekombinációs (HR) DNS javítási útvonal fehérjéit kódoló gének mutációi. A HR működési zavarához vezethet még és a HGSOC kialakulásában kockázati tényezőként azonosítható a *EMSY*, *RAD51*, *ATM*, *ATR*, Fanconi anémia, *BARD1*, *BRIP1*, *PALB2*, *RB1*, *NF1*, *CDKN2A* gének mutációi. A TP53 mutáció csaknem minden esetben megtalálható. A LGSOC a HGSOC-vel szemben teljesen más entitást képez. Jellegzetes mutációi a *BRAF*, *KRAS* gének eltérései, mindkét génmutáció a MAPK mediált jelátviteli útvonal fokozott aktivitáshoz vezet, mindezek mellett a TP53 és BRCA gének hibái a low grade folyamatok kialakulásában nem játszanak jelentős szerepet. A ritkább szövettani altípusok, mint a világossejtes, endometrioid és mucinózus folyamatokban a TP53 és BRCA gének hibái szintén

nem játszanak jelentős szerepet a karcinogenezisben. A petefészekrák molekuláris genetikai hátterét áttekintve kiemelendő, hogy a HR útvonal szabályozását végző gének mutációinak jelentősége, az előfordulási gyakoriságot tekintve élen járó HGSOC kialakulásában játszott vezető szerep miatt.

A HR deficiens esetekben a hám eredetű petefészekrákban a BRCA gén hibája dominál öröklött vagy szerzett formában, az alternatív DNS javítási útvonalak aktivitása fokozott jelentőségű ezen esetekben mind a karcinogenezis, mind a terápiás válasz szempontjából. Az alternatív útvonalak közül a PARP által mediált kiemelendő. A poli(adenozin-difoszfát-ribóz) polimeráz enzim család leginkább vizsgált és ismert tagja a PARP-1 enzim, amelynek az egyszálú DNS (SSB) törések javításában kulcsszerepe van. A PARP-1 protein felelős a teljes nukleáris PARP aktivitás 90%-ért. Az enzim számos nukleáris hiszton, kromatin fehérje, topoizomeráz és DNS protein kináz aktiválásáért felelős. Működésének zavara állatmodellek alapján genom instabilitáshoz és citotoxikus készítmények iránti fokozott érzékenységhez vezetnek. A PARP enzim működésében bekövetkező változások, csökkent funkció az SSB-k felhalmozódása által létrejövő dupla szálú DNS hibákon (DSB) keresztül a sejtek elhalásához vezethetnek, kiváltképpen olyan sejtekben, ahol a DSB-k javításáért felelős HR útvonal működése nem megfelelő. Mindezek következtében a PARP gátlás vizsgálata az elmúlt években a daganatellenes kezelések fejlesztésének fókuszába került. Azonban az enzim pontos élettani funkciója nem vezethető le ilyen egyszerűen, számos funkciója, hatása jelátviteli útvonalakra, szerepe a sejt reprodukciós folyamataiban és a sejthalál szabályozásában nem tisztázott. A genom stabilitásának fenntartásában esszenciális szerepe mellett a sejthalál kiváltásában is fontos szerepe van, mivel nem csak a DNS javítási mechanizmusait szabályozhatja, hanem a DNS fragmentálódását fokozhatja, így a genom dezintegrálásán keresztül sejthalált mediálhat. Ennek a kettős hatásnak a molekuláris háttere még nem tisztázott, azonban ezeknek a

megállapításoknak köszönhetően vált a PARP enzim gátlásának pontos hatása a daganat ellenes kutatások egyik legintenzívebben vizsgált területévé.

Az eddigi kutatások elsősorban a PARP enzim gátlásának hatására fókuszáltak HR deficiens sejteken, azonban a HR hibás működése az alternatív útvonalak aktivitásának fokozódásához vezethet, így a PARP aktivitásának vizsgálata is fokozott figyelmet érdemel. Az enzim aktivitásának szabályozása által a platina válasz in-vitro körülmények között befolyásolható, amelyet először Wang és munkatársai bizonyítottak molekuláris szinten vizsgálatukban. Az MKP-1 segítségével szabályozták a PARP enzim szintjét a petefészek daganatos sejtvonalon, az MKP-1 által generált PARP expresszió a sejtek platina rezisztenciájához vezetett. A megnövekedett PARP szint a tumorsejtekben jó korrelációt mutatott a cisplatinnal szemben kialakult rezisztencia mértékével. Sőt, azokon a sejteken, ahol sikerült elcsendesíteni a PARP aktivitást, ismételtén kialakult a platina iránti érzékenység. A vizsgálat eredményei kiváló alapként szolgáltak a munkánk során felállított hipotézishez, amely szerint a fokozott PARP expresszió a klinikumban platina rezisztenciához vezethet, így prognosztikai markerként használható lehet.

Munkánk során megállapítottuk, hogy a PARP fehérje expressziójának vizsgálata petefészek daganatos betegek szövetmintáin nagymértékben segíthet minket ezen célkitűzésünk megvalósításában. A PARP expresszió alapján kategorizált betegeink túlélési adatai nagymértékben különböztek mind a progressziómentes mind a teljes túlélés vonatkozásában. A PARP expressziót nem mutató betegek túlélése jelentősen jobb volt, ők alkották a platina szenzitív esetek jelentős részét. A nemzetközi irodalmat áttekintve csak kevés olyan klinikai tanulmánnyal találkozunk, amely a PARP expresszió hatásával foglalkozik a platina érzékenység vonatkozásában. Többségükről elmondható, hogy a vizsgált betegcsoport nagyon heterogén volt mind a stádiumeloszlás, mind a szövettani altípusok tekintetében. A vizsgált esetszámok alapján nem a mi vizsgálatunk a legnagyobb beteganyagot feldolgozó kutatás, azonban az

általunk kiválasztott populáció nagyfokú homogenitása ezt ellensúlyozza. A kutatásaink legnagyobb értékét az adja, hogy lehetőségünk nyílt egy másik DNS javítási útvonalat szabályozó gén, a BRCA mutációjának ismerete által eredményeinket tovább kategorizálni, finomítani. A BRCA státusz ismeretében sikerült egy igen kedvezőtlen túlélésű betegcsoportot azonosítanunk. A csoportot a BRCA gén vad státusza mellett a PARP expresszió jelenléte jellemezte. Nemzetközi kitekintésben munkánk egyedülálló, mivel ilyen jellegű összefüggést korábban nem azonosítottak.

Eredményeink alapján a PARP expressziójának vizsgálata jó jelzője a csökkent érzékenységek a DNS károsító hatásokra, például a platina alapú kemoterápiára. Ez a jelenség erősebb lehet, ha más DNS-helyreállítási útvonalak megfelelően működnek. Ezt a hipotézist megerősítik eredményeink, miszerint a PARP expresszió BRCA vad típusú betegeknél gyengébb túlélést okoz.

Megállapíthatjuk, hogy az ismert DNS javítási útvonalak funkciójának vizsgálata a mindennapi klinikai munkában segíthet minket a betegek terápiás válaszának becslésében, munkánk során alkalmazott vizsgálati módszer könnyen reprodukálható, a gyakorlatban jól alkalmazható. Kutatásaink különlegességét nem csak önmagában a PARP immunhisztokémiai vizsgálat prognosztikai értékének bizonyítása adja, hanem az is, hogy egyedülálló módon egy homogén, jól megválogatott betegcsoporton a BRCA státusz vonatkozásában sikerült igazolnunk alkalmazhatóságát.

5. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEI

- A PARP immunhisztokémiai vizsgálat a fenti eredmények tükrében segít differenciálni a platina bázisú kezelésre jól és rosszul reagáló betegek csoportját.
- A PARP expresszió vizsgálata alapján az első vonalbeli paclitaxel-carboplatin kezelést megelőzően becsülhetővé válik a kezelésre adott válasz, a progressziómentes időszak várható hossza, a festődés hiányában platina érzékeny folyamat várható, mely jó prognosztikai jelnek tekinthető a túlélés szempontjából.
- A teljes betegpopulációt vizsgálva a negatív PARP eredmény jelentős túlélésbeli előnyt biztosított mind a progressziómentes túlélés, mind a teljes túlélés vonatkozásában.
- Kutatásunk egyedülálló, mert nem csak a PARP expresszió hatását vizsgáltuk a betegség kimenetelére, hanem a PARP expresszió hatását a BRCA státusz függvényében klinikopatológiai adatok tükrében.
- A genotípusra igazított alcsoport vizsgálat alapján megállapítható, hogy BRCA vad típusú betegeknél a PARP vizsgálat segítségével egy kedvezőtlen prognózisú alcsoport különíthető el.
- Eredményeink alapján a betegek egy olyan csoportját azonosítottuk, akiknek kifejezetten rossz a prognózisa, ők a BRCA vad típusú betegek, akiknek a PARP enzim erős expressziót mutat a tumorszövetükön.
- A BRCA mutáció hordozása nem eredményezett szignifikánsan jobb túlélési adatokat, de a tendencia pozitív volt.

6. A JELÖLTNEK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN SZÜLETETT PUBLIKÁCIÓINAK A KENÉZY KÖNYVTÁR ÁLTAL HITELESÍTETT LISTÁJA



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400

Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/45/2021.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Molnár Szabolcs

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

- Molnár, S.,** Vida, B., Beke, L., Méhes, G., Póka, R.: The Prognostic Relevance of Poly (ADP-Ribose) Polymerase Expression in Ovarian Cancer Tissue of Wild Type and BRCA-Mutation Carrier Patients.
Diagnostics. 11 (1), 1-10, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics11010144>
IF: 3.11 (2019)
- Molnár, S.,** Beke, L., Méhes, G., Póka, R.: The Prognostic Value of PARP Expression in High-Grade Epithelial Ovarian Cancer.
Pathol. Oncol. Res. 26 (4), 2549-2555, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-020-00856-6>
IF: 2.826 (2019)

További közlemények

- Molnár, S.,** Maka, E., Damjanovich, P. G., Török, P., Lampé, R., Krasznai, Z. T.: A hámeredetű petefészek daganatok sebészeti ellátása és annak hatása a betegségmentes túlélésre a Debreceni Egyetem adatai alapján.
Nőgyógy. Onkol. közlésre elfogadva, 2020.
- Molnár, S.,** Farkas, Z., Jakab, A., Lampé, R., Török, P.: Effectiveness of different methods for polypectomy in the menopause: a retrospective study.
Climacteric. 23 (4), 325-329, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/13697137.2020.1732915>
IF: 2.566 (2019)





5. Török, P., **Molnár, S.**, Herman, T., Singh, J., Lampé, R., Riemma, G., Vitale, S. G.: Fallopian tubal obstruction is associated with increased pain experienced during office hysteroscopy: a retrospective study.
Updates Surg. 72 (1), 213-218, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13304-020-00712-x>
IF: 2.587 (2019)
6. Lőrincz, J., **Molnár, S.**, Herman, T., Vitale, S. G., Singh, J., Lampé, R., Kardos, L., Török, P.: Predictive value of bubble sign for tubal patency during office hysteroscopy.
Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 253, 58-60, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.07.048>
IF: 1.868 (2019)
7. Török, P., Krasznai, Z. T., **Molnár, S.**, Lampé, R., Jakab, A.: Preoperative assessment of endometrial cancer.
Transl. Cancer Res. 9 (12), 7746-7758, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.21037/tcr-20-2068>
IF: 0.986 (2019)
8. Lamer, M., Nikolova, T., Gutic, B., Nikolova, N., Pletnev, A., Selcuk, I., Vlachos, D. E., Razumova, Z., Bizzari, N., Theofanakis, C., Lepka, P., Kahramanoglu, I., Han, S., Nasser, S., **Molnár, S.**, Hudry, D., Montero, M. R., de Lange, N., Macuks, R., Hasanov, M. F., Karimbayli, R., Gagua, I., Andrade, C., Pardal, C., Dotlic, J., Alvarez, R. M., Hruda, M., Fruhauf, F., Ekdahl, L., Antonsen, S. L., Sukhin, V., Eriksson, A. G. Z., Gliozheni, E., Delic, R., Satanova, A., Kovacevic, N., Gristenko, L., Babloyan, S., Zalewski, K., Bharathan, R.: Subspecialty training in Europe: a report by the European Network of Young Gynaecological Oncologists.
Int. J. Gynecol. Cancer. [Epub ahead of print], 1-10, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/ijgc-2020-002176>
IF: 2.095 (2019)
9. Török, P., **Molnár, S.**, Lampé, R., Jakab, A.: The use of hysteroscopy in endometrial cancer: old questions and novel challenges.
Climacteric. 23 (4), 330-335, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/13697137.2020.1732914>
IF: 2.566 (2019)
10. Póka, R., Barna, L., Damjanovich, P. G., Farkas, Z., **Molnár, S.**, Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Juhász, A. G., Török, O.: Large fetal weight alone in Robson-1 parturients doesn't translate into a risk of Caesarean delivery higher than that of a vaginal birth.
J. Obst. Gynecol. Rep. Biol. 239, 7-10, 2019.
IF: 1.868





11. Török, P., Herman, T., Lőrincz, J., **Molnár, S.**, Lampé, R., Póka, R.: Suprapubic pressure facilitates the procedure of office hysteroscopy: a randomized controlled trial.
J. Obstet. Gynaecol. Res. 45 (3), 640-644, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jog.13848>
IF: 1.392
12. Póka, R., Barna, L., Csehely, S., Damjanovich, P. G., Farkas, Z., **Molnár, S.**, Nagyházi, O., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Juhász, A. G., Török, O., Tóth, Z.: Szülési módja és neonatális eredmények: terminuson túl szinguláris fejtégű magzattal spontán vajúdo, először szülő nők körében.
Magyar Nőorv. Lap. 82, 228-234, 2019.
13. Póka, R., Barna, L., Csehely, S., Damjanovich, P. G., Farkas, Z., **Molnár, S.**, Nagyházi, O., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A. G., Juhász, A. G., Török, O., Tóth, Z.: Születési súly és császármetszés kapcsolata: 37. hetet betöltött, szinguláris fejtégű magzattal spontán vajúdo először szülő nőkben.
Magyar Nőorv. Lap. 82 (2), 56-61, 2019.
14. Lőrincz, J., **Molnár, S.**, Jakab, A., Herman, T., Singh, J., Török, P.: The effect of localization and histological verification of endometrial polyps on infertility.
Arch. Gynecol. Obstet. 300 (1), 217-221, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-019-05155-3>
IF: 2.283
15. Póka, R., Barna, L., Csehely, S., Damjanovich, P. G., Farkas, Z., **Molnár, S.**, Nagyházi, O., Orosz, G. B., Orosz, M., Ördög, L., Sipos, A., Újvári, B., Tóth, Z.: A császármetszés frekvenciájának Robson-féle klasszifikáció szerinti elemzése a Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika tízéves anyagában.
Magy. Nőorv. Lapok. 80, 76-85, 2017.
16. Póka, R., **Molnár, S.**, Daragó, P., Lukács, J., Lampé, R., Krasznai, Z. T., Hernádi, Z.: Intention-to-Treat Analysis of Radical Trachelectomy for Early-Stage Cervical Cancer With Special Reference to Oncologic Failures.
Int. J. Gynecol. Cancer. 27 (7), 1438-1445, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/IGC.0000000000001048>
IF: 2.192
17. **Molnár, S.**, Daragó, P., Krasznai, Z. T., Juhász, A. G., Török, O., Hernádi, Z., Póka, R.: Korai méhnyakrákban végzett fertilitás-megtartó műtétre való alkalmasság vizsgálata.
Magy. Nőorv. Lapok. 79 (3), 142-147, 2016.
18. **Molnár, S.**, Póka, R.: Tumormarker negatív recidív ovárium carcinoma műtéttel kezelhető esete.
Magy. Nőorv. Lapok. 5, 258-262, 2015.





19. Boros, M., **Molnár, S.**, Józsa, T.: Multilocular Thymic Cyst Resection From Pleural Cavity by
Thorascopy.
J. Med. Cases. 4 (4), 266-268, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4021/jmc1081w>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 26,339

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
5,936**

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

Debrecen, 2021.02.04.

