

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Nukleinsav és kapcsolt sejtfelszíni biomarker vizsgálatok
a petefészekrák diagnosztikájában**

Dr. Lukács János

Témavezető: Prof. Dr. Póka Róbert, MTA doktora
Dr. Soltész Beáta, PhD



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2024

NUKLEINSAV ÉS KAPCSOLT SEJTFELSZÍNI BIOMARKER VIZSGÁLATOK A PETEFÉSZEKRÁK DIAGNOSZTIKÁJÁBAN

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

Írta: Dr. Lukács János okleveles orvosdoktor

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Experimentális és operatív orvostudományok programja) keretében

Témavezetők: Prof. Dr. Póka Róbert, MTA doktora
Dr. Soltész Beáta, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, MTA doktora
tagok: Dr. Koczok Katalin, PhD
Prof. Dr. Drávucz Sándor, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet, B épület,
I. emeleti tárgyaló
2024. október 2. 12:00

Az értekezés bírálói:

Dr. Ujfalusi Anikó, PhD
Dr. Szabó Gábor, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, MTA doktora
tagok: Dr. Ujfalusi Anikó, PhD
Dr. Szabó Gábor, PhD
Dr. Koczok Katalin, PhD
Prof. Dr. Drávucz Sándor, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet tanterme
2024. október 2. 14:00

1 Bevezetés

Az elmúlt évtizedben, a jól szerkesztett kemoterápiás sémák, illetve biológiai terápia fejlődő lehetőségei, és a hatásosan alkalmazott szupportáció következtében a petefészekrák túlélési adatai kedvezően javultak. Ennek ellenére a nőgyógyászati daganatos halálokok között, még mindig vezető helyen szerepelnek az ovariumok rosszindulatú tumorai. A fejlődő országokban a petefészekrák esetén a diagnózis legtöbb esetben előrehaladott stádiumban születik [Mulisya és mtsai., 2020].

A diagnosztika eszközei - tünetek jelentkezése esetén - fizikális vizsgálat, ultrahang képalkotás, CT és MR képalkotás, valamint a nem nagy szenzitivitású és specificitású Cancer Antigen 125 (CA125), és Human Epididymis Protein 4 (HE4) tumormarker vizsgálat jelenti.

Létjogosultsága van tehát, újabb biomarkerek vizsgálatának, majd alkalmazásának a petefészekrák diagnosztikájában. Napjainkban, más orvosi tudományterületen, egyéb szervi daganatok vizsgálata kapcsán a mikroRNS-ek, exoszómák, jelátviteli fehérjék vizsgálata bizonyult ígéretesnek. A más országokban, szakirodalmi adatokkal alátámasztott módon elindított biomarker vizsgálatok újragondolása, új célkitűzésekkel hazai populáción történő tanulmányokat inspirálnak. A biomarker vizsgálatok a petefészek daganatos betegek diagnosztikájában és kezelésükkel kapcsolatos követésben ígéretesnek tűnnek.

2 Irodalmi áttekintés

2.1 Petefészek tumor

A nők körében a petefészekrák az egyik vezető haláloknak számít, amely köszönhető a nem specifikus tüneteknek, a különböző rizikófaktoroknak, illetve a betegség hátterében lévő genetikai eltéréseknek is [Mulisya és mtsai., 2020]. A petefészek-tumor morfológiailag és molekulárisan is heterogén daganatok közé sorolható, klinikai tüneteit tekintve is eltéréseket látunk a betegségen belül.

A rosszindulatú petefészek daganatok többsége a hám (epitéliális) eredetű daganatok közé tartozik. A magas-grádusú szerózus petefészek tumorok (HGSOC- high grade serous ovarian cancer), rossz prognózissal bírnak, agresszívok, erősen proliferatívok és nagyon sok esetben fatális kimenetelűek, a 65 évnél idősebb nőket érintik [Köbel és Kang, 2022].

A szokásos rutin diagnosztikai eljárások közé tartozik az ultrahang (UH), főként a transzvaginális ultrahang (TVS) vizsgálat és a komputer tomográfia (CT), bár a tumor

benignitását vagy malignitását nem lehet biztonsággal meghatározni ezekkel a módszerekkel. Ha felmerül a tumor rosszindulatúsága, a kezelési terv kidolgozásához szükséges a stádium pontos meghatározása, amelyet a feltáró - exploratív laparotómia, illetve szövettani mintavétel és feldolgozás tesz pontosná.

2.2 Folyadék alapú biopszia

A hagyományos biopszia egy olyan invazív eljárás, amely során meghatározhatjuk a kóros sejtburjánzás benignus (jó)- vagy malignus (rossz) voltát, bár ez veszélyekkel járhat a betegre nézve, ezzel szemben a folyadék alapú biopszia számos előnnyel rendelkezik, kevésbé invazív, a mintavétel egyszerű és ismételhető. A folyadék alapú biopsziával nyert molekulák, ide értve a tumor sejteket, extracelluláris vezikulákat (apoptotikus testek, mikrovezikulák és exoszómák), tumorból származó metabolitok, fehérjék és szabad-nukleinsavak (sejtmentes – „cell-free” – DNS, és RNS) fontos biomarkerek lehetnek a tumorok vizsgálatában [Zhou és mtsai., 2020]. Ezen molekulák kutatása nagyban hozzájárulhat a tumorok későbbi diagnosztikájához.

2.3 A mikroRNS-ek

A kutatások néhány éve nagy érdeklődéssel fordultak a mikroRNS-ek (miRNS-ek) irányába, mert számos betegség, köztük a tumorok kialakulásában is nagy jelentőséggel bírnak.

A mikroRNS-ek kis (19-22 nukleotid), egyszálú, nem-kódoló RNS-ek, amelyeket endogén gének kódolnak. Az első leírásuk óta számos humán mikroRNS-t azonosítottak, amelyeknek szerepük lehet különböző biológiai folyamatokban, többek között a sejtek differenciálódásában, metabolizmusában, immunválasz kialakításában, gyulladásos folyamatokban és mintegy a humán gének 60%-ának poszt-transzkripcionális szabályozásában. Részt vesznek a cél mRNS degradációjában, illetve a transláció gátlásában is [Lai, 2002; Lewis és mtsai., 2003; Lengyel 2010; Contreras és Rao, 2012; Di Leva és mtsai., 2014; Hayes és mtsai., 2014].

A genetikai mutációk egyik típusa az egynukleotidos polimorfizmus (SNP), amely ha a miRNS-eket kódoló gének szekvenciáján található, megváltozott miRNS expressziót eredményez, illetve befolyásolja a célmolekulához kötődés specificitását és affinitását, ezáltal a betegségre való hajlam kialakítását [Li és mtsai., 2020].

A mikroRNS-k génjeiben, illetve a miRNS célgéneken található SNP-k megváltoztathatják a

miRNS expressziós szintjét, ezáltal befolyásolhatják a tumorok kialakulásának kockázatát [Mullany és mtsai., 2015].

A miR-146 mikroRNS-nek elsősorban olyan molekulák a célpontjai, amelyek szerepe van a gyulladási folyamatokban és a veleszületett immunitásban [Taganov és mtsai., 2006]. Korábbi tanulmány már felhívta a miR-146 szerepére a figyelmet a petefészekrák kialakulásában [Shen és mtsai., 2008].

A miR-196 család onkogén vagy tumorszupresszor szerepét számos kézirat említi, többek között upregulálódik nőgyógyászati tumorokban (méhnyak és petefészek esetén), illetve downregulálódik mellrákban [Pourdavoud és mtsai., 2020].

A miR-193 lassíthatja a proliferációt és a sejtciklus szabályozását normál sejtekben, illetve a miR-193 tumorszupresszor funkciója daganatokban is megtalálható [Grossi és mtsai., 2017].

2.4 CD24

A CD24 egy sejt felszíni fehérje, megtalálható hemopoetikus sejteken, izomsejteken, keratinocitákon és hámsejteken, illetve humán karcinómasejteken is [Aigner és mtsai., 1997; Nagy és mtsai., 2009; Fang és mtsai., 2010]. A CD24 magasabb expresszióját először onkohematológiai esetekben, majd prosztatákban mérték [Kristiansen és mtsai., 2002, 2004]. Számos publikáció erősítette meg ezeket az adatokat sok más típusú daganatban, például B-sejtes limfómában, hólyagkarcinómában, vesesejtes karcinómában, petefészek- és emlőrákban [Weichert és mtsai., 2005; Runz és mtsai., 2007; Fang és mtsai., 2010]. A CD24 expressziója kimutatható borderline petefészekdaganatokban és magas koncentrációja a szerózus adenokarcinómában [Choi és mtsai., 2005].

3 Célkitűzések

A petefészekrák az egyik vezető haláloknak számít a nők körében, mert kezdetben a petefészekrákos esetek tünetmentesek, késői stádiumban kerülnek felismerésre, amikor a kezelésre adott válasz és a túlélés esélye csökken. Ezek miatt a klinikai diagnosztikában is alkalmazható biomarkerek keresése és alkalmazhatóságának vizsgálata előtérbe kerül.

1. Vizsgálataink elsődleges célja volt a miR-146a, miR-196a, illetve miR-193b mikroRNS-ek polimorfizmusainak allél és genotípus előfordulási gyakoriságát vizsgálni petefészek tumoros betegek és egészséges kontrollok vérmintáiban, melyből következtetni lehet a petefészekrákkal való összefüggésekre.
2. A kiválasztott mikroRNS-ek célgénjeiken keresztül betöltött szerepének vizsgálata bioinformatikai módszerekkel.
3. A kutatásunk további részében célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a CD24 sejtfelszíni marker jelenlétét petefészekrákos és egészséges kontroll személyek szövetmintáin, meghatározva a *CD24* expresszió tumor és tumor stádiummal való összefüggését.
4. A *CD24* célgénjein keresztül betöltött szerepének vizsgálata bioinformatikai módszerekkel.

4 Anyagok és módszerek

4.1 Betegek

A vizsgálatainkhoz a Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján gyűjtött szövet- és vérmintákat használtuk. A mintákat felhasználva a molekuláris genetikai vizsgálatokat kollaborációban a Debreceni Egyetem Humángenetikai Tanszékével végeztük el a 30231-2/2016 számú etikai engedély alapján. A vizsgálatba bevonni kívánt személyek előzetesen betegtájékoztatóban részesültek és aláírták a beleegyező nyilatkozatokat.

A vizsgálatainkhoz összesen 100 petefészek tumoros nő ($58,4 \pm 13,0$ év) és 111 kontroll (111 egészséges nő) ($58,0 \pm 12,0$ év) került mintavételre. Az ovarium tumoros páciensek nőgyógyászati műtétek kapcsán kerültek mintavételre, a kontrollok, egészséges nőként, a változókori szakrendelésen, és a méh helyzetjavító műtétei alkalmával kerültek mintavételre.

A 100 tumoros beteg közül 84 esetben magas grádusú szerózus petefészek karcinóma igazolódott. A 84 esetből 7 esetben FIGO I/a, 15 esetben FIGO I/c, egy esetben FIGO II/b, két esetben FIGO II/c, két esetben FIGO III/a, 8 esetben FIGO III/b, 34 esetben FIGO III/c, 3 esetben FIGO IV/a és 12 esetben FIGO IV/b stádiumot diagnosztizáltak. A 100-ból fennmaradó 16 esetben, 3 esetben szerózus borderline petefészek tumor és 13 esetben szerózus jóindulatú petefészek tumor került megállapításra.

Az egyes vizsgálatainkba bevont tumoros és kontroll esetek számát, a vizsgálatok időpontjában rendelkezésre álló mintaszám és szövettani eredmény határozta meg.

A miR-146 és a miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmus vizsgálatához 75 HGSOE petefészek daganatos személyt (átlagos életkor: $58,6 \pm 13,7$ év) és 75 kontroll személyt (átlagos életkor: $60,4 \pm 12,4$ év) vontunk be a vizsgálatba.

A miR-193 egynukleotidos polimorfizmus vizsgálatához 86 (84 HGSOE + 2 szerózus borderline) petefészek daganatos (átlagos életkor: $58,5 \pm 13,6$ év) és 102 kontroll személyt (átlagos életkor: $59,4 \pm 11,9$ év) vontunk be a vizsgálatba.

A CD24 sejtfelszíni marker vizsgálatába 21 HGSOE beteget (átlagos életkor: $59,1 \pm 8,8$ év) és 8 kontroll személyt vontunk be (átlagos életkor: $60,8 \pm 11,7$ év, $p = 0,72$). A CD 24 expressziós vizsgálatokban 21 alacsony differenciált szerózus petefészekrákban szenvedő páciens petefészek szövetmintája, illetve 8 egészséges nő kontroll petefészek szövetmintája került felhasználásra. A betegeket FIGO stádiumok alapján is besoroltuk: 2 eset FIGO I. ($66,5 \pm 7,8$ év; $p = 0,48$), 15 eset FIGO III. ($57,5 \pm 8,3$ év; $p = 0,50$), 4 eset FIGO IV. ($61,3 \pm 10,6$ év; $p = 0,94$). Ugyanezeknek az eseteknek a plazmamintáit a kapcsolódó miR-146 expressziós vizsgálatához használtuk fel.

4.2 Módszerek

Egynukleotidos polimorfizmus meghatározás

EDTA-val alvadásgátolt 200 µl vérmintából vontunk ki DNS-t szilika adszorpciós módszerrel, a gyártó utasításai szerint (High Pure PCR Template Preparation kit, Roche, Mannheim, Németország). A DNS koncentrációját és minőségét NanoDrop spektrofotométerrel határoztuk meg. A valósídejű PCR során tervezett LightSnip primereket (TibMolbiol, Berlin, Németország) és LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probes keveréket (Roche, Penzdorf, Németország) használtunk.

Plazma minták gyűjtése és tárolása

A tumoros és nem-tumoros személyektől levett EDTA-val alvadásgátolt vérmintákat a levételt követően a lehető leghamarabb feldolgoztuk. Először 2500 g-vel, majd 16000 g-vel szintén 10 percen keresztül 4°C-on centrifugáltuk. A felülúszót átvittük új csövekbe, majd kis mennyiségekben -80°C-on fagyasztva tároltuk.

RNS izolálása

Az RNS izolálása NucleoSpin RNA kit (Macharey Nagel, Düren, Németország) segítségével történt 30 mg petefészekszövetből, vagy 500 µl plazma felhasználásával. A plazma mintákból miRneasy serum/plasma kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével vontuk ki a miRNS frakciót is tartalmazó, teljes RNS-et a gyártói utasításnak megfelelően. A teljes RNS koncentrációját és tisztaságát NanoDropLite (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) segítségével határoztuk meg. A mikroRNS-ek koncentrációját Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) segítségével mértük le.

cDNS szintézis

Az RNS izolálását követően reverz transzkripció segítségével komplementer DNS (cDNS) –t szintetizáltunk a First Strand cDNA Synthesis kit for RT-PCR (Roche Diagnostics, Corporation, Indianapolis, IN, USA) kit segítségével gyártói utasításoknak megfelelően a CD24 vizsgálat esetén és miRCURY LNA RT Kit (Qiagen, Hilden, Germany) használatával a mikroRNS-ek esetén. A cDNS-ek tisztaságának és koncentrációjának mérése NanoDropLite, illetve Qubit 2.0 Fluorometer segítségével történt.

Kvantitatív valós-idejű polimeráz láncreakció (qRT-PCR)

A CD24 meghatározásához primer-próba rendszert alkalmaztunk. Az alkalmazott szekvenciákat a TIBMOBIO (Berlin, Németország) tervezte és gyártotta le számunkra, melyek a következők voltak: CD24 esetében a sense szál: 5'-TgA AgA ACA TgT gAg Agg TTT gAC-3', az antisense szál: 5'-gAA AAC TgA ATC TCC ATT CCA CAA-3', és a próbák 5'-gAA AAC TgA ATC TCC ATT CCA CAA+3'-fluoreszcein és LC-640-AAC TCC AgC AgA TTT AAT ATT ggC ATT CAT CA-PH-3' voltak. A génexpressziós vizsgálathoz a DNA Master Hybprobe kitet (Roche, Mannheim, Németország) és a LightCycler 1.5 kvantitatív valós-idejű kapilláris PCR készüléket használtunk. Az adataink normalizálásához a beta-globin háztartási gént (LightCycler® Control Kit DNA, Roche, Mannheim, Németország) alkalmaztuk. A mikroRNS-ek vizsgálata során miRCURY LNA SYBR Green Kit-et (Qiagen, Hilden, Germany), miR-146a primer assayt és háztartási mikroRNS-ként, miR-103-t használtunk gyártói utasításnak megfelelően szintén a Qiagen-től, a méréshez Roche Cobas Z 480 kvantitatív valós-idejű PCR készüléket használtuk. A relatív expressziós szint meghatározásához a $2^{-\Delta Ct}$ módszert használtuk.

Bioinformatikai analízis (hálózat kutatás)

Az általunk vizsgált mikroRNS-ek, *miR-193b-5p*, *miR-146a-5p* és a *miR-196a-2-5p*, célgénjeinek meghatározásához predikciós adatbázisokat és az általuk felkínált algoritmusokat használtunk, úgymint a TargetScan (www.targetscan.org), MirBase (www.microrna.sanger.ac.uk) és a microRNA-Data-Integration-Portal (<http://ophid.utoronto.ca/mirDIP>). Hálózat kutatást végeztünk, hogy megnézzük a CD24 kapcsolatát más gének által kódolt fehérjékkel (fehérje-fehérje interakciós hálózat), illetve mikroRNS-ekkel való kapcsolatát a Biogrid (<https://thebiogrid.org/>) és miRTARGETLink (<https://ccb-compute.cs.uni-saarland.de/mirtargetlink2>) adatbázisok segítségével.

Statisztikai analízis

A mikroRNS polimorfizmusainak vizsgálatokor összehasonlítottuk khí-négyzet tesztel (<https://www.socscistatistics.com/tests/chisquare2/default2.aspx>) a kategorikus változók (allél és a genotípus) gyakoriságát. A tumoros és nem-tumoros csoportok CD24 sejtfelszíni marker expressziójának összehasonlításához, illetve a miR-146a expressziójának vizsgálatához Student-féle t-próbát alkalmaztunk. A szignifikancia szintet mindegyik esetben $p < 0,05$ -ben határoztuk meg.

5 Eredmények

5.1 A miR-146a és miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumoros betegek vérmintáiban

Először alkalmaztunk olvadási görbe analízist munkánk során a *miR-146a* és a *miR-196a* egynukleotidos polimorfizmusának meghatározására magyar populáció vizsgálata során. Az egyes allélok olvadási pont szerinti megbízható elkülönítésére az alkalmazott PCR körülményei alkalmasak voltak, az olvadási pontokat az olvadás görbék csúcspontjai alapján olvastuk le. Az olvadási T_m pontok alapján határoztuk meg az allélokat, és ezáltal a genotípusokat.

A kutatásunkba 75 petefészekrákos és 75 nem-tumoros beteg mintáit vontuk, hogy meghatározzuk a két miRNS SNP előfordulási gyakoriságát. A beválasztási szempont egyik kritériuma volt, hogy a tumoros és nem-tumoros személyek csoportjai közötti átlagos életkorban ne legyen lényeges különbség. A kapott adataink alapján kiszámítottuk az egynukleotidos polimorfizmusok allél- és genotípus gyakoriságát. Az olvadási görbe analízis során a *miR-146a rs2910164* esetében a betegek csoportjában 82,00%-ban a G allél, 18%-ban a C allél, a kontroll csoportban 72,67%-ban a G allél és 27,33%-ban a C allél fordult elő ($p=0,053$). A genotípusok gyakoriságát tekintve a betegeknél a GG 65,33%; a GC 33,33% és a CC 1,33%-ban, míg a kontroll csoportban 53,33%, 38,67%, és 8,00%-ban fordultak elő ($p=0,0917$). A *miR-196a-2 rs11614913* esetében a betegek csoportjában a C allél előfordulási gyakorisága 67,33%-ban, a T allél 32,67%-ban, a kontroll csoportban a C allél 59,33%-ban és a T allél 40,67%-ban fordult elő ($p=0,15$). A genotípusok gyakorisága a betegek csoportjában a CC 46,67%; a CT 41,33% és a TT 12,00%, míg kontroll csoportnál 37,33%, 44,00%, 18,67%-ban mutatkoztak ($p=0,3815$).

Az alkalmazott bioinformatikai módszerekkel négy gén bizonyult közös célgénnek a Lamin B receptor (*LBR*), a Rab4 kölcsönható fehérje (*RUFY2*), autofágiával kapcsolatos 9a (*ATG9A*), és a metil-CpG kötő domén 4 (*MBD4*).

5.2 A miR-193b egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumoros betegek vérmintáiban

A kutatómunkánk során először alkalmaztunk olvadási görbe analízist a miRNS-193b egynukleotidos polimorfizmusának meghatározására magyar populáció vizsgálata során. Az olvadási T_m pontok alapján határoztuk meg az allélokat, és ezáltal a genotípusokat.

A miRNS SNP előfordulási gyakoriságát 102 nem-tumoros személy és 86 petefészek tumoros beteg mintáiban határoztuk meg, a két vizsgált csoport átlagos életkorában nem volt lényeges különbség. A rs30236 allél- és genotípus előfordulási gyakoriságai összefoglalva a következők. A betegek csoportjában a T allél 30,24%-ban, a C allél 69,76%-ban, a kontroll csoportban a T allél 35,78%-ban, és a C allél 64,22%-ban fordult elő ($p=0,2549$). A genotípusok a betegek csoportjánál CC 45,35%, a CT 48,84%, a TT 5,81%-ban, míg a kontroll csoportban a CC 39,22%, a CT 50,0%, a TT 10,78%-ban fordultak elő ($p=0,4096$).

A miR-193b mikroRNS célgénjeinek feltérképezésére hálózatkutatást végeztünk. A miR-193b által szabályozott legfontosabb géneket és a megerősítésükre szolgáló vizsgálati módszereket a miRTarbase, TargetScan, MirBase és a microRNA-DataIntegration-Portal predikciós adatbázisokat és az ezek által felkínált algoritmusok segítségével azonosítottuk. A cyclin D1 (*CCND1*; Cyclin D1), az ösztrogén receptor (*ESR1*), a plazminogén aktivátor (*PLAU*), a prolin rich acidic protein (*PRAP1*) és a myeloid cell leukemia sequence (*MCL1*) génekre kifejtett hatását igazolták több módszerrel.

5.3 CD24 sejtfelszíni marker meghatározása petefészekrákos és nem-tumoros személyek esetén

A *CD24* expresszióját petefészek szöveteken vizsgáltuk primer-próba kimutatási rendszert alkalmazva kvantitatív valós-idejű polimeráz láncreakcióval. A petefészekrákos és nem-tumoros személyek szövetmintáinak *CD24* expressziója között szignifikáns különbséget találtunk ($44,97 \pm 68,06$; $0,16 \pm 0,32$; $p < 0,01$). A szövettani vizsgálatot követően a betegeket különböző FIGO stádiumokba soroltuk be. A *CD24* expressziója magasabbnak bizonyult a FIGO I, III és IV stádiumokban (FIGO I, $72,22 \pm 88,54$; FIGO III, $17,34 \pm 32,09$; FIGO IV, $134,90 \pm 91,42$) a kontrollhoz képest, így elmondható, hogy a magasabb stádiumokkal nem szignifikáns összefüggést mutat a *CD24* magasabb expressziója.

A betegek és kontrollok anamnézis felvétele után mintát vettünk azoktól a személyektől, akik, nem kaptak kezelést a mintavétel előtt. Majd utánkövettük a vizsgált személyeket (21 személy), a kutatómunka ideje alatt (a mintavételt követő egy hónap múlva) 2 beteg vesztette életét (FIGO III és FIGO IV stádiumú betegek) egyéb egészségügyi problémáik következményeként, ami 90,48% túlélési rátát (3–29 hónap) mutat a vizsgált csoportban.

A *CD24* sejtfelszíni fehérje és egyéb más fehérjék kapcsolatának vizsgálatát a Biogrid adatbázis segítségével határoztuk meg. Négy fehérjét azonosítottunk, amely kapcsolódik a *CD24*-hez:

LYN, SELP, FGR, és NPM1. Számos mikroRNS esetén leírták, hogy hatással van a *CD24* expressziójára, a mikroRNS-*CD24* kapcsolatát miRTargetLink adatbázis segítségével határoztuk meg. A hálózat kutatás során 31 mikroRNS esetén találtuk, hogy kapcsolatban áll a *CD24*-vel, amelyek közül a hsa-miR34a és a hsa-miR373-3p a legspecifikusabbak.

A kutatócsoportunk az irodalmi adatokat felhasználva lehetséges kapcsolatot talált a miR-146a mikroRNS és a *CD24* között, ugyanis a *CD24*-et a miR-146a új funkcionális célpontjaként azonosították [Ghuwalewala és mtsai., 2021], így megvizsgáltuk a miR-146a expresszióját az ebben a fejezetben ismertetett petefészek tumoros betegek esetén. Azt tapasztaltuk, hogy a petefészek tumoros csoportban magasabban expresszálódik a miR-146a a kontroll csoporthoz képest ($0,30 \pm 0,15$; $0,19 \pm 0,16$; $p=0,183$), de nincs szignifikáns különbség a csoportok között. További vizsgálatok eredményei szerint a miR-146a expresszió stádiumfüggést is mutat az alacsonyabbtól a magasabb stádiumig ($0,25 \pm 0,13$; $0,28 \pm 0,16$; $0,37 \pm 0,15$; $p=0,647$, $p=0,255$, $p=0,117$), de az eredmény ebben az esetben sem szignifikáns. Az alacsony esetszám az egyes csoportokon belül magyarázhatja az eredményeink nem szignifikáns voltát.

6 Megbeszélés

Az ovárium tumor vezető haláloknak számít a nők körében. A nem-invazív mintavételi eljárások, mint a folyadék biopszia hozzájárulhat a különböző betegségek korai felismeréséhez, ideértve a petefészekrákot is.

A nem-invazív eljárások alkalmazásának kidolgozása során a figyelem elsősorban a mikroRNS-ek felé fordult, ugyanis a kis nem-kódoló RNS-ek gyakran jelezték előre a daganatot [Sharma és mtsai., 2017].

A munkánk során három mikroRNS polimorfizmusát vizsgáltuk meg, amelyekről úgy gondolták, hogy biomarkerekként szolgálhatnak a petefészekrák diagnosztikájában, illetve a miR-193b polimorfizmusáról mutatták ki, hogy összefüggést mutat a platinakezelés hatékonyságával [Rauhala és mtsai., 2010; Ziliak és mtsai., 2012].

Korábbi tanulmányban vizsgálták a miR-146 polimorfizmusát petefészekrákos betegek, és az egészséges kontrollok mintáin, GG genotípus a CC genotípushoz 3,73-szor, a CG + GG genotípus a CC genotípushoz 1,68-szor, a GG genotípus a CG + CC genotípushoz képest 3,02-szer gyakrabban fordul elő, a különbség statisztikailag jelentős volt mindhárom összehasonlítás során [Sun és mtsai., 2016]. Jelen tanulmányunkban ugyanez az összehasonlítás a következő arányokhoz vezetett 7,35 (GG genotípus a CC genotípushoz), 6,4 (CG + GG genotípusok a CC genotípushoz), 1,65 (GG genotípus a CC + CG genotípusokhoz), de egyik sem volt statisztikailag szignifikáns. Eredményeink alapján, feltételezzük, hogy a miR-146a polimorfizmus szerepe nem kizárólagos a petefészekrák kialakulásában.

A miR-146a rs2910164 olvadási görbe elemzése alapján megállapítottuk, hogy 72,67% a G allél gyakorisága a kontroll csoportban, és 82,00% a betegcsoportban ($p = 0,053$). A GG, GC és CC genotípusok 53,33%, 38,67% és 8,00% gyakorisággal a kontrollok között, míg a betegeknél 65,33%, 33,33% és 1,33% gyakorisággal volt kimutatható ($p = 0,0917$).

A miR-196a-1 genetikai eltérései összefüggésbe hozhatóak a petefészekrák kialakulásával [Eccles és mtsai., 1990]. Illetve a miR-196a által befolyásolt gének vizsgálata során a kutatók a nagy mobilitású AT-hurok 2 (*HMGA2*) gént azonosították elsődleges célpontként, amely DNS kettős szálú töréseket okoz [Chen és mtsai., 2011]. A miR-196a tumorpromoterként viselkedhet, ahol a cél gén (*HOXA 10*) a downstream lokalizációban található [Yang és mtsai., 2016], ezáltal a miR-196a-1 fokozott expressziója rossz prognózist jelent petefészekrákos betegek esetében [Fan és mtsai., 2015].

A miR-196a-2 rs11614913 analízise során a C allél a kontrollok 59,33%-ánál és a betegek 67,33%-ánál fordult elő ($p = 0,15$). A CC, CT és TT genotípusok 37,33%-ban, 44,00%-ban és 18,67%-ban fordultak elő a kontroll csoportban, míg 46,67%-kal; 41,33%, illetve 12,00% a betegek csoportjában ($p = 0,3815$).

Korábbi tanulmányban azt találták, hogy a CC genotípusok 1,34-szer nagyobb valószínűséggel fordulnak elő a vad-típusú (TT) vagy a heterozigóta (CT) genotípushoz képest petefészekrákos betegekben, mint egészséges kontrollokban [Song és mtsai., 2016]. A kutatómunkánkban az esélyhányados (odds ratio) 1,5 volt, amely statisztikailag nem volt szignifikáns. A kutatásaink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a magas grádusú szerózus papilláris petefészekrákban a miR-146a rs2910164 és a miR-196a-2 rs11614913 polimorfizmusai statisztikailag nem mutatnak jelentős eltérést az egészséges kontrollokhoz képest és egy megjelent publikációban ugyanerre a következtetésre jutottak [Ni és Huang, 2016].

A két miRNS, miR-146a és miR-196a-2 lényeges szerepet játszik a daganat és a kemorezisztencia kialakulásában, így az általuk befolyásolt gének feltérképezésével, jobban megismerhetjük ezen mikroRNS-ek hatásmechanizmusát. A bioinformatikai hálózati elemzésünk során négy olyan gént találtunk, amelyekre a vizsgált két miRNS együttesen hat: *LBR*, *RUFY2*, *ATG9A* és *MBD4*, amelyek eltérő expressziós szintjeit korábban leírták petefészekrákban. Kilenc gén esetében találták, hogy hozzájárul a platina-rezisztens petefészekrák kialakításához, az egyik ilyen gén az *LBR* [Helleman és mtsai., 2006].

Petefészekrákos betegek esetében a *miR-193b* gén rs30236 SNP polimorfizmusát még nem vizsgálták, viszont az Ensembl adatbázisban az allélok előfordulási gyakoriságáról található információ, amely szerint az európai populációban a T-allél 43,2%, a C-allél 56,8%-ban fordul elő 503 személyt vizsgálva. Ezek az allélgyakoriságok a mi adatainktól (kontroll csoport: T allél 35,78%, C allél 64,22%, beteg csoportban T allél 30,24%, C allél 69,76%) némileg eltérnek, de pontos információnk nincs az adatbázisban található minták eredetéről [<https://www.ensembl.org>]. Az eredményeink chí-négyzet tesztelése nem bizonyult szignifikánsnak ($p=0,2549$). Az Ensembl adatbázisban a genotípus gyakoriságok is fellelhetők, a különböző népcsoportokban, de az európai populációra a következő adatok vonatkoznak: TT genotípus 20,1%, CC genotípus 33,6% és CT genotípus 46,3% gyakorisággal fordul elő, a vizsgálataink (kaukázusi populáció) során kapott eredményeink kis mértékben eltérnek ettől, a kontroll csoportban TT genotípus 10,78%, CC genotípus 39,22% és CT genotípus 50,0%, illetve a beteg csoportban TT genotípus 5,81%, CC genotípus 45,35% és CT genotípus 48,84%

gyakorisággal fordulnak elő, de k χ^2 -tesztet alkalmazva statisztikailag az eredményeink nem voltak szignifikánsak ($p=0,4096$).

A bioinformatikai hálózatanalízis során kapott eredményeink szerint, a miR-193b szabályozása alatt különböző gének (például *CCND1*, *ESR1*, *PLAU*, *PRAP1*) állnak, amelyek számos élettani folyamat meghatározó elemei. A miR-193b többek között erős összefüggésben áll a mieloid sejtes leukémia apoptózis szabályozó (MCL1) molekulával, amely a BCL-2 anti-apoptotikus hatású fehérje családba tartozik, amelynek a kemoterápia során kifejlődő platinarezisztencia kialakulásában lényeges szerepe van [Sugio és mtsai., 2014].

A CD24 alkalmazása független biomarkerként ígéretesnek tűnik számos tumorban, ideértve a petefészekrákot is. A *CD24* expressziója összefüggést mutatott a tumor progressziójával, a FIGO stádiumokkal és túléléssel [Ozols, 2005; Nakamura és mtsai., 2017].

Meghatároztuk a *CD24* expresszióját ovárium tumoros és nem-tumoros személyek petefészek szöveteiben kvantitatív valós-idejű PCR segítségével. Háztartási géneként a β -globin gént használtunk az értékek normalizálásához [Nagy és mtsai., 2008, 2009]. Szignifikáns különbséget azonosítottunk a kontroll és a petefészekrákos betegek szövet mintáin mért *CD24* expresszió között ($p < 0,01$), ami nem szignifikáns összefüggést mutatott az előrehaladottabb FIGO stádiumokkal is. Ez összefüggésben állt a korábbi tudományos közleményekben is leírtakkal, hogy a *CD24* expressziója magasabb volt a malignus, magasabb grádusú petefészekrákban, mint az alacsonyabb grádusúakban [Kristiansen és mtsai., 2002; Moulla és mtsai., 2013]

Nem találtunk összefüggést a magas *CD24* expresszió és az alacsony betegtúlélési ráta között, viszont korábban már kimutatták a kapcsolatot a kettő között [Kristiansen és mtsai., 2002].

Korábbi tanulmányok szerint a *CD24* sejtfelszíni fehérjét specifikus markerként lehet használni a szerózus ovárium karcinóma és a malignus pleurális mesothelioma differenciál diagnosztikájában, és néhány tudományos közlemény szerint specifikus és érzékeny biomarker lehet a petefészekrák diagnosztikájában [Ozols, 2005; Davidson, 2016; Nakamura és mtsai., 2017].

A génexpressziós vizsgálatok mellett, fontosnak tartottuk, hogy elemezzük a *CD24* kapcsolatát mikroRNS-ekkel és fehérjékkel. Hálózatkutatást végeztünk e kapcsolatok feltárására a Biogrid, miRTargetLink, miRDIP adatbázisokat használva, amelyek kapcsolatban állhatnak tumor kialakulását szabályozó folyamatokkal.

A hálózatkutatás feltárta a lehetséges kapcsolatokat a mikroRNS-ek és a célmolekulák között, viszont tapasztalataink szerint egy adatbázis használata nem elegendő, a kereséseket több adatbázisban és publikált tudományos közleményekben végeztük. Az irodalmi adatok alapján a miR-146a poszttranszkripcionálisan módosítja a CD24-et, ezért új funkcionális célpontjaként azonosították [Ghuwalewala és mtsai., 2021]. A kutatócsoportunk nem szignifikáns de magasabb miR-146a expressziót talált a petefészek tumoros betegek esetén a kontroll csoporthoz képest, illetve szintén nem szignifikáns stádiumfüggést is mutat az alacsonyabbtól a magasabb stádiumig .

7 Az értekezés új tudományos eredményei

1. Ismereteink szerint elsőként vizsgáltuk magyarországi alacsonyan differenciált szerózus petefészekrákos nőbetegek esetén a miR-146a, miR-196a-2 és miR-193b polimorfizmusait, PCR és olvadási görbe alapú kimutatási rendszerrel. Megállapítottuk, hogy az általunk alkalmazott módszer hatékonyan és gyorsan mutatja ki ezen polimorfizmusokat. A GG genotípus a miR-146a rs2910164 polimorfizmus vizsgálata során magasabb, de nem jelentős gyakorisággal fordult elő ($p=0,0917$) a petefészekrákos betegek csoportjában, a kontrollokhoz képest. A CC genotípus a miR-196a-2 rs11614913 és a miR-193b rs30236 SNP polimorfizmusok vizsgálata során magasabb, de nem szignifikáns gyakorisággal fordult elő a betegcsoportban, mint a kontroll csoportban ($p=0,3815$; $p=0,4096$). A vizsgálatok nagyobb esetszámba történő kiterjesztése veheti fel a lehetőségét a miR-146a, miR-196a-2 és miR-193b polimorfizmusainak kombinációs vizsgálatára a petefészekrákra való hajlam tekintetében.
2. A *CD24* expressziójának meghatározását magyarországi nőbetegek és egészséges kontroll személyek szövetmintáin elsőként végeztük el. A kutatási eredményeink alapján szignifikánsan magasabb *CD24* expresszió jelezheti a petefészekrák jelenlétét, illetve a *CD24* expresszió statisztikailag nem jelentős összefüggést mutatott a FIGO stádiumokkal.

8 Összefoglalás

A petefészekdaganat vezető haláloknak számít a nők körében, a magas mortalitási ráta köszönhető a nem specifikus tüneteknek és a késői diagnózisnak. A betegség korszerű kezelési stratégiák ellenére is rossz túlélési rátával jellemezhető, így új diagnosztikai, terápiás és monitorizálási lehetőségek kidolgozása vált szükségessé. Munkánk során olyan biomarkereket kerestünk, amelyek ígéretesek lehetnek a petefészekdaganat kimutatásában és a majdani diagnosztikai tesztek kidolgozásában.

A nem-invazív, illetve a minimálisan invazív eljárások alkalmazásakor a figyelem elsősorban a mikroRNS-ek felé fordult, így a kutatásunk első részében olyan mikroRNS polimorfizmusokat vizsgáltunk, amelyekről úgy gondolták, hogy biomarkerekként szolgálhatnak a petefészekdaganat diagnosztikájában. Habár a vizsgált polimorfizmusok (miR-146a rs2910164, miR-196a-2 rs11614913 és miR-193b rs30236) esetén nem volt jelentős eltérés a vizsgált petefészek tumoros betegek és egészséges kontrollok között, de nem zárja ki alkalmazhatóságát, ha más polimorfizmusokkal kombinációban végezzük el a vizsgálatukat, illetve fontos hangsúlyoznunk, hogy magyarországi betegcsoporton először vizsgáltuk meg e polimorfizmusokat. A *CD24* expresszióját meghatároztuk szövetmintákon szintén elsőként magyarországi eseteket vizsgálva. A kontroll és a petefészek tumoros betegek szövet mintáin mért *CD24* expresszió között szignifikáns különbséget azonosítottunk, ami nem szignifikáns összefüggést mutatott az előrehaladottabb FIGO stádiumokkal is.

Munkánk jelentőségéhez hozzájárul, hogy vizsgálataink során elsőként vizsgáltuk meg a miR-146a rs2910164, miR-196a-2 rs11614913 és miR-193b rs30236 mikroRNS polimorfizmusokat és a *CD24* expresszióját magyarországi nők körében.

9 Irodalomjegyzék

9.1 Hivatkozott közlemények jegyzéke

- Aigner S, Sthoeger ZM, Fogel M, Weber E, Zarn J, Ruppert M, Zeller Y, Vestweber D, Stahel R, Sammar M, Altevogt P. CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells. *Blood*. 1997 May 1;89(9):3385-95.
- Chen C, Zhang Y, Zhang L, Weakley SM, Yao Q. MicroRNA-196: critical roles and clinical applications in development and cancer. *J Cell Mol Med*. 2011 Jan;15(1):14-23.
- Choi YL, Kim SH, Shin YK, Hong YC, Lee SJ, Kang SY, Ahn G. Cytoplasmic CD24 expression in advanced ovarian serous borderline tumors. *Gynecol Oncol*. 2005 May;97(2):379-86.
- Contreras J, Rao DS. MicroRNAs in inflammation and immune responses. *Leukemia*. 2012 Mar;26(3):404-13.
- Davidson B. CD24 is highly useful in differentiating high-grade serous carcinoma from benign and malignant mesothelial cells. *Hum Pathol*. 2016 Dec;58:123-127.
- Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:287-314.
- Eccles DM, Cranston G, Steel CM, Nakamura Y, Leonard RC. Allele losses on chromosome 17 in human epithelial ovarian carcinoma. *Oncogene*. 1990 Oct;5(10):1599-601.
- Fan Y, Fan J, Huang L, Ye M, Huang Z, Wang Y, Li Q, Huang J. Increased expression of microRNA-196a predicts poor prognosis in human ovarian carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Apr 1;8(4):4132-7.
- Fang X, Zheng P, Tang J, Liu Y. CD24: from A to Z. *Cell Mol Immunol*. 2010 Mar;7(2):100-3.
- Ghuwalewala S, Ghatak D, Das S, Roy S, Das P, Butti R, Gorain M, Nath S, Kundu GC, Roychoudhury S. MiRNA-146a/AKT/ β -Catenin Activation Regulates Cancer Stem Cell Phenotype in Oral Squamous Cell Carcinoma by Targeting CD24. *Front Oncol*. 2021 Oct 12;11:651692.
- Grossi I, Salvi A, Abeni E, Marchina E, De Petro G. Biological Function of MicroRNA193a-3p in Health and Disease. *Int J Genomics*. 2017;2017:5913195.
- Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med*. 2014 Aug;20(8):460-9.
- Helleman J, Jansen MP, Span PN, van Staveren IL, Massuger LF, Meijer-van Gelder ME, Sweep FC, Ewing PC, van der Burg ME, Stoter G, Nooter K, Berns EM. Molecular profiling of platinum resistant ovarian cancer. *Int J Cancer*. 2006 Apr 15;118(8):1963-71.
- Köbel M, Kang EY. The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification. *Cancers (Basel)*. 2022 Jan 14;14(2):416.
- Kristiansen G, Denkert C, Schlüns K, Dahl E, Pilarsky C, Hauptmann S. CD24 is expressed in ovarian cancer and is a new independent prognostic marker of patient survival. *Am J Pathol*. 2002 Oct;161(4):1215-21.
- Kristiansen G, Pilarsky C, Pervan J, Stürzebecher B, Stephan C, Jung K, Loening S, Rosenthal A, Dietel M. CD24 expression is a significant predictor of PSA relapse and poor prognosis in low grade or organ confined prostate cancer. *Prostate*. 2004 Feb 1;58(2):183-92.
- Lai EC. Micro RNAs are complementary to 3' UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation. *Nat Genet*. 2002 Apr;30(4):363-4.
- Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol*. 2010 Sep;177(3):1053-64.
- Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell*. 2003 Dec 26;115(7):787-98.
- Li B, Dong J, Yu J, Fan Y, Shang L, Zhou X, Bai Y. Pinpointing miRNA and genes enrichment over trait-relevant tissue network in Genome-Wide Association Studies. *BMC Med Genomics*. 2020 Dec 28;13(Suppl 11):191.
- Moulla A, Miliaras D, Sioga A, Kaidoglou A, Economou L. The immunohistochemical expression of

CD24 and CD171 adhesion molecules in borderline ovarian tumors. *Pol J Pathol*. 2013 Oct;64(3):180-4.

Mulisya O, Sikakulya FK, Mastaki M, Gertrude T, Jeff M. The Challenges of Managing Ovarian Cancer in the Developing World. *Case Rep Oncol Med*. 2020 Mar 11;2020:8379628.

Mullany LE, Wolff RK, Herrick JS, Buas MF, Slattery ML. SNP Regulation of microRNA Expression and Subsequent Colon Cancer Risk. *PLoS One*. 2015 Dec 2;10(12):e0143894.

Nagy B, Berkes E, Rigó B, Bán Z, Papp Z, Hupuczi P. Under-expression of CD24 in pre-eclamptic placental tissues determined by quantitative real-time RT-PCR. *Fetal Diagn Ther*. 2008;23(4):263-6.

Nagy B, Szendroi A, Romics I. Overexpression of CD24, c-myc and phospholipase 2A in prostate cancer tissue samples obtained by needle biopsy. *Pathol Oncol Res*. 2009 Jun;15(2):279-83.

Nakamura K, Terai Y, Tanabe A, Ono YJ, Hayashi M, Maeda K, Fujiwara S, Ashihara K, Nakamura M, Tanaka Y, Tanaka T, Tsunetoh S, Sasaki H, Ohmichi M. CD24 expression is a marker for predicting clinical outcome and regulates the epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer via both the Akt and ERK pathways. *Oncol Rep*. 2017 Jun;37(6):3189-3200.

Ni J, Huang Y. Role of polymorphisms in miR-146a, miR-149, miR-196a2 and miR-499 in the development of ovarian cancer in a Chinese population. *Int J Clin Exp Pathol* 2016; 9(5): 5706–5711.

Ozols RF. Treatment goals in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2005 May-Jun;15 Suppl 1:3-11.

Pourdavoud P, Pakzad B, Mosallaei M, Saadatian Z, Esmaeilzadeh E, Alimolaie A, Shaygannejad A. MiR-196: emerging of a new potential therapeutic target and biomarker in colorectal cancer. *Mol Biol Rep*. 2020 Dec;47(12):9913-9920.

Rauhala HE, Jalava SE, Isotalo J, Bracken H, Lehmusvaara S, Tammela TL, Oja H, Visakorpi T. miR-193b is an epigenetically regulated putative tumor suppressor in prostate cancer. *Int J Cancer*. 2010 Sep 1;127(6):1363-72.

Runz S, Keller S, Rupp C, Stoeck A, Issa Y, Koensgen D, Mustea A, Sehouli J, Kristiansen G, Altevogt P. Malignant ascites-derived exosomes of ovarian carcinoma patients contain CD24 and EpCAM. *Gynecol Oncol*. 2007 Dec;107(3):563-71.

Sharma S, Zuñiga F, Rice GE, Perrin LC, Hooper JD, Salomon C. Tumor-derived exosomes in ovarian cancer - liquid biopsies for early detection and real-time monitoring of cancer progression. *Oncotarget*. 2017 Oct 31;8(61):104687-104703.

Shen J, Ambrosone CB, DiCioccio RA, Odunsi K, Lele SB, Zhao H. A functional polymorphism in the miR-146a gene and age of familial breast/ovarian cancer diagnosis. *Carcinogenesis*. 2008 Oct;29(10):1963-6.

Sugio A, Iwasaki M, Habata S, Mariya T, Suzuki M, Osogami H, Tamate M, Tanaka R, Saito T. BAG3 upregulates Mcl-1 through downregulation of miR-29b to induce anticancer drug resistance in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2014 Sep;134(3):615-23.

Sun XC, Zhang AC, Tong LL, Wang K, Wang X, Sun ZQ, Zhang HY. miR-146a and miR-196a2 polymorphisms in ovarian cancer risk. *Genet Mol Res*. 2016 Aug 29;15(3).

Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 15;103(33):12481-6.

Weichert W, Denkert C, Burkhardt M, Gansukh T, Bellach J, Altevogt P, Dietel M, Kristiansen G. Cytoplasmic CD24 expression in colorectal cancer independently correlates with shortened patient survival. *Clin Cancer Res*. 2005 Sep 15;11(18):6574-81.

Yang B, Li SZ, Ma L, Liu HL, Liu J, Shao JJ. Expression and mechanism of action of miR-196a in epithelial ovarian cancer. *Asian Pac J Trop Med*. 2016 Nov;9(11):1105-1110.

Zhou B, Xu K, Zheng X, Chen T, Wang J, Song Y, Shao Y, Zheng S. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduct Target Ther*. 2020 Aug 3;5(1):144.

Ziliak D, Gamazon ER, Lacroix B, Kyung Im H, Wen Y, Huang RS. Genetic variation that predicts platinum sensitivity reveals the role of miR-193b* in chemotherapeutic susceptibility. *Mol Cancer Ther*. 2012 Sep;11(9):2054-61.

9.2 Az értekezés alapjául szolgáló és a további közlemények 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/137/2024.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

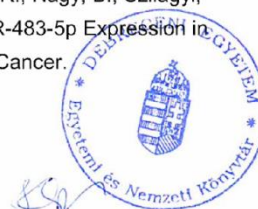
Jelölt: Lukács János
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Soltész, B., **Lukács, J.**, Penyige, A., Póka, R., Nagy, B.: Determination of miR-193b rs30236 single nucleotide polymorphism in ovarian cancer patients.
Eur. J. Gynaecol. Oncol. 40 (4), 547-550, 2019.
IF: 0.215
2. Soltész, B., **Lukács, J.**, Szilágyi, E., Márton, É., Szilágyi, M., Penyige, A., Póka, R., Nagy, B.: Expression of CD24 in plasma, exosome and ovarian tissue samples of serous ovarian cancer patients.
J. Biotechnol. 298, 16-20, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.03.018>
IF: 3.503
3. **Lukács, J.**, Soltész, B., Penyige, A., Nagy, B., Póka, R.: Identification of miR-146a and miR-196a-2 single nucleotide polymorphisms at patients with high-grade serous ovarian cancer.
J. Biotechnol. 297, 54-57, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.03.016>
IF: 3.503

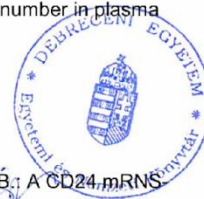
További közlemények

4. Márton, É., Beke-Varga, A. E., Soltész, B., Penyige, A., **Lukács, J.**, Póka, R., Nagy, B., Szilágyi, M.: Comparative Analysis of Cell-Free miR-205-5p, let-7f-5p, and miR-483-5p Expression in Ovarian Cell Cultures and Plasma Samples of Patients with Ovarian Cancer.
Appl. Sci.-Basel. 11 (4), 1-10, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/app11041735>
IF: 2.838





5. Biró, A., Markovics, A., Fazekas, M., Fidler, G., Szalóki, G., Paholcsek, M., **Lukács, J.**, Stündl, L., Gálné Remenyik, J.: Allithiamine Alleviates Hyperglycaemia-Induced Endothelial Dysfunction. *Nutrients*. 12 (6), 1-13, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/nu12061690>
IF: 5.717
6. Markovics, A., Biró, A., Kun-Nemes, A., Fazekas, M., Szilágyi-Rácz, A. A., Paholcsek, M., **Lukács, J.**, Stündl, L., Gálné Remenyik, J.: Effect of Anthocyanin-Rich Extract of Sour Cherry for Hyperglycemia-Induced Inflammatory Response and Impaired Endothelium-Dependent Vasodilation. *Nutrients*. 12 (11), 1-13, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/nu12113373>
IF: 5.717
7. Biró, A., Markovics, A., Homoki, J., Szöllösi, E., Hegedüs, C., Tarapcsák, S., **Lukács, J.**, Stündl, L., Gálné Remenyik, J.: Anthocyanin-Rich Sour Cherry Extract Attenuates the Lipopolysaccharide-Induced Endothelial Inflammatory Response. *Molecules*. 24 (19), 3427-3441, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24193427>
IF: 3.267
8. Márton, É., **Lukács, J.**, Penyige, A., Janka, E. A., Hegedüs, L., Soltész, B., Méhes, G., Póka, R., Nagy, B., Szilágyi, M.: Circulating epithelial-mesenchymal transition-associated miRNAs are promising biomarkers in ovarian cancer. *J. Biotechnol.* 297, 58-65, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.003>
IF: 3.503
9. Penyige, A., Márton, É., Soltész, B., Szilágyi, M., Póka, R., **Lukács, J.**, Széles, L., Nagy, B.: Circulating miRNA Profiling in Plasma Samples of Ovarian Cancer Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 20 (18), E4533, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20184533>
IF: 4.556
10. Keserű, J., Soltész, B., **Lukács, J.**, Márton, É., Szilágyi, M., Penyige, A., Póka, R., Nagy, B.: Detection of cell-free, exosomal and whole blood mitochondrial DNA copy number in plasma or whole blood of patients with serous epithelial ovarian cancer. *J. Biotechnol.* 298, 76-81, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.015>
IF: 3.503
11. Soltész, B., **Lukács, J.**, Márton, É., Szilágyi, M., Penyige, A., Póka, R., Nagy, B.: A CD24 mRNS expresszió meghatározása kvantitatív valósídejű PCR-módszerrel alacsonyán differenciált szerózus papilláris petefészekrákos szöveti mintákból. *Magyar Nőorv. L.* 81 (5), 254-258, 2018.





12. Szőke, J., **Lukács, J.**, Orosz, L., Póka, R.: Az első trimeszterben felismert 15 cm-es myomás góc sikeres eltávolítása: esetismertetés.
Magy Noorv Lapja. 81 (5), 13-18, 2018.
13. Soltész, B., **Lukács, J.**, Póka, R., Nagy, B.: Exoszómák mennyiségének meghatározása petefészekrákos betegek szérumból.
Magy Noorv Lapja. 81 (2), 92-96, 2018.
14. **Lukács, J.**, Soltész, B., Penyige, A., Nagy, B., Póka, R.: A miR-146a és miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása alacsonyán differenciált szerózus papilláris ováriumtumoros betegek mintáiban.
Magyar Nőorv. L. 80, 226-230, 2017.
15. Soltész, B., **Lukács, J.**, Keserű, J., Szirák, K., Penyige, A., Póka, R., Nagy, B.: A miR-193b két egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumoros betegek mintáiban.
Magy. Nőorv. Lapok. 80 (3), 116-120, 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. Orosz, L., **Lukács, J.**, Szabó, M., Kovács, T., Zsupán, I., Orosz, G. B., Tóth, Z., Török, O.: Long-term Outcome of Pregnancies with Increased Nuchal Translucency and Normal Karyotype.
DSJUOG. 3 (3), 53-59, 2009.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 38,514

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 7,221

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

Debrecen, 2024.04.10.



10 Konferencia részvételek

10.1 Előadások magyar nyelven

Lukács J., Krasznai Z., Póka R.: A kedvező szövettani eredmény ellenére rapidan progrediáló endometrium carcinomás eseteink feldolgozása. *Magyar Nőorvos Társaság Északkelet-Magyarországi Szekciójának Tudományos Ülése. Debrecen, 2016. április 1-2.*

Lukács J., Soltész B., Keserű J., Szentesiné Sz.K., Hadáné B.Zs., Nagy B., Póka R.: A miR-196a polimorfizmus meghatározása olvadási görbe analízissel petefészekrákos betegek csoportjában. *XI. MHGT Kongresszus. Pécs, 2016. október 13-15.*

Lukács J., Soltész B., Keserű J., Szentesiné Sziráki K., Hadáné Birkó Zs., Nagy B., Póka R.: MikroRNS polimorfizmusok meghatározása olvadási görbe analízissel petefészekrákos betegek csoportjában. *MNT Cervixpathologiai Szekciója XXII. Tudományos és Továbbképző Ülése, Hajdúszoboszló, 2017. március 24-25.*

Lukács J., Soltész B., Keserű J., Szentesiné Sz K., Hadáné B.Zs., Nagy B., Póka R.: MikroRNS polimorfizmusok meghatározása olvadási görbe analízissel petefészekrákos betegek csoportjában. *MNT Északkelet-magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülése, Hernádvécse, 2017. április 8.*

Lukács J.: Mikro RNS polimorfizmusok meghatározása olvadási görbe analízissel petefészekrákos betegek csoportjában *Gárdonyi 2017. október 27-28. MNOT XI. kongresszusa*

Lukács J., Soltész B., Molnár Sz., Keserű J., Szentesiné Sziráki K., Hadáné Birkó Zs., Nagy B., Póka R.: Mikro RNS polimorfizmusok meghatározása olvadási görbe analízissel petefészekrákos betegek csoportjában. *MNT XXXI. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2018. május 24-26.*

Szilágyi-Bónizs M., Márton É., Lukács J., Soltész B., Janka E., Penyige A., Póka R., Nagy B.: A miR200a, miR200b és miR200c biomarkerként való alkalmazásának lehetősége a petefészekrák diagnosztikájában. *Magyar Humángenetikai és Genomikai Társaság XII. Kongresszusa Debrecen, 2018 szept .6-8.*

Márton É., Lukács J., Szabó R., Soltész B., Janka E., Penyige A., Póka R., Nagy B., Szilágyi-Bónizs M.: A miR141 és miR429 petefészekrák diagnosztikájában való alkalmazhatóságának vizsgálata. *Magyar Humángenetikai és Genomikai Társaság XII. Kongresszusa Debrecen, 2018 szept .6-8.*

Keserű J., Soltész B., Lukács J., Póka R., Nagy B.: Mitokondriális DNS kópiaszámának detektálása petefészekrákos betegek vérplazmájában. *Magyar Humángenetikai és Genomikai Társaság XII. Kongresszusa Debrecen, 2018 szept .6-8*

10.2 Poszterek angol nyelven

Lukács J., Soltész B., Nagy B., Póka R.: Analysis of miR-196A, miR-146A and two miR193B single nucleotide polymorphism in ovarian cancer patients. *ESGO Congress-2017. Bécs, 2017. november 6.*

Lukács J, Soltész B, Nagy B., Póka R.: Expression of CD24 in ovarian cancer. *ESGO Congress-2019. Athén, 2019. november 2-5.*

Póka R., Molnár Sz., Baráth L., Lukács J., Lampé R., Krasznai Z., Hernádi Z., Méhes G.: Negative PARP immunohistochemistry as a predictor of platinum sensitivity in ovarian cancer. *ESGO Congress-2017, Bécs, 2017. november 6.*

11 Tárgyszavak

mikroRNS; CD24; Egynukleotidos polimorfizmus (SNP), Nőgyógyászati onkológia;
Petefészekrák; Szabad nukleinsavak

12 Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Póka Róbert Professzor Úrnak, témavezetőmnek, a Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika korábbi igazgatójának, amiért önzetlen segítségével, támogatásával, inspirációjával hivatásom gyakorlásának kezdetétől figyelemmel kísérte pályámat, lehetővé tette szakmai- és kutatómunkám fejlődését és feltételeit. Köszönöm, hogy a jelen munka létrejötte során önzetlen szakmaisággal, segítséggel és humánussal irányította munkámat.

Köszönöm Dr. Nagy Bálint Professzor Úrnak a Debreceni Egyetem Humánogenetikai Tanszék korábbi vezetőjének, hogy a fenti intézetek közötti kollaboráció ösztönző szervezésével lehetővé tette a laboratóriumi vizsgálatok elemző megvalósulását, illetve hogy a közös munka során emberi és szakmai oldalról is egyenlőképpen messzemenő támogatást nyújtott.

Köszönetet mondok Dr. Soltész Beáta Adjunktus Nőnek, a Debreceni Egyetem Humánogenetikai Tanszék adjunktusának, társtémavezetőmnek, aki intézete és honos klinikám közötti együttműködés során a kutatómunka laboratóriumi, elméleti vonatkozásainak lelkiismeretes átadása, klinikummal való egyeztetése kapcsán odaadó szakmaisággal támogatta, segítette kutatómunkám minden állomását.

Szeretném köszönetem kifejezni Dr. Krasznai Zoárd Tibor Tanár Úrnak, a Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika jelenlegi igazgatójának, aki példaértékű munkatársként, munkacsoport-vezetőként, és igazgatóként is támogatta és ösztönözte munkámat.

Köszönöm Dr. Balogh István Professzor Úrnak a Debreceni Egyetem Humánogenetikai Tanszék jelenlegi tanszékvezetőjének, hogy az intézetek közötti együttműködés feltételeit őszintén támogatva segítette munkámat.

Köszönöm korábbi intézet- és témavezetőmnek, az ultrahang munkacsoport korábbi irányítójának Dr. Tóth Zoltán Professzor Úrnak és a szülészeti genetika munkacsoport vezetőjének Dr. Török Olga Tanárnőnek, hogy a szakmai és tudományos munka összefonódó útján mellettem álltak.

Köszönöm korábbi intézetvezetőimnek - Dr. Borsos Antal Professzor Úr, és Dr. Lampé Rudolf Tanár Úr személyében - szakmai és kutatómunkám fejlődésének elősegítését.

Köszönöm a Debreceni Egyetem Humánogenetikai Tanszék munkatársainak a többszörös és többretű együttműködés lehetőségét és segítségüket a tudományos munka terén.

Köszönet illeti Gálné Dr. Remenyik Judit Tanárnőt és munkacsoportját a további tudományos munkakapcsolatok révén, mely a Humánogenetikai Tanszék által jött létre.

Köszönöm társintézeteinknek - DEKK Onkológiai Klinika, DEKK Pathológia Intézet - a klinikai és tudományos együttműködés lehetőségét.

Továbbá külön köszönet illeti a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika minden jelenlegi és korábbi munkatársát, onkológiai, nőgyógyászati, műtő és perinatológiai – ultrahang - genetika részlegeinken dolgozó orvos és szakdolgozó kollégáimat, akik segítségükkel és támogató munkájukkal, tanácsaikkal hozzájárultak a kutatómunka létrejöttéhez és szakmai fejlődéséhez.

Köszönöm családomnak kutató és klinikai munkám kapcsán nyújtott támogatásukat, segítségüket és a mindig türelmes háttér biztosítását.