

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Dr. Lukács János**

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

**DEBRECENI EGYETEM**

**KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2024**

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

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

**Dr. Lukács János**

**Témavezetők: Prof. Dr. Póka Róbert, MTA doktora**

**Dr. Soltész Beáta, PhD**



**DEBRECENI EGYETEM**

**KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2024**

# Tartalomjegyzék

1	Rövidítések jegyzéke.....	6
2	Bevezetés.....	8
3	Irodalmi áttekintés.....	9
3.1	Petefészek tumor .....	9
3.1.1	A petefészek tumorer típusai: jó és rosszindulatú tumorer.....	11
3.1.1.1	A jóindulatú petefészek tumorer.....	11
3.1.1.2	A rosszindulatú petefészek tumorer.....	11
3.1.1.3	Az epitéliális rosszindulatú petefészek tumorer.....	12
3.1.2	A petefészek tumorer kialakulásának genetikai háttere.....	14
3.1.3	A rosszindulatú petefészek daganatok diagnosztikája és kezelése.....	14
3.2	Folyadék alapú biopszia .....	18
3.3	A mikroRNS-ek.....	18
3.3.1	A mikroRNS-ek általános karakterizálása és biogenezise .....	18
3.3.2	A mikroRNS-ek eltérő expressziójának szerepe a tumorer kialakulásában .....	21
3.3.3	A miR-146.....	22
3.3.4	A miR-196.....	22
3.3.5	A miR-193.....	23
3.4	CD24 .....	23
4	Célkitűzések .....	25
5	Anyagok és módszerek.....	26
5.1	Betegek.....	26
5.2	Módszerek .....	27
6	Eredmények.....	30
6.1	A miR-146a és miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumorer betegek vérmintáiban .....	30
6.1.1	A miR-146a és miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmusának allél- és genotípus gyakorisága.....	30
6.1.2	A miR-146a és miR-196a-2 mikroRNS-ek bioinformatikai analízise (hálózatkutatás) .....	32
6.2	A miR-193b egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumorer betegek vérmintáiban.....	33
6.2.1	A miR-193b egynukleotidos polimorfizmusának allél- és genotípus gyakorisága .....	33
6.2.2	A miR-193b célgénjeinek feltérképezése bioinformatikai analízissel (hálózatkutatás) .....	35
6.3	CD24 sejtfelszíni marker meghatározása petefészekrákos és nem-tumorer személyek esetén .....	36
6.3.1	A CD24 sejtfelszíni marker expressziójának meghatározása qRT-PCR segítségével ..	37
6.3.2	A CD24 sejtfelszíni marker bioinformatikai analízise (hálózatkutatás).....	39
6.3.3	A CD24 sejtfelszíni marker kapcsolata a miR-146a mikroRNS-sel .....	40
7	Megbeszélés .....	42
8	Az értekezés új tudományos eredményei .....	48

9	Összefoglalás.....	49
10	Summary .....	50
11	Irodalomjegyzék.....	51
11.1	Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	51
11.2	Az értekezés alapjául szolgáló és a további közlemények hitelesített listája .....	72
12	Tárgyszavak.....	75
13	Key words .....	75
14	Köszönetnyilvánítás .....	76
15	Függelék.....	78

## 1 Rövidítések jegyzéke

Rövidítés	Angol kifejezés	Magyar kifejezés
AFP	alpha-fetoprotein	alfa-fetoprotein
CA 125	Cancer Antigen 125 (same as Carbohydrate antigen 125)	karcinóma antigén 125 (másnéven szénhidrát antigén 125)
CD24	cluster of differentiation 24	differenciálódási klaszter 24
CDK	cyclin-dependent kinase	ciklin dependens kináz
cDNS	complementary DNA	komplementer DNS
Ct	Cycle threshold	küszöb ciklus
DCR	disease control rate	a betegség kontroll aránya
DOR	duration of response	válaszidő
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics	Nemzetközi Szülész-Nőgyógyász Szövetség
hCG	human chorio-gonadotropin	humán koriális gonadotropin
HE4	Human Epididymis Protein 4	humán epididymis-fehérje 4
HGNC	HUGO Gene Nomenclature Committee	HUGO Gén Nevezéktani Bizottság
HGSOC	High-Grade Serous Ovarian Cancer	magas-grádusú szerózus petefészek tumor
LGSOC	Low-Grade Serous Ovarian Cancer	alacsony-grádusú szerózus petefészek tumor
miRNS	microRNA	mikro RNS
NICE	National Institute for Health and Care Excellence	Egyesült Királyság Nemzeti Egészségügyi és Ellátási Intézete
ORR	objective response rates	objektív válaszadási arányok
OS	overall survival	teljes túlélés
PARP	poly ADP ribose polymerase	poli-ADP ribóz polimeráz

PFI	platinum-free interval	platina mentes időszak
PFS	progression free survival	progresszió mentes túlélés
pre-miRNS	precursor microRNA	prekurzor mikroRNS
pri-miRNS	primer microRNA	primer mikroRNS
RISC	RNA-induced silencing complex	RNS-indukálta csendesítő komplex
ROC	recurrent ovarian cancer	visszatérő petefészek tumor
ROMA	risk of ovarian malignancy algorithm	ovarium malignitás valószínűségét leíró algoritmus
RT-PCR	real-time polymerase chain reaction	valós idejű polimeráz láncreakció
SNP	single nucleotide polymorphism	egy pontos nukleotid-polimorfizmus
TFI	treatment-free interval	kezelés-mentes időszak
UTR	Untranslated Region	nem-transzlálódó régió

## 2 Bevezetés

Az elmúlt évtizedben, a jól szerkesztett kemoterápiás sémák, illetve biológiai terápia, fejlődő lehetőségei, illetve 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. A megfelelő állami és egyéni anyagi javak hiánya, a nem kielégítő hospitalizáció, műtétes korlátok, illetve otthoni szupportáció hiánya miatt, korszerű kemoterápiás protokollok, biológiai terápia releváns alkalmazására nincs reális esély, ezért a túlélési adatok látványos javulása nem észlelhető [Mulisya és mtsai., 2020]

A fejlett országokban a több vonalban kezelt, előrehaladott, visszatérő petefészekrák (ROC; recurrent ovarian cancer) előfordulása a túlélési adatokat sajnos továbbra is kedvezőtlenül befolyásolja. Ennek oka a több vonalban alkalmazott, drága és modern gyógyszeres terápia, illetve többszörös műtéti ellátás ellenére kiújuló betegség, mely kapcsán ismét új kezelésekre van szükség [Lheureux és mtsai., 2019; Kuroki és Guntupalli 2020].

A fejlődő és fejlett világban egyaránt továbbra is nehézséget okoz a diagnózis késői megszületése mind a primer, mind a rekuráló petefészek daganat tekintetében. A műtéti és gyógyszeres terápiás lehetőségek alkalmazását és eredményességét a petefészek daganatok késői stádiumban való felfedezhetősége alapvetően befolyásolja.

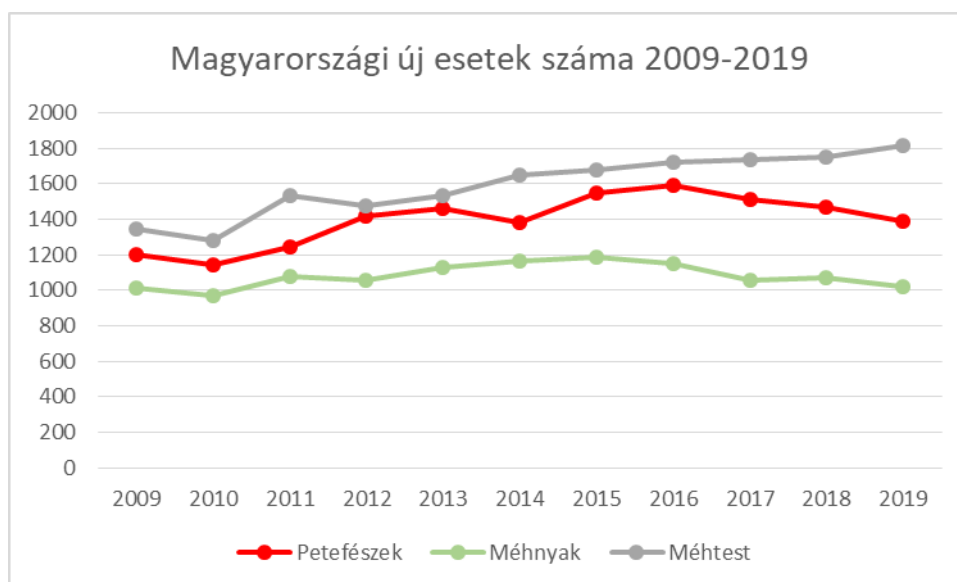
A diagnosztika eszközei - tünetek jelentkezése esetén - fizikális vizsgálat, ultrahang képalkotás, CT és MR képalkotás, valamint a nem nagy szenzitivitású és specificitású Cancer Antigen 125 (CA125), és Human Epididymis Protein 4 (HE4) tumormarker vizsgálat jelenti.

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 a kezelésükkel kapcsolatos követésben ígéretesnek tűnnek, de további vizsgálatok végzése nagyobb betegszám bevonásával a jövőben mindenképpen szükséges. [Montagnana és mtsai., 2017; Querleu és mtsai., 2017; Sharma és mtsai., 2017; Staicu és mtsai., 2020; Zhou és mtsai., 2020; Armstrong és mtsai., 2022].

### 3 Irodalmi áttekintés

#### 3.1 Petefészek tumor

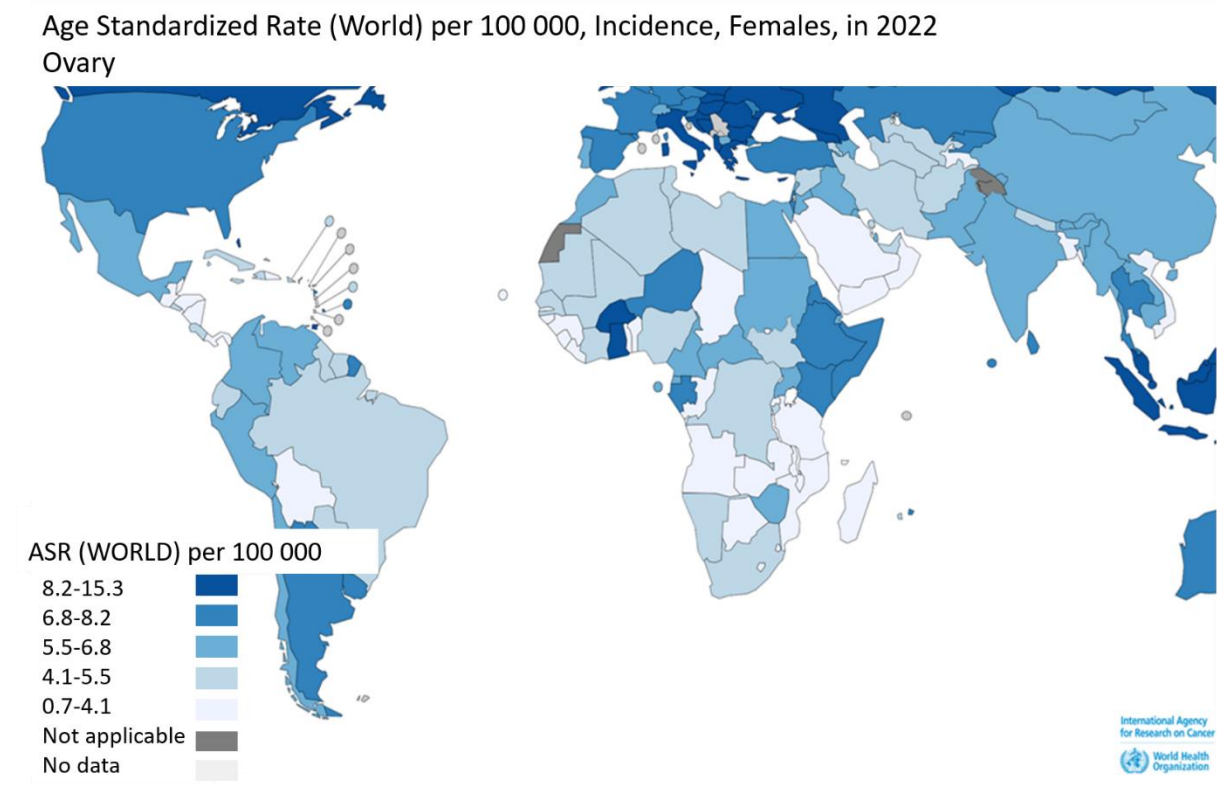
A nők körében a petefészekrák az egyik vezető haláloknak számít, amely köszönhető a nem specifikus tüneteknek, a különböző rizikófaktoroknak, illetve a betegség hátterében lévő genetikai eltéréseknek is [Mulisya és mtsai., 2020]. Előfordulási gyakoriságát tekintve a méhnyakat (cervix uteri) és méhtestet (corpus uteri) érintő tumorerő után a harmadik leggyakrabban előforduló nőgyógyászati daganat, illetve a nők körében a nyolcadik leggyakoribb daganatos megbetegedés [Bray és mtsai., 2018; Sung és mtsai., 2021]. A világon a regisztrált új esetek száma az elmúlt években emelkedést mutatott, 2018-ban 295414, 2020-ban 313959, míg Magyarországon 2018-ban 1469, illetve 2019-ben 1385 új esetet regisztráltak [Bray és mtsai., 2018, Sung és mtsai., 2021; Nemzeti Rákregiszter; <https://onkol.hu/nemzeti-rakregiszter/>; hozzáférés dátuma: 2024. 01. 02.]. A magyarországi nemzeti rákregiszterben található eseteket tanulmányozva szintén emelkedés figyelhető meg, illetve a nőgyógyászati tumorerő között a méhtest rosszindulatú elváltozásai mutatják a legmagasabb incidenciát, ezt követi a petefészek tumor, majd a méhnyakrák (1. ábra). A Nemzeti Rákregiszter adatait 2009-2019 évek között elemezve azt találtuk, hogy a petefészek tumor fiatal lányokat is érint, 0-4 év között 6, 5-9 év között 7, illetve 10-14 év között 16 esetet regisztráltak Magyarországon [Nemzeti Rákregiszter]. A gyermekkori adnextumorerő 10%-ában fordul elő rosszindulatúság, a nagy százalékban jóindulatú rendellenességek mellett [Mărginean és mtsai., 2019].



1. ábra Magyarországon diagnosztizált új, rosszindulatú nőgyógyászati tumoros betegek száma 2009 és 2019 között [Nemzeti Rákregiszter; <https://onkol.hu/nemzeti-rakregiszter/>]

Világviszonylatban az ovárium tumor földrajzi elhelyezkedését tekintve jelentős különbségek mutatkoznak, magas előfordulási rátát mutat a fejlettebb régiókban, úgymint Észak-Ázsiában, Indonéziában, Európában (ideértve Magyarországot is), Észak-Amerikában és Kanadában is, viszont alacsony incidenciát láthatunk a fejlődő térségekben, úgymint az afrikai, dél-ázsiai és néhány dél-amerikai országokban (2. ábra) [Lheureux és mtsai., 2019; Globocan 2022: <http://gco.iarc.fr/today>].

A mortalitás világviszonylatban 2018-ban 184799, míg 2020-ban 207252 esetet jelentett, habár egy 2016-os tanulmány előrevetítette a mortalitás csökkenését. 2020-ra az észak-európai országokban, illetve Európát tekintve csökkenést vártak 2022-re, köszönhetően a fogamzásgátló tabletták szedésének, a pontosabb és újabb diagnosztikai és kezelési lehetőségeknek [Bray és mtsai., 2018; Malvezzi és mtsai., 2016; Sung és mtsai., 2021; Dalmartello és mtsai., 2022].



2. ábra Világviszonylatban regisztrált betegadatok alapján számolt incidencia [Globocan 2022: <http://gco.iarc.fr/today>, hozzáférés dátuma: 2024.05.25.]

### 3.1.1 A petefészek tumorok típusai: jó és rosszindulatú tumorok

#### 3.1.1.1 *A jóindulatú petefészek tumorok*

A petefészek tumor morfológiailag és molekulárisan is heterogén daganatok közé sorolható, klinikai tüneteit tekintve is eltéréseket látunk a betegségen belül.

A jóindulatú ovárium tumorok kialakulása nincs életkorhoz kötve, ritkán okoznak panaszt, gyakran észrevétlenek, általában a menstruáció rendellenességei, diszkomfort érzés illetve enyhe hasi fájdalom lehetnek a vezető tünetek, jelenlétük megerősítésére a transzvaginális ultrahang használatos, de jelenleg is folynak kutatások arra vonatkozólag, hogy folyadék biopsziás módszerek segítségével pontosabb diagnózis kapható. A ciszták különböző altípusait sorolhatjuk ebbe a csoportba, többek között a folliculáris ciszta, bevérzett cisztadenoma, illetve dermoid ciszta, amely gyakran malignus transzformáción megy keresztül [Pavlik és mtsai., 2013; Wang és mtsai., 2016; Mobeen és Apostol, 2022].

#### 3.1.1.2 *A rosszindulatú petefészek tumorok*

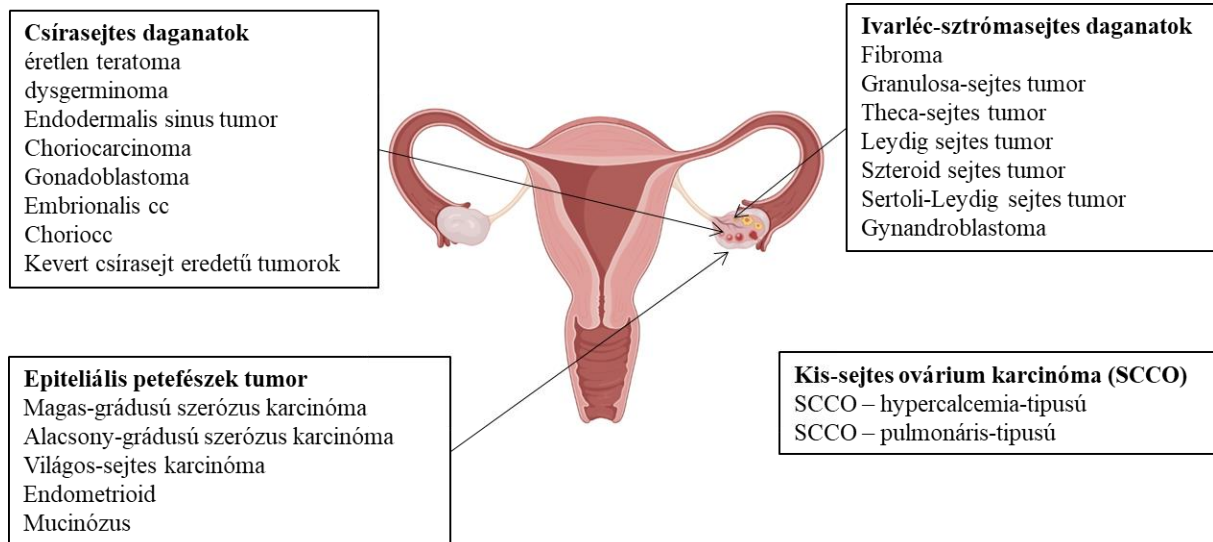
A rosszindulatú petefészek daganatok többsége (több mint 90%-a) a hám (epitéliális) eredetű daganatok közé tartozik, a további csoportokat a csírasejtes-, illetve az ivarléc-sztróma eredetű és kis-sejtes tumorok alkotják (kevesebb, mint 10%) (3.a ábra).

A csírasejtes daganatok primer-csírasejt eredetűek, a rosszindulatú petefészek tumorok 3-7%-át alkotják, felnőtt nők esetében ritkán jelentkeznek és általában jóindulatúak, viszont gyermekeknél és serdülő lányoknál a daganatok több mint 50%-a csírasejt eredetű. A csoporton belül megkülönböztetünk éretlen teratomákat, dysgerminomákat, endodermális sinus tumorokat, gonadoblastomákat, embrionalis karcinómákat, choriokarcinómákat, illetve kevert csírasejt eredetű tumorokat (3.a ábra) [Chen és mtsai., 2003; Stewart és mtsai., 2019].

Az ivarléc-sztrómasejtes tumorok a rosszindulatú petefészek daganatok kevesebb, mint 10%-ában fordulnak elő. A csoporton belül megkülönböztetünk, többek között fibromát, granulosa-sejtes tumort, theca-sejtes tumort, Leydig sejtes tumort, Sertoli-Leydig sejtes tumort, gynandroblastomát, ill. szteroid sejtes tumort, mint alcsoportokat. Az utóbbi hozzájárul a petefészek szteroid hormontermeléséhez, ezáltal magas ösztrogén szintet okoz, amely korai pubertáshoz, vérzési zavarokhoz, vagy az endometrium megvastagodásához vezethet (3.a ábra) [Chen és mtsai., 2003; Horta és Cunha, 2015; Stewart és mtsai., 2019].

A kis-sejtes petefészek karcinómák (SCCO) ritkák (<1%) a petefészek tumorokon belül, két alcsoportját különböztetjük meg, a pulmonáris-típusú (kemoterápa-szenzitív), illetve a

hypercalcemia-típusú (kemoterápia-rezisztens) SCCO-t, az utóbbi esetben a *SMARCA4* génen bekövetkezett csírasejtes és szomatikus mutációk állhatnak a háttérben (3.a ábra) [Oneda és mtsai., 2020].

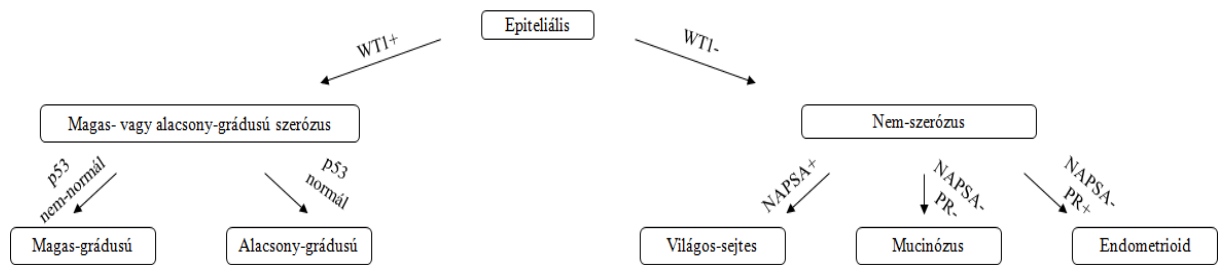


3.a ábra A rosszindulatú petefészek tumorok csoportosítása (az ábra a Biorender alkalmazás segítségével készült) [Chen és mtsai., 2003; Horta és Cunha, 2015; Stewart és mtsai., 2019; Oneda és mtsai., 2020]

### 3.1.1.3 Az epiteiális rosszindulatú petefészek tumorok

A hám eredetű tumorokat a WT1-p53-NAPSA-PR markerek immunhisztokémiai vizsgálata alapján lehet könnyebben osztályozni (3.b ábra) [Köbel és Kang, 2022]. A hám eredetű tumorok kb. 70%-a szerózus eredetű, amelyek két alcsoportba oszthatók: alacsony-grádusú (kevesebb, mint 5%) szerózus daganatok, illetve (70% körül) a magas-grádusú szerózus daganatok (HGSO; high grade serous ovarian cancer) [Chen és mtsai., 2003; Walker és mtsai., 2015; Rojas és mtsai., 2016; Reid és mtsai., 2017]. Az alacsony-grádusú szerózus tumorok, általában jó prognózissal rendelkeznek, átlagban az 55 év körüli nőket érintik, az alcsoport háttérében a *BRAF/KRAS/NRAS*, *ERBB2*, *PIK3CA*, *FFAR1*, *USP9X*, illetve az *EIF1AX* géneken bekövetkezett mutációk állhatnak (3.b ábra) [Kurman és Shih, 2016; Rojas és mtsai., 2016; Köbel és Kang, 2022]. A magas-grádusú szerózus tumorok, rossz prognózissal bírnak, agresszívok, erősen proliferatívok és nagyon sok (kb. 90%) esetben fatális kimenetelűek, a 65 évnél idősebb nőket érint, és a *TP53* és a *BRCA* géneken bekövetkezett mutációk állnak a háttérben (3.b ábra) [Rojas és mtsai., 2016; Kurman és Shih, 2016; Stewart és mtsai., 2019; Köbel és Kang, 2022]. A hám-eredetű, de nem-szerózus daganatok csoportját 3 csoportba soroljuk a világos-sejtes tumorok (kb. 10%), a mucinózus (kevesebb, mint 5%), illetve az

endometrioid tumorok (kb. 10%) [Köbel és Kang, 2022]. A világos sejtes daganatok esetében az endometriózis, illetve a késői menopauza hozzájárulhat a kialakulásukhoz, ez a daganattípus általában 50-70 év közötti nőket érinti, kevésbé rossz prognózissal rendelkezik. A *PIK3CA*, *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA4*, *ERBB2*, *AKT2*, *PTEN*, *KRAS*, *PPP2R1A*, *TP53* géneken és *TERT* promoteren bekövetkezett mutáció, *MET* gén amplifikáció állhat a kialakulása hátterében (3.b ábra) [Köbel és Kang, 2022]. A mucinózus daganat típus 40 évnél idősebb nőket érint, rizikótényezőként a dohányzás hozzájárulhat a kialakulásához, de általában jó prognózissal rendelkeznek, *KRAS*, *TP53*, *PIK3CA/PTEN*, *ARID1A*, *BRAF*, *CTNNB1/APC* génmutáció és *HER* amplifikáció okozhatja a kialakulásukat (3.b ábra) [Köbel és Kang, 2022]. Az endometrioid tumorok endometrium-eredetűek, a 40-70 év körüli nőket érintik, akiknél a hereditár emlő és petefészekrák (HBOC; Hereditary breast-ovarian cancer) szindróma, menopauzában alkalmazott hormon terápia, endometriózis, késői menopauza, mint rizikófaktoriok járulnak hozzá a kialakulásukhoz, kedvező prognózissal rendelkeznek, és genetikai okként az *ARID1A*, *CTNNB1*, *KRAS/BRAF*, *PIK3CA* és *TP53* géneken bekövetkezett mutációk állhatnak (3.b ábra) [Köbel és Kang, 2022].



Magas-grádusú	Alacsony-grádusú		Világos sejtes	Mucinózus	Endometrioid
Kb 70%	<5 %	<b>Előfordulása (az ovárium karcinómákon belül)</b>	Kb 10%	<5 %	Kb 10%
Petevezeték hámja	Petevezeték hámja	<b>Eredet</b>	Endometrium	Mucinózus szövet	Endometrium
HBOC szindróma, menopauzában alkalmazott hormon terápia	menopauzában alkalmazott hormon terápia	<b>Rizikó faktorok</b>	Késői menopauza, endometriózis	Dohányzás	HBOC szindróma, menopauzában alkalmazott hormon terápia, endometriózis, késői menopauza
>65 év	Átlagban 55 év körül	<b>Életkor</b>	50-70 év	<40 év	40-70 év
<i>TP53</i> és <i>BRC1A</i> mutációk	<i>BRAF/KRAS/NRAS, ERBB2, PIK3CA, FFAR1, USP9X, EIF1AX</i>	<b>Genetikai háttér, eltérések</b>	<i>PIK3CA, ARID1A, ARID1B, SMARCA4, ERBB2, AKT2, PTEN, KRAS, PPP2R1A, TP53</i> és <i>TERT</i> promotor; <i>MET</i> gén amplifikáció	<i>KRAS, TP53, PIK3CA/PTEN, ARID1A, BRAF, CTNNB1/APC</i> , és <i>HER</i> amplifikáció	<i>ARID1A, CTNNB1, KRAS/BRAF, PIK3CA</i> és <i>TP53</i>
Rossz	Köztes	<b>Prognózis</b>	Köztes	Jó	Kedvező
PARP-inhibitorok	MEK1/2 inhibitorok	<b>Kezelés</b>	Tirozin kináz inhibitorok	Trastuzumab	mTOR inhibitorok

3.b ábra Az epiteliális rosszindulatú petefészek tumorok osztályozása [Chen és mtsai., 2003; Tan és mtsai., 2008; Watson és mtsai., 2008; Horta és Cunha, 2015; Toss és mtsai., 2015; Walker és mtsai., 2015; Kurman és mtsai., 2016, Rojas és mtsai., 2016; Reid és mtsai., 2017; Stewart és mtsai., 2019; Köbel és Kang, 2022].

### 3.1.2 A petefészek tumorok kialakulásának genetikai háttere

A betegség genetikai háttere rendkívül heterogén, tehát kialakulásának hátterében számos génen bekövetkezett genetikai eltérés állhat, bár az esetek többségében nem lehet pontosan beazonosítani ezeket, illetve kiterjedt genetikai különbözőség látható az egyes altípusokon belül is [Toss és mtsai., 2015]. Az öröklött hajlamot petefészek tumorra 65-85%-ban a *BRCA1* és *BRCA2* tumorszupresszor gének csírasejt mutációi okozzák. A *BRCA1* mutációhordozók közül az emlőrák becsült életre szóló kockázata 40-85%, a petefészekrák életre szóló kockázata pedig 25-65% [Tan és mtsai., 2008; Toss és mtsai., 2015]. Ezen kívül egyéb tumorszupresszor génen bekövetkezett mutáció is hozzájárulhat az öröklött hajlam kialakulásához, úgymint a *TP53*, illetve a DNS hibajavító (mismatch repair, MMR) enzimek génjein bekövetkezett eltérések, ide sorolható az *MSH2* és az *MLH1* gén, amelyekben, ha mutáció található a petefészek tumorok kialakulásának kockázata 6-10%-ra tehető [Watson és mtsai., 2008; Toss és mtsai., 2015]. A *TP53* génen bekövetkezett mutációk a Li-Fraumeni szindrómával, illetve az MMR géneken található eltérések a Lynch szindrómával állnak kapcsolatban, utóbbi esetben az előforduló petefészek tumorok általában endometrioid és világos sejtes daganatok [Chui és mtsai., 2013, Ditchi és mtsai., 2019].

### 3.1.3 A rosszindulatú petefészek daganatok diagnosztikája és kezelése

Petefészekrák esetén a magas mortalitás a nem-specifikus, illetve későn jelentkező tüneteknek köszönhető (pl. alhasi fájdalom, puffadás, telítettség érzet, gyakori vizelés, derékfájdalom). A petefészekrák nem kerül időben felismerésre. Az időben elkezdett kezelés esélye így csökken, illetve a késői stádiumban felismert petefészek tumor gyakran ad metasztázist, ezáltal is csökken a túlélés esélye [Bankhead és mtsai., 2008; Lengyel, 2010; Siegel és mtsai., 2021]. A tünetek alapján gyakran összetéveszthető gastrointestinalis betegséggel, ezért sokszor nem kerülnek a megfelelő kórházi osztályra a betegek. Az átfogóbb anamnézis felvételnek és diagnosztikai módszereknek köszönhetően napjainkban a betegség nagy részben felismerésre kerül, bár az esetek 50%-ában általában csak előrehaladott stádiumban [Bankhead és mtsai., 2008; Siegel és mtsai., 2021].

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. A CA-125 szérumbiomarker emelkedett koncentrációja alkalmas a petefészek tumor jelenlétének kimutatására. Magyarországon, ha felmerül a petefészek tumor gyanúja, abban az esetben a CA-125 és HE4 koncentrációjának párhuzamos meghatározását kérjük, illetve UH és CT vizsgálatot is végzünk. Nincs egységes nemzetközi útmutató/ajánlás a petefészek tumor diagnosztikájára, pl. az Egyesült Királyságban a National Institute for Health and Care Excellence (NICE) a CA-125 tesztelését javasolja, majd a transzvaginális ultrahangot, ha a CA-125 értéke eléri, illetve meghaladja a 35 U/ml koncentrációt [Montagnana és mtsai., 2017; NICE guideline CG122 2017; Querleu és mtsai., 2017; Armstrong és mtsai., 2022]. A *MUC16* gén kódolja a CA-125-t, egy mucin-típusú transzmembrán-glikoproteint, amely a tumorsejtek membránjának felszínén található meg, így az egyik leggyakrabban alkalmazott szérumbiomarker pl. a petefészek daganat kimutatásában, habár nemcsak az ovárium karcinómákra specifikus, emelkedett szintjét írták le endometriózis, gyulladásos megbetegedések, illetve egyéb rosszindulatú tumorok, többek között cervix-, emlő-, tüdő-, hasnyálmirigy-, vastagbél-, illetve gyomorrák esetén is [Tuxen 2001; Johnson és mtsai., 2008; Sharma és mtsai., 2017]. A CA-125 a gyulladásos sejtek felületén is megtalálható, ezért magas koncentrációját mutatták ki Sjögren szindrómában, reumatoid arthritisben, sclerodermában, és lupusban is [Szekanecz és mtsai., 2007]. A *WFDC2* gén kódolja a Human Epididymis 4 (HE4) fehérjét, amely magasabb szenzitivitást és specifitást mutat, mint a CA-125, de a HE4 marker sem specifikus a petefészek tumorra. Emelkedett szintjét petefészek karcinómákban már 1999-ben leírták, de petevezeték-, endometrium-, és tüdő rosszindulatú daganatai esetén, illetve néhány egyéb jóindulatú megbetegedés esetén is leírásra került [Schummer és mtsai., 1999; Montagnana és mtsai., 2011; Karlsen és mtsai., 2014; Zeng és mtsai., 2016].

Egyéb tumormarkereket is alkalmaznak fiatalabb betegeknél a csírasejtes daganatok kizárására kismencedei térfoglalás vagy gyanús petefészek elváltozás esetén, például ilyen a humán gonadotropin (hCG) és az alfa-fetoprotein (AFP) [Nakakuma és mtsai., 1983; Ataikiru és mtsai., 2021].

A petefészek tumor kezelése komplex feladat, melyhez a stádiumok meghatározása elengedhetetlen. A petefészek tumorok TNM státuszának és stádiumának aktuális FIGO szerinti osztályozását az 1. táblázat szemlélteti [Prat és mtsai., 2014; Shannon és mtsai., 2021].

1. táblázat A petefészek daganat TNM rendszerben történő elhelyezése a FIGO aktuális stádium beosztásával szinkronizálva

STÁDIUM	Tumor Nyirokcsomó Metastasis	FIGO	A TUMOR KITERJEDÉSE
	Tx		Primer tumor kiterjedése nem megállapítható
	T0		Primer tumor nincs jelen
I.	T1 (NO MO)		Tumor csak a petefészekben
	T 1a	I A	Csak egyoldali petefészekben, tokon belül, negatív hasúri mosófolyadék
	T 1b	I B	Mindkét petefészekben, tokon belül, negatív hasúri mosófolyadék
	T 1c	I C	Egy- vagy kétoldali petefészekben lásd alább
	T 1c 1	I C 1	sebészi beavatkozás során felszín sérül
	T 1c 2	I C 2	műtét előtt a tok megreped, vagy a tumor eléri a felszín
	T 1c 3	I C 3	malignus sejtek a hasúri folyadékban/ mosófolyadékban
II.	T2 (NO MO)		Egy- vagy kétoldali petefészekben medencei terjedéssel a linea terminalisig VAGY primer hashártyarák
	T 2a	II A	Daganatos terjedés és/vagy implantáció a méhen és/vagy a petevezetéseken
	T 2b	II B	Daganatos terjedés más kismedencei intraperitoneális szövetekre
III.			Egy- vagy kétoldali petefészekben citológiailag vagy szövettanilag igazolt hashártyára való terjedéssel a medencén kívül és/vagy retroperitoneális tumoros nyirokcsomó érintettség
		III A	
	T1/T2 (N1 MO)	III A 1	csak pozitív retroperitoneális nyirokcsomók citológiailag, vagy szövettanilag igazolva
	T1/T2 (N1a MO)	III A 1 i	metastaticus nyirokcsomó nagysága 10mm, vagy annál kisebb
	T1/T2 (N1b MO)	III A 1 ii	metastaticus nyirokcsomó nagysága nagyobb, mint 10 mm
	T3a2 (NO-N1 MO)	III A 2	mikroszkópikus kismedencén kívüli hashártya érintettség pozitív retroperitoneális nyirokcsomókkal, vagy azok nélkül
	T3b (NO-N1 MO)	III B	Makroszkópikus hashártya érintettség a kismedencén túl, amely nem nagyobb 2cm-nél; pozitív retroperitoneális nyirokcsomókkal, vagy azok nélkül
	T3c (NO-N1 MO)	III C	Makroszkópikus hashártya érintettség a kismedencén túl, amely nagyobb 2cm-nél; pozitív retroperitoneális nyirokcsomókkal, vagy azok nélkül; (ide tartozik a máj és a lép felszíni érintettsége is, ha parenchymás érintettség nem igazolható)
IV.	Bármely T bármely N M1		Távoli áttétek hashártya érintettség nélkül
	Bármely T bármely N M1a	IV A	Mellhártya érintettség, mellkasi folyadék citológiailag igazolva
	Bármely T bármely N M1b	IV B	Parenchymás áttétek hasúri szervekben; és a hasüregen kívüli szervi áttétek (ide tartoznak az inguinalis nyirokcsomó metastasisok, és egyéb nyirokcsomó metastasisok a hasüregen kívül

Műtét során a hasüreg medián laparotomiából megnyitásra kerül, petefészekrák esetén a rosszindulatú daganat diagnózisa és a stádium megállapítása érdekében. Előrehaladott stádium esetén, a tumor minél maradéktalanabb eltávolítása a cél [Querleu és mtsai., 2017]. Korai stádium esetén - amikor nem mutatkozik és nem tapintható makroszkópos áttét a kismedencén kívül, akkor a pontosabb stádium-meghatározáshoz ascites (hasúri folyadék), ennek hiányában mosófolyadék kerül feldolgozásra. Egyébként a műtét lényege a cseplesz eltávolítása; nyirokcsomók eltávolítása a kismedencei és nagy hasi erek mentén; makroszkópos daganatok eltávolítása; egészséges hashártya felszínéről való mintavétel; kétoldali méhfüggelék és méh teljes eltávolítása - a daganat eltávolítása és a staging érdekében [Berek és mtsai., 2015]. Előrehaladott stádiumban a kezelési stratégia részeként a citoreduktív műtéti eljárás során (primer debulking műtét, PDS) teljes daganat eltávolítás a cél, amely során reziduum nem marad vissza, ellenben ha maradna, csökkentené a betegek túlélését [Bristow és mtsai., 2002; Querleu és mtsai., 2017]. Amennyiben a beteg állapota miatt a citoreduktív műtét nem végezhető el, akkor neoadjuváns kemoterápiás készítmények adása javasolt, majd a beteg tumorstatusának kedvezőbbé válása esetén lehetőség szerinti teljes tumorreduktív műtét elvégzése (intervallum debulking műtét, IDS) [Querleu és mtsai., 2017]. Korai stádium esetén (FIGO I) adjuváns kezelés nem minden esetben javasolt, viszont FIGO I HGSOC esetén a betegek 3-6 ciklusban platina bázisú adjuváns kezelést (paclitaxel és carboplatin kombináció) kapnak, amelyet FIGO II stádiumú betegeknél is alkalmaznak a szövettani altípustól és grádustól függetlenül 6 cikluson keresztül háromhetente [Armstrong és mtsai., 2022]. Jelenlegi ajánlások alapján kombinált platina bázisú kezelés javasolt 6 cikluson keresztül előrehaladott stádiumoknál (FIGO III és IV), amely magába foglal egy platina komponenst (carboplatin, vagy cisplatin) és egy taxán származékot (paclitaxel, vagy docetaxel), ez az elsődleges kemoterapeutikum ajánlás epiteliális ovárium karcinómákban [Vasey és mtsai., 1999; Vasey és mtsai., 2001; Bookman és mtsai., 2009; ESGO - NCCN Guidelines, 2024].

A petefészek tumorok pontos és hatékony kezeléséhez nemcsak a stádiumok meghatározása fontos, hanem a háttérben lévő genetikai eltérések feltérképezése is. A magas-grádusú szerózus ovárium tumorok háttérben a *BRCA1* és *BRCA2* mutációk állhatnak, kezelésként a poli-ADP-ribóz polimeráz (PARP)-inhibitorokat (pl. Olaparib, Niraparib, Veliparib) alkalmaznak, amelyek jelentős progresszió-mentes túlélést (PFS; Progression Free Survival) nyújtanak a betegek számára a platina-bázisú kezelést követően, azáltal, hogy a *BRCA* mutációk következtében a DNS javító mechanizmusában sérült sejtek halálát okozza [Coleman és mtsai., 2015; Mirza és mtsai., 2016; González-Martín és mtsai., 2019]. Klinikai vizsgálatok alapján

ígéretesnek bizonyul a *TP53* mutációkat célzó terápia, úgymint az AZD1775, amely felerősíti a carboplatin hatékonyságát, illetve nutlin-3a, amely gátolja a MDM2-t, így a P53 expressziójának emelkedését váltja ki [Leijen és mtsai., 2016; Ray-Coquard és mtsai., 2012]. Alacsony-grádusú szerózus ovárium tumorok kezelésében hatásosnak bizonyul a MEK inhibitorok alkalmazása [Gershenson és mtsai., 2020].

### **3.2 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, tumor sejtek, extracelluláris vezikulák (apoptótikus 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.

### **3.3 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.

#### **3.3.1 A mikroRNS-ek általános karakterizálása és biogeneze**

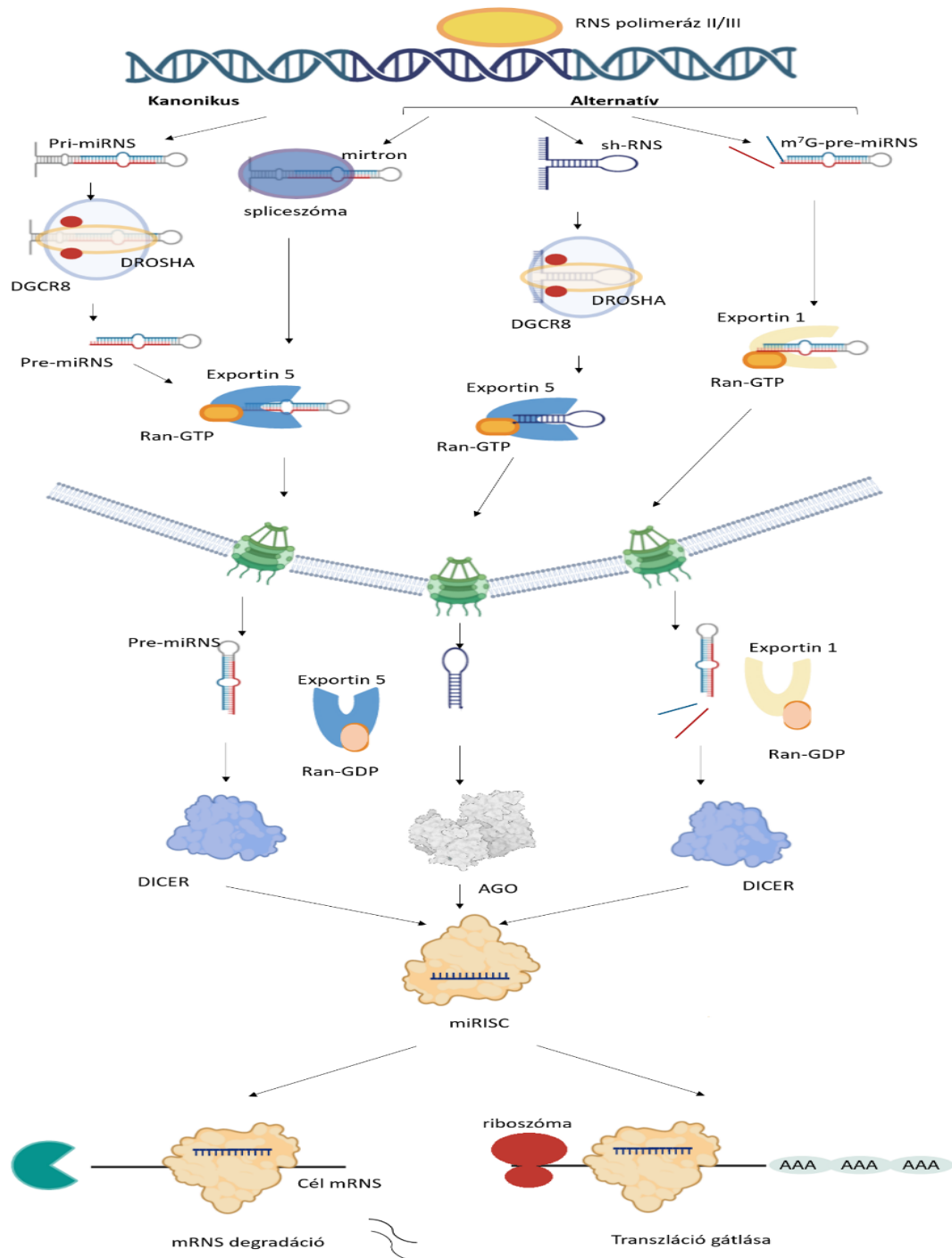
A mikroRNS-ek kis (19-22 nukleotid), egyszálú, nem-kódoló RNS-ek, amelyeket endogén gének kódolnak. Az első leírásuk óta számos humán mikroRNS-t azonosítottak, amelyeknek szerepük lehet különböző biológiai folyamatokban, többek között a sejtek differenciálódásában, metabolizmusában, immunválasz kialakításában, gyulladási folyamatokban, és a humán gének 60%-ának poszt-transzkripcionális szabályozásában [Lee és mtsai., 1993; Lengyel, 2010; Contreras és Rao, 2012; Di Leva és mtsai., 2014; Hayes és mtsai., 2014]. Több ezer mikroRNS-t azonosítottak és jellemeztek, amelyek online adatbázisokban elérhetőek, ilyen többek között a miRbase adatbázis is ([www.mirbase.org](http://www.mirbase.org)). A miRNS géneket elhelyezkedésüket tekintve három fő csoportra lehet osztani, intergénikus,

intronikus és exonikus [Cai és mtsai., 2004; Rodriguez és mtsai., 2004].

A mikroRNS-ek biogenezeise több lépéses konzervált processzálo folyamatok (kanonikus és nem-kanonikus vagy alternatív útvonal) során valósul meg, és a végén egyszálú érett miRNS keletkezik. A mikroRNS-eket kódoló géneket az RNS polimeráz II, néhány esetben az RNS polimeráz III írja át hajtúszerű pri-miRNS-ekké (elsődlegesen átírt miRNS), amelyeken megtalálható az 5' sapka és 3' poli-A farok, illetve még tartalmazhatnak intronokat [Lee és mtsai., 2004; Borchert és mtsai., 2006].

A kanonikus útvonalon a pri-miRNS hasítását a DROSHA enzimkomplex végzi, a hasítási hely kijelöléséhez a DiGeorge Syndrome Critical Region 8 (DGCR 8) komplex járul hozzá (4. ábra) [Cai és mtsai., 2004; O'Brien és mtsai., 2018]. A 3' végén egyszálú pre-miRNS jön létre (4. ábra) [Lee Y és mtsai., 2002; Lee Y és mtsai., 2003; Gregory és mtsai., 2004; Han és mtsai., 2006]. A sejtmagból a citoplazmába egy kb. 22 nukleotid hosszúságú, kettősszálú duplex szerkezetű miRNS kerül az exportin család fehérjei segítségével, ezt követően a DICER enzim hasítja. A kettős szálú kis RNS előbb az Argonaute (AGO) fehérjecsaládba, majd az RNS-indukálta csendesítő komplexbe (RISC; RNA-induced silencing complex) épül be, ahol bontás után egyszálú miRNS képződik (4. ábra) [Hutvagner és mtsai., 2001; Khvorova és mtsai., 2003; Liu és mtsai., 2004; Ha és Kim, 2014]. A mikroRNS-ek közt megkülönböztetünk 5p- és 3p-szálat, a pre-mikroRNS hajtú 5'-végéből képződik az 5p-szál, míg a 3'-végéből a 3p-szál [O'Brien és mtsai., 2018]. Amint a mikroRNS-ek beépültek a RISC komplexbe, kifejtik a hatásukat, azáltal, hogy a cél mRNS-ek 3' nem-transzlálódó régiójához (UTR; Untranslated Region) komplementer módon kötődnek, ezáltal részt vesznek a cél mRNS degradációjában (nagyértékű komplementaritás esetén), illetve a transzláció gátlásában is (alacsony mértékű komplementaritás esetén) [Lai, 2002; Lewis és mtsai., 2003]. A mikro RNS-ek, mRNS-ek, és nem kódoló RNS-ek szabályozási hálózatot hoznak létre [Hansen és mtsai., 2013; Ramón Y Cajal és mtsai., 2019; Zhang és mtsai., 2019].

A nem-kanonikus vagy alternatív útvonalak a kanonikus útvonalban szerepet játszó fehérjék kombinációit használják. A mirtronok, illetve a (m<sup>7</sup>G)-sapkával rendelkező pre-miRNS-ek esetén DROSHA-DGCR8 hasítás kimarad, további lépések a kanonikus úttal egyeznek meg, a DICER-en keresztül és nem AGO fehérjecsaláddal épülnek be a miRISC komplexbe (4. ábra) [Xie és mtsai., 2013]. A rövid hajtú RNS (shRNS; short hairpin) transzkriptumok DROSHA-DGCR8 hasítás után az AGO2 segítségével válnak éretté, nem DICER-en keresztül. Ezt követően épülnek be a RISC komplexbe, és így járulnak hozzá a RNS interferencia kialakulásához (4. ábra) [Paddison és mtsai., 2002; Yang és mtsai., 2010].



#### 4. ábra A mikro RNS-ek biogenezise

A kanonikus és alternatív útvonalon miRNS tartalmú, miRISC komplex jön létre, a mRNS-ekhez kötődik mRNS degradációt és transzlációs gátlást előidézőve.

Az ábra a Biorender szoftver segítségével készült, a hivatkozott források ábrái és adatai alapján módosítva [Hutvagner és mtsai., 2001; Lai, 2002; Paddison és mtsai., 2002; Lee Y és mtsai., 2002 és 2003; Khvorova és mtsai., 2003; Lewis és mtsai., 2003; Yi és mtsai., 2003; Gregory és mtsai., 2004; Lee és mtsai., 2004; Liu és mtsai., 2004; Behm-Ansmant és mtsai., 2006; Borchert és mtsai., 2006; Han és mtsai., 2006; Yang és mtsai., 2010; Braun és mtsai., 2012, Ladewig és mtsai., 2012; Xie és mtsai., 2013; Ha és Kim, 2014; Inada és Makino, 2014; Shirai és mtsai., 2014.; Jonas és Izaurralde 2015; O'Brien és mtsai, 2018].

### 3.3.2 A mikroRNS-ek eltérő expressziójának szerepe a tumorok kialakulásában

A mikroRNS-ek kifejeződésében bekövetkező kvantitatív és kvalitatív változások betegségek, köztük a tumorok kialakulásához vezethetnek, amelynek hátterében, a genomban fellelhető (kromoszóma) átrendeződések, mutációk, epigenetikai módosulások, és kópiaszám eltérések állhatnak [Calin és mtsai., 2004; Merritt és mtsai., 2008; Fabbri és mtsai., 2013].

Számos mikroRNS esetén írták le, hogy onkogénként, illetve tumorszuppressorként is funkcionálhat [Esquela-Kerscher és Slack, 2006; Bartels és Tsongalis, 2008].

Calin és munkatársai becslései szerint a humán miRNS gének több mint 50%-a tumorok kialakulásával összefüggésbe hozható genomi régiókban, vagy mutációk keletkezésére hajlamosabb helyeken, úgynevezett „törékeny” régiókban helyezkednek el, így fontos szerepet tulajdonítanak a mikroRNS-eknek a tumorok kialakulásának patogenezisében [Calin és mtsai., 2004].

A biogenezisükben bekövetkező hiba (Drosha és Dicer enzimek lecsökkent szintje) az érett mikroRNS-ek alulműködéséhez vezet petefészekrákos betegek esetén. Erre példa a miR-34 család, melyet közvetlenül transzaktiválja a p53 tumorszuppresszor, amely gyakran mutációt mutat humán epiteliális petefészekrákban (EOC). A p53 mutációja következtében miR-34 expressziója csökken az EOC-ban, a hiányzó miR-34 expresszió elősegíti a sejtproliferációt és az EOC sejtek invázióját. A genetikai mutációk egyik típusa az egynukleotidos polimorfizmus (SNP). Amennyiben az SNP a miRNS-ek kódoló gének szekvenciáján található, megváltozott miRNS expressziót eredményez, illetve befolyásolja a célmolekulához kötődés specificitását és affinitását, ezáltal a betegségre való hajlam kialakítását [Corney és mtsai., 2010; 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].

Egy 2004-es tanulmány összefoglalta az egynukleotidos polimorfizmusok szerepét, előrevetítve az alkalmazhatóságuk előnyeit és limitációit, a tumorok kialakulásának fogékonysága, a prognózis és a kezelésre adott válasz tekintetében [Erichsen és Chanock, 2004]. Az eltelt évek alatt számos tanulmányt tettek közé genetikai eltérések vizsgálatáról különböző betegségekben és eltérő populációkban, több SNP esetén számoltak be a petefészek tumor kialakulásának kockázatáról. A megjelent meta-analízis vizsgálat 92 SNP, 63 gén és a petefészek tumor kialakulására való hajlam összefüggéseit tanulmányozta. A felállított kritériumok és az alkalmazott módszerek alapján öt SNP (Fok1 rs2228570, miR-146a

rs2910164, ST3GAL3 rs37460, SRD5A2 rs523349, and ERCC1 rs11615) esetében találtak jelentősebb kapcsolatot a petefészek tumorral kapcsolatban, az egyik az általunk is vizsgált SNP (miR-146a rs2910164) [Hu és mtsai., 2023].

### 3.3.3 A miR-146

A miR-146 mikroRNS génjei a genomban különböző helyeken találhatóak: a miR-146a (5. ábra) az 5-ös kromoszómán (5q33.3) és a miR-146b a 10-es kromoszómán (10q24.32) helyezkedik el, a két érett 22-nukleotidos mikroRNS szekvenciája között 2 nukleotid a különbség, illetve különböző RNS érési folyamaton megy keresztül: a miR-146a a pre-miRNA-ból és a miR-146b mRNS intronból keletkezik [Jazdzewski és mtsai., 2008; Testa és mtsai., 2017]. A miR-146 mikroRNS-nek olyan molekulák a célpontjai (pl. Interleukin-1 receptorhoz kapcsolódó kináz 1, Interleukin-1 receptor-associated kinase 1, IRAK1 és TNF receptorhoz kapcsolódó faktor, TNF receptor associated factor 6, TRAF6), amelynek szerepe van a gyulladásos folyamatokban és a veleszületett immunitásban [Taganov és mtsai., 2006]. Shen és munkatársai a miR-146 szerepére hívták fel a figyelmet a petefészekrák kialakulásában. Az rs2910164 azonosító számú egynukleotidos polimorfizmus esetén egy guanin (G) – citozin (C) csere történik, ami azt jelenti, hogy a G:U bázispár C:G mismatch-re cserélődik a pre-miR-146 mag szekvenciájában [Shen és mtsai., 2008]. A csere következtében a miR-146a szintje lecsökken, ezt követően a célmolekulák kifejeződésének mértéke emelkedik [Jazdzewski és mtsai., 2008].

### 3.3.4 A miR-196

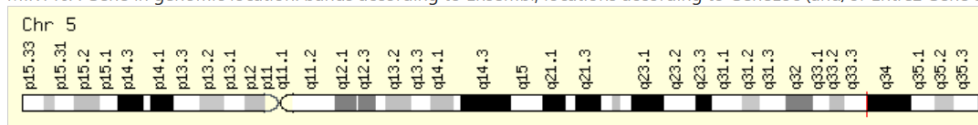
A miR-196 családhoz három mikroRNS tartozik, amelyek különböző kromoszómális régiókban helyezkednek el, a miR-196a1 a 17-es (17q21.32), a miR-196a2 (5. ábra) a 12-es (12q13.13) és a miR-196b a 7-es kromoszómán (7p15.2); illetve a gerincesek genomjában a homeobox (HOX) klaszterek régióiban található [Tanzer és mtsai., 2005; Chen és mtsai., 2011]. Az érett miR-196a és a miR-196b között egy nukleotid különbség van, de mindkettőnek ugyanaz a mag szekvenciája [Lu és mtsai., 2016]. A miR-196 család onkogén vagy tumorszupresszor szerepét számos kézirat említi, többek között upregulálódik nőgyógyászati tumorokban (cervikális és petefészek), illetve downregulálódik mellrákban, ezenkívül különböző egyéb tumoroknál is vizsgálták szerepét, melynek összefoglalásaként egy nemrég megjelent közlemény szolgál [Pourdavoud és mtsai., 2020].

### 3.3.5 A miR-193

A miR-193 családnak két tagja van, az 'a' és 'b' variáns, a miR-193a a 17-es kromoszómán (17q11.2), a miR-193b (5. ábra) a 16-os kromoszómán (16p13.12) helyezkedik el. A prekursor-miR-193a kb. 70 nukleotid hosszúságú és két érett mikroRNS-sé hasítódik: miR-193a-3p (domináns vagy vezető szál) és miR-193a-5p (utas szál), az előzőekben ismertetett folyamathoz hasonlóan történik a miR-193b esetén. A miR-193 lassíthatja a proliferációt és a sejtciklus szabályozását normál sejtekben, illetve a miR-193 tumorsuppresszor funkciója daganatokban is megtalálható [Grossi és mtsai., 2017]. Mindkét variánsa specifikus géncélpontokhoz kapcsolódnak, ezáltal up- vagy downregulálva azokat, így hozzájárulnak a tumoros sejtek proliferációjához, inváziójához, migrációjához és metasztázisok kialakulásához különböző rákos megbetegedések esetén [Khordadmehr és mtsai., 2019]. Petefészekrákban alacsony expresszálódik, viszont a magas miR-193b expresszió a petefészekrákos sejtekben a sejtproliferációt gátolhatja és beindíthatja az apoptózist, amely felveti a terápiában való alkalmazhatóságát [Nakano és mtsai., 2013; Li és mtsai., 2015].

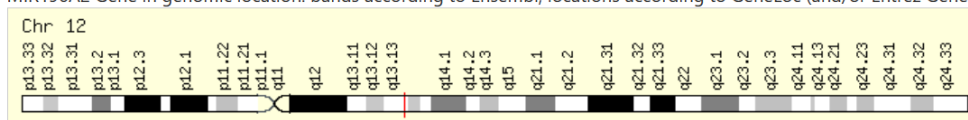
Cytogenetic band: 5q33.3 by HGNC 5q33.3 by Entrez Gene 5q33.3 by Ensembl

MIR146A Gene in genomic location: bands according to Ensembl, locations according to GeneLoc (and/or Entrez Gene and/or Ensembl if different)



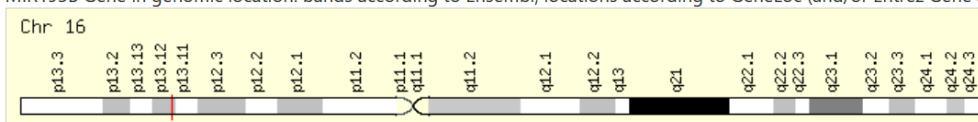
Cytogenetic band: 12q13.13 by HGNC 12q13.13 by Entrez Gene 12q13.13 by Ensembl

MIR196A2 Gene in genomic location: bands according to Ensembl, locations according to GeneLoc (and/or Entrez Gene and/or Ensembl if different)



Cytogenetic band: 16p13.12 by HGNC 16p13.12 by Entrez Gene 16p13.12 by Ensembl

MIR193B Gene in genomic location: bands according to Ensembl, locations according to GeneLoc (and/or Entrez Gene and/or Ensembl if different)



5. ábra A miR-146a, a miR-196a és a miR-193b mikroRNS kromoszómális lokalizációja [Genecards, hozzáférés dátuma: 2023.10.01.]

## 3.4 CD24

A CD24-t először 1978-ban írták le, mint hő-stabil antigént, majd az 1990-es évek elején azonosították a humán *CD24* gént, illetve a kromoszómális elhelyezkedését a 6-os

kromoszómán (6q21) (6. ábra) [Springer és mtsai., 1978; Kay és mtsai., 1991; Hough és mtsai., 1994; Genecards hozzáférés dátuma: 2023.10.01.].

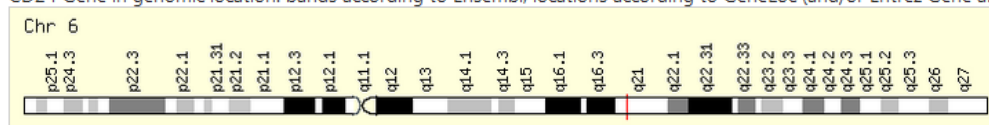
Az mRNS 31-34 aminosavat, a szignálszekvencia eltávolítása és a C-terminális régió GPI-horgony általi helyettesítő kapcsolódása után egy kis molekulatömegű core proteint kódol, amely szerin és treonin oldalláncokkal rendelkező, N- és O- glikozilált, mucinhoz hasonló fehérje. Mivel a glikoziláció szintje változó, a komplex mérete eltérő lehet, amely szövetekből izolálva 20-70 kDa között lehet. A fehérjére glikozil-foszfatidil-inozit-horgony kerül poszttranszlációs az endoplazmatikus régióban (ER), majd a horgony segítségével kapcsolódik a sejtfelszínhez [Kay és mtsai., 1990; és 1991].

A lipid horgony és a fehérje alrészek együttes jelenléte egyedi szállítási jellemzőket biztosít a fehérjéknek, amely lehetővé teszi, hogy koleszterinben és szfingolipidekben dúsított detergens-rezisztens membrán mikrodoménekben (DRM vagyis lipid tutajok) lokalizálódjanak [Lebreton és mtsai., 2019].

A CD24 sejtfelszíni fehérje megtalálható hemopoetikus sejteken, izomsejteken, keratinocitákon és hámsejteken, illetve humán karcinómasejteken is, mivel fontos liganduma a P-szelektin [Aigner és mtsai., 1997; Nagy és mtsai., 2009; Fang és mtsai., 2010]. A CD24 magasabb expresszióját először onkohematológiai esetekben, majd prosztatatarákban 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]. Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a CD24 expressziója független prognosztikai marker lehet a prosztatata- és nem-kissejtes tüdőrákban; összefüggést mutat a metasztázisok kialakulásával és a túléléssel, illetve a magas CD24-expresszió rossz prognózist jelent a tumoros megbetegedésekben [Nagy és mtsai., 2008, 2009; Zhu és mtsai., 2012; Nakamura és mtsai., 2017]. A CD24 citoplazmatikus expressziója kimutatható borderline petefészek tumorokban és magas koncentrációja a szerózus adenokarcinómában [Choi és mtsai., 2005]. Petefészekrákban aszciteszből származó exoszómák (extracellularis vezikulák) CD24 tartalma fokozhatja a tumor inváziós képességét a petefészek strómába [Runz és mtsai., 2007].

Cytogenetic band: 6q21 by HGNC 6q21 by Entrez Gene 6q21 by Ensembl

CD24 Gene in genomic location: bands according to Ensembl, locations according to GeneLoc (and/or Entrez Gene and/or Ensembl if different)



6. ábra A CD24 kromoszómális lokalizációja [Genecards hozzáférés dátuma: 2023.10.01.]

## 4 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.

Kutatásunk során olyan biomarkereket szeretnénk találni, amelyek segíthetik későbbiekben a petefészekrák gyors diagnosztikáját és segítenek a gyorsabb kezelési stratégiák kidolgozásában.

## 5 Anyagok és módszerek

### 5.1 Betegek

A vizsgálatainkhoz a Debreceni Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján gyűjtött szöveti és vérmintákat használtuk. A mintákat felhasználva a molekuláris genetikai vizsgálatokat kollaborációban a Debreceni Egyetem Humánogenetikai 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 2016 és 2018 között. 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 IVa 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:  $58,45 \pm 13,62$  év) és 102 kontroll személyt (átlagos életkor:  $59,44 \pm 11,85$  év) vontunk be a vizsgálatba.

A CD24 sejtfelszíni marker vizsgálatába 21 HGSOE beteget (átlagos életkor:  $59,1 \pm 8,8$  év) és 8 kontroll nem-petefészek-tumoros 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 vizsgálathoz használtuk fel.

## 5.2 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 valós idejű PCR során egy mikroliter DNS-t, egy mikroliter LightSnip keveréket, 3,0 mM MgCl<sub>2</sub>-t és egy mikroliter LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probes keveréket (Roche, Penzdorf, Németország) mértünk be a PCR-elegyhez, a végtérfogat 10 µl volt. A vizsgálathoz tervezett LightSnip primereket használtunk, amit a TibMolbiol (Berlin, Németország) tervezett meg és gyártott le a miR-196a-5p-n található rs11614913, miR-146 rs2910164 SNP-re és miR-193 rs30236 polimorfizmusaira. A PCR során a 10 perces denaturációt követően 36 ciklusban történt a termékek megsokszorozása 60 C°-os annealinggel (primer kötődési szakasz). Az amplifikációt olvadási görbe analízis követte. Az olvadási görbe analízis során kapott T<sub>m</sub> pontok szolgálnak az egyes allélok meghatározására. A miR-146a rs2910164 esetén a T allél 54 C°-os, a C allél 65 C°-os; miR-196a-2 rs11614913 esetén a C allél 54 C°-os, T allél 62 C°-os. A miR-193 rs30236 esetében a T-allél 54 C°-os, a C allél 65 C°-os T<sub>m</sub>-mel mutatkozott a meghatározások során.

### 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 10 percen keresztül 4°C-on centrifugáltuk, majd a plazma mintákat átvittük egy új steril csőbe, amelyeket lecentrifugáltuk 16000 g-vel 10 percen keresztül 4°C-on. A felülúszót átvittük új csövekbe, majd a hosszabb időn keresztüli tárolás miatt a sejtmentes plazma mintákat kis mennyiségekben -80°C-on fagyasztva tároljuk.

## 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 Qubit microRNA Assay kitet (Thermo Fisher Scientific, Eugene, OR, USA) alkalmazva.

## 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 TibMolbiol (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 használtuk. A reakció során 5-5 pmol volt a primerek és a 2 nmol volt a MgCl<sub>2</sub> végső koncentrációja. Az adataink normalizálásához a beta-globin háztartási gént (LightCycler® Control Kit DNA, Roche, Mannheim, Németország) alkalmaztuk [Nagy és mtsai., 2009]. 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 [Livak és Schmittgen, 2001; Schmittgen és Livak, 2008].

#### 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](http://www.targetscan.org)), MirBase ([www.microrna.sanger.ac.uk](http://www.microrna.sanger.ac.uk)) és a microRNA-Data-Integration-Portal (<http://ophid.utoronto.ca/mirDIP>). Az adatbázisok működését tekintve elmondható, hogy a miRNS “mag (seed)” szekvencia és a mRNS szekvenciájának komplementaritása mellett, a mag szekvencia környezetét és evolúciós konzerváltságát is figyelembe veszik a pontos target felismerése céljából.

Hálózat kutatást végeztünk, hogy megnézzük a CD24 kapcsolatot 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 vizsgálatakor összehasonlítottuk chí-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 a Student-féle t-próbát alkalmaztunk

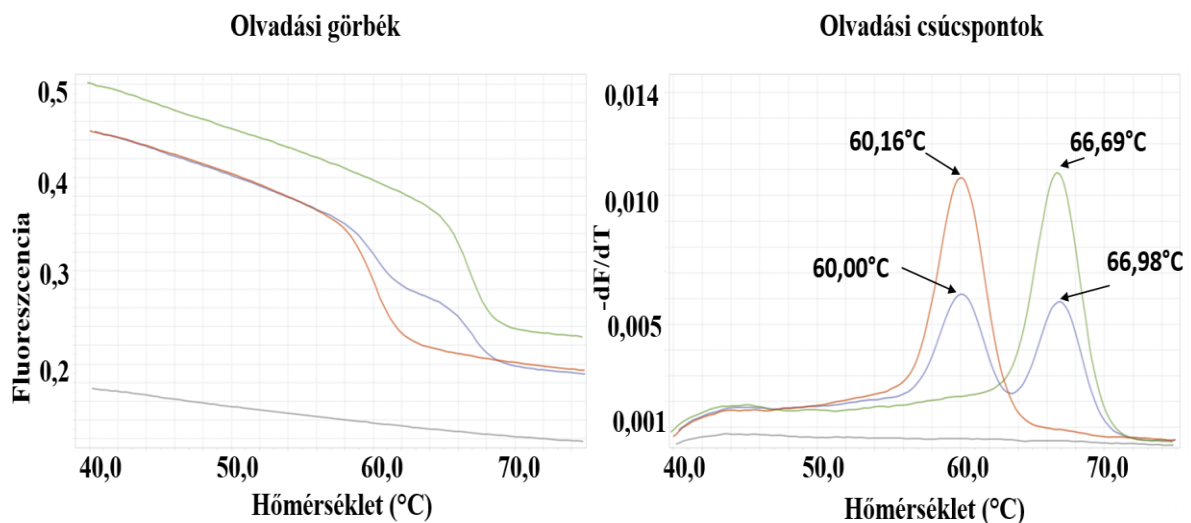
A szignifikancia szintet mindegyik esetben  $p < 0,05$ -ben határoztuk meg.

## 6 Eredmények

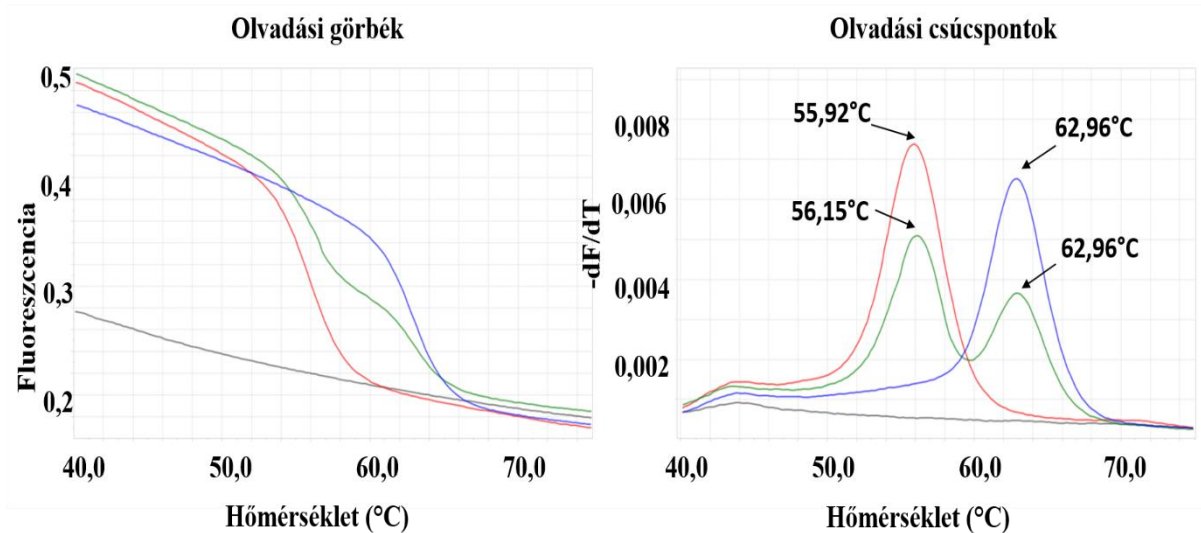
### 6.1 A miR-146a és miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumoros betegek vérmintáiban

#### 6.1.1 A miR-146a és miR-196a-2 egynukleotidos polimorfizmusának allél- és genotípus gyakorisága

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 olvadási görbék (melting curves, 7. és 8. ábra) csúcspontjai (melting peaks, 7. és 8. ábra) alapján olvastuk le. Az olvadási  $T_m$  pontok alapján határoztuk meg az allélokat, és ezáltal a genotípusokat.



7. ábra A miR-146a polimorfizmus (rs2910164) alléljeinek elkülönítésére használt olvadási görbék és olvadási csúcspontok bemutatása az általunk vizsgált populáció egy-egy tagjának vizsgálatával. A G allél (narancs színű görbe), azaz a vad típus olvadási pontja 60,16°C; a C allél (zöld színű görbe), azaz a mutáns típus olvadási pontja 66,69°C; az ábrán egy heterozigóta (kék színű görbe) vizsgált személy példája is bemutatásra kerül (60,00°C és 66,98°C), illetve a DNS-t nem tartalmazó kontroll minta szürke színnel van ábrázolva.



8. ábra A miR-196a2 polimorfizmus (rs11614913) alléljeinek elkülönítésére használt olvadási görbék és olvadási csúcspontok bemutatása az általunk vizsgált populáció egy-egy tagjának vizsgálatával. A T allél (piros színű görbe) olvadási pontja 55,92°C; a C allél (kék színű görbe) olvadási pontja 62,96°C; az ábrán egy heterozigóta (zöld színű görbe) vizsgált személy példája is bemutatásra kerül (56,15°C és 62,96°C), illetve a DNS-t nem tartalmazó kontroll minta szürke színnel került ábrázolásra.

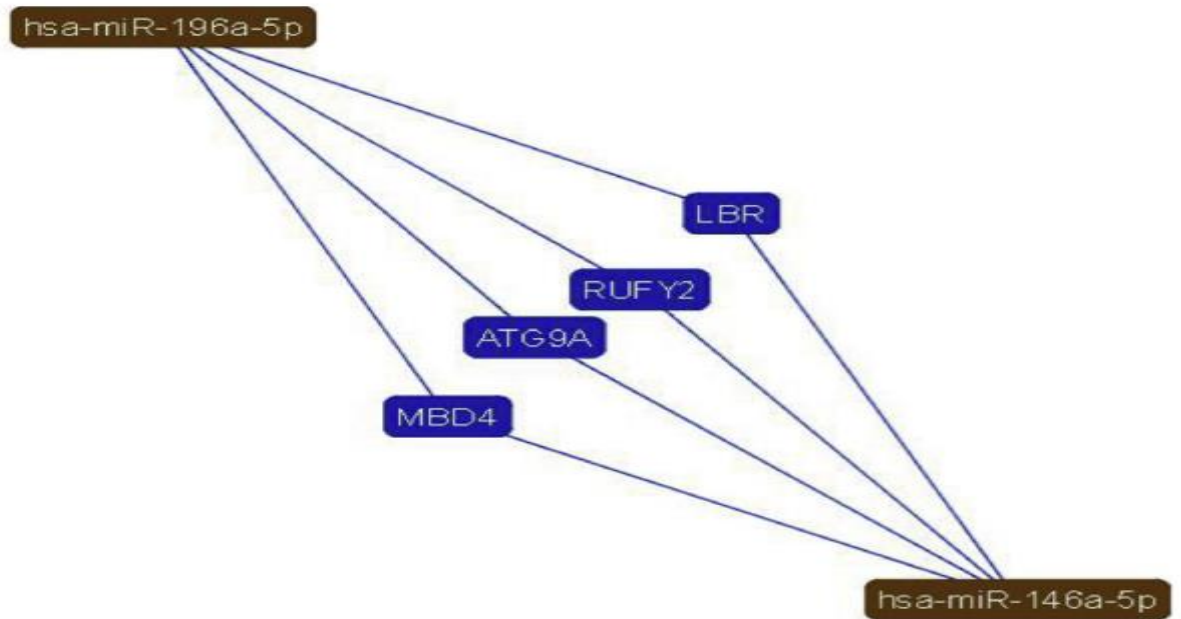
A kutatásunkba 75 petefészekrákos és 75 nem-tumoros beteg mintáit vontuk, hogy meghatározzuk a két miRNS SNP előfordulási gyakoriságát. A beválasztási szempont egyik kritériuma volt, hogy a tumoros és nem-tumoros személyek csoportjai közötti átlagos életkorban ne legyen lényeges különbség. A kapott adataink alapján kiszámítottuk az egynukleotidos polimorfizmusok allél- és genotípus gyakoriságát, melyet a 2. táblázatban összesítettünk. 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 ( $p=0,3815$ ).

2. táblázat A miR-146a és miR-196a-2 mikroRNS-ek allél- és genotípus frekvenciája

miR-146a rs 2910164					
		G	C		
allél	Kontroll (n = 75)	109 (72.67%)	41 (27.33%)	p = 0,053.	
	Beteg (n = 75)	123 (82%)	27 (18%)		
		GG	GC	CC	
genotípus	Kontroll (n = 75)	40 (53.33%)	29 (38.67%)	6 (8%)	p = 0,0917
	Beteg (n = 75)	49 (65.33%)	25 (33.33%)	1 (1.33%)	
miR-196a-2 rs 11614913					
		T	C		
allél	Kontroll (n = 75)	61 (40.67%)	89 (59.33%)	p = 0,15	
	Beteg (n = 75)	49 (32.67%)	101 (67.33%)		
		TT	TC	CC	
genotípus	Kontroll (n = 75)	14 (18.67%)	33 (44%)	28 (37.33%)	p = 0,3815
	Beteg (n = 75)	9 (12%)	31 (41.33%)	35 (46.67%)	

6.1.2 A miR-146a és miR-196a-2 mikroRNS-ek bioinformatikai analízise (hálózat kutatás)

Az alkalmazott bioinformatikai módszerekkel négy gén bizonyult közös célgénnek a Lamin B receptor (*LBR*), a Rab4 kölcsönható fehérje (*RUFY2*; Rab4 interacting protein), autofágiával kapcsolatos 9a (*ATG9A*; Autophagy-related 9a), és a metil-CpG kötő domén 4 (*MBD4*; Methyl CpG binding domain 4), melyet az 9. ábrán foglaltunk össze.



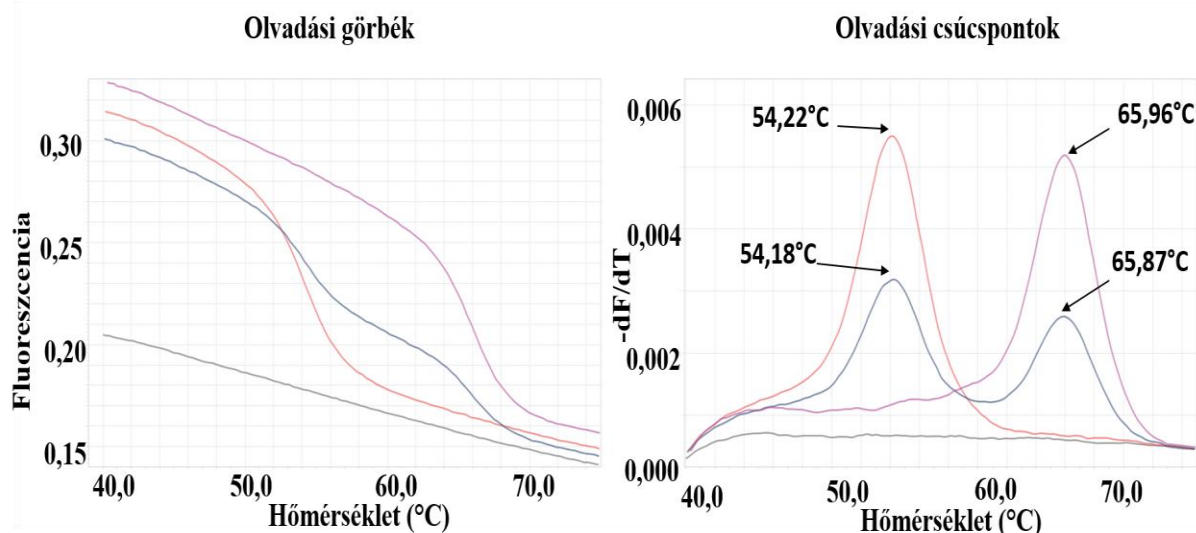
miRNA	ccNS n	proved
hsa-miR-146a-5p	ATG9A	+
hsa-miR-146a-5p	MBD4	+
hsa-miR-146a-5p	RUFY2	+
hsa-miR-146a-5p	LBR	+
hsa-miR-196a-5p	LBR	+
hsa-miR-196a-5p	RUFY2	+
hsa-miR-196a-5p	ATG9A	+
hsa-miR-196a-5p	MBD4	+

9. ábra A miR-146a és miR-196a-2 mikroRNS-ek hálózatkutatással azonosított célgénjei (miRTargetLink)

## 6.2 A miR-193b egynukleotidos polimorfizmusának meghatározása ováriumtumoros betegek vérmintáiban

### 6.2.1 A miR-193b egynukleotidos polimorfizmusának allél- és genotípus gyakorisága

A kutatómunkánk során először alkalmaztunk olvadási görbe analízist a miRNS-193b egynukleotidos polimorfizmusának meghatározására magyar populáció vizsgálata során. Az olvadási T<sub>m</sub> pontok alapján határoztuk meg az allélokat, és ezáltal a genotípusokat (10. ábra).



10. ábra A miR-193b polimorfizmus (rs30236) alléljeinek elkülönítésére használt olvadási görbék és olvadási csúcspontok bemutatása az általunk vizsgált populáció egy-egy tagjának vizsgálatával. A T allél (piros színű görbe) olvadási pontja 54,22°C; a C allél (lila színű görbe) olvadási pontja 65,96°C; az ábrán egy heterozigóta (kék színű görbe) vizsgált személy példája is bemutatásra kerül (54,18°C és 65,87°C), illetve a DNS-t nem tartalmazó kontroll minta szürke színnel került ábrázolásra.

A miRNS SNP előfordulási gyakoriságát 102 nem-tumoros személy és 86 petefészekrákos beteg mintáiban határoztuk meg, a két vizsgált csoport átlagos életkorában nem volt lényeges különbség. A 3. táblázatban foglaltuk össze a rs30236 allél- és genotípus előfordulási gyakoriságát. 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 ( $p=0,4096$ ).

3. táblázat A miR-193b mikroRNS polimorfizmusainak allél- és genotípus frekvenciája

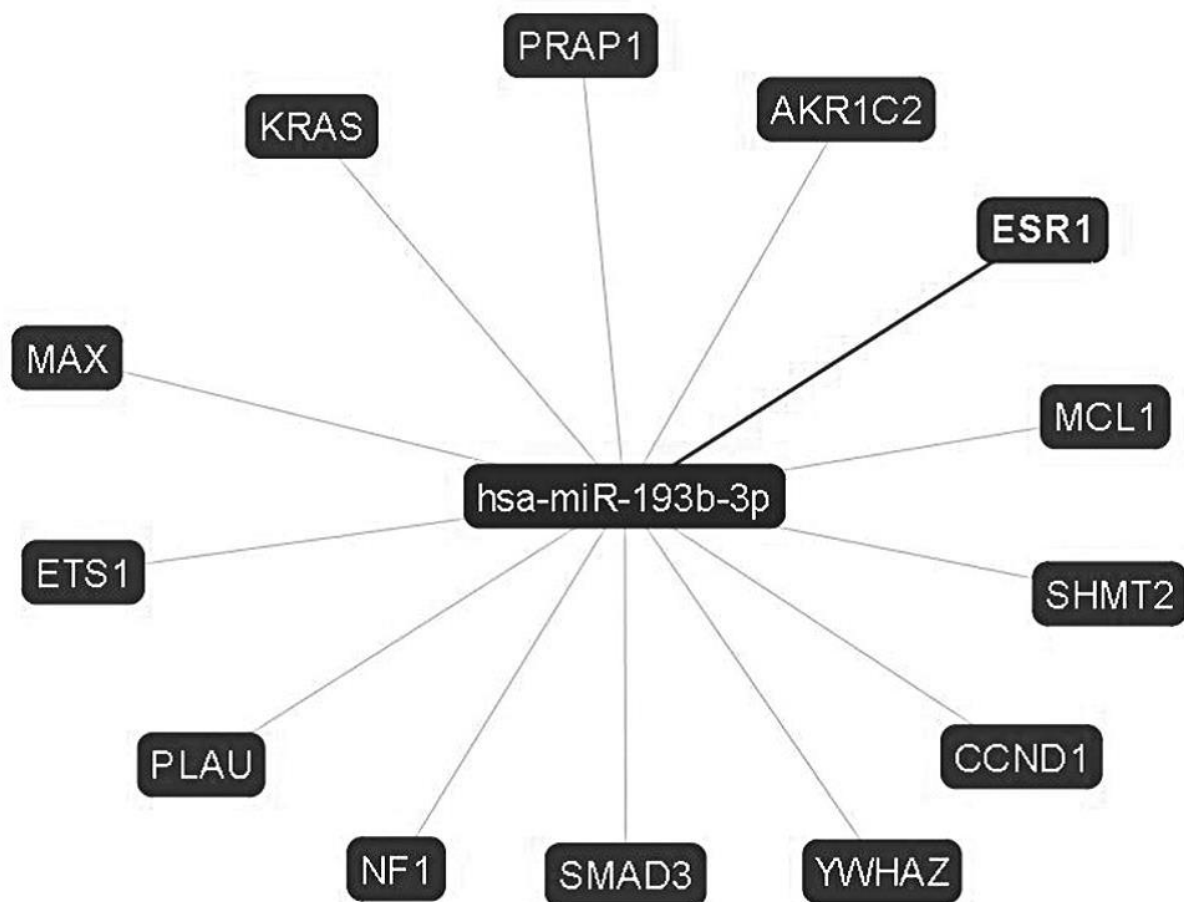
miR-193b rs30236		C	T		
allél	Kontroll (n = 102)	131 (64,22%)	73 (35,78%)	$p=0,2549$	
	Beteg (n = 86)	120 (69,76%)	52 (30,24%)		
genotípus	Kontroll (n = 102)	40 (39,22%)	51 (50,00%)	11 (10,78%)	$p=0,4096$
	Beteg (n = 86)	39 (45,35%)	42 (48,84%)	5 (5,81%)	

## 6.2.2 A miR-193b célgénjeinek feltérképezése bioinformatikai analízissel (hálózat kutatás)

A miR-193b mikroRNS célgénjeinek feltérképezésére hálózat kutatást végeztünk, az eredményeinket 4. táblázat és a 11. ábra foglalja össze. A miR-193b által szabályozott legfontosabb géneket és a megerősítésükre szolgáló vizsgálati módszereket a miRTarbase (<https://mirtarbase.cuhk.edu.cn>), TargetScan (<https://www.targetscan.org>), MirBase (<https://www.mirbase.org/>) és a microRNA-DataIntegration-Portal (<https://ophid.utoronto.ca/mirDIP>) predikciós adatbázisok használatával és az ezek által felkínált algoritmusok segítségével azonosítottuk. A cyclin D1 (*CCND1*; Cyclin D1), az ösztrogén receptor (*ESR1*; Estrogen Receptor 1), a plazminogén aktivátor (*PLAU*; Plasminogen Activator, Urokinase), a prolin rich acidic protein (*PRAP1*; Proline Rich Acidic Protein 1) és a myeloid cell leukemia sequence (*MCL1*; Myeloid Cell Leukemia Sequence 1 Apoptosis Regulator, BCL2 Family Member) génekre kifejtett hatását igazolták a legtöbb módszerrel. A miR-193b legfontosabb génkapcsolatait ábrázolja hálózat formájában a 11. ábra.

4. táblázat A miR-193b-3p célgénjei és igazolási módszerei

	Reporter assay	Western blot	qRT-PCR	Microarray
CCND1	X	X	X	X
ESR1	X			X
PLAU	X	X	X	X
PRAP1	X	X		
MCL1	X	X	X	X
ETS1		X	X	
YWHAZ			X	
SHMT2			X	X
AKR1C2			X	
CHDH			X	
SGOL1			X	X
CENP			X	X
SHMT1			X	X
KIF22			X	X
OIP5			X	X
NCAPH2			X	X
DLX1			X	X
EPPK1			X	X
BASP1			X	
MCCC2			X	
SYNE2			X	
CCP110			X	X
PDXDC1			X	X



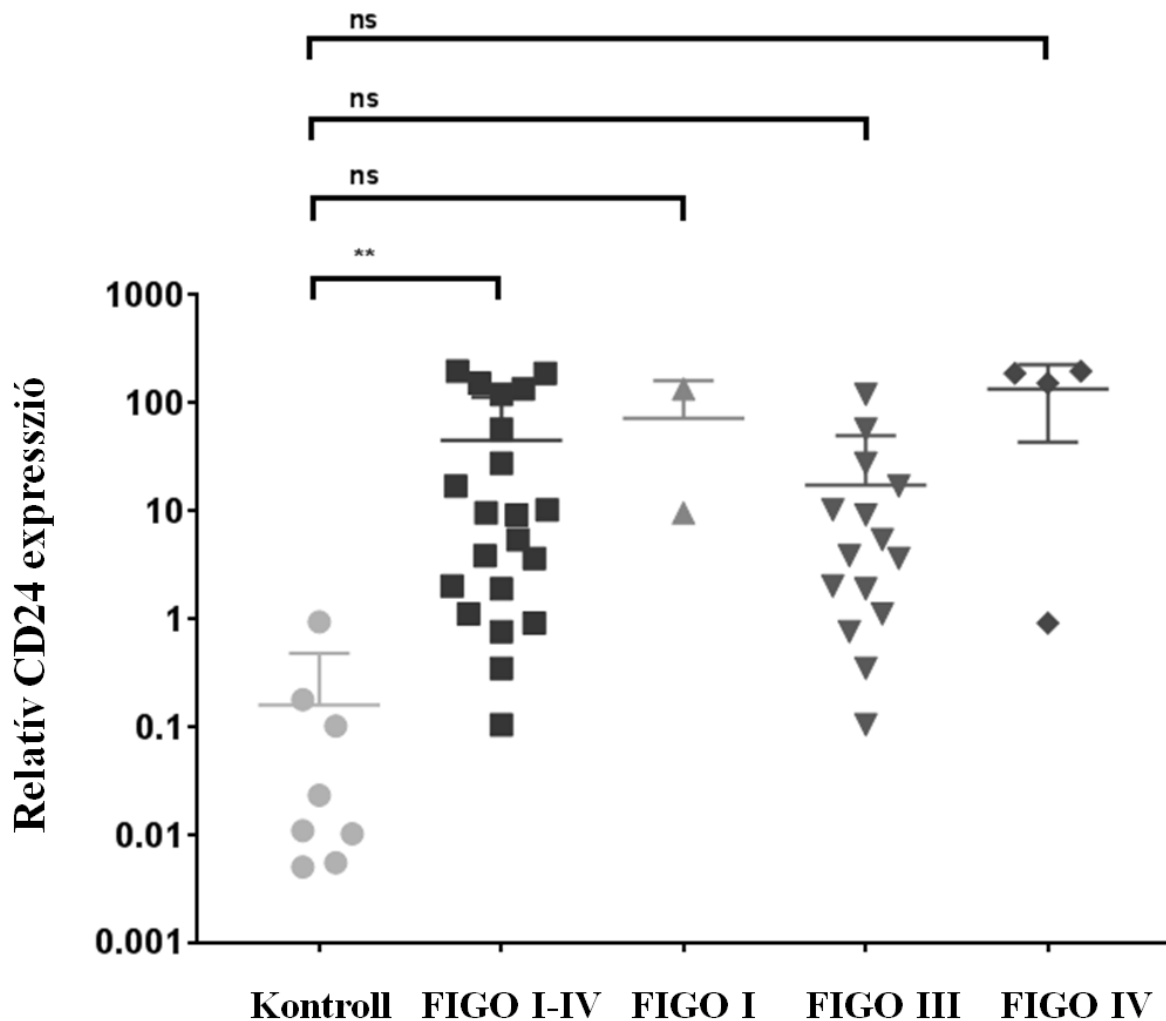
11. ábra A miR-193b mikroRNS és célgenjei közötti kölcsönhatások hálózati sémája. A kísérletesen igazolt kölcsönhatásokat vastagabb vonalak jelölik, míg a szekvencia alapján prediktált kapcsolatokat halványabb vonalak jelölik. Ábránk elkészítéséhez a miRTargetLink adatbázist használtuk fel.

### 6.3 CD24 sejtfelszíni marker meghatározása petefészekrákos és nem-tumoros személyek esetén

A CD24 sejtfelszíni marker expressziójának szintjét kvantitatív valós-idejű polimeráz láncreakcióval határoztuk meg, majd a CD24 fehérje – egyéb fehérje interakciós hálózatát, és CD24 – mikroRNS-ek kapcsolatát web felületű adatbázisok segítségével határoztuk meg.

### 6.3.1 A CD24 sejtfelszíni marker expressziójának meghatározása qRT-PCR segítségével

A CD24 expresszióját petefészek szövetmintákon vizsgáltuk primer-próba kimutatási rendszert alkalmazva kvantitatív valós-idejű polimeráz láncreakcióval. A 21 petefészekrákos és 8 nem-tumoros személy petefészek szövetmintáinak CD24 expressziója között statisztikailag szignifikáns különbséget találtunk ( $44,97 \pm 68,06$ ;  $0,16 \pm 0,32$ ;  $p < 0,01$ ). A szövettani vizsgálatok eredménye alapján 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, de ez nem volt statisztikailag szignifikáns, így csak sejthető, hogy a magasabb stádiumokkal összefüggést mutathat a CD24 magasabb expressziója (12. ábra).

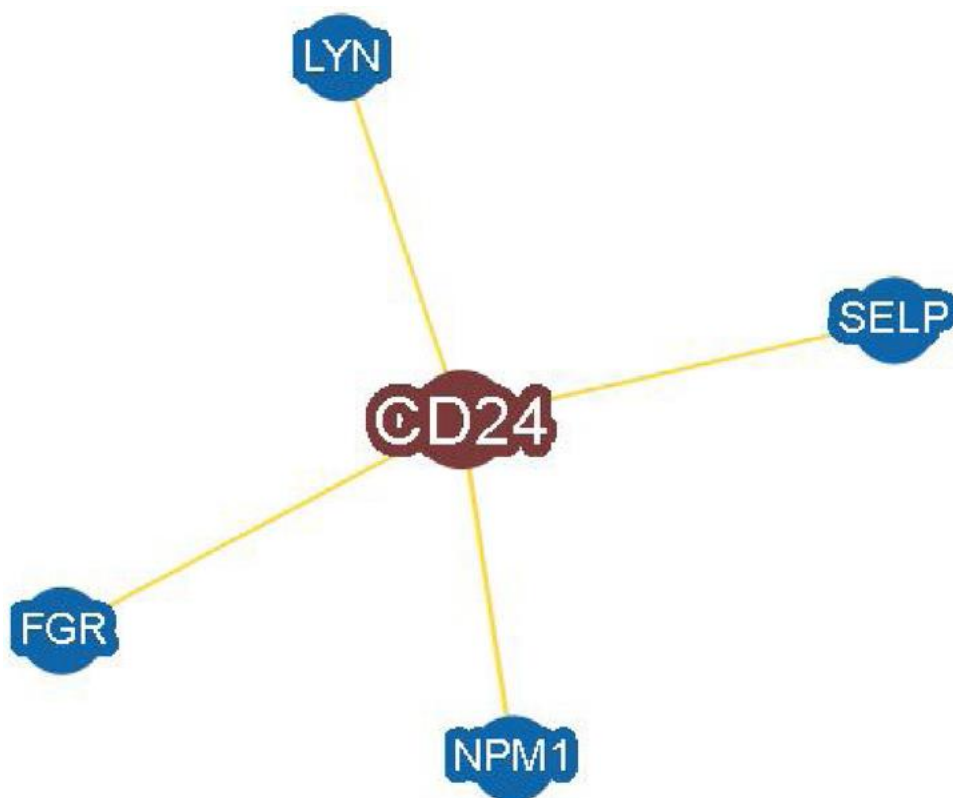


12. ábra A CD24 expressziójának összehasonlítása petefészek tumoros betegek és nem tumoros kontrollok petefészek szövetmintái esetén. A FIGO stádiumok utalnak a petefészek tumor előrehaladottságára. Statisztikailag szignifikáns különbség figyelhető meg a betegek és a kontrollok csoportja között (\*\*;  $p < 0,01$ ). A különböző FIGO stádiumokkal (FIGO I, III és IV) rendelkező betegek és a kontroll csoport között nem statisztikailag szignifikáns különbséget tapasztaltunk  $p = 0,46$ ;  $0,06$  és  $0,06$ .

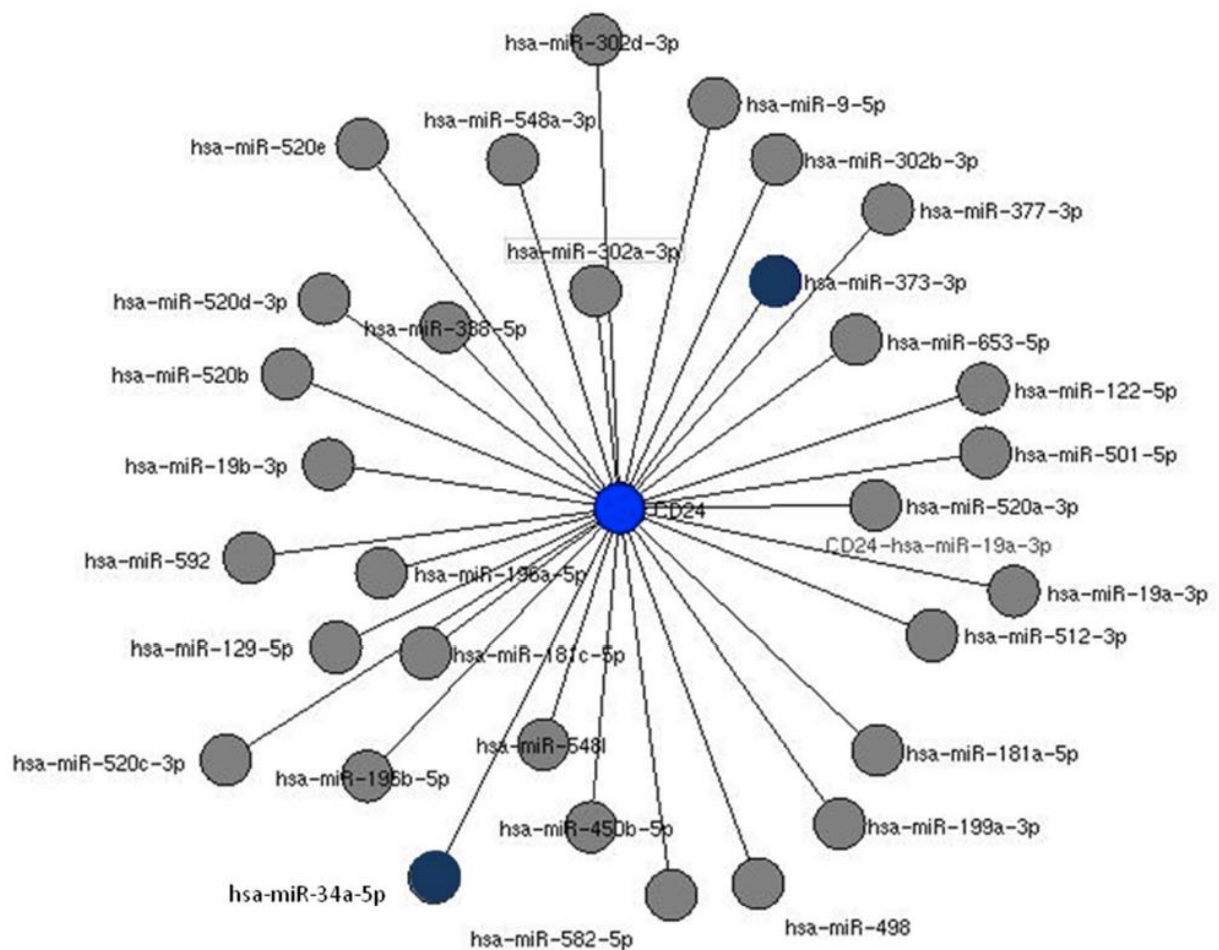
A betegek és kontrollok anamnézis felvétele után mintát vettünk azoktól a személyektől, akik nem kaptak kezelést a mintavétel előtt. Majd utánköveztük a vizsgált személyeket (21 személy), a kutatómunka ideje alatt (a mintavételt követő egy hónap múlva) 2 beteg vesztette életét (FIGO III és FIGO IV stádiumú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

### 6.3.2 A CD24 sejt felszíni marker bioinformatikai analízise (hálózat kutatás)

A CD24 sejt felszíni 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 (13. ábra). Számos mikroRNS esetén leírták, hogy hatással van a CD24 expressziójára, a mikroRNS-CD24 kapcsolatot 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 (14. ábra).



13. ábra Fehérje - CD24 fehérje interakciók vizsgálata bioinformatikai hálózat kutatással (Biogrid adatbázis). A kísérletes eredmények affinitás kromatográfián alapulnak.

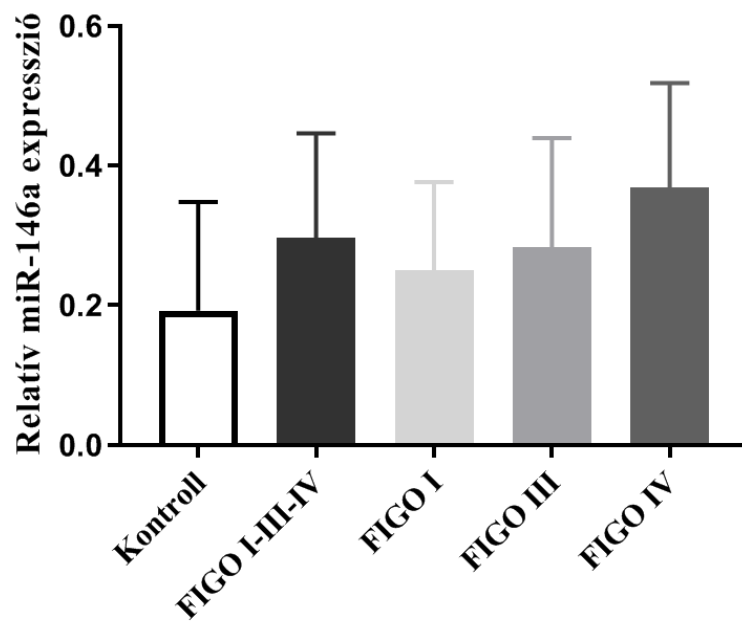


14. ábra CD24 – mikroRNS hálózatanalízis. A CD24 - mikroRNS hálózatanalízis a miRTargetLink, miRDIP adatbázisok segítségével, majd a NAVIGATOR programmal szerkesztve. Sötét színnel a legspecifikusabb mikroRNS-eket jelöltük.

### 6.3.3 A CD24 sejtfelszíni marker kapcsolata a miR-146a mikroRNS-sel

A kutatócsoportunk 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]. Ezért megvizsgáltuk a miR-146a expresszióját az ebben a fejezetben ismertetett 21 petefészek tumoros beteg és 8 kontroll egészséges nő plazmamintáiban. 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

estben sem szignifikáns (15. ábra). Az alacsony esetszám az egyes csoportokon belül alátámaszthatja az eredményeink nem szignifikáns voltát.



15. ábra A miR-146a mikroRNS relatív expressziós szintje petefészek tumoros és nem-tumoros személyek plazmamintáiban

## 7 Megbeszélés

Az ovárium tumor vezető haláloknak számít a nők körében, annak következtében, hogy a tünetek nem túl specifikusak, nem kerülnek időben felismerésre és az alkalmazott tumor markerek sem elég érzékenyek a kimutatásukra. A késői felismerés (III és IV stádium) miatt, a korszerű kezelési stratégiák ellenére is rossz túlélési rátával jellemezhető a petefészekrák (kevesebb, mint 50%-os túlélési arányt ér el), viszont a korai diagnózis javítja a betegek túlélését, az 5 éves túlélés elérheti a 90%-ot [Cannistra, 2004; Nakamura és mtsai., 2016]. A tumoros megbetegedések számának a növekedésével új diagnosztikai, terápiás és monitorizálási lehetőségek kidolgozása vált szükségessé. 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, még akkor is, amikor a jelenleg a klinikumban alkalmazott CA-125 és HE4 szintek normálisak voltak. A CA-125 tumormarker nem elég érzékeny a petefészek tumorok kimutatására. A CA-125 nagy molekulású glikoprotein, amely a Müller-típusú epitheliumból differenciálódó sejtek felszínén mutatható ki, és több esetben is fals pozitív eredményt mutathat, mint például menstruációkor, peteéréskor, terhesség idején, hólyag-és májtumorok esetén is [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].

A miR-146a cél RNS-ei közé tartozik a tumor nekrosis faktor, az interleukin-1 receptorhoz kapcsolódó kináz 1, az interleukin 1-béta, a tumornekrosis faktor receptorhoz kapcsolódó 6-os faktor és a komplement H faktor gének [Ni és Huang, 2016, Sun és munkatársai., 2016].

Sun és munkatársai 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 petefészekrákot már több mint 30 évvel ezelőtt összefüggésbe hozták a 17. kromoszóma hosszú karján lokalizálódó gének alléljainak elvesztésével, amely kromoszóma homeoboxának géncsoportjaiból származik a miR196a-1 is [Eccles és mtsai., 1990]. Így genetikai eltérései összefüggésbe hozhatóak a petefészekrák kialakulásával. Illetve a miR-196a által befolyásolt gének vizsgálata során a kutatók a nagy mobilitású AT-hurok 2 (*HMG2*; high mobility AT-hook 2) gént azonosították elsődleges célpontként, amelynek fehérjeterméke egy nem hiszton fehérje, amely a DNS kettősszál töréseit okozó környezeti hatásokban (sugárzás, kemoterápia egyes típusai) permisszív szerepet játszik. Korábbi tanulmányok elemezték a miR-196-a expresszióját petefészekrák sejtvonalakban [Chen és mtsai., 2011]. A miR-196a tumorpromoterként viselkedhet, ahol a cél gén (*HOXA 10*) a downstream lokalizációban található, ezáltal a miR-196a-1 fokozott expressziója rossz prognózist jelent petefészekrákos betegek esetében [Fan és mtsai., 2015; Yang és mtsai., 2016].

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 ( $p = 0,3815$ ).

Song és munkatársai 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 kínai vizsgálatok eredményei nem általánosíthatók, mert a betegek kevesebb, mint felében volt szerózus papilláris daganat, míg a betegek kevesebb, mint egyharmadának volt magas grádusú daganata. Az európai és amerikai statisztikákkal szemben a kínai esetek többsége mucinosus és endometrioid daganat volt. A kínai tesztpopuláció nem tekinthető reprezentatívnak a klasszikus

szerozus petefészekrákban a genetikailag eltérő típusok gyakorisága miatt [Song és mtsai., 2016].

A kutatásaink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a magas grádusú szerozus papilláris petefészekrákban a miR-146a rs2910164 és a miR-196a-2 rs11614913 polimorfizmusai statisztikailag nem mutatnak szignifikáns eltérést az egészséges kontrollokhoz képest és egy 2016-ban megjelent publikációban ugyanezre a következtetésre jutottak kínai szerzők [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*.

Az *ATG9a* gén túlzott expresszióját írták le petefészekrákos betegeknél, illetve a fehérje szintje fontos biomarkerként szolgálhat, mely összefüggést mutat a betegség prognózisával, valamint kemoszenzitivitással [Dai és mtsai., 2014].

Kilenc gén esetében találták, hogy hozzájárul a platina-rezisztens petefészekrák kialakításához, az egyik ilyen gén az *LBR*, kifejeződését követően, egy membránfehérje keletkezik, amely a kromatinhoz kötődik és a rezisztencia kialakításában is részt vesz [Helleman és mtsai., 2006].

Az *MBD4* a DNS mismatch javító fehérjékkel (MMR; mismatch repair protein) együtt kapcsolódik a metilált DNS-hez, ezáltal az *MBD4* alapvető szerepet játszik a DNS-mutációk helyreállításában. A *MED1/MBD4* gének alacsonyabban expresszálódnak vastagbél- és petefészekrák esetén [Howard és mtsai., 2009].

A mikroszatellita instabilitás vizsgálatával a *RUFY2* génről megállapították, hogy a gyakran mutációt szenvedett gének egyike [Shin és mtsai., 2011].

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, 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 khi-négyzet 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 állnak, amelyek számos élettani folyamat meghatározó elemei. Néhány fontosabb gén ezek közül is kiemelendő, az egyik a ciklin D1 gén, amely a CDK (ciklin-dependens kináz) működését szabályozza, genetikai eltérései, túltermelése tumor kialakulásához vezethet. A cisplatin gátolhatja a *CCND1* expresszióját humán ephtheliális sejteken [Dai és mtsai., 2016]. A miR-193b hatással van az *ESR1* génjére, amely a petefészek epithelium növekedését és differenciálódását szabályozzák, illetve hozzájárul a petefészekrák prognózisának meghatározásához is, így lehetséges biomarkerként is alkalmazható lenne [Zamagni és mtsai., 2009]. A miR-193b hatással van a plazminogén aktivátor (urokináz) génre, amely a proteolitikus, koagulációs, fibrinolitikus utakat szabályozó gének közé tartozik [Havrilesky és mtsai., 2008]. Prolinban gazdag savas fehérje 1 génjének fehérjeterméke a rákos sejtek növekedésében játszik szerepet, illetve a p53 aktivációja által járul hozzá a rákos sejtek túléléséhez [Huang és mtsai., 2012]. A miR-193b többek között erős összefüggésben áll a 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 szövetmintáin kvantitatív valós-idejű PCR segítségével. Háztartási génként a  $\beta$ -globin gént használtunk az értékek normalizálásához [Nagy és mtsai., 2008, 2009]. Statisztikailag 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, magas grádusú, mint az alacsony grádusú petefészekrákban [Kristiansen és mtsai., 2002; Moulla és mtsai., 2013]. Zeng és munkatársai 97 petefészekrákos beteget vizsgáltak és szintén találtak összefüggést a *CD24* expressziója, a klinikai grádusok és a szövettani besorolás szerinti csoportok között [Zeng és mtsai., 2017]. Nakamura és munkatársai 200 petefészekrákos beteg bevonásával azt találták, hogy az esetek 71,1 %-ában a *CD24* magasabb expressziót mutat [Nakamura és mtsai., 2017].

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

Davidson szerint a *CD24* sejtfelszíni fehérjét specifikus markerként lehet használni a szerózus ovárium karcinóma és a malignus pleurális mesothelioma differenciál diagnózisában, 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. Hálózatkutatót végeztünk e kapcsolatok feltárására a Biogrid, miRTargetLink, miRDIP adatbázisokat használva.

A Biogrid adatbázis szerint a LYN, SELP, FGR és a NPM1 fehérjék állnak kapcsolatban a *CD24* fehérjével. A LYN az Src fehérje család tagja, amely a tirozin-kináz családhoz tartozik, és a sejtek aktivációjában játszik szerepet [Marech és mtsai., 2014]. A LYN szerepét már leírták *CD24*-indukálta extracelluláris jel-szabályzó kinázok (ERK1/2, extracellular signal-regulated kinases 1 and 2) aktivációjában és szabályozásában vastagbélrák kialakulásában [Su és mtsai., 2012]. A SELP egy ismert P-szelektin, amely a sejtadhézióban játszik szerepet, elhelyezkedését tekintve az erek belső felszínén, illetve aktív formában az endotéliális sejtek Weibel-Palade testeiben található. Zaslowski és munkatársai hívták fel a figyelmet a SELP fehérjére, mert a kezelés során hatással van ciklooxygenáz expresszióra [Zaslowski és mtsai., 2005]. A FGR a tirozin-kináz családon belül a Src család egyik tagja, amelynek szerepe van a sejtek adhéziójában és vándorlásában [Khaliq and Banerjee, 2017]. Zarn és munkatársai vizsgálták, hogy a c-FGR hatással van a *CD24*-re kis-sejtes tüdő karcinóma sejtvonalakon [Zarn és mtsai., 1996].

A hálózatkutató 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. A kutatócsoportunk statisztikailag nem szignifikánsan magasabb miR-146a expressziót talált a petefészek tumoros betegek esetén a kontroll csoporthoz képest plazmamintákban, illetve nem szignifikáns stádiumfüggés is igazolódott az alacsonyabbtól a magasabb stádiumig [Ghuwalewala és mtsai., 2021]. A szignifikancia hiányát az alacsony esetszám magyarázhatja. A kontroll csoportba kerülő nők egészségesek, és a kontroll szöveti minták belső női nemi szervek helyzetjavító műtéte kapcsán eltávolított petefészekből származnak. A helyzetjavító, petefészek eltávolítással is járó műtétek száma kevesebb, mint a petefészek tumor miatt végzett műtéteké, ez magyarázza az alacsonyabb kontroll csoport esetszámot.

## 8 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 szignifikáns 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 szignifikáns összefüggést mutatott a FIGO stádiumokkal.

## 9 Összefoglalás

A petefészek tumor vezető haláloknak számít a nők körében, a magas mortalitási ráta köszönhető a nem specifikus tüneteknek és a késői diagnózisnak. A betegség a 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 petefészek tumor 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 petefészek tumor diagnosztikájában. A vizsgált polimorfizmusok (miR-146a rs2910164, miR-196a-2 rs11614913 és miR-193b rs30236) esetén nem volt szignifikáns eltérés a vizsgált petefészek tumoros betegek és egészséges kontrollok között. Ez nem zárja ki előbbi polimorfizmusok alkalmazhatóságát, ha más polimorfizmusokkal kombinációban végezzük el a vizsgálatukat. A kontroll és a petefészek tumoros betegek szövet mintáin mért *CD24* expresszió között szignifikáns különbséget azonosítottunk, ami statisztikailag 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, miR-193b rs30236 mikroRNS polimorfizmusokat, és a *CD24* expresszióját magyarországi petefészek tumoros és egészséges nők körében.

## 10 Summary

Ovarian tumor is the leading cause of death among women, the high mortality rate is due to non-specific symptoms and late diagnosis. It is characterized by a poor survival rate despite modern treatment strategies, so the development of new diagnostic, therapeutic and monitoring options has become necessary. During our work, we searched for biomarkers that could be promising candidates for the detection of ovarian tumors and the coming out of future diagnostic tests.

Using non-invasive procedures, attention was primarily directed towards microRNAs, so in the first part of our research we examined microRNA polymorphisms that were thought to be potential biomarkers in the diagnosis of ovarian tumors. Although there was no significant difference between the examined polymorphisms (miR-146a rs2910164, miR-196a-2 rs11614913 and miR-193b rs30236) between the examined ovarian cancer patients and healthy controls, it does not rule out their applicability if they are tested in combination with other polymorphisms. The expression of *CD24* was determined on tissue samples. We identified a significant difference between the *CD24* expression measured in tissue samples from control and ovarian tumor patients, which also showed a correlation but not significant with more advanced FIGO stages.

The significance of our work is contributed by the fact that during our investigations we analysed for the first time the miR-146a rs2910164, miR-196a-2 rs11614913, miR-193b rs30236 microRNA polymorphisms and the expression of *CD24* among Hungarian women.

## 11 Irodalomjegyzék

### 11.1 Hivatkozott közlemények jegyzéke

Aigner S, Stoeber 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. PMID: 9129046.

Armstrong DK, Alvarez RD, Backes FJ, Bakkum-Gamez JN, Barroilhet L, Behbakht K, Berchuck A, Chen LM, Chitiyo VC, Cristea M, DeRosa M, Eisenhauer EL, Gershenson DM, Gray HJ, Grisham R, Hakam A, Jain A, Karam A, Konecny GE, Leath CA III, Leiserowitz G, Liu J, Martin L, Matei D, McHale M, McLean K, Miller DS, Percac-Lima S, Remmenga SW, Schorge J, Stewart D, Thaker PH, Vargas R, Hendrickson AW, Werner TL, Zsiros E, Dwyer MA, Hang L. NCCN Guidelines® Insights: Ovarian Cancer, Version 3.2022. *J Natl Compr Canc Netw*. 2022 Sep;20(9):972-980. doi: 10.6004/jnccn.2022.0047. PMID: 36075393.

Ataikiru UO, Iacob ER, Miron I, Popoiu CM, Boia ES. A 10-year retrospective single-center study of alpha-fetoprotein and beta-human chorionic gonadotropin in Romanian children with (para)gonadal tumors and cysts. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2021 Dec 29;35(3):363-371. doi: 10.1515/jpem-2021-0382. PMID: 34968016.

Bankhead CR, Collins C, Stokes-Lampard H, Rose P, Wilson S, Clements A, Mant D, Kehoe ST, Austoker J. Identifying symptoms of ovarian cancer: a qualitative and quantitative study. *BJOG*. 2008 Jul;115(8):1008-14. doi: 10.1111/j.1471-0528.2008.01772.x. PMID: 18651882; PMCID: PMC2607526.

Bartels CL, Tsongalis GJ. MicroRNAs: novel biomarkers for human cancer. *Clin Chem*. 2009 Apr;55(4):623-31. doi: 10.1373/clinchem.2008.112805. Epub 2009 Feb 26. PMID: 19246618.

Behm-Ansmant I, Rehwinkel J, Doerks T, Stark A, Bork P, Izaurralde E. mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes. *Genes Dev*. 2006 Jul 15;20(14):1885-98. doi: 10.1101/gad.1424106. Epub 2006 Jun 30. PMID: 16815998; PMCID: PMC1522082.

Berek JS, Crum C, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet.* 2015 Oct;131 Suppl 2:S111-22. doi: 10.1016/j.ijgo.2015.06.007. PMID: 26433667.

Bookman MA, Brady MF, McGuire WP, Harper PG, Alberts DS, Friedlander M, Colombo N, Fowler JM, Argenta PA, De Geest K, Mutch DG, Burger RA, Swart AM, Trimble EL, Accario-Winslow C, Roth LM. Evaluation of new platinum-based treatment regimens in advanced-stage ovarian cancer: a Phase III Trial of the Gynecologic Cancer Intergroup. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 20;27(9):1419-25. doi: 10.1200/JCO.2008.19.1684. Epub 2009 Feb 17. Erratum in: *J Clin Oncol.* 2009 May 1;27(13):2305. PMID: 19224846; PMCID: PMC2668552.

Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol.* 2006 Dec;13(12):1097-101. doi: 10.1038/nsmb1167. Epub 2006 Nov 12. PMID: 17099701.

Braun JE, Truffault V, Boland A, Huntzinger E, Chang CT, Haas G, Weichenrieder O, Coles M, Izaurralde E. A direct interaction between DCP1 and XRN1 couples mRNA decapping to 5' exonucleolytic degradation. *Nat Struct Mol Biol.* 2012 Dec;19(12):1324-31. doi: 10.1038/nsmb.2413. Epub 2012 Nov 11. PMID: 23142987.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68(6):394-424. doi: 10.3322/caac.21492. Epub 2018 Sep 12. Erratum in: *CA Cancer J Clin.* 2020 Jul;70(4):313. PMID: 30207593.

Bristow RE, Tomacruz RS, Armstrong DK, Trimble EL, Montz FJ. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2002 Mar 1;20(5):1248-59. doi: 10.1200/JCO.2002.20.5.1248. PMID: 11870167.

Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA.* 2004 Dec;10(12):1957-66. doi: 10.1261/rna.7135204. Epub 2004 Nov 3. PMID: 15525708; PMCID: PMC1370684.

Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile

sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Mar 2;101(9):2999-3004. doi: 10.1073/pnas.0307323101. Epub 2004 Feb 18. PMID: 14973191; PMCID: PMC365734.

Cannistra SA. Cancer of the ovary. *N Engl J Med*. 2004 Dec 9;351(24):2519-29. doi: 10.1056/NEJMra041842. Erratum in: *N Engl J Med*. 2005 Jan 6;352(1):104. PMID: 15590954.

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. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01219.x. PMID: 21091634; PMCID: PMC3276076.

Chen VW, Ruiz B, Killeen JL, Coté TR, Wu XC, Correa CN. Pathology and classification of ovarian tumors. *Cancer*. 2003 May 15;97(10 Suppl):2631-42. doi: 10.1002/cncr.11345. PMID: 12733128.

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. doi: 10.1016/j.ygyno.2005.01.018. PMID: 15863133.

Chui MH, Gilks CB, Cooper K, Clarke BA. Identifying Lynch syndrome in patients with ovarian carcinoma: the significance of tumor subtype. *Adv Anat Pathol*. 2013 Nov;20(6):378-86. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182a92cf8. PMID: 24113308.

Coleman RL, Sill MW, Bell-McGuinn K, Aghajanian C, Gray HJ, Tewari KS, Rubin SC, Rutherford TJ, Chan JK, Chen A, Swisher EM. A phase II evaluation of the potent, highly selective PARP inhibitor veliparib in the treatment of persistent or recurrent epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer in patients who carry a germline BRCA1 or BRCA2 mutation - An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2015 Jun;137(3):386-91. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.03.042. Epub 2015 Mar 24. PMID: 25818403; PMCID: PMC4447525.

Contreras J, Rao DS. MicroRNAs in inflammation and immune responses. *Leukemia*. 2012 Mar;26(3):404-13. doi: 10.1038/leu.2011.356. Epub 2011 Dec 20. PMID: 22182919.

Corney DC, Hwang CI, Matoso A, Vogt M, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, Kamat AA, Sood

AK, Ellenson LH, Hermeking H, Nikitin AY. Frequent downregulation of miR-34 family in human ovarian cancers. *Clin Cancer Res.* 2010 Feb 15;16(4):1119-28. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2642. Epub 2010 Feb 9. PMID: 20145172; PMCID: PMC2822884.

Dai F, Zhang Y, Chen Y. Involvement of miR-29b signaling in the sensitivity to chemotherapy in patients with ovarian carcinoma. *Hum Pathol.* 2014 Jun;45(6):1285-93. doi: 10.1016/j.humpath.2014.02.008. Epub 2014 Feb 28. PMID: 24767251.

Dai J, Wei RJ, Li R, Feng JB, Yu YL, Liu PS. A study of CCND1 with epithelial ovarian cancer cell proliferation and apoptosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016 Oct;20(20):4230-4235. PMID: 27831653.

Dalmartello M, La Vecchia C, Bertuccio P, Boffetta P, Levi F, Negri E, Malvezzi M. European cancer mortality predictions for the year 2022 with focus on ovarian cancer. *Ann Oncol.* 2022 Mar;33(3):330-339. doi: 10.1016/j.annonc.2021.12.007. Epub 2022 Jan 26. PMID: 35090748.

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. doi: 10.1016/j.humpath.2016.08.005. Epub 2016 Aug 31. PMID: 27589896.

Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:287-314. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715. Epub 2013 Sep 25. PMID: 24079833; PMCID: PMC4009396.

Ditchi Y, Broudin C, El Dakdouki Y, Muller M, Lavaud P, Caron O, Lejri D, Baynes C, Mathieu MC, Salleron J, Benusiglio PR. Low risk of invasive lobular carcinoma of the breast in carriers of BRCA1 (hereditary breast and ovarian cancer) and TP53 (Li-Fraumeni syndrome) germline mutations. *Breast J.* 2019 Jan;25(1):16-19. doi: 10.1111/tbj.13154. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30414230.

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. PMID: 2250917.

Erichsen HC, Chanock SJ. SNPs in cancer research and treatment. *Br J Cancer.* 2004 Feb

23;90(4):747-51. doi: 10.1038/sj.bjc.6601574. PMID: 14970847; PMCID: PMC2410167.

ESGO guidelines for the management of ovarian cancer - <https://guidelines.esgo.org/>

Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006 Apr;6(4):259-69. doi: 10.1038/nrc1840. PMID: 16557279.

Fabbri M, Calore F, Paone A, Galli R, Calin GA. Epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2013;754:137-48. doi: 10.1007/978-1-4419-9967-2\_6. PMID: 22956499.

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. PMID: 26097603; PMCID: PMC4466990.

Fang X, Zheng P, Tang J, Liu Y. CD24: from A to Z. *Cell Mol Immunol*. 2010 Mar;7(2):100-3. doi: 10.1038/cmi.2009.119. Epub 2010 Feb 15. PMID: 20154703; PMCID: PMC4001892.

Genecards: <https://www.genecards.org/> (hozzáférés dátuma: 2023.10.01.)

Gershenson DM, Gourley C, Paul J. MEK Inhibitors for the Treatment of Low-Grade Serous Ovarian Cancer: Expanding Therapeutic Options for a Rare Ovarian Cancer Subtype. *J Clin Oncol*. 2020 Nov 10;38(32):3731-3734. doi: 10.1200/JCO.20.02190. Epub 2020 Sep 8. PMID: 32897828.

Ghuwalewala S, Ghatak D, Das S, Roy S, Das P, Butti R, Gorain M, Nath S, Kundu GC, Roychoudhury S. MiRNA-146a/AKT/ $\beta$ -Catenin Activation Regulates Cancer Stem Cell Phenotype in Oral Squamous Cell Carcinoma by Targeting CD24. *Front Oncol*. 2021 Oct 12;11:651692. doi: 10.3389/fonc.2021.651692. PMID: 34712602; PMCID: PMC8546321.

Globocan: Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2024). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>, accessed [02 February 2024].

González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, McCormick C, Lorusso D, Hoskins P, Freyer G, Baumann K, Jardon K, Redondo A, Moore RG, Vulsteke C, O'Ceirbhail RE, Lund B, Backes F, Barretina-Ginesta P, Haggerty AF, Rubio-Pérez MJ, Shahin MS, Mangili G, Bradley WH, Bruchim I, Sun K, Malinowska IA, Li Y, Gupta D, Monk BJ; PRIMA/ENGOT-OV26/GOG-3012 Investigators. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 2019 Dec 19;381(25):2391-2402. doi: 10.1056/NEJMoa1910962. Epub 2019 Sep 28. PMID: 31562799.

Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, Shiekhattar R. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*. 2004 Nov 11;432(7014):235-40. doi: 10.1038/nature03120. Epub 2004 Nov 7. PMID: 15531877.

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. doi: 10.1155/2017/5913195. Epub 2017 Sep 5. PMID: 29038785; PMCID: PMC5605928.

Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014 Aug;15(8):509-24. doi: 10.1038/nrm3838. Epub 2014 Jul 16. PMID: 25027649.

Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW, Heo I, Rhee JK, Sohn SY, Cho Y, Zhang BT, Kim VN. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*. 2006 Jun 2;125(5):887-901. doi: 10.1016/j.cell.2006.03.043. PMID: 16751099.

Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, Kjems J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*. 2013 Mar 21;495(7441):384-8. doi: 10.1038/nature11993. Epub 2013 Feb 27. PMID: 23446346.

Havrilesky LJ, Whitehead CM, Rubatt JM, Cheek RL, Groelke J, He Q, Malinowski DP, Fischer TJ, Berchuck A. Evaluation of biomarker panels for early stage ovarian cancer detection and monitoring for disease recurrence. *Gynecol Oncol*. 2008 Sep;110(3):374-82. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.04.041. Epub 2008 Jun 27. PMID: 18584856.

Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends Mol Med*. 2014 Aug;20(8):460-9. doi: 10.1016/j.molmed.2014.06.005. Epub 2014 Jul 12. PMID: 25027972.

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. doi: 10.1002/ijc.21599. Erratum in: *Int J Cancer*. 2006 Aug 1;119(3):726. PMID: 16287073.

Horta M, Cunha TM. Sex cord-stromal tumors of the ovary: a comprehensive review and update for radiologists. *Diagn Interv Radiol*. 2015 Jul-Aug;21(4):277-86. doi: 10.5152/dir.2015.34414. PMID: 26054417; PMCID: PMC4498422.

Hough MR, Rosten PM, Sexton TL, Kay R, Humphries RK. Mapping of CD24 and homologous sequences to multiple chromosomal loci. *Genomics*. 1994 Jul 1;22(1):154-61. doi: 10.1006/geno.1994.1356. PMID: 7959762.

Howard JH, Frolov A, Tzeng CW, Stewart A, Midzak A, Majmundar A, Godwin A, Heslin M, Bellacosa A, Arnoletti JP. Epigenetic downregulation of the DNA repair gene MED1/MBD4 in colorectal and ovarian cancer. *Cancer Biol Ther*. 2009 Jan;8(1):94-100. doi: 10.4161/cbt.8.1.7469. Epub 2009 Jan 20. PMID: 19127118; PMCID: PMC2683899.

Hu J, Xu Z, Ye Z, Li J, Hao Z, Wang Y. The association between single nucleotide polymorphisms and ovarian cancer risk: A systematic review and network meta-analysis. *Cancer Med*. 2023 Jan;12(1):541-556. doi: 10.1002/cam4.4891. Epub 2022 May 30. PMID: 35637613; PMCID: PMC9844622.

Huang BH, Zhuo JL, Leung CH, Lu GD, Liu JJ, Yap CT, Hooi SC. PRAP1 is a novel executor of p53-dependent mechanisms in cell survival after DNA damage. *Cell Death Dis*. 2012 Dec 13;3(12):e442. doi: 10.1038/cddis.2012.180. PMID: 23235459; PMCID: PMC3542616.

Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science*. 2001 Aug 3;293(5531):834-8. doi: 10.1126/science.1062961. Epub 2001 Jul 12. PMID: 11452083.

Inada T, Makino S. Novel roles of the multi-functional CCR4-NOT complex in post-transcriptional regulation. *Front Genet*. 2014 May 20;5:135. doi: 10.3389/fgene.2014.00135. PMID: 24904636; PMCID: PMC4033010.

Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 May 20;105(20):7269-74. doi: 10.1073/pnas.0802682105. Epub 2008 May 12. PMID: 18474871; PMCID: PMC2438239.

Johnson CC, Kessel B, Riley TL, Ragard LR, Williams CR, Xu JL, Buys SS; Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Project Team. The epidemiology of CA-125 in women without evidence of ovarian cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer (PLCO) Screening Trial. *Gynecol Oncol*. 2008 Sep;110(3):383-9. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.05.006. Epub 2008 Jun 30. PMID: 18586313; PMCID: PMC3744195.

Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Genet*. 2015 Jul;16(7):421-33. doi: 10.1038/nrg3965. Epub 2015 Jun 16. PMID: 26077373.

Karlsen NS, Karlsen MA, Høgdall CK, Høgdall EV. HE4 tissue expression and serum HE4 levels in healthy individuals and patients with benign or malignant tumors: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014 Nov;23(11):2285-95. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0447. Epub 2014 Aug 28. PMID: 25169975.

Kay R, Rosten PM, Humphries RK. CD24, a signal transducer modulating B cell activation responses, is a very short peptide with a glycosyl phosphatidylinositol membrane anchor. *J Immunol*. 1991 Aug 15;147(4):1412-6. PMID: 1831224.

Kay R, Takei F, Humphries RK. Expression cloning of a cDNA encoding M1/69-J11d heat-stable antigens. *J Immunol*. 1990 Sep 15;145(6):1952-9. PMID: 2118158.

Khalique S, Banerjee S. Nintedanib in ovarian cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017 Sep;26(9):1073-1081. doi: 10.1080/13543784.2017.1353599. PMID: 28721753.

Khordadmehr M, Shahbazi R, Sadreddini S, Baradaran B. miR-193: A new weapon against cancer. *J Cell Physiol*. 2019 Aug;234(10):16861-16872. doi: 10.1002/jcp.28368. Epub 2019 Feb 19. PMID: 30779342.

Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias.

Cell. 2003 Oct 17;115(2):209-16. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00801-8. Erratum in: Cell. 2003 Nov 14;115(4):505. PMID: 14567918.

Köbel M, Kang EY. The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification. *Cancers (Basel)*. 2022 Jan 14;14(2):416. doi: 10.3390/cancers14020416. PMID: 35053578; PMCID: PMC8774015.

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. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64398-2. PMID: 12368195; PMCID: PMC1867310.

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. doi: 10.1002/pros.10324. PMID: 14716744.

Kurman RJ, Shih IeM. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol*. 2016 Apr;186(4):733-47. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.11.011. PMID: 27012190; PMCID: PMC5808151.

Kuroki L, Guntupalli SR. Treatment of epithelial ovarian cancer. *BMJ*. 2020 Nov 9;371:m3773. doi: 10.1136/bmj.m3773. PMID: 33168565.

Ladewig E, Okamura K, Flynt AS, Westholm JO, Lai EC. Discovery of hundreds of mirtrons in mouse and human small RNA data. *Genome Res*. 2012 Sep;22(9):1634-45. doi: 10.1101/gr.133553.111. PMID: 22955976; PMCID: PMC3431481.

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. doi: 10.1038/ng865. Epub 2002 Mar 18. PMID: 11896390.

Lebreton S, Paladino S, Zurzolo C. Clustering in the Golgi apparatus governs sorting and function of GPI-APs in polarized epithelial cells. *FEBS Lett*. 2019 Sep;593(17):2351-2365. doi: 10.1002/1873-3468.13573. Epub 2019 Sep 2. PMID: 31400147.

Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993 Dec 3;75(5):843-54. doi: 10.1016/0092-8674(93)90529-y. PMID: 8252621.

Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Droscha initiates microRNA processing. *Nature*. 2003 Sep 25;425(6956):415-9. doi: 10.1038/nature01957. PMID: 14508493.

Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J*. 2002 Sep 2;21(17):4663-70. doi: 10.1093/emboj/cdf476. PMID: 12198168; PMCID: PMC126204.

Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, Kim VN. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J*. 2004 Oct 13;23(20):4051-60. doi: 10.1038/sj.emboj.7600385. Epub 2004 Sep 16. PMID: 15372072; PMCID: PMC524334.

Leijen S, van Geel RM, Sonke GS, de Jong D, Rosenberg EH, Marchetti S, Pluim D, van Werkhoven E, Rose S, Lee MA, Freshwater T, Beijnen JH, Schellens JH. Phase II Study of WEE1 Inhibitor AZD1775 Plus Carboplatin in Patients With TP53-Mutated Ovarian Cancer Refractory or Resistant to First-Line Therapy Within 3 Months. *J Clin Oncol*. 2016 Dec 20;34(36):4354-4361. doi: 10.1200/JCO.2016.67.5942. Epub 2016 Oct 28. PMID: 27998224.

Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol*. 2010 Sep;177(3):1053-64. doi: 10.2353/ajpath.2010.100105. Epub 2010 Jul 22. PMID: 20651229; PMCID: PMC2928939.

Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell*. 2003 Dec 26;115(7):787-98. doi: 10.1016/s0092-8674(03)01018-3. PMID: 14697198.

Lheureux S, Braunstein M, Oza AM. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine. *CA Cancer J Clin*. 2019 Jul;69(4):280-304. doi: 10.3322/caac.21559. Epub 2019 May 17. PMID: 31099893.

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. doi: 10.1186/s12920-020-00830-w. PMID: 33371893; PMCID: PMC7771066.

Li H, Xu Y, Qiu W, Zhao D, Zhang Y. Tissue miR-193b as a Novel Biomarker for Patients with Ovarian Cancer. *Med Sci Monit*. 2015 Dec 16;21:3929-34. doi: 10.12659/msm.895407. PMID: 26675282; PMCID: PMC4687946.

Liu J, Carmell MA, Rivas FV, Marsden CG, Thomson JM, Song JJ, Hammond SM, Joshua-Tor L, Hannon GJ. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. *Science*. 2004 Sep 3;305(5689):1437-41. doi: 10.1126/science.1102513. Epub 2004 Jul 29. PMID: 15284456.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.

Lu YC, Chang JT, Chan EC, Chao YK, Yeh TS, Chen JS, Cheng AJ. miR-196, an Emerging Cancer Biomarker for Digestive Tract Cancers. *J Cancer*. 2016 Mar 20;7(6):650-5. doi: 10.7150/jca.13460. PMID: 27076845; PMCID: PMC4829550.

Malvezzi M, Carioli G, Rodriguez T, Negri E, La Vecchia C. Global trends and predictions in ovarian cancer mortality. *Ann Oncol*. 2016 Nov;27(11):2017-2025. doi: 10.1093/annonc/mdw306. Epub 2016 Sep 5. PMID: 27597548.

Marech I, Patruno R, Zizzo N, Gadaleta C, Introna M, Zito AF, Gadaleta CD, Ranieri G. Masitinib (AB1010), from canine tumor model to human clinical development: where we are? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2014 Jul;91(1):98-111. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.12.011. Epub 2013 Dec 17. PMID: 24405856.

Mărginean CO, Mărginean C, Chinceșan M, Mărginean MO, Meliț LE, Săsăran V, Mărginean CD. Pediatric ovarian tumors, a challenge for pediatrician and gynecologist: Three case reports (CARE compliant). *Medicine (Baltimore)*. 2019 Apr;98(16):e15242. doi: 10.1097/MD.00000000000015242. PMID: 31008957; PMCID: PMC6494269.

Merritt WM, Lin YG, Han LY, Kamat AA, Spannuth WA, Schmandt R, Urbauer D, Pennacchio

LA, Cheng JF, Nick AM, Deavers MT, Mourad-Zeidan A, Wang H, Mueller P, Lenburg ME, Gray JW, Mok S, Birrer MJ, Lopez-Berestein G, Coleman RL, Bar-Eli M, Sood AK. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2008 Dec 18;359(25):2641-50. doi: 10.1056/NEJMoa0803785. Erratum in: *N Engl J Med.* 2010 Nov 4;363(19):1877. PMID: 19092150; PMCID: PMC2710981.

Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A, Fabbro M, Ledermann JA, Lorusso D, Vergote I, Ben-Baruch NE, Marth C, Mađry R, Christensen RD, Berek JS, Dørum A, Tinker AV, du Bois A, González-Martín A, Follana P, Benigno B, Rosenberg P, Gilbert L, Rimel BJ, Buscema J, Balsler JP, Agarwal S, Matulonis UA; ENGOT-OV16/NOVA Investigators. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2016 Dec 1;375(22):2154-2164. doi: 10.1056/NEJMoa1611310. Epub 2016 Oct 7. PMID: 27717299.

Mobeen S, Apostol R. Ovarian Cyst. [Updated 2022 Jun 13]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560541/>

Montagnana M, Benati M, Danese E. Circulating biomarkers in epithelial ovarian cancer diagnosis: from present to future perspective. *Ann Transl Med.* 2017 Jul;5(13):276. doi: 10.21037/atm.2017.05.13. PMID: 28758102; PMCID: PMC5515813.

Montagnana M, Danese E, Giudici S, Franchi M, Guidi GC, Plebani M, Lippi G. HE4 in ovarian cancer: from discovery to clinical application. *Adv Clin Chem.* 2011;55:1-20. PMID: 22126021.

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. doi: 10.5114/pjp.2013.38135. PMID: 24166603.

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. doi: 10.1155/2020/8379628. PMID: 32231827; PMCID: PMC7086431.

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. doi: 10.1371/journal.pone.0143894. PMID: 26630397; PMCID: PMC4667940.

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. doi: 10.1159/000123612. Epub 2008 Apr 14. PMID: 18417991.

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. doi: 10.1007/s12253-008-9077-1. Epub 2008 Aug 28. PMID: 18752058.

Nakakuma K, Tashiro S, Uemura K, Takayama K. Alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in embryonal carcinoma of the ovary. An 8-year survival case. Cancer. 1983 Oct 15;52(8):1470-2. doi: 10.1002/1097-0142(19831015)52:8<1470::aid-cncr2820520822>3.0.co;2-#. PMID: 6193860.

Nakamura K, Sawada K, Yoshimura A, Kinose Y, Nakatsuka E, Kimura T. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in ovarian cancer. Mol Cancer. 2016 Jun 24;15(1):48. doi: 10.1186/s12943-016-0536-0. PMID: 27343009; PMCID: PMC4921011.

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. doi: 10.3892/or.2017.5583. Epub 2017 Apr 19. PMID: 28440503; PMCID: PMC5442399.

Nakano H, Yamada Y, Miyazawa T, Yoshida T. Gain-of-function microRNA screens identify miR-193a regulating proliferation and apoptosis in epithelial ovarian cancer cells. Int J Oncol. 2013 Jun;42(6):1875-82. doi: 10.3892/ijo.2013.1896. Epub 2013 Apr 15. PMID: 23588298; PMCID: PMC3699598.

NCCN guidelines for the management of ovarian cancer - [https://www.nccn.org/guidelines/category\\_1](https://www.nccn.org/guidelines/category_1) (hozzáférés dátuma: 2024. 01. 02.)

Nemzeti Rákregiszter; <https://onkol.hu/nemzeti-rakregiszter/> (hozzáférés dátuma: 2024. 01. 02.)

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.

O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Aug 3;9:402. doi: 10.3389/fendo.2018.00402. PMID: 30123182; PMCID: PMC6085463.

Oneda E, Zorzi F, Gorio A, Quaglia F, Abeni C, Rota L, Zaniboni A. Differential Diagnosis of Small Cell Carcinoma of the Ovary or Ovarian Metastases of Small Cell Carcinoma of the Lung: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Oncol*. 2020 Jul 10;13(2):822-828. doi: 10.1159/000507978. PMID: 32884525; PMCID: PMC7443635.

Ozols RF. Treatment goals in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2005 May-Jun;15 Suppl 1:3-11. doi: 10.1111/j.1525-1438.2005.15351.x. PMID: 15839952.

Paddison PJ, Caudy AA, Bernstein E, Hannon GJ, Conklin DS. Short hairpin RNAs (shRNAs) induce sequence-specific silencing in mammalian cells. *Genes Dev*. 2002 Apr 15;16(8):948-58. doi: 10.1101/gad.981002. PMID: 11959843; PMCID: PMC152352.

Pavlik EJ, Ueland FR, Miller RW, Ubellacker JM, DeSimone CP, Elder J, Hoff J, Baldwin L, Kryscio RJ, van Nagell JR Jr. Frequency and disposition of ovarian abnormalities followed with serial transvaginal ultrasonography. *Obstet Gynecol*. 2013 Aug;122(2 Pt 1):210-217. doi: 10.1097/AOG.0b013e318298def5. PMID: 23969786.

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. doi: 10.1007/s11033-020-05949-8. Epub 2020 Nov 1. PMID: 33130965.

Prat J; FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014 Jan;124(1):1-5. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.10.001. Epub 2013 Oct 22. PMID: 24219974.

Querleu D, Planchamp F, Chiva L, Fotopoulou C, Barton D, Cibula D, Aletti G, Carinelli S,

Creutzberg C, Davidson B, Harter P, Lundvall L, Marth C, Morice P, Rafii A, Ray-Coquard I, Rockall A, Sessa C, van der Zee A, Vergote I, duBois A. European Society of Gynaecological Oncology (ESGO) Guidelines for Ovarian Cancer Surgery. *Int J Gynecol Cancer*. 2017 Sep;27(7):1534-1542. doi: 10.1097/IGC.0000000000001041. PMID: 30814245.

Ramón Y Cajal S, Segura MF, Hümmer S. Interplay Between ncRNAs and Cellular Communication: A Proposal for Understanding Cell-Specific Signaling Pathways. *Front Genet*. 2019 Apr 2;10:281. doi: 10.3389/fgene.2019.00281. PMID: 31001323; PMCID: PMC6454836.

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. doi: 10.1002/ijc.25162. PMID: 20073067.

Ray-Coquard I, Blay JY, Italiano A, Le Cesne A, Penel N, Zhi J, Heil F, Rueger R, Graves B, Ding M, Geho D, Middleton SA, Vassilev LT, Nichols GL, Bui BN. Effect of the MDM2 antagonist RG7112 on the P53 pathway in patients with MDM2-amplified, well-differentiated or dedifferentiated liposarcoma: an exploratory proof-of-mechanism study. *Lancet Oncol*. 2012 Nov;13(11):1133-40. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70474-6. Epub 2012 Oct 17. PMID: 23084521.

Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. 2017 Feb;14(1):9-32. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084. PMID: 28443200; PMCID: PMC5365187.

Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res*. 2004 Oct;14(10A):1902-10. doi: 10.1101/gr.2722704. Epub 2004 Sep 13. PMID: 15364901; PMCID: PMC524413.

Rojas V, Hirshfield KM, Ganesan S, Rodriguez-Rodriguez L. Molecular Characterization of Epithelial Ovarian Cancer: Implications for Diagnosis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2016 Dec 15;17(12):2113. doi: 10.3390/ijms17122113. PMID: 27983698; PMCID: PMC5187913.

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. doi: 10.1016/j.ygyno.2007.08.064. Epub 2007 Sep 27. PMID: 17900673.

Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008;3(6):1101-8. doi: 10.1038/nprot.2008.73. PMID: 18546601.

Schummer M, Ng WV, Bumgarner RE, Nelson PS, Schummer B, Bednarski DW, Hassell L, Baldwin RL, Karlan BY, Hood L. Comparative hybridization of an array of 21,500 ovarian cDNAs for the discovery of genes overexpressed in ovarian carcinomas. *Gene.* 1999 Oct 1;238(2):375-85. doi: 10.1016/s0378-1119(99)00342-x. PMID: 10570965.

Shannon M Grabosch, MD; Chief Editor: Yukio Sonoda, MD: *Ovarian Cancer Staging*  
Updated: Sep 03, 2021

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. doi: 10.18632/oncotarget.22191. PMID: 29262670; PMCID: PMC5732836.

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. doi: 10.1093/carcin/bgn172. Epub 2008 Jul 27. PMID: 18660546.

Shin N, You KT, Lee H, Kim WK, Song M, Choi HJ, Rhee H, Nam SW, Kim H. Identification of frequently mutated genes with relevance to nonsense mediated mRNA decay in the high microsatellite instability cancers. *Int J Cancer.* 2011 Jun 15;128(12):2872-80. doi: 10.1002/ijc.25641. Epub 2010 Oct 26. PMID: 20824714.

Shirai YT, Suzuki T, Morita M, Takahashi A, Yamamoto T. Multifunctional roles of the mammalian CCR4-NOT complex in physiological phenomena. *Front Genet.* 2014 Aug 21;5:286. doi: 10.3389/fgene.2014.00286. PMID: 25191340; PMCID: PMC4139912.

Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin.* 2021 Jan;71(1):7-33. doi: 10.3322/caac.21654. Epub 2021 Jan 12. Erratum in: *CA Cancer J Clin.* 2021 Jul;71(4):359. PMID: 33433946.

Song ZS, Wu Y, Zhao HG, Liu CX, Cai HY, Guo BZ, Xie YA, Shi HR. Association between the rs11614913 variant of miRNA-196a-2 and the risk of epithelial ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2016 Jan;11(1):194-200. doi: 10.3892/ol.2015.3877. Epub 2015 Nov 6. PMID: 26870188; PMCID: PMC4727068.

Springer T, Galfrè G, Secher DS, Milstein C. Monoclonal xenogeneic antibodies to murine cell surface antigens: identification of novel leukocyte differentiation antigens. *Eur J Immunol.* 1978 Aug;8(8):539-51. doi: 10.1002/eji.1830080802. PMID: 81133.

Staicu CE, Predescu DV, Rusu CM, Radu BM, Cretoiu D, Suciu N, Crețoiu SM, Voinea SC. Role of microRNAs as Clinical Cancer Biomarkers for Ovarian Cancer: A Short Overview. *Cells.* 2020 Jan 9;9(1):169. doi: 10.3390/cells9010169. PMID: 31936634; PMCID: PMC7016727.

Stewart C, Ralyea C, Lockwood S. Ovarian Cancer: An Integrated Review. *Semin Oncol Nurs.* 2019 Apr;35(2):151-156. doi: 10.1016/j.soncn.2019.02.001. Epub 2019 Mar 11. PMID: 30867104.

Su N, Peng L, Xia B, Zhao Y, Xu A, Wang J, Wang X, Jiang B. Lyn is involved in CD24-induced ERK1/2 activation in colorectal cancer. *Mol Cancer.* 2012 Jun 26;11:43. doi: 10.1186/1476-4598-11-43. Erratum in: *Mol Cancer.* 2012;11:68. PMID: 22731636; PMCID: PMC3464950.

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. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.06.024. Epub 2014 Jun 30. PMID: 24992675.

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). doi: 10.4238/gmr.15038468. PMID: 27706635.

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.

Surveillance report (exceptional review) 2017 – Ovarian cancer: recognition and initial management (2011) NICE guideline CG122 [Internet]. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2017 Nov 15. PMID: 31815390.

Szekanecz E, Sándor Z, Antal-Szalmás P, Soós L, Lakos G, Besenyei T, Szentpétery A, Simkovics E, Szántó J, Kiss E, Koch AE, Szekanecz Z. Increased production of the soluble tumor-associated antigens CA19-9, CA125, and CA15-3 in rheumatoid arthritis: potential adhesion molecules in synovial inflammation? *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Jun;1108:359-71. doi: 10.1196/annals.1422.037. PMID: 17893999.

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. doi: 10.1073/pnas.0605298103. Epub 2006 Aug 2. PMID: 16885212; PMCID: PMC1567904.

Tan DS, Rothermundt C, Thomas K, Bancroft E, Eeles R, Shanley S, Ardern-Jones A, Norman A, Kaye SB, Gore ME. "BRCAness" syndrome in ovarian cancer: a case-control study describing the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 1;26(34):5530-6. doi: 10.1200/JCO.2008.16.1703. Epub 2008 Oct 27. PMID: 18955455.

Tanzer A, Amemiya CT, Kim CB, Stadler PF. Evolution of microRNAs located within Hox gene clusters. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*. 2005 Jan 15;304(1):75-85. doi: 10.1002/jez.b.21021. PMID: 15643628.

Testa U, Pelosi E, Castelli G, Labbaye C. miR-146 and miR-155: Two Key Modulators of Immune Response and Tumor Development. *Noncoding RNA*. 2017 Jun 26;3(3):22. doi: 10.3390/ncrna3030022. PMID: 29657293; PMCID: PMC5831915.

Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, Contu G, Grandi G, Cagnacci A, Schilder RJ, Cortesi L. Hereditary ovarian cancer: not only BRCA 1 and 2 genes. *Biomed Res Int*. 2015;2015:341723. doi: 10.1155/2015/341723. Epub 2015 May 17. PMID: 26075229; PMCID: PMC4449870.

Tuxen MK. Tumor marker CA125 in ovarian cancer. *J Tumor Markers Oncol* 2001;16:49-68.

Vasey PA, Atkinson R, Coleman R, Crawford M, Cruickshank M, Eggleton P, Fleming D, Graham J, Parkin D, Paul J, Reed NS, Kaye SB. Docetaxel-carboplatin as first line chemotherapy for epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer*. 2001 Jan;84(2):170-8. doi: 10.1054/bjoc.2000.1572. PMID: 11161372; PMCID: PMC2363708.

Vasey PA, Paul J, Birt A, Junor EJ, Reed NS, Symonds RP, Atkinson R, Graham J, Crawford SM, Coleman R, Thomas H, Davis J, Eggleton SP, Kaye SB. Docetaxel and cisplatin in combination as first-line chemotherapy for advanced epithelial ovarian cancer. Scottish Gynaecological Cancer Trials Group. *J Clin Oncol*. 1999 Jul;17(7):2069-80. doi: 10.1200/JCO.1999.17.7.2069. PMID: 10561260.

Walker JL, Powell CB, Chen LM, Carter J, Bae Jump VL, Parker LP, Borowsky ME, Gibb RK. Society of Gynecologic Oncology recommendations for the prevention of ovarian cancer. *Cancer*. 2015 Jul 1;121(13):2108-20. doi: 10.1002/cncr.29321. Epub 2015 Mar 27. PMID: 25820366.

Wang Y, Sundfeldt K, Mateoiu C, Shih IeM, Kurman RJ, Schaefer J, Silliman N, Kinde I, Springer S, Foote M, Kristjansdottir B, James N, Kinzler KW, Papadopoulos N, Diaz LA, Vogelstein B. Diagnostic potential of tumor DNA from ovarian cyst fluid. *Elife*. 2016 Jul 15;5:e15175. doi: 10.7554/eLife.15175. PMID: 27421040; PMCID: PMC4946896.

Watson P, Vasen HFA, Mecklin JP, Bernstein I, Aarnio M, Järvinen HJ, Myrthøj T, Sunde L, Wijnen JT, Lynch HT. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome. *Int J Cancer*. 2008 Jul 15;123(2):444-449. doi: 10.1002/ijc.23508. PMID: 18398828; PMCID: PMC2627772.

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. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0606. PMID: 16166435.

Xie M, Li M, Vilborg A, Lee N, Shu MD, Yartseva V, Šestan N, Steitz JA. Mammalian 5'-capped microRNA precursors that generate a single microRNA. *Cell.* 2013 Dec 19;155(7):1568-80. doi: 10.1016/j.cell.2013.11.027. PMID: 24360278; PMCID: PMC3899828.

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. doi: 10.1016/j.apjtm.2016.09.002. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27890373.

Yang JS, Maurin T, Robine N, Rasmussen KD, Jeffrey KL, Chandwani R, Papapetrou EP, Sadelain M, O'Carroll D, Lai EC. Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Aug 24;107(34):15163-8. doi: 10.1073/pnas.1006432107. Epub 2010 Aug 10. PMID: 20699384; PMCID: PMC2930549.

Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev.* 2003 Dec 15;17(24):3011-6. doi: 10.1101/gad.1158803. Epub 2003 Dec 17. PMID: 14681208; PMCID: PMC305252.

Zamagni C, Wirtz RM, De Iaco P, Rosati M, Veltrup E, Rosati F, Capizzi E, Cacciari N, Alboni C, Bernardi A, Massari F, Quercia S, D'Errico Grigioni A, Dietel M, Sehouli J, Denkert C, Martoni AA. Oestrogen receptor 1 mRNA is a prognostic factor in ovarian cancer patients treated with neo-adjuvant chemotherapy: determination by array and kinetic PCR in fresh tissue biopsies. *Endocr Relat Cancer.* 2009 Dec;16(4):1241-9. doi: 10.1677/ERC-08-0342. Epub 2009 Sep 11. PMID: 19749010.

Zarn JA, Zimmermann SM, Pass MK, Waibel R, Stahel RA. Association of CD24 with the kinase c-fgr in a small cell lung cancer cell line and with the kinase lyn in an erythroleukemia cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996 Aug 14;225(2):384-91. doi: 10.1006/bbrc.1996.1184. PMID: 8753773.

Zasławski R, Surowiak P, Zabel M. Klasyczne i nowe molekularne czynniki prognostyczne w

rakach jajnika [Classical and novel molecular prognostic factors in ovarian cancers]. *Pol Merkur Lekarski*. 2005 Dec;19(114):823-7. Polish. PMID: 16521433.

Zeng C, Chen T, Zhang Y, Chen Q. Hedgehog signaling pathway regulates ovarian cancer invasion and migration via adhesion molecule CD24. *J Cancer*. 2017 Feb 25;8(5):786-792. doi: 10.7150/jca.17712. PMID: 28382140; PMCID: PMC5381166.

Zeng Q, Liu M, Zhou N, Liu L, Song X. Serum human epididymis protein 4 (HE4) may be a better tumor marker in early lung cancer. *Clin Chim Acta*. 2016 Apr 1;455:102-6. doi: 10.1016/j.cca.2016.02.002. Epub 2016 Feb 3. PMID: 26851650.

Zhang X, Zhou Y, Chen S, Li W, Chen W, Gu W. LncRNA MACC1-AS1 sponges multiple miRNAs and RNA-binding protein PTBP1. *Oncogenesis*. 2019 Dec 10;8(12):73. doi: 10.1038/s41389-019-0182-7. PMID: 31822653; PMCID: PMC6904680.

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. doi: 10.1038/s41392-020-00258-9. PMID: 32747657; PMCID: PMC7400738.

Zhu J, Zhang G, Lu H. CD24, COX-2, and p53 in epithelial ovarian cancer and its clinical significance. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012 Jun 1;4(8):2645-51. doi: 10.2741/e580. PMID: 22652675.

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. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0221. Epub 2012 Jun 29. PMID: 22752226; PMCID: PMC3438340.

## 11.2 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

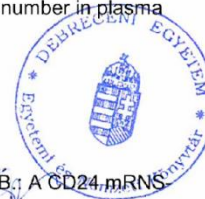
### További közlemények

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., Hegedűs, 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., Hegedűs, 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/jms20184533>  
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 mRNAs 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 alacsony differenciált szerzús 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 tudánymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.04.10.



## **12 Tárgyszavak**

CD24

Egynukleotidos polimorfizmus (SNP)

MikroRNS

Nőgyógyászati onkológia

Petefészekrák

Szabad nukleinsavak

## **13 Key words**

CD24

Single nucleotide polymorphism (SNP)

Gynecological oncology

MicroRNA

Ovarian cancer

Free nucleic acids

## 14 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 Humángenetikai 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 Humángenetikai 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 segítségével és támogató munkájukkal, tanácsaikkal hozzájárultak a kutatómunka létrejöttéhez és szakmai fejlődésemhez.

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

## **15 Függelék – az értekezés alapjául szolgáló közlemények**