

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A miRNS-ek szerepének vizsgálata a glioblastoma
diagnosztikájában és a tumorprogresszió meghatározásában**

Géczi Dóra Anikó

Témavezető: Hádáné Dr. Birkó Zsuzsanna



**DEBRECENI EGYETEM
MOLEKULÁRIS SEJT- ÉS IMMUNBIOLÓGIA DOKTORI
ISKOLA**

Debrecen, 2025

**A MIRNS-EK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A
GLIOBLASTOMA DIAGNOSZTIKÁJÁBAN ÉS A
TUMORPROGRESSZIÓ MEGHATÁROZÁSÁBAN**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében az
Elméleti orvostudományok tudományágban

Írta: **Géczi Dóra Anikó**
okleveles biotechnológus

Készült a Debreceni Egyetem
Molekuláris Sejt- és Immunbiológia doktori iskolája keretében

Témavezető: Hádáné Dr. Birkó Zsuzsanna, PhD

Az értekezés bírálói:

Dr. Nagy Béla, MTA doktora
Dr. Mátés Lajos, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Csósz Éva, MTA doktora
tagok: Dr. Hutóczki Gábor, PhD
Dr. Oláh Csaba, PhD
Dr. Orbán Tamás, PhD
Dr. Órfi Zoltán, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:
Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A” épület
tanterme, 2025. december 8. 13:00 óra

1. Bevezetés

A központi idegrendszert érintő daganatos elváltozások igen jól ismert és intenzíven kutatott képviselője az astrocyta eredetű glioblastoma (GBM), mely az egyik legagresszívabb rosszindulatú neoplasztikus elváltozás, egyben az agy és a központi idegrendszer leggyakoribb malignus primer daganata, amely az összes központi idegrendszert érintő tumor 14,5%-át, valamint a rosszindulatú CNS daganatok 48,6%-át teszi ki [Grochans et al., 2022]. A GBM kialakulhat de novo (primer GBM), valamint alacsonyabb grádusú diffúz astrocytómák, illetve anaplasztikus astrocytómák malignus transzformációja (szekunder GBM) révén [Oronsky et al., 2021]. Azonban az esetek túlnyomó többségét (~90%) a de novo forma teszi ki, mely főként az idős betegekben fordul elő és igen gyors kialakulást jellemzi. Ezzel szemben a szekunder változatok a fiatalabb egyéneknél manifesztálódnak, elsősorban a homloklebenyben lokalizálódnak és jelentősen jobb prognózissal társulnak [Ohgaki et al., 2013; Kanderi et al., 2024]. Az idegsebészeti technikák, a terápiás stratégiák, valamint a genetikai és molekuláris biológiai kutatások területén napjainkig elért fejlődés ellenére a kórkép továbbra is rendkívül kedvezőtlen túléléssel jár. Átlagos túlélési ideje mindössze 9-16 hónapra becsülhető, míg az 1 és 5 éves túlélési arány 37,2%-ra, valamint 5,1%-ra tehető. Ezen adatok alapján a GBM az egyik legmagasabb mortalitással járó daganatos megbetegedésnek tekinthető, ezért elengedhetetlen a patofiziológiájának még mélyebb megértése, illetve olyan új

molekuláris markerek azonosítása, melyek segítségével nemcsak szélesebb körű tudományos ismeretekre tehetünk szert a betegség prognosztikáját és diagnosztikáját illetően, hanem közelebb kerülhetünk egy hatékonyabb kezelési stratégia kidolgozásához is [Yao et al., 2018; Taylor et al., 2019; Wang et al., 2021]. Ilyen, a GBM kapcsán vizsgált potenciális marker molekulák lehetnek a mikroRNS-ek (miRNS), melyek az utóbbi évek molekuláris biológiai kutatásainak úgymond forrópontjává váltak. A miRNS-ek olyan rövid, 20-25 nukleotidból álló, fehérjét nem kódoló molekulák melyek a génexpresszió poszttranszkripcionális szintű finomhangolásával a fehérjét kódoló gének igen nagy részét (közel 90%-át) szabályozzák [Jámbor et al., 2019]. Emellett onkogén és tumorszupresszor funkciójuknak köszönhetően különböző sejtelettani folyamatok (például sejtproliferáció, szignál transzdukció, apoptózis) esszenciális közreműködői [Otmáni et al., 2022]. Ezen feladatukat fiziológias körülmények között egyensúlyi állapotukban látják el. Azonban amikor expressziós szintjük módosulása miatt ez a balansz megváltozik különböző betegségeket, köztük daganatképződést indukálhatnak. Ezen ismereteket figyelembevéve elmondható, hogy a miRNS expressziós mintázat jellemzése GBM-ban potenciális diagnosztikai és/vagy prognosztikai eszközként alkalmazható, valamint az azonosított miRNS-ek és azok igazolt célpontjai a jövőben hasznosak lehetnek a megfelelő terápia megválasztását illetően.

2. Célkitűzések

Doktori munkám során célul tűztem ki a glioblastoma (GBM), mint a leggyakoribb és legagresszívabb felnőttkori agydaganat molekuláris genetikai vizsgálatát. Témaválasztásunk jelentőségét a betegség igen magas morbiditási és mortalitási mutatói mellett a mai napig tartó töretlen próbálkozások ellenére sem megoldott korai diagnosztikai és hatékony terápiás stratégiák hiánya indokolja. Ezek mellett szándékunkban állt egy „újszerű” genetikai és módszertani megközelítéssel eredményre jutni a betegség jellemzése és molekuláris hátterének mélyebb megértése érdekében. Ehhez a miRNS-ekre, mint fehérjét nem kódoló, kisméretű, poszttranszkripcionális szintű szabályozó molekulákra esett a választásunk, melyek az utóbbi évtizedek molekuláris biológiai kutatásai során egyre inkább az érdeklődés középpontjába kerültek.

Kutatásom fókuszában elsősorban új generációs technikák ötvözése (Új generációs szekvenálás (NGS), NanoString technológia) állt a miRNS-ek leghatékonyabb és legmegbízhatóbb kimutatása érdekében.

Ezen technikák alkalmazása során alapvető célunk volt:

- A miRNS-ek körében olyan új diagnosztikai és prognosztikai markereket azonosítani, melyek a klinikai gyakorlatban jelenleg alkalmazott molekuláris markereket kiegészítve lehetővé tennék a betegség megbízhatóbb diagnosztizálását, valamint progressziójának pontosabb meghatározását.

- További célunk volt az azonosított miRNS-ek bioinformatikai elemzése, majd az ily módon prediktált miRNS-célok és azok valós funkciójának mélyrehatóbb vizsgálata, illetve megerősítése mRNS szekvenálás segítségével.
- Végezetül a kapott transzkriptomikai eredmények összevetését céloztuk meg folyadék biopsziás mintavételi eljárással nyert plazmaminták bevonásával.

Céljaink megvalósításához a Debreceni Egyetem Idegsebészeti Klinika Agydaganat és Szövetbankjából rendelkezésünkre bocsátott GBM-ás betegektől és a kontrollcsoportnak definiált alacsonyabb grádusú gliómás betegek peritumorális agyi területéről származó szövetminták, valamint a két csoportba sorolható páciensektől vett plazmaminták egyaránt rendelkezésemre álltak.

3. Betegek és módszerek

3.1. Felhasznált agyszövetminták

Kutatásunk első fázisában a fent említett szövet-pool-ból 5-5 db (GBM és kontroll) szövetmintát használtunk fel az új generációs RNS (miRNS és mRNS) szekvenáláshoz. A kontrollként alkalmazott szövetek mindegyike esetén hisztopatológiai vizsgálat segítségével került megerősítésre, hogy egyértelműen peritumorális, tehát tumorsejtektől mentes agyállományról van szó. A kontrollok mellett a betegcsoportba tartozó minták is szövettani megerősítés után kerültek felhasználásra. A GBM csoportban résztvevő egyének

kiválasztása során ügyeltünk arra, hogy egyikük se részesüljön kemoterápiában és/vagy sugárterápiában a kutatásba történő bevonást megelőzően. A GBM-ás betegek átlagéletkora 63 év, míg a kontrollcsoport résztvevőie 64 év volt. A páciensek demográfiai és klinikai adatait a vonatkozó kórlapok áttekintéséből gyűjtöttük össze.

Kutatásunkat az Egészségügyi Minisztérium Orvostudományi Kutatási Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága, Budapest, Magyarország az alábbi engedéllyel jóváhagyta: ETT TUKEB; projektazonosító kód: IV/1753-/2021/EKU.

3.1.2. Totál RNS izolálás agyszövetmintából

Az új generációs miRNS és mRNS szekvenáláshoz szükséges miRNS frakciót is tartalmazó totál RNS-ek tisztítása a fentebb említett 5-5 db szövetmintából a miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Németország) felhasználásával történt. Az izolálás során mind a tíz agyszövetmintából egyaránt 30 mg került felhasználásra a kapott eredmények minél precízebb összevethetősége érdekében. Az izolálást követően az RNS mintáink koncentrációjáról és minőségéről Nanodrop (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) spektrofotométer segítségével, az A260/A280 és A260/A230 abszorbancia arányok alapján nyertünk információt.

3.1.3. Az új generációs szekvenálással nyert adatok bioinformatikai analízise

A miRNS-expressziós mintázat változásának elemzése új generációs kis RNS szekvenálás alkalmazásával, Illumina NextSeq 500 készülékkel valósult meg. A szekvenálások eredményeként nyert eltérő mértékben expresszáldott miRNS-ek és mRNS-ek normalizált eredményeit használtuk fel a transzkriptomban bekövetkezett változások mértékének megállapításához a GBM-kontrollcsoport összehasonlításban. Ezen adatok bioinformatikai kiértékelése az iDEP.96 integrált webes program segítségével történt.

3.1.4. In silico miRNS célgén-predikció, fehérje-fehérje kölcsönhatáson alapuló hálózatok építése, gén ontológiai, funkcionális annotációs és útvonal analízis

Az eltérő mértékű expressziót mutató miRNS-ek lehetséges target génjeit a web-alapú miRNet és miRNA Enrichment Analysis and Annotation (miEAA) programokkal azonosítottuk, melyek a miRTargetLink 2.0 adatbázis alapján végezték a célpontok predikcióját. Az analízis során kizárólag a kísérletesen validált célgéneket vettük figyelembe. Ezek alapján a miRNet segítségével miRNS-target hálózatot alkottunk, melyben a top miRNS-ek a „degree centrality” (fokszám-központság) értékük alapján kerültek meghatározásra. Emellett a NetworkAnalyst 3.0 vizuális analitikai platform segítségével átfogó fehérje-fehérje interakciós (PPI) hálózatokat hoztunk létre a top 50 up- és downregulált mRNS, illetve miRNS felhasználásával, ahol a hub, azaz központi fehérjéket szintén

„degree centrality” értékük szerint rangsoroltuk. Emellett ugyancsak a NetworkAnalyst 3.0 platform használatával hálózat-alapú, biológiai folyamatokat leíró gén ontológiát (GO), valamint funkcionális dúsulási és útvonalelemzést végeztünk a platform Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) adatbázisának útvonal-dúsító opciójával. Az elemzés során a $<0,05$ p -értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

3.1.5. *A miRNS szekvenálás eredményeinek validálása RT-qPCR módszerrel*

A szekvenálással kapott eredmények megerősítését nagyobb mintaszám bevonásával végeztük el, melyhez 28 kontroll és 30 GBM szövetmintát használtunk fel. A méréshez szükséges totál RNS izolálása a 3.1.2. fejezetben említett miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Németország) gyártó által meghatározott protokollja alapján történt úgyszintén 30 mg szövetminta felhasználásával. A tisztított RNS koncentrációját és minőségét Nanodrop spektrofotométerrel (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) mértük. A génexpresszió mértékének meghatározása valós idejű kvantitatív polimeráz láncreakció (RT-qPCR) módszerrel, LightCycler® 96 (Roche, Pleasanton, Kalifornia, USA) készülék segítségével zajlott. Az RT-qPCR mérésekhez szükséges cDNS minták a miRCURY LNA RT Kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével kerültek átírásra a miRNS frakciót is tartalmazó totál RNS mintáinkból. A validálásra az iDEP analízis és a szekvenálás normalizált adatai alapján az alábbi 5 miRNS került kiválasztásra log₂FC értékeik alapján: három upregulálódott (**hsa-miR-196a-5p** (log₂FC =

5,6); **hsa-miR-21-3p** ($\log_2FC = 4,39$); **hsa-miR-10b-3p** ($\log_2FC = 3,66$), valamint két downregulálódott miRNS (**hsa-miR-383-5p** ($\log_2FC = -6,33$); **hsa-miR-490-3p** ($\log_2FC = -5,61$)). A validálni kívánt érett miRNS-ek kimutatására és mennyiségük meghatározására kereskedelmi forgalomban kapható primereket (miRCURY LNA miRNA PCR Assay-t (Qiagen, Hilden, Németország)) alkalmaztunk, referencia génként a hsa-miR-103a-3p-t használva, melynek kiválasztásához a szakirodalomban elérhető ismeretek szolgáltattak alapot.

3.1.6. Az mRNA szekvenálás eredményeinek validálása RT-qPCR módszerrel

Az mRNA szekvenálással nyert eredmények megerősítése ugyanazon totál RNS minták felhasználásával történt, mint a miRNS szekvenálás validálása esetében. Azonban ebben az esetben az RT-qPCR reakcióhoz szükséges cDNS molekulák átírása a Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) segítségével, a gyártó utasításait követve történt. A validálásra az iDEP analízis és a szekvenálás normalizált adatai alapján az alábbi 14 mRNA gén került kiválasztásra \log_2FC értékeik alapján: az upregulációt mutató **E2F2** ($\log_2FC = 3,59$); **HOXD13** ($\log_2FC = 3,69$); **VEGFA** ($\log_2FC = 4,3$); **CDC45** ($\log_2FC = 4,31$); **AURKB** ($\log_2FC = 4,6$); **HOXC10** ($\log_2FC = 4,9$) és **MYBL2** ($\log_2FC = 5,73$); valamint a downregulálódott **FABP6** ($\log_2FC = -2,3$); **PRLHR** ($\log_2FC = -4,37$); **NEUROD6** ($\log_2FC = -5,72$); **CBLN1** ($\log_2FC = -6,16$); **HRH3** ($\log_2FC = -6,39$); **HCN1** ($\log_2FC = -7,36$) és **RELN** ($\log_2FC = -8,5$), melyek relatív expresszióját a

Maxima™ SYBR Green qPCR Master Mix és a Lightcycler® 96 (Roche, Pleasanton, Kalifornia, USA) készülék segítségével határoztuk meg, referencia génként a *GAPDH*-t használva [Kreth et al., 2010]. A miRNS-ek esetében végzett validálással szemben az mRNS-ek kifejeződésének vizsgálata az általunk megtervezett primerekkel történt, mely tervezési folyamatot az NCBI (National Center for Biotechnology Information – Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ) weboldalán elérhető primer tervező felület használatával végeztük.

3.1.7. Statisztikai analízis

A miRNS-ek és az mRNS-ek validálásával kapott adatok eloszlását egységesen a Kolmogorov-Smirnov teszttel elemeztük, melynek átlag és szórás értékeit analizálva információt nyerünk arról, hogy a vizsgált adatok normál eloszlást mutatnak-e. Mivel a mintáink nem mutattak normál eloszlást, az RT-qPCR mérésekből származó normalizált expressziós adatok statisztikai szignifikanciáját nem-parametrikus Mann-Whitney U teszttel számítottuk ki, melynek során a kontroll vs. beteg csoport között megfigyelhető expressziós különbséget $p < 0,05$ értéknél tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A validált miRNS-ek diagnosztikai hatékonyságát az EasyROC (ver. 1.3.1.) analízissel készített ROC-AUC görbék alapján határoztuk meg a szenzitivitási és specificitási értékek alapján. A szignifikancia szint ebben az esetben is $p < 0,05$ volt.

3.1.8. Az új generációs szekvenálással meghatározott miRNS és mRNS expresszió között fennálló korreláció megállapítása

A deregulált miRNS és mRNS adatkészletünk között fennálló korreláció megállapítása érdekében a miRTarBase és a miRTargetLink 2.0 adatbázisok segítségével miRNS-mRNS kölcsönhatásokat vizsgáltunk, amely során csak a kísérletesen validált target gén-interakciókat vettük figyelembe.

3.2. Felhasznált vérplazmaminták

Kutatásunk másik fontos célkitűzéseként a szövetek vizsgálatával kapott eredmények összevetését végeztük el folyadék biopsziás eljárással nyert plazmaminták vizsgálatával. A kutatásba bevont egyének mindegyike ugyancsak a Debreceni Egyetem Idegsebészeti Klinikáján állt kezelés alatt. A munkánkhoz felhasznált vérminták 6, szövettani vizsgálattal igazolt GBM-ás betegről, valamint 6 porckorongsérv miatt kezelés alatt álló egyéntől származtak, mely utóbbiak képezték a vizsgálatunk kontrollcsoportját. Ez utóbbi csoportba sorolt egyének átlagéletkora 58,6 év, míg a GBM-ás csoportban szereplő betegeké 61,3 év volt. A minták kiválasztásánál a szövetmintákhoz hasonlóan ebben az esetben is olyan GBM-ás betegeket válogattunk be, akik a vizsgálatban való részvételt megelőzően se kemoterápiás, se sugárterápiás kezelésben nem részesültek.

Kutatásunkat az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága, Budapest, Magyarország az alábbi engedéllyel hagyta jóvá: ETT TUKÉB; projekt azonosító kód: 51450/2015/EKU (0411/15).

3.2.1. Totál RNS izolálás vérplazmából

A plazmamintákból történő sejtmentes totál RNS tisztítását – beleértve a miRNS-eket is - a miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével végeztük a gyártó utasításai szerint. Az izolálás végeztével Nanodrop (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) spektrofotométer segítségével, az A260/A280 és A260/A230 abszorbancia arányok alapján nyertünk információt az izolált RNS mintáink koncentrációjáról és minőségéről. Az izolálással nyert érett miRNS-ek reverz transzkripcióját a miScript II RT Kit használatával hajtottuk végre a gyártó utasításait követve. A cDNS-ek koncentrációját Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Fischer Scientific, USA) segítségével határoztuk meg.

3.2.2. Differenciálisan expresszált miRNS-ek azonosítása NanoString analízissel

A kontroll, illetve a GBM-ás betegektől származó plazmaminták miRNS expressziós mintázata a NanoString nCounter Analysis System (NanoString Technologies, Seattle, WA, USA) nCounter Human v3 miRNS panel alkalmazásával került meghatározásra, mely az RT-Europe Kutató Központban, Mosonmagyaróváron történt. A kapott adatok háttérkorrekcióját a negatív kontrollok átlagos ± 2 standard deviációjának kivonásával végezték. A sávonkénti technikai eltérést a pozitív kontrollok mértani középértékével korrigálták. A teljes adatkészlet normalizálását 10 háztartási miRNS mértani átlagát véve végezték. Ezt követően a GBM és kontrollcsoport között szignifikánsan eltérő expressziót mutató miRNS-ek azonosítását

nem-parametrikus Mann Whitney U teszttel végeztük, majd a differenciális miRNS-expressziós adatokat az iDEP.95 webes program DESeq2 csomagjával elemeztük ($FC \geq 1$ és $FDR \leq 0,1$ beállítást alkalmazva).

3.2.3. A differenciálisan expresszált miRNS-célpontok in silico predikciója

Az in silico target predikció során először egy miRNS-célgén hálózatot hoztunk létre a web-alapú miRNet vizuális hálózat elemző platform használatával, mely a hálózatban szereplő top miRNS-eket „degree” - és „betweenness (közöttség) centrality” értékeik alapján rangsorolta. Ezen miRNS-ek kísérletesen validált target génjeinek előrejelzését a miRNet, a miRTarBase és a TargetScan szoftverekkel végeztük. Ezt követően a kapott target interakciókat tovább validáltuk a miRWalk2 adatbázis használatával, majd a célgének általános és GBM-specifikus protein-protein interakciós (PPI) hálózatait a NetworkAnalyst 3.0 platformmal hoztuk létre. A differenciálisan expresszáldott miRNS-célgéneket felhasználva a DAVID szoftver segítségével hálózat-alapú, biológiai folyamatokat leíró gén ontológiát (GO), valamint funkcionális dúsulási és útvonalelemzést végeztünk a szoftver KEGG adatbázisának útvonal-dúsító opcióját használva. Az elemzések során a $<0,05$ *p*-értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

3.2.4. A NanoString analízissel kapott eredmények validálása RT-qPCR módszerrel

A NanoString analízissel kapott eredmények megerősítéséhez felhasznált sejtmentes totál RNS-ek kinyerése 28 egészséges kontroll egyén és 26 GBM-ás beteg plazmamintájából történt ugyancsak a miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Hilden, Németország) használatával. Az izolált totál RNS mintákban lévő miRNS-frakció koncentrációját a Qubit® 2.0 (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) miRNS-specifikus fluorometriás eszközzel mértük. Az érett miRNS-ek mennyiségének mérése RT-qPCR mérésekkel történt LightCycler® 96 készülék (Roche, Pleasanton, CA, USA) segítségével. A reakció során kvantitálni kívánt miRNS-ek reverz transzkripciójához a miScript II RT Kit-et (Qiagen, Hilden, Németország) használtuk. Az RT-qPCR mérések során a miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével történt a validálásra véletlenszerűen kiválasztott hsa-miR-433-3p, hsa-miR-29-3p, hsa-miR-195-5p, hsa-miR-362-3p, hsa-miR-133a-3p és a hsa-miR-1286-3p miRNS-ek expressziós szintjének detektálása a GBM-ás és kontrollcsoportban egyaránt, a gyártó által készített specifikus primerek (miScript Primer Assays, Qiagen, Hilden, Németország) alkalmazásával. Referencia miRNS-ként a hsa-miR-16-5p-t használtuk [Ma et al., 2018]. A kísérletek során három párhuzamos mérést végeztünk.

3.2.5. Statisztikai analízis

Az RT-qPCR mérésekkel kapott miRNS expressziós szintek szignifikancia számításait a nem-parametrikus Mann-

Whitney U-tesztel kalkuláltuk, melynek során a $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. Az RT-qPCR mérésekből származó, szignifikáns különbséget mutató miRNS-ek normalizált expressziós adatait felhasználva az easyROC program segítségével ROC-AUC görbékét készítettünk a miRNS-eink diagnosztikai potenciáljának felmérése érdekében. A szignifikancia szint ebben az esetben is $p < 0,05$ volt.

4. Eredmények

4.1. Új generációs szekvenálással azonosított miRNS és mRNS expressziós profil a glioblastomás és a kontrollcsoport szövetmintáiból

A szekvenálásból származó normalizált adatokat felhasználva a miRNS-ek expressziós mintázatában bekövetkező változások vizualizálása érdekében az iDEP.96 program segítségével hierarchikus klaszterelemzést és főkomponens elemzést (PCA) végeztünk a GBM – kontrollcsoport összehasonlításban. A program által, minden egyes minta estében rangsorolt 200 legnagyobb mértékű eltérést mutató miRNS és mRNS gén globális expressziós mintázata alapján képezett klasztereket tekintve elmondható, hogy a vizsgált miRNS-ek és mRNS-ek expressziója egyértelmű különbséget mutat a kontroll- és a GBM-ás csoport között. Mely megállapításunkat a miRNS- és mRNS expressziós értékek eloszlásának jobb értelmezhetősége és vizualizálása érdekében végzett PCA analízisek is megerősítettek, melyek alapján megállapítottuk, hogy a GBM-ás minták expressziós mintázatuk alapján egyetlen

klasztert alkottak, és egyértelműen elkülönültek a kontrollmintáktól. Ez az adateloszlás arra utal, hogy a GBM biogenezise számos miRNS és mRNS expressziójának drasztikus változását indukálta.

4.1.1. Differenciálisan expresszáldott miRNS és mRNS gének azonosítása és validálása RT-qPCR módszerrel

Az iDEP.96 webes program DESeq2 algoritmusával, FDR <0,05 és FC> 2 küszöbértékek alkalmazása mellett összesen 117 olyan miRNS-t, és 1590 olyan mRNS-t sikerült azonosítanunk, amelyek szignifikánsan eltérő expressziót mutattak a GBM-ás betegek mintáiban a kontrollmintákkal összevetve. Ezek közül 35 miRNS és 365 mRNS upregulációt ($\log_2FC \geq 1$), míg 82 miRNS és 1225 mRNS downregulációt ($\log_2FC \leq -1$) mutatott. A validálásra kiválasztott 3.1.5. és 3.1.6. fejezetekben leírt miRNS-ek és mRNS-ek esetében végzett RT-qPCR méréseket követő Mann-Whitney U teszt segítségével kalkulált p -értékek alapján mindhárom upregulált (hsa-miR-196a-5p: $p < 0,00001$; hsa-miR-21-3p: $p < 0,00056$; hsa-miR-10b-3p: $p < 0,00001$) és mindkét downregulált (hsa-miR-383-5p: $p < 0,00028$; hsa-miR-490-3p: $p < 0,00056$) miRNS, valamint mind a hét up- (E2F2: $p = 0,00056$; HOXD13: $p < 0,00001$; VEGFA: $p < 0,00001$; CDC45: $p = 0,00024$; AURKB: $p = 0,0001$; HOXC10: $p < 0,00001$ és MYBL2: $p < 0,00001$) és hét downregulált mRNS (FABP6: $p = 0,02088$; PRLHR: $p = 0,00062$; NEUROD6: $p = 0,00252$; CBLN1: $p = 0,00094$; HRH3: $p = 0,00028$; HCN1: $p = 0,00194$ és RELN: $p < 0,00001$) esetében szignifikáns különbséget tapasztaltunk a GBM vs. kontroll csoport összehasonlításban. Így elmondható,

hogy mind a miRNS-ek, mind az mRNS-ek esetében sikeresen megerősítettük a szekvenálás során megfigyelt eltérő expressziót a GBM csoportban a kontrollhoz viszonyítva.

4.1.2. A validált miRNS-ek diagnosztikai hatékonyságának jellemzése EasyROC program segítségével

A validált miRNS-ek normalizált expressziós adatait felhasználva generált ROC-AUC görbék alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált miRNS-eink kiemelkedő diagnosztikai potenciállal jellemezhetők AUC, szenzitivitási és specificitási értékeik alapján, melyek a következőképpen alakultak a hsa-miR-196a-5p, hsa-miR-21-3p, hsa-miR-10b-3p, hsa-miR-383-5p és hsa-miR-490-3p esetében. AUC: 0,96032; 0,97768; 0,99206; 0,9375 és 0,9648. A legmagasabb szenzitivitási értékeket a két downregulálódott miRNS-ünk, a hsa-miR-383-5p (95%) és a hsa-miR-490-3p (95%) esetében figyeltük meg. Valamivel alacsonyabb, de ugyancsak kiemelkedő értékeket kaptunk az upregulálódott hsa-miR-10b-3p (94%), a hsa-miR-21-3p (93,8%) és a hsa-miR-196a-5p (88%) esetében. Az 1-specificitás értékek ettől eltérő sorrendet követtek. Ebben az esetben a legnagyobb értékek az upregulálódott miRNS-ekhez voltak köthetőek. A legmagasabb érték a hsa-miR-10b-3p (100%) esetében volt megfigyelhető, amit a hsa-miR-21-3p (92,9%), a hsa-miR-196a-5p (92%), majd a két downregulálódott hsa-miR-383-5p (95%) és hsa-miR-490-3p (85%) követett.

4.1.3. Az új generáció szekvenálással nyert miRNS és mRNS adatkészlet között fennálló korreláció

Az analízissel kapott korrelációs adatok alapján arra a feltételezésre jutottunk, hogy a GBM-ás páciensekben szignifikáns mértékben up-, vagy downregulálódott miRNS-ek részt vehetnek a sejtciklus (*AURKB*, *CDC45*, *CDK6*), a sejtproliferáció (*EGFR*, *VEGFA*) és az angiogenezis (*VEGFA*) folyamatában szerepet játszó gének kifejeződésének szabályozásában, ezáltal tumornövekedést támogató hatást kifejtve. Továbbá ugyanebben a kontextusban elmondható, hogy kölcsönhatnak olyan upregulált transzkripciós faktorokkal, úgymint az *E2F2* és a *MYBL2*, melyek szabályozzák a sejtciklusban, a sejt differenciációban és a sejtproliferációban részt vevő gének átírását. Ezen felül más target gének (*AJAPI*, *MMP9*, *POSTN*, *STC2*) az adhézió vagy a migráció szabályozásával elősegítik az áttétképződést, míg az upregulált *HOXC10* részt vesz a migrációs kapacitást fokozó gének transzkripciójában. Ezek mellett olyan géneket (*LTBP-1*, *POSTN*) is azonosítottunk, amelyeken keresztül a tumorhoz kapcsolódó makrofágok szabályozó funkciója befolyásolhatja a tumor mikrokozmoszát.

4.2. NanoString nCounter analízissel azonosított eltérő mértékben expresszáladott miRNS-ek a glioblastomás és kontroll egyének plazmamintáiból

A NanoString analízis eredményeként a vizsgált 798 egyedi miRNS-ből 107 mutatott szignifikáns különbséget a daganatos és

a normál plazmaminták között a szűrési és differenciális expressziós elemzést követően. A kapott expressziós adatokat a fold-change (FC) és hamis felfedezési arány (FDR – false discovery rate) cut-off határértékeihez (\log_2FC 1 és FDR 0,1) igazítva csupán egyetlen miRNS, a hsa-miR-181a-3p mutatott downregulációt és összesen 52 miRNS mutatott upregulációt. A szakirodalom, valamint a miRCancer és miR2Disease adatbázisokban történő keresésünk eredménye alapján elmondható, hogy az általunk azonosított eltérő mértékű expressziót mutató miRNS-ek többségéről (~ 94%) már korábban kiderült, hogy különböző rosszindulatú daganatokkal, illetve közülük jónéhányan (~ 57%) a GBM-val is összefüggésbe hozhatóak. Azonban a GBM-hoz köthető, eddig még más kutatócsoportok által le nem írt 2 új asszociációt is azonosítottunk. Ezek a hsa-miR-1252-5p és a hsa-miR-591.

4.2.1. A NanoString nCounter analízis során eltérő mértékben expresszáldott miRNS-ek validálása RT-qPCR módszerrel

A NanoString analízissel kapott eredmények validálására véletlenszerűen kiválasztott miRNS-ek közül a hsa-miR-433-3p, a hsa-miR-195-5p és a hsa-miR-29a-3p esetében sikeresen megerősítettük azok szignifikánsan megnövekedett expressziós szintjét a GBM-ás csoportban. A Kruskal-Wallis p -értékek a hsa-miR-433-3p esetében $p= 0,00714$ -nek a hsa-miR-195-5p esetén $p= 0,0466$ -nek, míg a hsa-miR-29a-3p esetében $p= 0,0041$ -nek adódtak, míg a hsa-miR-362-3p és a hsa-miR-133a-3p esetében sem a GBM-ás, sem az egészséges kontrollmintákban nem tudtunk expressziót kimutatni. Eredményeinkhez hasonlóan

Wang és munkatársai szintén kimutatták a hsa-miR-195-5p fokozott expresszióját GBM-ás betegek vérmintáiban. Feltételezésük szerint ez a miRNS a zsírsav metabolizmus szabályozásában működhet közre GBM-ban [Wang & Lu, 2020]. Egyes megfigyelések szerint a relapszussal jellemezhető daganatos betegségek szoros összefüggést mutatnak bizonyos anyagcsere rendellenességekkel, mint például a zsírsav bioszintézis csökkenése, melyről megállapították, hogy szerepet játszik több daganatos betegség patogenezisében [Kannan et al., 1980]. A hsa-miR-195 kifejeződését vizsgálva Jia és munkatársai arra a következtetésre jutottak, hogy ezen miRNS fokozott expressziója hosszabb medián túlélési idővel társítható (56,53 hónap), szemben a csökkent kifejeződést mutató betegekkel, akik esetében ez az érték 15 hónapnak adódott. Továbbá az általuk végzett, túlélés vizsgálatára irányuló többváltozós Cox-regressziós analízis azt mutatta, hogy a magas hsa-miR-195 szint a betegség csökkent mortalitásával járt együtt [Jia et al., 2020]. A következő validált miRNS-ünk, a hsa-miR-29a esetében Zhao és munkatársai megállapították, hogy ezen miRNS aktiválja a GBM növekedésének és inváziójának komplex poszttranszkripcionális programját a PTEN, az EphB3 és a SOX4 downregulálásán keresztül, ezzel támogatva a GBM agresszív természetét. Megfigyelték továbbá, hogy a hsa-miR-29a fokozott expressziója korrelációt mutat a betegek csökkent túlélésével [Zhao et al., 2019]. Az utolsó általunk azonosított keringő miRNS-t, a hsa-miR-433-3p-t illetően korábbi tanulmányok is leírták deregulációját különböző daganatos megbetegedésekben és szignifikáns asszociációt találtak ezen miRNS megváltozott

expressziója és a betegségek klinikai kimenetele között. Azonban eredményeinkkel ellentétben a hsa-miR433-3p downregulációját figyelték meg többek között gyomor karcinómában és hepatitis B-vírussal asszociált hepatocelluláris karcinómában [Luo et al., 2009; Wang et al., 2012]. Ennek az ellentétes eredménynek számos oka lehet, beleértve a mintaforrásokat, a kimutatási módszerek és a tumor altípusok közötti különbségeken túl az egyéni különbségeket is. Éppen ezért további vizsgálatokra van szükség a hsa-miR-433-3p GBM-ban betöltött szerepének további értékeléséhez.

4.2.2. A validált miRNS-ek diagnosztikai hatékonyságának jellemzése EasyROC program segítségével

A validálásból származó normalizált expressziós adatokat felhasználva generált ROC-AUC görbék AUC, szenzitivitási és specificitási értékei alapján megállapítottuk, hogy a két csoport között szignifikánsan eltérő expressziót mutató hsa-miR-433-3p, hsa-miR-195-5p és hsa-miR-29a-3p AUC értékei 0,98214-nek, 0,9704-nek és 0,98214-nek adódtak, melyek mindegyike kiemelkedő diagnosztikai potenciállal ruházta fel a vizsgált miRNS-eket, ezáltal előrejelezve esetleges biomarkerként történő alkalmazhatóságukat a klinikai gyakorlatban. Ezen feltevésünket a vizsgált miRNS-ek szenzitivitási és specificitási értékei is alátámasztották. Ugyanis a hsa-miR-433-3p és a hsa-miR-29a-3p azonos szenzitivitási (92%) és 1-specificitási (96%) értéke volt megfigyelhető, míg a hsa-miR-195-5p esetében a szenzitivitás (88%) valamivel alacsonyabb volt változatlan 1-specificitás érték (96%) mellett.

4.2.3. A miRNS célpontok gén ontológiai (GO) és útvonal dúsulási elemzése

A miRNS-specifikus targetlistánk felhasználásával végzett GO_BP és KEGG útvonal-alapú funkcionális annotációs elemzésünk feltárta, hogy a deregulált miRNS-ek által poszttranszkripciós szinten szabályozott gének a tumorgenezis szempontjából kulcsfontosságú jelátviteli útvonalakban mutatnak dúsulást. Ehhez kapcsolódóan a biológiai folyamatok között a DNS-metilációt, a fehérjék O-kapcsolt glikolizációját, az RNS polimeráz II promóterről történő transzkripció pozitív és negatív szabályozását, a génexpresszió szabályozását, a mitotikus sejtciklus G1/S átmenet negatív szabályozását és az apoptotikus folyamatokban betöltött szerepüket azonosítottuk. Míg a KEGG útvonal elemzés eredményei alapján számos ráktípus, úgymint a glióma, a prosztatrák, a hólyagrák, a kissejtes tüdőrák, a nem kissejtes tüdőrák, a melanoma, az endometriumrák, a hasnyálmirigyrák és a vírusfertőzésekhez köthető útvonalakkal (hepatitis B, HTLV-I fertőzés) mutatkozott összefüggés.

4.2.4. A miRNS targetek fehérje-fehérje interakciós (PPI) analízise

A target fehérjék és azok funkcionális szempontból fontos interakciós partnereik között fennálló lehetséges kölcsönhatásokat az általános és „cortex” specifikus PPI-hálózatok segítségével térképeztük fel. A fő, biológiailag releváns csomópontokat alkotó fehérjék a következők voltak: BCL2, RB1, PTEN, ERBB2, CCND1, ZEB1, FSCN1, WNT1, XIAP, FOXO1,

UBA2, DNMT3B, ANXA2 és WEE1. Eredményeink alapján elmondható, hogy mindkét hálózatban lényegében ugyanazokat a fehérjéket figyeltük meg, amiből arra következtethetünk, hogy a eltérő mértékben expresszáldott miRNS-ek olyan célgéneket szabályoznak, amelyek a tumorképződést kiváltó alapvető folyamatokban vesznek részt. A NetworkAnalyst hálózatelemző platform segítségével olyan folyamatokban figyeltünk meg dúsulást, - a teljesség igénye nélkül-, mint a sejtciklus, a vírusos karcinogenezis, az ubiquitin-mediált proteolízis, az apoptózis, a transzkripció szabályozási zavar rákban, a glióma genezis, az EGFR tirozin kináz inhibitor rezisztencia vagy a FoxO-, a p53-, az ErbB-, a PI3K-Akt-, és a neurotrofin jelátviteli útvonalak. A kulcsfontosságú biológiai folyamatok közé tartozott a sejtciklus, az apoptózis, a fehérjemódosító folyamatok, valamint a sejttanyagszere folyamatok pozitív és negatív szabályozása. A molekuláris funkciók tekintetében az alábbiak dúsulása volt a legjelentősebb: enzim-kötés, a transzkripció negatív és pozitív szabályozása, transzkripció faktor-kötés, kináz-kötés és a kromatin-kötés.

A dúsulási elemzések eredményei alapján kijelenthető, hogy a legtöbb miRNS-target részt vesz a tumorképződés szempontjából kritikus jelátviteli útvonalakban és biológiai folyamatokban, ami arra utal, hogy a keringő miRNS-ek potenciális szabályozó molekulák lehetnek a tumorgenezis folyamatában. Ugyanakkor az adatok azt is szemléltetik, hogy ezek a megfigyelések nem kizárólag egy adott tumortípusra specifikusak. Azonban a hálózat alapú megközelítés olyan új fehérjék és interakciók felfedezésének eszközét biztosíthatja,

amelyek fizikai és funkcionális kölcsönhatásban állnak az úgynevezett magfehérjékkel, ezáltal új daganathoz köthető géneket vagy biomarkereket képviselhetnek.

5. Értekezés új tudományos eredményei

- A hsa-miR-196a-5p, a hsa-miR-10b-3p, a hsa-miR-21-3p, a hsa-miR-383-5p és a hsa-miR-490-3p szignifikánsan eltérő expressziót mutatott a glioblastomában szenvedő betegek szövetmintáiban. Emellett kiemelkedő diagnosztikai mutatókkal jellemezhetőek, így ígéretes marker molekulái lehetnek a betegségnek.
- A *MYBL2*, *AURKB*, *VEGFA*, *CDC45*, *E2F2*, *HOXC10*, *HOXD13*, *HRH3*, *CBLNI*, *RELN*, *HCN1*, *NEUROD6*, *PRLHR*, *FABP6* gének midegyike esetében szignifikáns deregulációt figyeltünk meg a glioblastomás betegek szövetmintáiban.
- Kutatásunk eredményeként egy olyan 5 miRNS-t és 14 mRNS-t tartalmazó panelt állítottunk össze, amely segíthet a glioblastoma tumorgenezisének jobb megértésében és szövetmintákon alapuló diagnosztizálásában a magyar populációban.
- A szövetmintákon túl, a glioblastomás betegektől származó plazmamintákból is sikeresen azonosítottunk eltérő expressziót mutató miRNS-eket. 53 szignifikáns deregulációval jellemezhető miRNS-t detektáltunk.

- A validálás során a hsa-miR-29a-3p, a hsa-miR-195-5p és a hsa-miR 433-3p expressziója szignifikánsan magasabbnak bizonyult a glioblastomás betegek plazmamintáiban. Ezen miRNS-ek a szövetmintákban azonosított miRNS-ekhez hasonlóan kiváló diagnosztikai potenciállal rendelkeznek, így értékes non-invazív biomarkerei lehetnek a betegségnek.
- Ebben a földrajzi régióban mi végeztük először glioblastomás betegek szövetmintáinak miRNS és mRNS, illetve plazmamintáinak miRNS profilozását.

Úgy vélem, hogy eredményeink a jövőben jó alapját képezhetik egy nagyszámú prospektív kohorszvizsgálatnak további validálás céljából.

6. Összefoglalás

A központi idegrendszert érintő daganatos betegségeket tekintve magasan a glioblastoma (GBM) jelenti a legnagyobb kihívást mind az egészségügyi ellátórendszerben, mind az alap kutatásban tevékenykedők számára. A daganat nagyfokú heterogenitásából és infiltrációs képességéből fakadó terápiás nehézségek, valamint fokozott recidíva hajlama miatt esszenciális fontosságú kialakulásának még mélyebb megértése. Ezzel összefüggésben szükséges további kulcs molekulák azonosítása, melyek új terápiás és/vagy prognosztikai célpontokként szolgálhatnak, lehetővé téve a betegség hatékonyabb kezelését, jobb kimenetelét és a túlélési idő növekedését. Az ebben történő előrelépés reményében a jelenkori molekuláris biológia területén kiemelkedő figyelemnek örvendő miRNS-ekre esett a választásunk, mely molekulák, mint poszttranszkripcionális szabályozók, nélkülözhetetlen biológiai folyamatok regulációjában vesznek részt.

Doktori munkám során a mai napig is gold standard eljárásként alkalmazott szövetbiopsziával nyert agyszövetminták miRNS profilját határoztam meg új generációs kis RNS szekvenálással, melynek elsődleges célja ezen molekulák GBM tumorigenezisben betöltött szerepének megismerése volt. Kutatásunk által egy olyan, öt miRNS-ből (hsa-miR-196a-5p, hsa-miR-10b-3p, hsa-miR-21-3p, hsa-miR-383-5p és hsa-miR-490-3p) álló, GBM-ra specifikus miRNS panelt azonosítottunk sikeresen, melyek a daganatképződésben igazolt szerepükön túl

diagnosztikai markerekként is funkcionálhatnak. Emellett, szintén új generációs RNS szekvenálás alkalmazásával kívántuk igazolni a GBM-ára jellemző, deregulációt mutató miRNS-ek valós szabályozó funkcióját. Ennek során sikeresen identifikáltunk 14 mRNS molekulát (MYBL2, AURKB, VEGFA, CDC45, E2F2, HOXC10, HOXD13, HRH3, CBLN1, RELN, HCN1, NEUROD6, PRLHR, FABP6), melyek a deregulált miRNS-ek szabályozása alatt állnak és szignifikánsan eltérő expressziót mutattak GBM-ban. Ezt követően célunk volt az öt validált miRNS plazmamintákban történő kimutatása is RT-qPCR módszerrel, melynek során azonban egyik miRNS esetében sem sikerült mérhető amplifikációt detektálnunk.

Így kutatásunk második felében eltérő elven alapuló módszer alkalmazásával céloztuk meg a folyadék biopsziával nyert plazmaminták miRNS expressziós profiljának feltérképezését. A NanoString módszer eredményeinek validálása során sikerrel azonosítottunk három keringő miRNS-t (hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-195-5p, hsa-miR-433-3p), melyek részt vehetnek a GBM kialakulásában. Kutatásunk jelentőségét a betegség magas mortalitási és morbiditási mutatói mellett az adja, hogy analíziseinket valódi betegminták segítségével végeztük, melyek a lehető legnagyobb mértékben képesek reprezentálni a betegség során kialakuló változásokat.

7. Irodalomjegyzék

Grochans S, Cybulska AM, Simińska D, Korbecki J, Kojder K, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I. Epidemiology of Glioblastoma Multiforme-Literature Review. *Cancers (Basel)*. 2022 May 13;14(10):2412.

Jámbor I, Szabó K, Zeher M, Papp G. [The importance of microRNAs in the development of systemic autoimmune disorders]. *Orv Hetil*. 2019; 160(15): 563–572.

Jia Y, Tian Y, An S, Yang D. Effects of microRNA-195 on the Prognosis of Glioma Patients and the Proliferation and Apoptosis of Human Glioma Cells. *Pathol Oncol Res*. 2020 Apr;26(2):753-763. doi: 10.1007/s12253-019-00622-3. Epub 2019 Feb 26. PMID: 30806889.

Kanderi T, Munakomi S, Gupta V. Glioblastoma Multiforme. [Updated 2024 May 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558954/>

Kannan R, Lyon I, Baker N. Dietary control of lipogenesis in vivo in host tissues and tumors of mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *Cancer Res*. 1980 Dec;40(12):4606-11. PMID: 7438094.

Kreth S, Heyn J, Grau S, Kretschmar HA, Egensperger R, Kreth FW. Identification of valid endogenous control genes for determining gene expression in human glioma. *Neuro Oncol*.

2010 Jun;12(6):570-9. doi: 10.1093/neuonc/nop072. Epub 2010 Feb 5. PMID: 20511187; PMCID: PMC2940642.

Luo H, Zhang H, Zhang Z, Zhang X, Ning B, Guo J, Nie N, Liu B, Wu X. Down-regulated miR-9 and miR-433 in human gastric carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009 Jun 16;28(1):82. doi: 10.1186/1756-9966-28-82. PMID: 19531230; PMCID: PMC2739520.

Ma C, Nguyen HPT, Luwor RB, Stylli SS, Gogos A, Paradiso L, Kaye AH, Morokoff AP. A comprehensive meta-analysis of circulation miRNAs in glioma as potential diagnostic biomarker. *PLoS One.* 2018 Feb 14;13(2):e0189452. doi: 10.1371/journal.pone.0189452. PMID: 29444091; PMCID: PMC5812551.

Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2013 Feb 15;19(4):764-72. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3002. Epub 2012 Dec 3. PMID: 23209033.

Oronsky B, Reid TR, Oronsky A, Sandhu N, Knox SJ. A Review of Newly Diagnosed Glioblastoma. *Front Oncol.* 2021 Feb 5;10:574012. doi: 10.3389/fonc.2020.574012. PMID: 33614476; PMCID: PMC7892469.

Otmani K, Rouas R, Lewalle P. OncomiRs as noncoding RNAs having functions in cancer: Their role in immune suppression and clinical implications. *Front Immunol.* 2022 Sep 16;13:913951. doi: 10.3389/fimmu.2022.913951. PMID: 36189271; PMCID: PMC9523483.

Taylor OG, Brzozowski JS and Skelding KA (2019) Glioblastoma Multiforme: An Overview of Emerging Therapeutic Targets. *Front. Oncol.* 9:963.

Wang W, Zhao LJ, Tan YX, Ren H, Qi ZT. Identification of deregulated miRNAs and their targets in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2012 Oct 14;18(38):5442-53. doi: 10.3748/wjg.v18.i38.5442. PMID: 23082062; PMCID: PMC3471114.

Wang WY, Lu WC. Reduced Expression of hsa-miR-338-3p Contributes to the Development of Glioma Cells by Targeting Mitochondrial 3-Oxoacyl-ACP Synthase (OXSM) in Glioblastoma (GBM). *Onco Targets Ther.* 2020 Sep 24;13:9513-9523. doi: 10.2147/OTT.S262873. PMID: 33061435; PMCID: PMC7522303.

Wang Z, Peet NP, Zhang P, Jiang Y, Rong L. Current Development of Glioblastoma Therapeutic Agents. *Mol Cancer Ther.* 2021 Sep;20(9):1521-1532.

Yao, M., Li, S., Wu, X. et al. Cellular origin of glioblastoma and its implication in precision therapy. *Cell Mol Immunol* 15, 737–739 (2018).

Zhao Y, Huang W, Kim TM, Jung Y, Menon LG, Xing H, Li H, Carroll RS, Park PJ, Yang HW, Johnson MD. MicroRNA-29a activates a multi-component growth and invasion program in glioblastoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019 Jan 25;38(1):36. doi: 10.1186/s13046-019-1026-1. PMID: 30683134; PMCID: PMC6347789.



Nyilvántartási szám: DEENK/423/2025.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Géczai Dóra
Doktori Iskola: Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Géczai, D.**, Klekner, Á., Balogh, I., Penyige, A., Szilágyi, M., Virga, J., Bakó, A., Nagy, B., Torner, B., Hádáné Birkó, Z.: Identification of Deregulated miRNAs and mRNAs Involved in Tumorigenesis and Detection of Glioblastoma Patients Applying Next-Generation RNA Sequencing.
Pharmaceuticals. 18 (3), 1-29, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ph18030431>
IF: 4.8 (2024)
2. **Géczai, D.**, Nagy, B., Szilágyi, M., Penyige, A., Klekner, Á., Jenei, A., Virga, J., Hádáné Birkó, Z.: Analysis of Circulating miRNA Profile in Plasma Samples of Glioblastoma Patients.
Int. J. Mol. Sci. 22 (10), 1-20, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22105058>
IF: 6.208

További közlemények

3. Torner, B., **Géczai, D.**, Klekner, Á., Balogh, I., Penyige, A., Hádáné Birkó, Z.: Construction of a miRNA Panel for Differentiating Lung Adenocarcinoma Brain Metastases and Glioblastoma.
Cancers. 17 (4), 1-23, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cancers17040581>
IF: 4.4 (2024)





4. Jakab, Á., Emri, T., Csillag, K., Szabó, A., Nagy, F., Baranyai, E., Sajtos, Z., **Géczi, D.**, Antal, K., Kovács, R. L., Szabó, K., Dombrádi, V., Pócsi, I.: The negative effect of protein phosphatase Z1 deletion on the oxidative stress tolerance of *Candida albicans* is synergistic with betamethasone exposure.
J. Fungi. 7 (540), 1-24, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jof7070540>
IF: 5.724

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 21,132

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
11,008**

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

Debrecen, 2025.06.24.

