



A NEOADJUVÁNS KEZELÉS HATÁSA ÉS PROGNOSZTIKAI FAKTOROK VIZSGÁLATA EMLŐDAGANATOS BETEGEKNÉL

Doktori (Ph.D) értekezés tézisei

Dr. Zapf István

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Vezető: Dr. Kovács L. Gábor, akadémikus

„Sebészet és határterületei” című program (B-1/2008)

Programvezető: Prof. Dr. Vereczkei András, egyetemi tanár (PTE, ÁOK)

Témavezető: Dr. Ferencz Andrea, egyetemi docens (Semmelweis Egyetem, ÁOK)

Prof. Dr. Lőrinczy Dénes, egyetemi tanár (PTE, ÁOK)

Pécsi Tudományegyetem, ÁOK

Pécs

2019

1. Bevezetés

Epidemiológia és etiológiai háttér

Az emlődaganat világszerte a leggyakoribb daganatos megbetegedés a nők körében, a nőknél fellépő összes daganatos betegség 22 %-át alkotja. Világirodalmi adatok szerint nyolc nőből egynél élete során biztosan kialakul az emlődaganat valamilyen formája. Magyarországon évente körülbelül 8000 új megbetegedést diagnosztizálnak és mintegy 2800 nő hal meg a betegség következtében, így az emlő tumorok a harmadik leggyakoribb daganatos halálókként szerepelnek. Az emlődaganatok kialakulásában oki tényezőként a genetikai predispozíció, a hormonális egyensúly zavara és bizonyos környezeti faktorok hatása, a családi halmozódás, BRCA-1 és BRCA-2 (Breast Cancer 1-es és 2-es gén) génmutációk szerepelnek. Az emlőrák létrejöttének kockázatát emeli minden endogén vagy exogén petefészek hormon expozíció, így a túl korai menarche, a késői menopauza, a hyperösztrogénizmus, és a több mint 5 éven át tartó antikoncepciós szedés is.

Morfológia, tünettan és diagnosztikai módszerek

Invazív daganat leggyakrabban fájdalommentes csomóként jelentkezik, melyet a beteg saját maga tapint, vagy a kötelező szűrővizsgálat során kerül kimutatásra. A daganat lymphogen úton áttétet képezhet az axilláris nyirokcsomók felé. Az előrehaladott emlődaganat infiltrálhatja a subcutan zsírszövetet, a mellkasfali izomzatot, a bőrt, illetve a mamillát is, azokon behúzódást okozva. Hematogén metasztázis elsősorban a csontokban (70 %), a tüdőben (60 %), a májban és a mellékvesékben alakul ki.

Diagnosztikájában jelenleg a mammográfia és az emlő ultrahang (UH), valamint citológiai vizsgálat core biopsziás, vagy finomtű aspirációs biopsziás (FTAB) mintákból az általánosan elfogadott módszer. A betegség stádiumát a daganat mérete és az áttétes nyirokcsomók száma vagy a távoli áttétek jelenléte határozza meg. A betegségmentes túlélés és az átlagos túlélés szempontjából az egyik legfontosabb prognosztikus faktor az axilláris nyirokcsomó státusz, de bizonyítottan prediktív értékű a szövetek hisztológiai feldolgozása során meghatározott hormon receptorok (ösztrogén-, progeszteron-, herceptin receptor) jelenléte vagy hiánya is. Jelenleg a betegség lefolyásának utánkövetésére a radiológiai módszerek (mammográfia, CT, MRI, PET-CT) mellett a vérből kimutatható egyes tumor markerek (CEA, CA 15.3) használatosak.

Az emlődaganat sebészi kezelése

A XX. század 70-es éveitől a sebészi ellátásban a *mechanikus szemlélet* uralkodott, mely szerint az emlődaganat loco-regionális betegség és a várható túlélést a műtéti radikalitás határozta meg. Így a teljes radikalitásra törekvő, csonkoló műtéteket részesítették előnyben. A XX. század végére kialakult az úgynevezett *biológiai szemlélet*, mely szerint az emlőrák szisztémás betegség, ezért szisztémásan kell kezelni, és nem önmagában a műtéti radikalitás határozza meg a túlélést. Előtérbe kerültek a csökkentett radikalitású úgynevezett emlőmegtartó műtétek (EMM). Nagy klinikai tanulmányok kimutatták, hogy a mastectomia és az irradiációval kiegészített EMM között nincs különbség sem a helyi recidívák, sem pedig a hosszú távú túlélés szempontjából.

Amennyiben szükséges az emlő teljes eltávolítása, akkor a jelenlegi gyakorlatban a *módosított radikális mastectomia* a "gold standard" technika, melynek során az emlő mellett csak az I-es és II-es szintű axilláris nyirokcsomók kerülnek eltávolításra. Korai stádiumú invazív tumorok esetén az onkológiai radikalitás mellett az esztétikum is fontos szerepet játszik az emlő tumorok modern sebészi gyógyításában, ezért az egészséges emlőállomány lehetőség szerinti minél nagyobb megtartására törekszünk, sectoralis excisiót – emlőmegtartó műtétet végzünk. EMM után mindenképpen szükséges a maradék mirigyállomány irradiációja. Bizonyos esetekben további lehetőség a *subcutan mastectomia*, melynek során úgy távolítjuk el a mirigyállományt, hogy közben az emlő bőrét megkíméljük. Csak abban az esetben ajánlott ez a műtét, ha szabad, vagy nyeles lebennnyel, implantátummal, vagy expanderrel történő azonnali emlőrekonstrukcióval ér véget a beavatkozás.

Az axilláris nyirokcsomók ellátásában is felmerült az igény a radikalitás csökkentésére a teljes axilláris nyirokcsomó blockdisszekció miatt gyakran kialakuló lymphoedema és idegfunkció zavar miatt. Bevezetésre került a Sentinel (őrszem) nyirokcsomó biopszia módszere, melynek segítségével lehetséges szelektíven eltávolítani a regionális áttétek legvalószínűbb helyét. Ha ez tumormentes, akkor nem szükséges az összes hónalji nyirokcsomó eltávolítása.

Az emlődaganatos beteg műtéti indikációjának felállítása, adjuváns, illetve neoadjuváns kezelésének meghatározása radiológus, patológus, onkológus és sebész szakorvosokból álló "onko-team" feladata. A sebészi ellátás radikalitását a daganat mérete és az axilláris nyirokcsomók érintettsége határozza meg.

Onkológiai kezelési lehetőségek

Adjuváns kezelés

Adjuváns kezelésként posztoperatív irradiáció, kemoterápia vagy receptor státusz alapján hormonkezelés, illetve HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2) pozitív esetekben biológiai kezelés jön szóba. A besugárzás a tumor ágyban még megbúvó, életképes tumoros sejtek elpusztításával harmadára csökkenti a lokális recidíva kialakulásának kockázatát. Az emlő daganatok esetén a kemoterápiás kezelés alapját az antracyclin és a taxántartalmú szerek használata képezi. Ösztrogén receptor (ER) pozitív daganatok esetén célunk, hogy a receptorokhoz eljutó ösztrogén szintjét csökkentsük, erre a *GNRH analógok*, az *aromatáz inhibitorok (AI)*, az *anti-ösztrogének*, valamint a *tamoxifen* (Zitazonium[®]) használatával nyílik lehetőség. A csökkent hormonszint következtében gátlódik a daganatos sejtek burjánzása. A progeszteron érzékeny daganatok esetében a terápia kiegészíthető luteinizáló hormont felszabadító hormon (LHRH) analógok adásával, amelyek tovább csökkenthetik a nemi hormonok elválasztását.

A HER2 nagy mennyiségben található bizonyos daganatos sejtek felszínén, ahol serkenti a daganatos sejtek növekedését. A trastuzumab (Herceptin[®]) szelektíven kötődik a nevezett receptorhoz, megállítva a sejtek növekedését és pusztulásukat okozza. Szintén hatásos gyógyszer a bevacizumab (Avastin[®]), melynek hatására a daganat erezettsége, így oxigén és tápanyag ellátása csökken, sorvadni kezd.

Neoadjuváns terápia

Műtét előtt adott kemoterápiás kezelést - más néven neoadjuváns terápia vagy primer szisztémás terápia (PST) – valamennyi betegnek felajánlható, akinél posztoperatív adjuváns kemoterápiás kezelésre lesz szükség. Előnye, hogy a szisztémás kezelés a diagnózist követően a legkorábbi időpontban megkezdődhet. A daganat regresszió mértéke alapján információt kapunk a terápia hatásosságáról, illetve hatástalansága esetén módosítható a kezelés. A neoadjuváns kezelés eredményeként a daganat mérete csökken, így az irreszekábilis daganat reszekálhatóvá válhat, illetve az eredendően reszekábilis daganat zsugorodása miatt bizonyos esetekben az EMM is szóba jöhet. További előnye, hogy a kemoterápiás kezelés megkezdését nem késlelteti az esetleges posztoperatív szövődmény, valamint a PST in vivo hatásossága utal a betegség későbbi prognózisára is. Hátrányok közül kiemelendő, hogy a betegek egy része sajnos nem reagál a kezelésre.

2. Az emlődaganatos betegek neoadjuváns (PST) kezelése

Bevezetés

A neoadjuváns kemoterápiát, vagy más néven primer szisztémás terápiát jelenleg a lokálisan előrehaladott emlőrák (Locally Advanced Breast Cancer: LABC) és a gyulladásos emlőrák (mastitis carcinomatosa) kezelése mellett, az operábilis emlőrák bizonyos eseteiben is rutinszerűen használjuk. A PST célja a tumoros szövetek életképességének a csökkentése, az ér- és lymphaticus tumorsejt invázió megakadályozása, valamint a mikrometasztázisok elpusztítása által a lokális kiújulás esélyének csökkentése. PST hatására a tumor mérete csökkenhet, ezáltal irreszekábilis daganatok reszekálhatóvá válhatnak, illetve az emlőmegtartó műtétek aránya is szignifikánsan növelhető.

Célkitűzés

Jelen vizsgálatunkban retrospektív módon dolgoztuk fel a 2007-2012 között klinikánkon emlő tumor miatt operált és primer szisztémás kezeléssel átesett betegek radiológiai és szövettani leleteit a sebészi kezelés tükrében. Célunk volt:

- az általunk használt PST protokoll hatékonyságának felmérése és az eredmények összevetése az irodalmi adatokkal
- megvizsgálni, hogy a PST mennyire befolyásolta a sebészi kezelést
- feltérképezni, hogy PST után milyen arányban végezhető emlőmegtartó műtét
- tanulmányozni, hogy a PST-re adott válasz és a szövettani tulajdonságok között milyen összefüggés van
- felmérni az axilláris nyirokcsomó áttétek preoperatív vizsgálatának hatékonyságát, és
- áttekinteni az általunk kezelt betegek túlélési adatait

Betegek és módszerek

Retrospektív kutatásunkba 2007. március és 2012. szeptember között a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ (PTE KK), Sebészeti Klinikáján emlő daganat miatt, preoperatív kemoterápiát követően műtétre kerülő 204 beteget vontuk be. A betegeket stádiumuk szerint két csoportra osztottuk: az egyik részük előrehaladott irreszekábilis daganat vagy mastitis carcinomatosa miatt részesült PST-ban (24,5 %, n=50) és így az úgynevezett *konverziós kemoterápia* hatására vált operálhatóvá. A másik csoportba a primeren is reszekábilis daganattal rendelkező betegek (75,5 %, n=154) kerültek.

A betegek 21 %-a FEC (5-Fluorouracil 500 mg/m² iv. + Epirubicin 100 mg/m² iv. + Cyclophosphamid 500 mg/m² iv.), míg 79 %-a TXT+EPI (Docetaxel 75 mg/m² iv. + Epirubicin 75 mg/m² iv.) kombinációjú kezelést kapott 6 cikluson keresztül. A kemoterápia 3. ciklusa után radiológiai kontroll vizsgálat történt. Regresszió, vagy stagnálás esetén újabb 3 ciklus kemoterápia következett, progresszió esetén viszont azonnal műtetre került a beteg és mastectomiát végeztünk. A kisméretű (T1c-T2), kiterjedt DCIS komponens nélküli, vagy jól reagáló daganatok esetén EMM-t, vagyis szektorális excíziót végeztünk. Az eredendően nagyméretű daganatoknál (T3, LABC) és a mastitis carcinomatosa eseteiben a remisszió mértékétől függetlenül mastectomiát végeztünk. Ha a betegnél kezdeti staging során nem sikerült igazolni áttétes axilláris nyirokcsomót, akkor a műtét során Sentinel biopsziát végeztünk, és az axilla további ellátását ettől tettük függővé. Ha a kemoterápia előtt már áttétes nyirokcsomó igazolódott, akkor axilláris blockdisszekciót végeztünk a radiológiai regresszió mértékétől függetlenül.

Retrospektív feldolgozásunk során figyelembe vettük a pTNM-et, azaz a daganat szövettani típusát, lokalizációját, receptor státuszát és az axilláris nyirokcsomók érintettségét is. A műtét során eltávolított specimeneket a szövettani kép alapján négy csoportba osztottuk: komplett, jelentős és mérsékelt remisszió, illetve akik nem reagáltak a kezelésre. Definíciónk szerint *komplett patológiai remisszió* esetén viábilis tumor sejt nem volt kimutatható a mirigyállományban. *Jelentős remissziót* tapasztaltunk, ha a tumortest mérete csökkenést mutatott a képalkotó vizsgálatokhoz képest, hypocellulárisrá vált és kevesebb, mint 10 %-ban látszottak viábilis tumor sejtek. *Mérsékelt remisszió* esetén a tumor mérete az eredeti mérethez képest csökkent, és a proliferációs aktivitás megszűnt, de csak mérsékelt cellularitás csökkenés látszott. A beteg nem reagált a kezelésre (*non-responder*), ha a proliferációs aktivitás nem csökkent, a tumor mérete stagnált vagy esetleg tovább nőtt.

Eredmények

A szövettani kép alapján a T stádium tekintetében a betegek 20 %-nál (n=41) komplett remissziót, míg 25,5 %-nál (n=52) jelentős remissziót találtunk. A betegek további 33,8 %-nál (n=69) a neoadjuváns kezelés hatására mérsékelt regresszió következett be, míg 21 %-uk (n=42) nem reagált (*non-responder*) a kezelésre.

Receptor státusz tekintetében a PST kezelésre a HER2+ betegek reagáltak a legjobban, 36 %-uknál komplett patológiai remissziót (cPR) és további 17 %-nál jelentős remissziót sikerült elérni. A trippla negatív betegek körében is igen magas volt a komplett remisszió aránya (24 %), viszont a *non-responderek* aránya is ebben a betegcsoportban volt

a legmagasabb (38%), valamint további 38 %-uknál csak mérsékelt remisszió volt megfigyelhető. Az ER+ és PR+ receptor státuszú daganatok esetén fordult elő a legritkábban cPR, de ezen betegek 32 %-ánál is jelentős remissziót észleltünk.

A PST-t és a műtétet követően és a műtét után a patológus által megállapított stádium tekintetében jelentős eltolódást észleltünk az alacsonyabb T stádiumok felé (down-staging). A műtéti típusok megoszlását az 1. táblázatban szemléltetjük.

1 táblázat. Műtéti megoldások

	n	%
Szektorális excisio	71	35
Mastectomia	129	63
Subcutan mastectomia	4	2
Re-excisio		
aránya	33	16
oka		
- tumor vagy DCIS általi érintettség	15	45
- keskeny reszekciós szél	18	55

A kezdeti axilláris státuszt összevetve a műtét utáni patológiai eredményekkel, az áttétes axilláris nyirokcsomóval rendelkező betegek száma, a kezdeti 69 %-ról (n=141) 52,5 %-ra (n=107) csökkent a PST hatására.

Az átlagos túlélés az előrehaladott emlőrák (T3-T4) miatt konverziós kemoterápián átesett betegeink esetén 78,3 hónap (~6,5 év) (St.Dv: 42,5) volt; míg a primeren reszekábilis emlőrák (T1-T2) miatt PST-n átesett betegek esetében 96,2 hónap (~8 év) (St.Dv: 37,1), és ez szignifikáns különbségnek bizonyult.

Az 5 éves túlélés az előrehaladott emlőrákos betegeink esetén 65,1 %, míg a primeren reszekábilis emlődaganatos betegek körében 83,7 % volt, ami szintén szignifikáns különbség (p=0.01171).

Megbeszélés

Vizsgálatunk során a PST hatékonyságát monitoroztuk azáltal, hogy a preoperatív staging vizsgálatok eredményeit hasonlítottuk össze a műtéti specimenből meghatározott patológiai staging eredményeivel. Szövettani vizsgálat alapján a betegek 20 %-ánál komplett remissziót találtunk, és ez a ráta az irodalomban közölt tartományba esik (5-30 %). A betegek 25,5 %-ánál jelentős remissziót tapasztaltunk és további 33,8 %-ánál mérsékelt regressziót értünk el. A betegek 21 %-a nem reagált a kezelésre, a proliferációs aktivitás nem csökkent, a tumor mérete stagnált, esetleg tovább nőtt.

A neoadjuváns kezelésre a HER2+ betegek reagáltak a legjobban, mely az irodalmi adatokhoz hasonló eredményt jelent. Az ER és PR pozitív receptor státuszú daganatok esetén ugyan ritkábban észleltünk cPR-t, de a jelentős remissziók nagy száma miatt ezen betegek körében is igen effektívnek bizonyult a PST, így összesen 42%-uk igen jól reagált. A trippla negatív betegek körében is igen magas volt a cPR aránya (24 %), viszont a non responderek aránya is ebben a betegcsoportban volt a legmagasabb (38%), valamint további 38 %-uknál csak mérsékelt remisszió volt megfigyelhető. Tehát ezen betegcsoportra hatott legkevésbé a PST, viszont azon betegeknél, akik reagáltak, komplett remissziót észleltünk. Retrospektív vizsgálatunk eredménye összhangban van Starver és mtsai adataival, akik multivariáns analízissel bizonyították, hogy a cPR egyetlen szignifikáns prediktor faktora a daganat receptor státusza.

A műtéti ellátás tekintetében nincs konszenzus vagy kialakított kritériumrendszer arra vonatkozóan, hogy pontosan mi definiálná neoadjuváns kezelés után az emlőmegtartó műtét létjogosultságát. Tekintettel arra, hogy a neoadjuváns kezelés az in situ komponensre gyakorlatilag nincs hatással, ezért azoknál a betegeknél, akiknél a daganatot radiológiailag is igazolhatóan kiterjedt DCIS veszi körül még cPR vagy kifejezett down-staging ellenére sem javasolható biztonsággal az EMM, ugyanis a későbbi tumor recidíva alapját ezek a sejtek teremtik meg.

Azoknál a betegeknél, akiknél már a preoperatív staging során nyirokcsomó áttét igazolódott a PST hatásától függetlenül I-II. szintű axilláris blockdisszekciót végeztünk. Az eredendően axilla negatív pácienseknél Sentinel nyirokcsomó biopszia és alacsony axilláris disszekció (1-4 nyirokcsomó eltávolítása) történt. Amennyiben a hisztológiai vizsgálatkor ebben metasztázis igazolódott, egy újabb műtét során eltávolítottuk az I-II. szintű axilláris nyirokcsomókat is.

A PST-ra adott választ a daganatok lokalizációjának függvényében vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a centrális daganatok 70 %-a, belső-alsó 38 %-a, a külső-felső negyedi daganatok 34%-a, míg a külső-alsó és belső-felső kvadránsban elhelyezkedő daganatok 23-23% reagált rendkívül jól a kezelésre (komplett és jelentős regresszió). Tehát a centrálisan elhelyezkedő daganatok reagáltak legjobban a kezelésre. Feltételezésünk szerint ennek oka az emlő vérellátásában keresendő, de magyarázata nagyobb esetszám melletti, a nemzetköziekhez hasonló további vizsgálatokat igényelnek.

Összességében elmondhatjuk, hogy az emlődaganatos betegek esetében az általunk alkalmazott neoadjuváns kezelés kifejezetten hatásos volt a daganat méretének csökkenésére, ezzel szemben a nyirokcsomóstátusz tekintetében kisebb hatást tapasztaltunk.

A neoadjuváns kezelés után gyakran a reziduális DCIS miatt nem tudjuk csökkenteni a reszekció volumenét annyira, amennyire a daganat méretének csökkenése lehetővé tenné. A feldolgozott 5 éves periódus során 26 beteg vált a PST hatására primeren irreszekábilis stádiumból operálhatóvá (konverziós kemoterápia). Az emlődaganatok multimodális kezelését, valamint a neoadjuváns terápia létjogosultságát eredményeink nagyban alátámasztják.

3. Az emlődaganatos betegek vérplazmájának DSC vizsgálata

Bevezetés

A differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) egy termoanalitikai módszer, amely alkalmas kismértékű hőmérséklet-változások észlelésére és nyomon követésére a vizsgált minta és a referencia anyag között, így biológiai struktúrák vizsgálatára is alkalmas. A hőmérséklet változtatásával elérhetjük azt a pontot, ahol az adott anyag kémiai formája, kristályszerkezete megváltozik. Detektálva az átalakulás hőmérsékletét, illetve az eközben elnyelt/felszabaduló termikus energiát, azonosíthatjuk az anyag kémiai szerkezetét. A DSC készülék azt az elektromos teljesítményt méri, ami ahhoz szükséges, hogy a mintát és a referencia anyagot felfűtéskor vagy lehűtéskor azonos hőmérsékleten tarthassuk. A DSC termogram értékelésekor arra kapunk választ, hogy a görbén a hőmérséklet növelésével hogyan változott a hőáram, vagyis időegység alatt az anyagon átáramló hőmennyiség.

Korábbi vizsgálatok rámutattak arra, hogy a biológiai struktúrákban végbemenő termodinamikai módosulások összefüggésbe hozhatók a különböző betegségek kialakulásával. Illetve az is kimutatásra került, hogy ezek a termoanalitikai változások [átmeneti hőmérséklet: T_m (°C); kalorimetriás entalpia: ΔH (J/g)] specifikusan jelennek meg a különböző betegségekben és azon belül is az egyes stádiumok vonatkozásában mutatnak eltérést. Garbett és munkatársai 2009-ben írt összefoglaló közleményükben a vérplazma termikus változásait vizsgálták DSC technikával és azt a következtetést vonták le, hogy a vizsgált tumoroknak, ill. betegségeknek egyedi, ujjlenyomatszerű termikus görbéje lehet. A legújabb kutatások tehát felvetik annak lehetőségét, hogy a DSC onkológiai betegségek esetén is hasznos információval szolgálhat a hagyományos diagnosztikus eljárások mellett, de emlőtumoros betegeknél végzett korábbi DSC vizsgálatról irodalmi adatok nincsenek.

Célkitűzés

Kutatásunk során arra kerestük a választ, hogy van-e különbség az egészséges és az emlődaganatos betegek vérmintáinak DSC görbéi között? A termoanalízis mutat-e korrelációt a betegség stádiumával és progressziójával?

Betegek és módszerek

Prospektív kutatásunkba 19, operábilis emlődaganatos nőbeteget vontunk be, akik a PTE KK Sebészeti Klinikáján kerültek műtetre. A betegeket a tumor legnagyobb átmérője (5-75 mm) és az axilláris nyirokcsomó-érintettség mértéke (0-10 db) szerint csoportosítottuk.

DSC mérés

Egészséges felnőttektől (kontroll csoport, $n=3$), valamint közvetlen a műtét előtt a betegektől ($n=19$) EDTA-t (1,5 mg/ml minta) tartalmazó Vacutainer-es kémcsőbe perifériás vértmintákat vettünk. Ezt követően a plazma frakciót 4 °C-on elkülönítettük a vér sejtsejtes elemeitől. A plazma termikus denaturációját SETARAM micro DSC-II kaloriméterrel határoztuk meg. A kalorimetrikus entalpiát a hőabszorpciós görbe alatti területből 2-végpontos SETARAM csúcspontos integrációjával számítottuk ki. Az adatok grafikus feldolgozása ASCII konverzió után Origin (ver. 6.0) program (Microcal Software Inc, Northampton, USA) segítségével történt.

Az eredmények értékelésekor átlagot és standard error (SE) számoltunk. Az adatokat $n \geq 5$ esetén T-próbával dolgoztuk fel. A szignifikancia mértéke $p < 0,05$ volt. A kiértékeléshez a MicroCal Origin 6.0 programot (Microcal Software, USA) alkalmaztuk.

Eredmények

Az egészséges kontroll személyek és az emlődagánatos betegek DSC görbéit összehasonlítva, a mérések eltérő termikus doméneket (T_m és a görbék lefutása alapján) mutattak a tumor méretétől és az áttétes nyirokcsomók számától függően is a denaturáció alatt. A tumor nagyságával összefüggésben a betegség progressziójával azonos tendenciájú eredményeket találtunk. Ez főként a 11-20 mm-es (2. csoport) és ehhez képest kétszeres tumorátmérőjű csoport (4. csoport) esetén volt a termogramokban jól érzékelhető. Méréseink alapján a T_{m3} és a T_{m4} jó indikátorai lehetnek a betegség progressziójának. Egy új csúcs, a T_{m4} jelent meg a kontroll csoporthoz képest a 10 mm-nél nagyobb, de 50 mm-nél kisebb daganatátmérőjű betegeknél. Mindezt megerősíti a plazma kalorimetriás entalpiájának csökkenő karakterisztikája is. A vizsgálatokat magasabb esetszámmal lenne célszerű kiterjeszteni, de az egyes csoportok közötti eltérés jellege (trend) azonban így is jól látható. A DSC adatok alapján tehát a második és harmadik olvadási hőmérsékletre tartozó szerkezeti egység módosulása a dagánatos mintáknál az áttétes nyirokcsomók számának növekedése szempontjából a betegség súlyosságát jól monitorozó tényezőnek tekinthető. A T_{m4} és a T_{m5} termikus paraméterek csak a dagánatos betegeknél voltak detektálhatók, az egészséges kontrollcsoportban nem jelent meg.

Megbeszélés

Tanulmányunk az emlődaganatos betegek vérplazmájában létrejött termikus változásokat vizsgálta DSC módszerrel a daganat méretének és a metasztatikus regionális nyirokcsomók számának függvényében. A 19 beteg termogramjait áttekintve egyedi karakterisztikát figyeltünk meg az egészséges személyek görbéihez képest. Összehasonlítva az egészséges kontroll személyek DSC görbéit az emlődaganatos betegekével, a mérések a T_{m2} és T_{m3} termikus domének eltérő, a tumor nagyságával és ezzel a betegség súlyosságától függő gyakoriságát jelezték. Csak a betegek vérplazmájában volt újabb denaturációs átmenet (T_{m4}) kimutatható.

Az áttétes nyirokcsomók száma alapján kialakított betegcsoportokat vizsgálva kimutattuk, hogy míg a kontroll mintákban nagyobb gyakorisággal csak két fő átalakulási hőmérséklet különíthető el (T_{m1} , T_{m3}) nagy valószínűséggel, addig a T_{m2} főként a betegek mintáiban jelent meg. A T_{m3} átalakulási csúcs szignifikánsan eltérő hőmérsékletet mutatott a kontroll csoporthoz képest. Mindezekon túlmenően a T_{m4} és a T_{m5} termikus paraméterek csak a daganatos betegeknél voltak detektálhatók, az egészséges csoportban nem jelent meg. A kalorimetriás entalpia ugyancsak összefüggést mutat a betegség súlyosságával, de az alacsony esetszám miatt ez az eredmény csak az 1-3 áttétes nyirokcsomójú betegeknél volt szignifikáns.

Eredményeink több okból is fontosak. Egyrészt a DSC vizsgálat nemcsak az emlőrák jelenlétét tisztázhatja, hanem alkalmas lehet a különböző stádiumok elkülönítésére, illetve a betegség lefolyásának monitorizálására is. Másrészt az elmúlt 10 évben számtalan különböző onkológiai „támadáspontú” kutatás igazolja a vérplazma termoanalitikai méréseinek esetleges szerepét, lehetséges használatát a betegség kórlefolysa, monitorozása során.

4. Az oxidatív stressz jelentősége emlődaganatos betegeknél

Bevezetés

Az emlőrák etiológiája multifaktoriális, a genetikai predispozíció mellett a legismertebb rizikó faktorok (életkor, obezitás, gyógyszerek, hormonok, stb) az emlő mirigyállományának sejtszintű oxidatív károsodásával hozhatóak összefüggésbe. Az oxigén eredetű szabadgyököknek (Oxygen Free Radicals: OFRs) kulcsszerepük van a carcinogenesis során, beindítják és segítik a tumor progressziót, valamint a szisztémás tumor inváziót. Az OFRs egyik fő forrása a polymorphonuclearis leukocyták (PMNs), amelyek direkt módon OFRs-t bocsátanak ki, valamint egy lizoszómális myeloperoxidáz enzim (MPO) hatására indirekt módon is fokozzák a gyöktermelést. A daganat sejtek a normál sejtekhez képest jóval több OFRs-t termelnek. Az oxidatív stressz káros hatását ellensúlyozhatják non-enzimatis (pl. redukált glutathion: GSH; szulfhidril csoportok: -SH csoportok) és enzimatis (pl. szuperoxid dizmutáz: SOD; kataláz: CAT) antioxidánsok is.

Célkitűzés

Jelen vizsgálatunk célja az volt, hogy emlődaganatos betegeknél különböző tumor méret, nyirokcsomó érintettség, receptor státusz, mitotikus aktivitás és kemoterápiás kezeléssel összefüggésben detektáljuk a vérplazmában mérhető oxidatív stressz és antioxidáns paramétereket.

Betegek és módszerek

Prospektív vizsgálatunk során 40 újonnan diagnosztizált operábilis emlődaganatos nőbeteget vizsgáltunk. A betegeket daganat átmérő (T), metasztatikus regionális nyirokcsomók száma (N), proliferációs aktivitás (MIB-1), receptor státusz, valamint az alapján osztottuk csoportokba, hogy kaptak -e vagy sem neoadjuváns preoperatív kemoterápiát. A daganat átmérő tekintetében T1 (n=12), T2 (n=11), T3 (n=10) és T4 (n=7) csoportokba soroltuk a betegeket. A metasztatikus axilláris nyirokcsomók száma alapján a betegeket három csoportba osztottuk: N0 (n=12), N1 (n=20), N2 (n=8). A proliferációs aktivitás alapján négy csoportot alakítottunk ki: MIB-1 (n=15), MIB-2 (n=8), MIB-3 (n=10) és MIB-4 (n=7). A daganatsejteken kimutatott receptorok alapján három csoportot különítettünk el: Her2+ (n=12), ER+ és PR+ (n=15), valamint Tripla- (n=13). A preoperatív kemoterápia (neoadjuváns kezelés) tekintetében két csoportba osztottuk a betegeket, akik nem kaptak (-Kemo, n=23), és akik kaptak (+Kemo, n=17) kezelést.

Perifériás vérmintákat gyűjtöttünk a műtét kezdetén a betegektől (n=40), valamint 26 és 60 év közötti egészséges nőktől (kontroll, n=20). Meghatároztuk a PMN leukocyták szabadgyök termelését és a szabadgyök képződés csúcs értékét összehasonlítottuk a betegek fehérvérsejt számával. Vizsgáltuk a plazma MPO koncentrációját, a lipidperoxidáció indirekt markereként ismert MDA koncentrációját, az endogén antioxidáns scavenger GSH koncentrációt, a plazma -szulfhidril (-SH) csoportok mennyiségét, a SOD aktivitást, valamint a kataláz enzim aktivitását is.

Eredmények

A teljes OFRs termelődés szignifikánsan emelkedett az emlődaganatos betegben, szemben az egészséges kontrolloknál mért értékekkel. Ez a tumor mérettel, valamint a metasztatikus nyirokcsomók számával arányosan növekedett ($5,5 \pm 1,5$ AU) ($p < 0,05$; $p < 0,01$). A proliferációs aktivitás az egészséges kontrollokkal összevetve párhuzamos és szignifikáns emelkedést mutatott ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$). Továbbá termelődése szignifikánsan magasabb volt a Mib4 ($17,69 \pm 1,73$ AU) csoportban, a Mib1 csoporttal ($10,14 \pm 0,92$ AU) és a Mib2 csoporttal ($9,48 \pm 1,23$ AU) összehasonlítva. A PMN leukocyták OFRs kibocsátása a receptor státusz tekintetében szignifikánsan magasabb volt minden csoportban a kontrollokéhoz képest ($p < 0,05$). Az OFRs termelődés enyhén emelkedett a neoadjuváns kemoterápiát nem kapott (-Kemo) betegeknél a kontroll csoporthoz képest, de szignifikánsá vált az emelkedés a kemoterápiát kapott (+Kemo) betegcsoportban is.

Ehhez hasonló tendencia volt megfigyelhető a MPO aktivitás változásában is. A perifériás vérmintákban mind a plazma MDA, mind a hemolizátum MDA értékei szignifikánsan emelkedtek a legtöbb esetben az egészségesekéhez képest ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$). Az értékek szignifikánsan változtak a betegség súlyosságával arányosan, összefüggésben a tumor nagyságával, az áttétes nyirokcsomók számával, és azzal, hogy kaptak -e neoadjuváns kemoterápiát a betegek.

Az antioxidáns enzimek közül a SOD és a CAT szignifikánsan csökkent szintet mutatott minden csoportban a kontroll csoportban mért aktivitáshoz képest (610 ± 34 vs. 960 ± 40 IU/ml; 1578 ± 67 vs. 2400 ± 82 BU/ml, $p < 0,001$). A proliferációs aktivitást (Mib1 és Mib2 vs Mib4) tekintve a SOD értékek, valamint a kemoterápiás csoportok esetén a SOD és a CAT aktivitások is szignifikánsan változtak a betegség súlyosságával arányosan.

Megbeszélés

Az utóbbi években egyre több vizsgálat igazolja, hogy az OFRs által keltett oxidatív stressz fontos szerepet játszhat az emlődaganat kialakulásában. Jelen tanulmányunkban a perifériás vérminták vizsgálata azt mutatta, hogy a lipidperoxidáció, a totál OFRs kibocsátás és a PMN leukocyták MPO aktivitása szignifikánsan nagyobb volt emlőtumoros betegek esetén, mint az egészséges kontroll csoportban. Ezen paraméterek a betegség súlyosságával, tehát a tumor méretével, az áttétes nyirokcsomók számával és a proliferációs aktivitással párhuzamosan emelkedtek. Ezt okozhatja az emelkedett OFRs képződés, ami a sejtek minden molekuláját károsíthatja (pl. lipideket, fehérjéket és DNS molekulát), másrésről csökkentheti, vagy kimerítheti a sejtek antioxidáns kapacitását. Eredményeink megegyeznek más szerzők által emlődaganat sejt kultúrákon mért értékekkel, illetve a kevés klinikai vizsgálat publikált adatával.

Számos vizsgálat megerősítette, hogy korreláció van a pro-oxidáns státusz és az emlődaganat disszeminációjának mértéke között. Vizsgálatunkban a pro-oxidáns paraméterek szintjének jelentős emelkedését a nyirokcsomó pozitív betegcsoportban mértük. Irodalmi adatok is rámutatnak, hogy az OFRs túltermelés okozta megnövekedett pro-oxidáns szint nem csak oka és következménye, hanem egyben fontos fenntartó faktora az emlődaganat növekedésének és szóródásának.

Jelen tanulmány igazolta, hogy az antioxidáns enzimek közül a SOD és a CAT aktivitása csökkent az emlődaganatos betegeknél az egészséges kontrollokhoz képest. Az alacsony molekulásúlyú antioxidánsok, mint a GSH és -SH csoportok nem változtak szignifikánsan jelen vizsgálatunk során. Tanulmányunkban megfigyeltük, hogy a preoperatív kemoterápia növelte a pro-oxidánsok szintjét és csökkent antioxidáns kapacitást eredményezett a betegeknél, azokhoz képest, akik nem kaptak kezelést.

5. Mikro-RNS (miRNS) expresszió vizsgálata emlő tumorban

Bevezetés

A miRNS-ek kisméretű, kb. 19-22 nukleotid hosszúságú, nem kódoló RNS-ek családját képezik, melyek különböző biológiai folyamatok szabályozásában vesznek részt, ideértve a génexpresszió finom hangolása révén a fejlődést, a sejtosztódást és differenciálódást, a proliferációt, az apoptózist, az anyagcserét és összességében a sejt homeosztázisának fenntartását. Szabályozó funkciójukat azáltal látják el, hogy messenger-RNS-hez (mRNS) kapcsolódva poszttranszkripciós géncsendesítést (gene silencing) végeznek. Ezáltal szabályozzák vagy teljesen blokkolják a DNS-ből származó eredeti információ fehérjeszintézis (transzláció) szintű manifestációját. Számos vizsgálat igazolta a miRNS-ek megváltozott expresszióját különböző daganatokban, normál és daganatos emlőszövetből készített sejtenyészetekben kimutatták a normál és tumoros sejtek miRNS-expressziós mintázatának markáns különbségeit.

Célkitűzés

Előrehaladott emlőcarcinoma miatt operált betegekből nyert daganatminták miR-21, miR-34a, miR-221, és miR-383 mikro-RNS-ek expressziós mintázatát határoztuk meg, majd ezt vizsgáltuk a daganat nagyságának, a nyirokcsomó áttétek számának, a tumor receptor státuszának, valamint a daganat stádiumának függvényében.

Betegek és módszerek

Vizsgálatunkba 24 emlőcarcinómás nőbeteget vontunk be, akiknél direkt módon, magából a daganat szövetből vettünk mintát az emlőműtét során 2014 januárja és novembere között. A kiválasztott betegek mindegyikének jól tapintható, előrehaladott emlődaganata volt. A betegeket a végleges hisztológiai leletek alapján életkoruk (50 alatt és felett), a daganatméret (40 mm alatt és felett), a nyirokcsomók érintettsége (3 áttétes nyirokcsomónál több v kevesebb), receptor státuszuk (ER+, Her2+, és Tripla negatív csoport), és a daganat stádiuma (II. v III. stádium) alapján csoportosítottuk, és ezen változók alapján vizsgáltuk a mikro-RNS eltéréseket. A PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézetének közreműködésével a tumoros szövetminták mikro-RNS expressziójának kimutatását kvantitatív real-time PCR segítségével végeztük el.

Eredmények

Az emlődaganat mérete és a miR-21, miR-34a, miR-221, mikro-RNS-ek expressziója között szoros korrelációt találtunk. A miR-21 kifejeződése a 40 mm feletti tumorokban (n=18) tizenötször nagyobb expressziós értéket mutatott, mint amit a 40 mm alatti (n=6) daganatokban mértünk. Míg a miR-34a és miR-221 expressziója kimutatható volt a 40 mm feletti daganatoknál, addig a 40 mm alatti daganatos csoportban egyáltalán nem volt detektálható. A miR-383 expressziója nem volt mérhető sem a 40 mm alatti, sem az ettől nagyobb tumorok esetén.

Előrehaladott emlőtumor esetén a daganatszövetben mért mikro-RNS expresszió szoros korrelációt mutatott az áttétes nyirokcsomók számával is. Azoknál a betegeknél, akiknél a szövettani vizsgálat több mint három axilláris nyirokcsomóban igazolt metasztázist (n=9) a daganatban mért miR-21 és miR-34a kifejeződése hatszoros emelkedést mutatott, mint amit az ennél kevesebb pozitív nyirokcsomóval rendelkező betegeknél (n=14) mértünk.

Receptor státusz tekintetében ER pozitívítás esetén (n=17) a miR-21, a miR-34a és a miR-221 expresszió mutatott emelkedést, míg HER pozitív esetekben (n=6) a miR-21 mértéke volt a legkifejezettebb.

Megbeszélés

Ma már tudjuk, hogy az egészséges és a daganatos szövetek miRNS mintázata eltérő. Ha a sejtek normál életfolyamatainak bármely területén változás következik be, a miRNS-ek egymáshoz viszonyított aránya és a miRNS-ek mennyisége megváltozik. Sejtszinten a miRNS-ek viselkedhetnek onkogénként (onkomir), illetve tumorszupresszor génként is, mindez attól függ, hogy mely gént regulálják.

Az egyik első onkogénként azonosított mikro-RNS a miR-21 volt. Számos daganat típus esetén mind a szérumban, mind magában a daganatszövetben is emelkedett expresszióját mutatták ki. Vizsgálatunk során azt találtuk, hogy ennek értéke szoros korrelációt mutatott az emlőtumor méretével, és a metasztatikus axilláris nyirokcsomók számával. A daganat receptor státusza tekintetében drasztikus expresszió növekedés HER+ betegeknél volt kimutatható. Mérési eredményeink több ponton összhangban vannak más szerzők adataival, melyben emelkedett miR-21 expressziót írtak le Ki-67+, HER2+, ER+ és PR+ receptor státuszú betegeknél. Sejtkultúrákban és különböző típusú humán malignus szöveteken (glioblastoma, lymphoma, melanoma, stb) végzett vizsgálatok megerősítették, hogy a miR-21 onkogénként funkcionál és gátlása terápiás célpont lehet a jövőben.

Vizsgálatunkban a miR-34a és a miR-221 kifejeződése a 40 mm-nél nagyobb tumorokban és a 3 v. több nyirokcsomó érintettség esetén emelkedett, valamint az előrehaladott II-es és III-as stádium esetén egyaránt megjelent a tumoros szövetben. A miR-34 család tagjai szupresszor hatásúak, ami a Sirtuin-1 (SIRT1) nevű fontos tumorszupresszor gátló fehérjét gátolja a működésében. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a fokozott miR-34 expresszió eliminálhatja a daganat őssejteket néhány malignus tumor esetén. A miR-221 egy daganat invázióra specifikus, onkomír hatású miRNS, mely az apoptózist gátolja. A mikro-RNS-ek közül a miR-221 és miR-222-ről korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy részt vesznek az emlőrák patológiájában target génjükön keresztül.

Mind in vitro human emlődaganat sejtekben, mind egér embrionális őssejtekben is kimutatták, hogy a miR-383 jelenléte emeli a DNS károsodásra való érzékenységet, de vizsgálatunk során ennek expressziója nem mutatott összefüggést a tumor méretével, az áttétképződéssel, a receptor státusszal vagy a betegség stádiumával.

Eredményeink esetén az alacsony mintaszám miatt statisztikailag szignifikáns szintű eltéréseket nem találtunk, de a mikro-RNS expresszió és az előrehaladott emlőtumoros esetek klinikopatológiai jellemzői között tendenciózus összefüggéseket igen. Mindez a miRNS-ek korai biomarkerként való diagnosztikai felhasználása mellett felveti az esetleges későbbi terápiás alkalmazásuk lehetőségét is az onkológiai betegellátásban. A jelátviteli utak feltérképezése és megértése nagy fokban hozzájárulhat -a jelenleg is alkalmazottak mellett- a még effektívebb, molekuláris célterápiák kidolgozásához.

6. Új eredmények

1. Előrehaladott irreszekábilis emlőtumor, mastitis carcinomatosa, és primeren reszekábilis daganattal rendelkező, összesen 204 beteg primer szisztémás terápiát és műtétet követő retrospektív vizsgálata során kimutattuk, hogy az emlődaganatos betegek esetében a neoadjuváns kezelés kifejezetten hatásos volt a daganat méretének csökkenésére, míg a nyirokcsomóstátusz tekintetében kisebb hatást tapasztaltunk, illetve a centrális elhelyezkedésű emlődaganatok szignifikánsan jobban reagáltak a kezelésre, mint más lokalizációjúak.

2. Különböző stádiumú, 19 operábilis emlődaganatos betegek vérplazmájának differenciál scanning calorimetriás vizsgálata során kimutattuk, hogy a termogramok átmeneti hőmérsékleteinek a változása és a kalorimetriás entalpia-változás összefüggést mutatott a tumor méretével, valamint az áttétes axilláris nyirokcsomó érintettségének mértékével.

3. Operábilis emlőcarcinómával kezelt 40 beteg perifériás vérmintáinak vizsgálata során kimutattuk, hogy a betegség súlyosságával arányosan jelentősen emelkedik a pro-oxidáns státusz (lipidperoxidáció, totál OFRs kibocsátás, MPO aktivitásnövekedést), míg a sejtek antioxidáns kapacitása (SOD, CAT) drámai módon csökken. A neoadjuváns kemoterápia, mint „kétélű fegyver” az oxidatív stresszt szignifikánsan fokozta.

4. Előrehaladott emlőcarcinoma miatt operált 24 betegtől nyert daganatszövet minták mikro-RNS expressziójának meghatározása során kimutattuk, hogy a miR-21, a miR-34a és a miR-221 kifejeződése szoros korrelációt mutat a tumor méretével, a metasztatikus nyirokcsomók számával, a daganat receptor státuszával és a betegség stádiumával.

6. A szerző publikációi

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

1. **Zapf I**, Tizedes G, Pavlovics G, Kovács G, Kálmán E, Szalai G, Kövér E, Farkas R, Horváth ÖP. Emlődaganatos betegek primer szisztémás terápiája során elért eredményeink (2007-2010). Magyar Sebészet 2011;64:223-8.
2. **Zapf I**, Fekecs T, Ferencz A, Tizedes G, Pavlovics G, Kálmán E, Lőrinczy D. DSC analysis of human plasma in breast cancer patients. Thermochimica Acta 2011;524:88-91. IF: 1,805 Független idéző: 22, Függő idéző: 11, Összesen: 33
3. **Zapf I**, Fekecs T, Moezzi M, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kálmán E, Horváth PÖ, Ferencz A. Emlődaganatos betegek vérplazmájának differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálata. Magyar Onkológia 2012;56:274-9.
4. **Zapf I**, Moezzi M, Fekecs T, Nedvig K, Lőrinczy D, Ferencz A. Influence of oxidative injury and monitoring of blood plasma by DSC on breast cancer patients. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2016;123:2029-35. IF: 1,953 Független idéző: 8, Függő idéző: 6, Összesen: 14
5. Ferencz A, **Zapf I**, Lőrinczy D. Harmful effect of neoadjuvant chemotherapy monitoring by DSC on breast cancer patients' blood plasma. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2016;126:55-59. IF: 1,953 Független idéző: 5, Függő idéző: 1, Összesen: 6

A témához kapcsolódó elsőszerzős közlemények IF-a: 3,758

A témához kapcsolódó összes közlemény IF-a: 5,711

Idézettisége: Független idéző: 35, Függő idéző: 18, Összesen: 53

A témához kapcsolódó, idézhető absztraktok jegyzéke

1. **Zapf I**, Ferencz A, Fekecs T, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kálmán E, Lőrinczy D. Humán vérplazma differenciál scanning kalorimetriás vizsgálata emlődaganatos betegekben. Magyar Sebészet 2011;64:158.
2. **Zapf I**, Gombos K, Juhász K, Ferencz A, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kovács Gy, Horváth ÖP, Vereczkei A. Emlőcarcinomás betegek mikro-RNS-expressziójának meghatározása. Magyar Sebészet 2015;68:117-118.
3. Ferencz A, **Zapf I**, Lőrinczy D. Chemotherapy is a double-edged sword. Blood plasma monitoring in patients by DSC. Maria Curie-Skłodowska University Press, Lublin, 2015.p. 484. (ISBN:978-83-7784-684-1)

A dolgozat témájában elhangzott előadások jegyzéke

1. **Zapf I**, Ferencz A, Fekecs T, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kálmán E, Horváth ÖP, Lőrinczy D. Humán vérplazma differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálata emlődaganatos betegekben. Magyar Sebész Társaság, Kísérletes Sebészeti Szekció, 2011. évi XXIII. Kísérletes Sebész Kongresszus, 2011. június 2-4, Budapest.
2. Ferencz A, Fekecs T, **Zapf I**, Moezzi M, Lőrinczy D. DSC analysis of blood plasma on patients with skin and breast cancer, and psoriasis. In: 4th Joint Czech-Hungarian-Polish-Slovak Thermoanalytical Conference. Csehország, Prága, 2013.06.24-27.
3. Ferencz A, Fekecs T, Mehdi M, **Zapf I**, Lőrinczy D. DSC as a diagnostic tool in the medical applications. Thermal Analysis and Calorimetry in Industry and Research - 40

Years of GEFTA Annual congress with participation of GEFTA's European partner associations, Germany, Berlin, 2014.09.16-19.

4. **Zapf I**, Gombos K, Juhász K, Ferencz A, Tizedes Gy, Pavlovics G, Kovács Gy, Horváth ÖP, Vereczkei A. Emlőcarcinomás betegek mikro-RNS-expressziójának meghatározása. A Magyar Sebész Társaság Kísérletes Sebészeti Szekciójának XXV. Kongresszusa. Pécs, 2015.05.14-15.
5. Ferencz A, **Zapf I**, Lőrinczy D. Chemotherapy is a double-edged sword. Blood plasma monitoring in patients by DSC. 12th Conference on Calorimetry and Thermal Analysis: Zakopane, Lengyelország, 2015.09.06-10.

Egyéb közlemények, absztraktok jegyzéke

1. Molnár FT, Horváth ÖP, Varga G, **Zapf I**. Intratrachealis pH viszonyok és a GERD: lehetséges kapcsolat a tüdőrák carcinogenesisével? Medicina Thoracalis 2004;57:56.
2. **Zapf I**, Benkő I, Szántó Z, Molnár FT. A kolorektális eredetű tüdőmetasztázisok sebészeti kezelésének retrospektív vizsgálata. Magyar Sebészet 2006;59:323.
3. **Zapf I**, Molnár FT, Benkő I, Kalmár NK, Szántó Z, Póto L, Horváth ÖP. A colorectális tumorok tüdő metastasisainak sebészeti kezelése. Magyar Sebészet 2007;60:130-5. Független idéző: 2 Összesen: 2
4. Wolf M, Benkő R, Undi S, Dékány A, Illényi L, Papp A, Varga C, **Zapf I**, Barthó L. In vitro pharmacology of inosine, with special reference to possible interactions with capsaicin-sensitive mechanisms and inflammatory mediators. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 2009;31:359-66. IF: 1,136 Független idéző: 1
5. Nedvig K, **Zapf I**, Fekecs T. A vékonybél meleg és hideg ischaemiás károsodásának kimutatása differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálattal. Magyar Sebészet 2011;64:207-12.
6. Fekecs T, Kalmár-Nagy K, Szakály P, Németh K, Moezzi M, **Zapf I**, Horváth ÖP, Barthó-Szekeres J, Ferencz A. Changes of progesterone-induced blocking factor in patients after kidney transplantation. Transplantation Proceedings 2011;43:3694-6. IF: 1,005 Független idéző: 2
7. Fekecs T, **Zapf I**, Ferencz A, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of human plasma in melanoma patients with or without regional lymph node metastases. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2012;108:149-52. IF: 1,982 Független idéző: 31 Függő idéző: 7 Összesen: 38
8. Csanaky K, Bánki E, Szabadfi K, Reglődi D, Tarcai I, Czeglédi L, Helyes Zs, Ertl T, Gyarmati J, Szántó Z, **Zapf I**, Sipos E, Shioda S, Tamás A. Changes in PACAP immunoreactivity in human milk and presence of PAC1 receptor in mammary gland during lactation. Journal of Molecular Neuroscience 2012;48:631-7. IF: 2,891 Függő idéző: 7 Összesen: 7
9. Fekecs T, Moezzi M, **Zapf I**, Ferencz A. Humán plazma differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálata melanoma malignusos betegekben = Analysis of human plasma with differential scanning calorimetry in melanoma patients. Egészség-Akadémia 2012;3:34-40.
10. Mehdi M, Fekecs T, **Zapf I**, Ferencz A, Lőrinczy D. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis of human plasma in different psoriasis stages. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2013;111:1801-4. IF: 2,206 Független idéző: 19 Függő idéző: 7 Összesen: 26
11. Moezzi M, **Zapf I**, Fekecs T, Nedvig K, Lőrinczy D, Ferencz A. Influence of oxidative injury and monitoring of blood plasma by DSC on patients with psoriasis. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2016;123:2037-43. IF: 1,953 Független idéző: 7 Függő idéző: 4 Összesen: 11

A szerző összesített impakt faktora: 20,642

Idézettisége: Független idéző: 97, Függő idéző: 43, Összesen: 140

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Dr. Lőrinczy Dénes professzor úrnak a DSC-s vizsgálatok elvégzését és a publikációk elkészítésében nyújtott segítségét.

Köszönettel tartozom Dr. Ferencz Andrea tanárnőnek, aki éveken át útmutatást adott, motivált a kutatások kivitelezésében és az eredményeink közzétételében, és aki nálam is jobban hitt ennek az értekezésnek az elkészülésében. Köszönök neki minden energiát és időt, amit ennek a munkának szentelt.

Hálával tartozom Dr. Horváth Örs Péter professzor úrnak, aki a kezdetektől biztatott a tudományos tevékenységre, és lehetővé tette számomra, hogy az emlődagantos betegek gyógyításával foglalkozhassak. Dr. Vereczkei András professzor úrnak, aki a szakmai és tudományos munkámban is támogat, az értekezés elkészítéséhez értékes tanácsokkal látott el.

Köszönöm a PTE Sebészeti Oktató és Kutató Intézetnek oxidatív stressz mérések - valamint a PTE Orvosi Népegészségtani Intézetnek a micro-RNS vizsgálatok lehetővé tételét, külön kiemelve Dr. Gombos Katalint és Dr. Juhász Krisztinát, akik ez eredmények értékelésében komoly segítséget nyújtottak.

Köszönettel tartozom Dr. Tizedes Györgynek, Dr. Pavlovics Gábornak és Dr. Kovács Gyulának, akiktől az emlődagantos betegek korszerű ellátását megtanulhattam. Köszönöm nekik, hogy tudásukkal és barátságukkal a kezdetektől fogva önzetlenül mellettem állnak, és hogy a vizsgálatok során részt vettek a minták gyűjtésben is. Köszönöm Dr. Kálmán Endrének és Dr. Szalai Gábornak, mindennapi gyógyító munkájuk során készült leleteik a kutatásaink egyik kiinduló pontjaként szolgáltak. Szintén köszönet illeti az Onkoterápiás Intézet dolgozóit, akik a kemoterápiás kezeléseket végzik.

Köszönöm Prof. Dr. Dinya Eleknek a statisztikai kiértékeléshez nyújtott segítségét és Dr. Borsodi Bálint segítségét a betegek adatainak feldolgozásában.

Köszönet minden munkatársamnak, akiktől tanulhattam, és akik bármilyen módon segítettek eddigi munkámban.

Végül, de nem utolsó sorban hálámat szeretném kifejezni édesanyámnak, aki gyermekkorom óta minden erejével és energiájával támogatott a céljaim elérésében, így kiemelkedő szerepe van ennek a munkának az elkészültében is.