

A szérum D-vitamin, a homocisztein, illetve a szolubilis PD-L1 és PD-1 longitudinális vizsgálata kolorektális tumorokban

Doktori tézis

Dr. Mühl Dorottya

Semmelweis University
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Prof. Dr. Dank Magdolna, Ph.D., habil., egyetemi tanár

Opponensek Prof. Dr. Kovács Árpád, Ph.D., egyetemi tanár
Dr. Nagy Zsolt, Ph.D., egyetemi docens

A vizsgabizottság vezetője: Prof. Dr. Nyirády Péter, D.Sc., egyetemi tanár

A vizsgabizottság tagjai: Dr. Nikolényi Alíz, Ph.D, egyetemi adjunktus
Dr. Fónyad László, Ph.D, egyetemi adjunktus

Budapest
2024

1. Bevezetés

A vastag- és végbélrák (CRC) a harmadik leggyakrabban diagnosztizált daganattípus világszerte. Számos kockázati tényező ismert, amelyek növelhetik a CRC kialakulásának előfordulását. Ilyenek például az egészségtelen táplálkozási szokások, a dohányzás, az elhízás és a mozgásszegény életmód. Továbbá, fokozott kockázatot figyeltek meg azoknál a személyeknél is, akik családjában az elsőfokú rokonok között előfordul a megbetegedés. A korai felismerés kulcsfontosságú a legjobb terápiás eredményekhez, de sajnos körülbelül minden második CRC beteg esetében távoli áttétek alakulnak ki.

A szervezet megfelelő D-vitamin szintje kulcsfontosságú. Számos irodalmi adat utal rá, hogy alacsonyabb vérszintje összefüggésbe hozható különböző megbetegedések magasabb előfordulási gyakoriságával. Ilyen például a CRC is. Korábbi kutatások eredményei alapján a D-vitamin számos daganatellenes hatással rendelkezik, mint például a ciklinfüggő kinázok gátlása, antiproliferatív-, génszabályozó-, pro-differenciáló-, pro-apoptotikus-, antimitotikus- és immunmoduláló hatása is ismert. A D-vitaminhoz hasonlóan a magasabb szérumszint is összefüggésbe hozható különböző betegségek kialakulásával és progressziójával. Bár magasabb homociszteinszintet figyeltek meg CRC-ben is, a betegség és a homociszteinszint közötti összefüggések kevésbé ismertek / vizsgáltak. Egyes adatok azt mutatják, hogy a homocisztein szérumszintjének emelkedése összefügg a daganatképződéssel és/vagy a tumoros megbetegedés progressziójával. A homociszteinszint fordítottan arányos a D-vitamin-szinttel.

A programozott sejthalál ligand-1 (PD-L1) egy immunellenőrző molekula, amelyet a tumorsejtek expresszálnak, és amely kölcsönhatásba lép a programozott sejthalál-1 (PD-1) fehérjével, ami a PD1/PD-L1 útvonal aktiválásához vezet. Ez utóbbi immunszuppresszív, anti-apoptotikus mikrokörnyezethez vezethet, ami segít a daganatnak kikerülni az immunrendszer daganatellenes folyamatait. Mindkét fehérjének létezik membránhoz kötött és szolubilis formája is. Jelenlegi ismereteink szerint a két molekula rész vesz az immunválasz szabályozásában, és/vagy a tumor immunelkerülő folyamataiban. A szolubilis PD-L1 emelkedett szintje több tanulmány eredménye alapján is negatív prediktora a túlélésnek, ezzel szemben a keringő PD-1 szintjéről ugyanezt eddig nem sikerült igazolni.

2. Célok

Kutatásunk célja az volt, hogy megvizsgáljuk a szérumban D-vitamin, homocisztein, PD-1 és PD-L1, illetve egyéb laboratóriumi paraméterek, valamint a CRC-re jellemző paraméterek közötti összefüggéseket. Vizsgálatunk fő szempontja ezen adatok longitudinális változásainak kiértékelése volt.

Kutatásunk kérdései az alábbiak voltak:

1. Van-e összefüggés a vastag- és végbél daganatok kezelése során mért szérumban D-vitamin-, illetve homociszteinszintek, és a betegség-specifikus túlélés között?
2. Van-e összefüggés a meghatározott szérumban D-vitamin, illetve homociszteinszintek, valamint egyéb klinikopatológiai paraméterek között?
3. Van-e összefüggés a mért paraméterek és az előforduló társbetegségek között?
4. Miként változnak a kiindulási mérést követően a különböző vizsgálati paraméterek?
5. Milyen szolubilis PD-1, illetve PD-L1 szinttel rendelkeznek a metasztatikus CRC betegségben szenvedő betegek?
6. Milyen prognosztikai értéke van a PD-1, illetve PD-L1 szinteknek az áttétes CRC-ben? Van összefüggés a keringő PD-1 és PD-L1 szintek, illetve az egyéb rutin laboratóriumi paraméterek között?
7. Van-e különbség az alacsony és magas kiindulási PD-1 és/vagy PD-L1 szintekkel rendelkező csoportok túlélése, vagy a vizsgálat egyéb paraméterei között?

3. Módszerek

3.1. Beteganyag és vizsgálati beállítás

Longitudinális obszervációs kohorszvizsgálatot végeztünk, melybe 86 fő, a Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Onkológiai Profilján, 2017 és 2018 között kezelt CRC beteget vontunk be. A 86 beteg összesen 433 vizitének adatait (átlagosan 5 vizit/beteg) dolgoztuk fel. Az első vizit a primer műtéti ellátást követően, vagy metasztatikus esetben még az első kemoterápiás kezelést megelőzően történt. A második és harmadik vizit egy, illetve két hónappal az első mérést követően történt. A későbbi méréseket 2-3 hónapos időközönként végeztük el. A 86 beteg közül 37 fő, áttétes CRC beteget választottunk ki további elemzésekhez. Ezekben az esetekben az eredeti laboratóriumi paraméterek mellett az áttétes betegségre alkalmazott kezeléseket megelőzően megmértük ezen betegek szolubilis PD-1, illetve PD-L1 szintjét is. Az eredeti longitudinális adatok kiegészítésre kerültek és a 37 betegnél összesen 506 vizitet rögzítettünk, amennyiben elérhető volt, minden 4-6. hétben.

Az anamnesztikus adatokat, beleértve a rendszeresen szedett gyógyszereket és a társbetegségeket, az első vizsgálat alkalmával gyűjtöttük össze. A teljes vérkép és egyéb laboratóriumi paraméterek, mint a májenzimek (GOT, GPT, GGT, laktát-dehidrogenáz), kreatinin, magas szenzitivitású C-reaktív fehérje (hsCRP), plazma glükóz, koleszterin és trigliceridek, valamint a CRC-vel kapcsolatos tumormarkerek mérése a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumaiban történt.

3.2. A szérum D-vitamin szint és homociszteinszint mérése

A D-vitamin és homocisztein szérum szintjének mérése a DiaSorin LIAISON® 25OH D-vitamin TOTAL kemilumineszcens immunoassay kit (DiaSorin S.p.A., Saluggia, Olaszország) és a Roche cobas® HCYS Homocysteine Enzymatic assay kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) segítségével történt, a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában.

3.3. A plazma PD-1, illetve PD-L1 mérése

A plazma PD-1 és PD-L1 szinteket az első vizsgálat időpontjában határoztuk meg. A PD-1 szintet az Invitrogen™ PD-1 Human ELISA kit, a PD-L1 szintet pedig az Invitrogen™ PD-L1 Human ELISA kit (ThermoFisher Scientific, katalógusszám: BMS2214, Waltham, MA, USA) segítségével mértük meg, a Semmelweis Egyetem Belgyógyászati és Onkológiai Klinika, Onkológiai Profiljának laboratóriumában.

3.4. Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzéseket az R for Windows környezetben (4.2.2. verzió; R Core Team, R Foundation for Statistical Computing, 2022, Bécs, Ausztria) végeztük. A csoportok közötti összehasonlításokhoz Welch-féle t-tesztet, Wilcoxon-Mann-Whitney U-teszt-et, Fisher egzkt teszt-et, ANOVA-t Tukey HSD post-hoc-tesztekkel, valamint Kruskal-Wallis és p-érték-korrigált páronkénti Wilcoxon-Mann-Whitney U-tesztek segítségével végeztük. A vizsgált paraméterek közötti összefüggések tesztelésére Spearman-féle rangkorrelációt alkalmaztunk. A magas és alacsony PD-1 és PD-L1 szintek optimális vágópontjának meghatározásához ROC-analízist (receiver operating curve) végeztünk. A különböző paraméterek időbeli változásait természetes köbös spline-nal korrigált kevert-hatásos lineáris modellek segítségével vizsgáltuk. "Egyszerű" Cox-regressziós– és ok-specifikus competing risk túlélési modelleket használtunk a progresszió-mentes (PFS) és a betegség-specifikus túlélés (DSS) meghatározásához. A vizsgálati paraméterek longitudinális változásainak túlélésre gyakorolt hatását időfüggő kovariáns(ok)kal kiegészített Cox-regressziós modellekkel elemeztük. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha a $p < 0,05$ volt. A p-értékeket a Holm vagy a Benjamini-Hochberg (FDR) módszerrel korrigáltuk. A folytonos változókat átlag $\pm$ szórással, az előfordulási gyakoriságokat a megfigyelések számával, illetve a százalékos aránnyal (zárójelben), a túlélési adatokat pedig a hazard rátával és annak 95%-os konfidencia intervallumával (CI) adtuk meg.

4. Eredmények

4.1. A szérum D-vitamin és homocisztein szint mérése CRC-ben

A vizsgálatba összesen 86 CRC-s beteget vontunk be. A betegeket négy kohorszba osztottuk az alapján, hogy áttét jelen volt- e a diagnózis felállításakor vagy sem, valamint, hogy a betegek részesültek-e D-vitamin pótlásban. Tizenkilenc, huszonöt, tíz és harminckét beteget soroltunk az "adjuváns, D-vitamin-pótlás nélküli" (Adj-ND), az "adjuváns, D-vitamin-pótlással" (Adj-D), az "áttétes, D-vitamin-pótlás nélküli" (Met-ND), illetve az "áttétes, D-vitamin-pótlással" (Met-D) csoportokba.

4.1.1. A betegek alapjellemezői

A D-vitamin kiegészítésben részesült, valamint nem részesült csoportokat összehasonlítottuk, hogy a kiinduláskor különböztek-e egymástól. Mind a D-vitamin, mind pedig a homocisztein szint tekintetében csak marginális különbségeket találtunk. A D-vitamin szintet nem befolyásolták az olyan csoportosító tényezők, mint a nem, a stádiumbeosztás, a daganat oldalisága (jobb, vagy bal colonfél), valamint a különböző társbetegségek, mint például a 2-es típusú cukorbetegség vagy a magas vérnyomás. A homociszteinszint szignifikánsan magasabb volt abban az esetben, ha a daganat a jobb colonfélben helyezkedett el. A kiindulási laboratóriumi paraméterek csak abban az esetben különböztek, ha metasztázis(ok) volt(ak) jelen. Az alkalmazott D-vitamin-pótlás előtt nem lehetett különbséget kimutatni az Adj-ND vs. Adj-D és a Met-ND vs. Met-D csoportok között.

4.1.2. A D-vitamin és a homociszteinszintek longitudinális elemzése

A vizsgálat során az Adj-ND betegek D-vitamin-szintje egy megközelítőleg állandó érték körül ingadozott ($p = 0,2640$), míg az Adj-D kohorsz betegek esetén stabil emelkedés volt megfigyelhető ($p = 0,0261$). A Met-ND esetében folyamatos csökkenést, míg a Met-D kohorszok esetében enyhe növekedést tapasztaltunk. A homocisztein esetében az összes vizsgált csoportban egy „hullám-mintát” (hirtelen csökkenés lassú helyreállással) figyeltünk meg. A Met-D kohorsz kiindulási értékén belüli eltéréseken kívül ($p = 0,0195$) az egyetlen további különbség az volt, hogy a csoportátlagok második fele egy telítődési görbére hasonlított a D-vitamin-kiegészítésben részesülőknél, míg a kiegészítésben nem részesülők esetén a homociszteinszint egyenletes emelkedése volt megfigyelhető. Az Adj-ND és Adj-D csoporton belül azokban az esetekben, ahol a hasonló kiindulási stádiumot követően metakrón metasztázis alakult ki, tendenciózusan alacsonyabb D-vitamin-szintet tapasztaltunk, mint azokban az esetekben, ahol a vizsgálat végéig nem alakult ki metasztázis. Hasonlóképpen csökkent a D-

vitamin-szint a kezdeti hasonlóság után azokban az esetekben, ahol a betegség progrediált ($p = 0,0731$) illetve ahol halál következett be ($p = 0,0267$). Ezzel szemben a homociszteinszinteket statisztikailag nem befolyásolta sem a metakrón metasztázis ($p = 0,6813$), sem pedig a betegség progressziója ($p = 0,5225$), vagy a halál ($p = 0,2153$). A homocisztein longitudinális vizsgálata során, a szérumszintek (p < 0,0001), az alacsony sűrűségű lipoproteinek (LDL) (p < 0,0001) valamint a trigliceridek (p < 0,0001) esetében tartósan magas szintek alacsonyabb D-vitamin-szintekkel társultak. Magasabb szérumszintek konstansan magasabb fehérvérsejtszámmal ($p = 0,0092$), trombocita számmal ($p = 0,0146$), szérumszintekkel ($p = 0,0021$), laktát dehidrogenázszinttel ($p = 0,0009$), össz koleszterin szinttel ($p = 0,0146$), LDL koleszterin szinttel ($p = 0,0441$), kreatinin szinttel ($p < 0,0001$) és konstans alacsonyabb eGFR ($p < 0,0001$) szinttel társultak. Szignifikáns összefüggést találtunk a D-vitamin szint változása és a szérumszint változása között ($p = 0,0158$). Idővel, ahogy a szérumszint normál tartományba került, a D-vitamin telítődés sebessége lelassult. A szérumszint normál értékei nagyobb valószínűséggel társultak stabil homocisztein szintekhez a megfigyelési időszak végére ($p = 0,0072$). A laboratóriumi paraméterek egy változós hatásainak vizsgálata mellett azok kombinált, többváltozós hatását is elemeztük. A többi laboratóriumi paraméter esetén sem statisztikailag szignifikáns interakciót, sem pedig egyéb összefüggést nem tapasztaltunk.

4.1.3. Túlélési elemzés

Vizsgáltuk a betegek teljes, valamint progresszió mentes túlélését. Két végpontot határoztunk meg: (1) a CRC-vel kapcsolatos halálozás és (2) egyéb okokból (pl. öregség) vagy más, nem daganatos betegség miatt bekövetkezett halál. Az első esemény 36 (41,9%), a második pedig 4 (4,7%) esetben következett be, a betegek követése pedig 2021. szeptember 30.-ig történt. A nem metasztatikus csoportokban 2, illetve 3 beteg, a metasztatikus csoportokon belül 34, illetve 1 beteg halt meg CRC-vel kapcsolatos vagy egyéb okok miatt. A betegség progressziója az Adj-ND, Adj-D, Met-ND és Met-D kohorszokban 3, 4, 9 és 28 esetben következett be. Az áttétes csoportok bármelyikébe való tartozás a várakozásoknak megfelelően jelentősen rontotta a betegek várható élettartamát. A szérumszint emelkedése pozitív hatással volt az áttét mentes betegek teljes túlélésére (HR: 0,9130, 95% CI: 0,8511 - 0,9794, $p = 0,0111$), azonban az áttétek jelenlétének túlélést csökkentő hatása gyakorlatilag kioltotta ezt a pozitív hatást ($p = 0,0107$, a Met-ND csoport D-vitamin korrigált HR-je: 1,0034, 95% CI: 0,8698 - 1,1567). A betegség progressziója és a D-vitamin szint változások között nem találtunk összefüggést (HR: 0,9868, 95% CI: 0,9482 - 1,0270, $p = 0,5150$), míg a homociszteinszint

emelkedése negatív hatással volt mind a teljes (HR: 1,0940, 95% CI: 1,0250 - 1,1680, $p = 0,0067$), mind pedig a progresszió mentes túlélésre (HR: 1,0845, 95% CI: 1,0221 - 1,1510, $p = 0,0073$).

4.2. PD-1 és PD-L1 mérése metasztatikus CRC-ben

Összesen harminchét metasztatikus CRC-s beteget vontunk be a vizsgálat ezen a részébe. A betegek kiindulási, kezelés előtti átlagos PD-L1 és PD-1 szintje $16,01 \pm 1,09$ pg/ml, illetve $27,73 \pm 1,20$ pg/ml volt. A betegeknél minden esetben meghatározásra került a RAS-, mikroszatellita- és BRAF molekuláris státus. Tizenhárom RAS mutáns, egy mikroszatellita instabil és egy BRAF mutáns beteget diagnosztizáltak.

Azokban az esetekben, ahol metachron metasztázis volt jelen, szignifikánsan alacsonyabb PD-L1-szintet tapasztaltunk a szinkron kialakult metasztázissal diagnosztizált esetekhez képest (metachron: $9,96 \pm 3,17$ pg/ml; szinkron: $17,23 \pm 11,43$ pg/ml; $p = 0,0412$). Nem találtunk összefüggést a PD-L1-szintek és a nem, a daganat oldalisága, a kemoterápiás kezelés fajtája, a stádiumbeosztás vagy a társbetegségek között. Pozitív korrelációt tapasztaltunk a PD-L1 és a hsCRP (Spearman ρ : +0,60; $p = 0,0011$), az aszpartát-transzamináz (AST, Spearman ρ : +0,48; $p = 0,0253$), az alanin-transzamináz (ALT, Spearman ρ : +0,45; $p = 0,0386$) és a gamma-glutamil-transzferáz (GGT, Spearman ρ : +0,52; $p = 0,0103$) szintek között. A PD-L1 és a fehérvérsejtek (WBC, Spearman ρ : +0,35), a monociták (Spearman ρ : +0,35) és a vérlemezkek (Spearman ρ : +0,43; $p = 0,0556$) száma között marginálisan pozitív összefüggést tapasztaltunk. Az egyváltozós modellekben a magasabb kiindulási PD-L1 plazmaszintű betegek esetén szignifikánsan alacsonyabb volt a DSS (HR: 1,0396; 95% CI: 1,0073 - 1,0730; $p = 0,0160$) valamint a PFS (HR: 1,0498; 95% CI: 1,0130 - 1,0880; $p = 0,0074$). Ezzel szemben a magasabb kiindulási PD-1 plazmaszintek esetén csak marginális összefüggés volt látható a csökkent DSS-el (HR: 1,0269; 95% CI: 0,9987 - 1,0559; $p = 0,0617$) és nem volt különbség a PFS (HR: 1,0226; 95% CI: 0,9914 - 1,0550; $p = 0,1580$) tekintetében. Ugyanezeket az eredményeket kaptuk, ha a modelleket szinkron és metachron metasztázisok szerint elemeztük (PD-L1 DSS: $p = 0,0257$; PD-L1 PFS: $p = 0,0141$; PD-1 DSS: $p = 0,1680$; PD-1 PFS: $p = 0,2690$). A PD-L1 szintek marginálisan, illetve szignifikánsan befolyásolták a DSS-t és a PFS-t, míg a PD-1 nem volt befolyással a betegek túlélésére. A PD-1 és a PD-L1 szintek mellett a betegek túlélésére leginkább az oldaliság, a 2-es típusú cukorbetegség valamint a vérlemezkeszám volt befolyással.

4.2.1 A plazma PD-1, PD-L1 szint és a tumorterhelés közötti kapcsolat vizsgálata

A plazma PD-L1 szintje szignifikáns összefüggést mutatott az áttétek megjelenésével, a PD-1 esetén nem tapasztaltunk hasonló összefüggést. A májmetasztázisok jelenléte szignifikánsan magasabb plazma PD-L1-szinttel ($p = 0.0499$) és marginálisan magasabb PD-1-szinttel ($p = 0.0618$) társult. Abban az esetben, ha több, mint 2 különböző szervet érintő, multiplex áttétek voltak jelen, a plazma PD-1 szintje marginálisan magasabb volt (áttét egy szervben: $22,89 \pm 9,44$ pg/ml; metasztázisok $\geq$ két szervben: $30,06 \pm 12,55$ pg/ml; $p = 0,0630$), azonban a PD-L1 szint azonos volt ($p = 0,5602$). Továbbá sem a RAS-mutáció jelenléte (PD-1: $p = 0,7255$; PD-L1: $p = 0,7689$), sem pedig az inoperabilitás (PD-1: $p = 0,2289$; PD-L1: $p = 0,9723$) nem befolyásolták a betegek PD-1/PD-L1-szintjét. Továbbá szignifikáns összefüggést találtunk a plazma PD-L1 szintek és a legnagyobb máj/tüdő metasztázisok átmérője között.

4.2.2 Az alacsony és magas PD-1/PD-L1-tartalmú alcsoportok összehasonlítása

A vizsgálat betegeket alacsony, illetve magas PD-1, valamint PD-L1 szintű csoportokra osztottuk. Ezért ROC görbe elemzést végeztünk az optimális cut-off értékek meghatározásához. A PD-1 esetén 26 pg/ml, a PD-L1 esetén pedig a 13 pg/ml érték bizonyult az ideális cut-off értéknek. Összesen 19, 18, 18 és 19 beteget soroltunk be az alacsony és magas PD-L1, illetve az alacsony és magas PD-1 alcsoportba.

Összehasonlítottuk különböző csoportok laboratóriumi és klinikopatológiai jellemzőit. A magasabb PD-L1-szintű betegekre rosszabb klinikopatológiai értékek voltak jellemzőek. Nevezetesen, magas PD-L1 esetén a hsCRP-szintek szignifikánsan magasabbak voltak ($p = 0,0478$), a fehérvérsejtek, monocitaszám, vérlemezkeszám, AST-, ALT-, GGT-, laktát-dehidrogenáz (LDH), D-vitamin-, homocisztein- és CEA-szintek magasabbak, az albuminszintek pedig alacsonyabbak voltak. Az alacsonyabb PD-1-szintek magasabb D-vitamin-, valamint alacsonyabb homocisztein-, hematokrit-, hemoglobin- és plazma glükózszintekkel jártak együtt. A klinikopatológiai paraméterekben nem volt különbség sem a PD-L1, sem pedig a PD-1 alcsoportok esetén. A magas PD-L1 szintű csoportban ($\text{PD-L1} > 13$ ng/mL) körülbelül kétszer nagyobb valószínűséggel fordult elő rövidebb DSS (HR: 1,9830; 95% CI: 1,0120 - 3,8850; $p = 0,0462$). Továbbá ugyanezen csoportban 2,4-szer nagyobb valószínűséggel fordult elő rövidebb PFS (HR: 2,4027; 95% CI: 1,2080 - 4,7800; $p = 0,0125$). A PD-1 csoportban nem találtunk szignifikáns összefüggést sem a DSS, sem pedig a PFS esetén.

4.2.2.1 Longitudinális vizsgálat

A 37 vizsgált beteg esetében összesen 506 vizitet rögzítettünk: átlagosan $13,68 \pm 7,94$ vizit történt betegenként. A „magas” PD-L1 csoportba tartozó betegek esetén következetesen magasabb volt a fehérvérjest-, monocita-, limfocita- és trombocita-szám. Az átlagos korpuszkuális hemoglobinszint (MCH), az átlagos korpuszkuális hemoglobin koncentráció (MCHC), az átlagos korpuszkuális térfogat (MCV), az albuminszint és a HDL-koleszterinszint a magas PD-L1 szintű csoportban a vizsgálatunk alatt végig alacsonyabb volt. Továbbá a magas PD-L1 csoportban a vörösvértest-eloszlási szélesség (RDW), a hsCRP-szintek és az LDH-szintek szignifikánsan magasabbak voltak. A grafikusan látható látszólagos különbség ellenére a betegek D-vitamin-szintje statisztikailag nem különbözött a két PD-L1-kohorsz között ($p = 0,2163$), míg a homocisztein szintje az alacsony PD-L1 csoportban marginálisan alacsonyabb volt. Általánosságban elmondható, hogy valamennyi longitudinális változás a klinikailag rosszabb állapot felé mutatott. A PD-L1-csoportokkal ellentétben, ahol a magasabb PD-L1-szint gyakrabban társult emelkedett vérlemezkeszámmal, a magas PD-L1 csoport esetén a vizsgálat során szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult vérlemezkeszám. A D-vitamin és a homocisztein szint nem különbözött a PD-L1 csoportok között.

5. Következtetések

Vizsgálatunk célja volt, hogy jobban megértsük a D-vitamin, a homocisztein, a szolubilis PD-1 illetve PD-L1, valamint a kolorektális daganatok közötti kapcsolatot. Az eredményekből a alábbi következtetések vonhatók le:

- A D-vitamin-pótlás a legnagyobb előnyökkel a nem metasztatikus CRC-s betegeknél jár.
- Mivel önmagában a metasztatikus betegség diagnózisa „kiolthatja” a D-vitamin pótlás/kiegészítés előnyeit, ezért javasolt a szérumban D-vitamin szint rendszeres ellenőrzése, és a pótlás/kiegészítés klinikai paramétereken alapuló titrálása.
- Azokban az esetekben, ahol halál, vagy progresszió következett be, vagy metakrón metasztázis alakult ki, a D-vitamin szintben kezdeti hasonló tendenciát követően meredeken csökkenés következett be.
- A D-vitamin kiegészítés hatékonyságát/sikerességét szérumban metabolitok rendszeres ellenőrzésével javasolt ellenőrizni.
- A homociszteinszint-változások kolorektális daganatok esetén klinikopatológiai jellemzőktől függetlenül egy “hullám mintát” mutatnak.
- A szérumban homociszteinszint magasabb a jobb oldali vastagbél daganatok esetén.
- A szérumban összfehérje-szint normalizálódása állandósuló homociszteinszintet von maga után.
- A korábbi, egy időpontra vonatkozó irodalmi adatokkal [40] ellentétben a szérumban D-vitamin- és homociszteinszintek nem változnak egymással ellentétesen, a két paraméter között nem volt igazolható szignifikáns longitudinális korreláció.
- Az emelkedett kiindulási PD-1/PD-L1 plazmaszintek nemcsak a rosszabb túlélést, hanem a laboratóriumi paraméterek klinikailag rosszabb szintjét is előre jelezhetik a

metasztatikus CRC-s betegek esetében. A kiindulási PD-1/PD-L1 plazmaszintek esetén tapasztalt különbségek a betegség lefolyása során végig fennmaradtak.

- Szignifikáns összefüggést találtunk a plazma PD-1/PD-L1 szintek és a magasabb metasztatikus tumorterhelés között.
- A PD1/PD-L1-szintek és a D-vitamin, valamint a homocisztein szintek között nem igazolható összefüggés.
- A D-vitamin, a homocisztein, a PD-1 és PD-L1, valamint a társbetegségek, a szérumlipidek és egyéb laboratóriumi paraméterek között talált szignifikáns összefüggések arra utalnak, hogy egy komplexebb, interdiszciplináris megoldásokon alapuló onkológiai döntéshozatalra van szükség.

Összességében elmondhatjuk, hogy emelkedett PD1/PD-L1 szint esetén a vizsgált laboratóriumi paraméterek rendellenes szintje és a tumorterhelés fokozódása várható. A D-vitamin-pótlás plazmaszint mérésen alapuló titrálása, valamint egy komplex, interdiszciplináris megközelítésű kezelési stratégia javasolt minden vastagbél daganatos beteg terápiás tervének felállításán.

6. Saját publikációk jegyzéke

6.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Dank M, **Mühl D**, Herold M, Hornyák L, Szász AM, Herold Z. (2022) Does Elevated Pre-Treatment Plasma PD-L1 Level Indicate an Increased Tumor Burden and Worse Prognosis in Metastatic Colorectal Cancer? *J Clin Med*, 17: 4815. **IF: 3.9**, SJR: Q1 (Medicine – miscellaneous)

Mühl D, Herold M, Herold Z, Hornyák L, Szász AM, Dank M. (2022) Longitudinal Analysis of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and Homocysteine Changes in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*, 14:658. **IF: 5.2**, SJR: Q1 (Oncology).

6.2. A disszertációtól független közlemények

Szentmártoni G, **Mühl D**, Csanda R, Szász AM, Herold Z, Dank M. (2024) Predictive Value and Therapeutic Significance of Somatic BRCA Mutation in Solid Tumors. *Biomedicines*, 12: 593. **IF: 4.7 (2022)**, SJR: Q1 (Medicine – miscellaneous).

Barna AJ, Herold Z, Ács M, Bazsa S, Gajdácsi J, Garay TM, Herold M, Madaras L, **Mühl D**, Nagy A, Szász AM, Dank M. (2023) High Tumor-Infiltrating Lymphocyte Count Is Associated with Distinct Gene Expression Profile and Longer Patient Survival in Advanced Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci*, 24: 13684. **IF: 5.6 (2022)**, SJR: D1 (Spectroscopy), Q1 (Medicine (miscellaneous)).

Dank M, **Mühl D**, Pölhös A, Csanda R, Herold M, Kovacs KA, Madaras L, Kulka J, Pálházy T, Tőkés AM, Tóth M, Újhelyi M, Szász AM, Herold Z. (2023) The Prediction Analysis of Microarray 50 (PAM50) Gene Expression Classifier Utilized in Indeterminate-Risk Breast Cancer Patients in Hungary: A Consecutive 5-Year Experience. *Genes (Basel)*, 14: 1708. **IF: 3.5 (2022)**, SJR: Q2 (Genetics).

Ágoston E, Ács B, Herold Z, Fekete K, Kulka J, Nagy Á, **Mühl D**, Mohácsi R, Dank M, Garay T, Harsányi L, Györffy B, Szász AM. (2022) Deconstructing Immune Cell Infiltration in Human Colorectal Cancer: A Systematic Spatiotemporal Evaluation. *Genes (Basel)*, 13: 589. **IF: 3.5**, SJR: Q2 (Genetics).

Kiss É, **Mühl D**, Mohácsi R, Dank M, Takács I, Németh Zs. (2022) B Vitamin Intake and the Risk of Colorectal Cancer Development: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Biomed J Sci Tech Res*, 40: 32158-32170. **IF:** –, **SJR:** –.

Petényi FG, Garay T, **Mühl D**, Izsó B, Karászi Á, Borbényi E, Herold M, Herold Z, Szász AM, Dank M. (2021) Modulated Electro-Hyperthermic (mEHT) Treatment in the Therapy of Inoperable Pancreatic Cancer Patients – A Single-Center Case-Control Study. *Diseases*, 9: 81. **IF:** –, **SJR:** –.

Garay T, Kiss É, Szentmártoni Gy, Borbényi E, **Mühl D**, Karászi Á, Désfalvi J, Mohácsi R, Kvasnika M, Szász AM, Dank M. (2020) Gastrointestinal Cancer Series Treated with Modulated Electro- Hyperthermia (mEHT) - A Single Centre Experience. *In: Szász A (ed.). Challenges and Solutions of Oncological Hyperthermia*. Cambridge Scholars Publishing, Newcastle upon Tyne, UK, pp159-162.

Tőkés T, Tőkés AM, Szentmártoni Gy, Kiszner G, **Mühl D**, Molnár BÁ, Kulka J, Krenács T, Dank M. (2020) Prognostic and Clinicopathological Correlations of Cell Cycle Marker Expressions before and after the Primary Systemic Therapy of Breast Cancer. *Pathol Oncol Res*, 26: 1499-1510. **IF:** 3.201, **SJR:** Q2 (Medicine – miscellaneous)

Mühl D, Kleiner D, Hajdú A, Kiss É, Szász AM, Dank M. (2019) The potential of nutritional supplements: methyl donor rich food and their application in oncology. *Biomed J Sci Tech Res*, 16: 12257-12263. **IF:** –, **SJR:** –.