Új stratégia kidolgozásának szükségessége a vastag- és végbélrákos betegek követésére; a mikroRNS-ek (miRNS) mint a korai felismerés lehetséges új biomarkerei

A betegszervezetek társszerepének előnyös hatása a túlélésre

Dr. Orosz Enikő

PhD értekezés

Program és témavezető: Prof. Dr. Ember István

Témavezető: dr. Varjas Tímea

Programvezető: Prof. Dr. Kiss István

Intézetvezető egyetemi tanár

Orvosi Népegészségtani Intézet

Daganatok Molekuláris Epidemiológiája Doktori Program

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Kovács L. Gábor

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Általános Orvostudományi Kar, 2018.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS 5

1.1. A vastag –és végbélrák (CRC) főbb epidemiológiai jellemzői 5

1.2. A gyógyító műtét utáni betegkövetés indoklása, a paradigmaváltás szükségességének főbb szempontjai 7

2. KÖVETÉSI STRATÉGIÁK – VÁLASZTÁSI LEHETŐSÉGEK 9

2.1. Nemzeti és nemzetközi ajánlások 9

2.2. A nemzeti és nemzetközi ajánlások elfogadottsága 9

2.3. Új követési modellek kidolgozásának az igénye 9

2.4. Az értekezés fő célkitűzései 11

3. BIOMARKEREK – TUMORMARKEREK 12

3.1. A „biomarker" fogalma 12

3.2. A „klasszikus" tumormarkerek korlátozott klinikai értéke. 12

3.3. Tumor DNS kimutatása különböző testnedvekben 15

3.4. A keringő daganatsejtek kimutatása. Primer tumor és metasztázis 16

3.5. Hagyományos és új biomarkerek kombinációja a betegkövetésben 17

4. A MIKRORNS-EK, MINT ÚJ DAGANATOS BIOMARKEREK 18

4.1. A miRNS-ek, mint a CRC potenciális biomarkerei 18

4.2.Különböző miRNS-mintázatok hasznosítása a korai felismerésben és a prognosztikában 20

4.3. A miRNS-ek klinikai hasznosításának korlátai: Paradigmaváltás szükségessége 23

4.4. Széklet miRNS biomarkerek szerepe a CRC szűrésben és a betegkövetésben 25

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK 28

5.1. Betegválogatás 28

5.2. A miRNS vizsgálatok menete és technikai módszertani jellemzői 28

6. EREDMÉNYEK 30

6.1. Kontroll személyek és daganatos betegek *30*

6.2. A kontrollok és a daganatos betegek összehasonlítása, a TNM beosztás szerint *30*

7. MEGBESZÉLÉS 33

7.1. Főbb epidemiológiai mutatók *33*

7.2. A betegkövetés stratégiai ellentmondásai *33*

7.3. Klasszikus és új biomarkerek – mint indikátorok *34*

7.4. A miRNS profilok változása - új diagnosztikai és követési lehetőségek *35*

7.5. A miRNS expressziók összehasonlítása differenciál-diagnosztika, kedvezőbb túlélési lehetőségek *35*

7.6. Következtetés és a jövő perspektívái *37*

7.7. Az értekezés klinikai gyakorlatban hasznosítható megfigyelései és eredményei *38*

8. KÖRNYEZETI HATÁSOK, ÉLETMÓD, PSZICHÉS TÉNYEZŐK..... 39

8. 1. Esélyt a kedvezőbb túlélésre! *39*

8.2. Betegválasztás és módszer *40*

8.2.1. A válaszadók csoportja – szövetségi keretek 40

8.2.2. Az adatgyűjtés modellje 41

8.2.3. Statisztikai elemzés 41

9. EREDMÉNYEK 42

9.1. Az értékelés kettős szempontrendszere *42*

9.2. A nemek szerinti adatok összevetése *42*

10. MEGBESZÉLÉS 45

10.1. Gyógyító műtét – betegkövetés *45*

10.2. Célcsoport választás – civil bázisok *45*

10.3. A túlélési adatok összehasonlító vizsgálata *46*

11. AZ ÉRTEKEZÉS KLINIKAI GYAKORLATBAN HASZNOSÍTHATÓ ÚJ MEGFIGYELÉSEI ÉS EREDMÉNYEI A SZÖVETSÉGI FELMÉRÉS ADATAI ALAPJÁN 48

12. IRODALOMJEGYZÉK 49
13. KÖZLEMÉNYEK 66
AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁVAL KAPCSOLATOS TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK 66
EGYÉB TÉMÁJÚ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK 68
AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁVAL KAPCSOLATOS IDÉZHEZŐ KONGRESSZUSI ÖSSZEFOGLALÓK 69
EGYÉB TÉMÁJÚ IDÉZHETŐ KONGRESSSZUSI ÖSSZEFOGLALÓK 70
14. RÖVIDÍTÉSEK 72
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 73

1. BEVEZETÉS

1.1. A vastag –és végbélrák (CRC) főbb epidemiológiai jellemzői

Ismeretes, hogy a vastag – és végbélrák az Amerikai Egyesült Államokban és Európában egyaránt az egyik vezető haláloki tényező, s az összes daganat kb. 14-15% -át képviseli. Számos szerző már korábban a nyugati világ „csapásaként" emlegette (18, 39). Kétségtelen, hogy az európai CRC mortalitás az utóbbi két évtizedben csökkenő tendenciát mutatott mindkét nem esetében.

A csökkenés számos európai országot is érint, de pl. Romániát és az Orosz Föderációt nem, s Magyarországon is csak némi stagnálás mutatható ki, hullámzó jelleggel (108). A csökkenés 1997-2007 között általában 2% / év-re tehető, de országonként és korcsoportokként különböző mértékben, Japánban pl. a 65 – 85 éves korosztályban évi 1,3 % - os csökkenést regisztráltak, mindkét nemben, az elmúlt 10 év során (157). Feltehető, hogy a korai diagnosztika és a korszerű kezelés is közrejátszott ezen eredmények elérésében, egyes országokban a hatékony szűrési programokkal egyetemben (15).

Az európai „mortalitási predictió" 2012-re további csökkenést jósol a vastag-és végbélrák standardizált mortalitási rátáját illetően, bár a (-7%) feltehetően csak egyes országokban érhető el, másokban azonban meg sem közelíthető (90).

A nemzetközi irodalomban fellelhető 5 éves túlélési adatok igen változatosak, az átlagos értékek az USA-ban 65 %-nak, míg Európában 55 %-nak bizonyultak, de vannak ennél alacsonyabb és magasabb értékek is, az északi államok adatai kedvezőbb képet mutatnak (39, 145). A németországi túlélési adatok 2002-2006 között nagyon kedvezően alakultak, s 60,6 %-ról 65,0%-ra módosultak folyamatos csökkenéssel (89). Az Egyesült Királyságban (UK) az 1999-2004 között felfedezett CRC betegek 5 éves túlélése férfiaknál és nőknél 49,6% -os, illetve 50,8% -os volt, míg a 10 éves túlélést 2008-ban 45 %- ra becsülték (113, 4).

Sajnálatos módon, az európai mortalitási statisztikában kiemelkedően rossz CRC-s adatokkal jelenik meg Csehország és Magyarország, mivel az európai országok mortalitási rátája általában 17-20/100.000 férfi, valamint 10-13/100.000 nő között mozog. A csehországi ráta ezzel szemben 35,77/100.000 férfit, illetve 17,94/100.000

nőt jelent, s ennek hazai megfelelője 34,56/100.000, illetve 18,20/100.000, amely arra utal, hogy nőknél az első, férfiaknál meg a második helyet foglaljuk el, bár az adatok között csak minimális különbséget lehet felfedezni (73). Hazánkban az évi bejelentett új esetszám (mindkét nemre) kb. 9.000, míg a halálozások száma évi 5.000 fő, hullámzó aránnyal, inkább stagnáló jelleggel (64).

A magyar Nemzeti Rákregiszter adatai alapján a férfi és női vastag- és végbélrákos betegek várható 5 éves túlélési aránya kb. 40%-os, s az összes daganatos halál fele már az első évben bekövetkezik (139). A CRC népegészségügyi jelentősége tehát kiemelkedő, s mint általában jól operálható daganat, gyógyítása – korai felismerés esetén – igen eredményes lehet. A korai felismerés azonban nagyon sokszor késik, akár az egészségügyi rendszer „nehéz mozgása", akár az orvos késlekedése, vagy pedig a kellő felvilágosítással nem rendelkező beteg „nemtörődöm" magatartása miatt (7, 10, 43, 103, 108).

A késlekedés (vagy a gyors korai felismerés) létkérdés a CRC-s betegek túlélése szempontjából, mivel a korai rákok (Dukes' A) 5 éves túlélése csaknem 90%-os, míg a késői (Dukes' D) tumorok túlélési esélye csak 15%-os lehet. Jelenleg azonban, a diagnózis időpontjában a betegek 20-25%-nál már áttétet lehet megfigyelni, s későbbi időpontban újabb 20-25%-nál jelennek meg áttétek, amelyek csökkentik a túlélési esélyt (4, 124).

Ezt a rendkívül lesújtó helyzetet (elsősorban a kedvezőtlen epidemiológiai mutatókkal rendelkező országokban) csak akkor lehet hosszútávú, kitartó munkával felszámolni, ha törlesztjük régi adósságunkat, egyrészt a hatásos, jól szervezett és tervezett szűrési program széleskörű elindításával, másrészt, a sikeresnek minősíthető műtét utáni betegkövetés megfelelő kivitelezésével.

A szűrés és betegkövetés ugyanis a korai felismerés igényében találkozik egymással, mivel a szűrési munka csúcsa a korai stádiumú daganat felfedezése a tünetmentes egyénben, másrészt, az operált, ugyancsak tünetmentes, rendszeresen követett beteg életkilátásai és túlélési esélyei is javulnak a visszatérő daganat (vagy áttét) minél korábbi korszerű gyógykezelésével (5, 78, 103, 105, 106, 108).

1.2. A gyógyító műtét utáni betegkövetés indoklása, a paradigmaváltás szükségességének főbb szempontjai

A gyógyító műtét utáni betegkövetés feltételezett előnyeit az alábbi szempontrendszer keretében érdemes vizsgálni (36):

- A kiújulások minél koraibb felfedezése, amely a második gyógyító műtét hatékonyságát növelheti;
- Egy esetleges második primer tumor kimutatása;
- A beteg megnyugtatása, életminőségének javítása.

Hogy a fenti feltételezések közül melyik (és mennyire) igaz, azt számos tényező befolyásolhatja, így pl.: a primer tumor elhelyezkedése, stádiuma (a beteg első jelentkezésekor); a hozzáférhető terápia hatékonysága; a beteg alkalmassága és hajlandósága; olyan módszertani elemek megválasztása, amelyek optimális követési stratégia kialakítását teszik lehetővé (35).

Sajnálatos módon, az optimális követést illetően, nincs konszenzus a szakirodalomban. Továbbá, az intenzív és kevésbé intenzív követést biztosító stratégiai elemek kiválasztása és társítása is jelentős különbséget mutathat (17, 27, 35, 42, 75, 93, 142, 143, 153).

Az életminőséggel kapcsolatos klinikai vizsgálatok azonban fontossá váltak az utóbbi években, melyeknek jelentős tényezője a célcsoportok betegeinek visszajelzése (42, 131). A betegek egy része ugyanis „visszajelez”, ha megkérdezik őket. Ezek a visszajelzések azonban igen változatosak, jelentős számban elégtelenséget tükröznek. Állhatnak etnikai alapon, a gazdasági státusztól, biztosítási rendszertől, vagy a pszichoszociális tényezőktől függve (17, 22, 27, 114).

Kifejezetten kedvezőtlen a vélemény (kérdőíves módszernél kb. 50%-ban) a lelki és szociális problémákat illetően, de a szakmai stratégia különböző komponenseivel (pl. ki kövesse, sebész, háziorvos, stb.) szemben is több kifogás merült fel, az egészségügyi fogadókészséget is beleértve (36).

Több szerzőcsoport idevágó véleményét összegezve, megállapítható, hogy a „követési rendszer” szétforgácsolt és gyenge minőségű (főleg a stomásoknál), hiányzik egy jó minőségű, integrált követési stratégia működtetése (54, 127, 152).

Fentiekre tekintettel, a „rákos túlélés globális felügyelete” (27) lenne kívánatos, amely az egyes országok egészségügyi rendszerének átfogóbb felülvizsgálata, a nemzetközi különbségek feltárása és vitára bocsátása révén lehetne hatékonyabb.

2. KÖVETÉSI STRATÉGIÁK – VÁLASZTÁSI LEHETŐSÉGEK

2.1. Nemzeti és nemzetközi ajánlások

A betegkövetés nyomon követő, vagy ellenőrző „follow-up” fajtája elsősorban az olyan operált vastag- és végbélrákos betegek állapotának, követésére szolgál, akiknél a beavatkozást gyógyító jellegűnek minősítettük, s az ellenőrző periódusok időtartamának ésszerű meghatározása során, a klinikai kép, a laboratóriumi, valamint képalkotó, illetve eszközös vizsgálatok eredményeinek együttes értékelése után döntünk a további teendőkről (74).

Bár a vizsgálati eredmények számos ellentmondástól terheltek, az összegyűjtött adatok alapján arra lehet következtetni, hogy az intenzív követés kedvezően hat a túlélésre.

2.2. A nemzeti és nemzetközi ajánlások elfogadottsága

A követési javaslatok és elvárások megítélése számos egyéni felfogással is tarkított, s még az egyes országokon belüli vélemény- különbségek is hátráltatják az egységes, áttekinthető klinikai gyakorlat kialakítását.

Az ajánlások mellőzésének, illetve tökéletlen végrehajtásának az oka pontosan nem ismert, legvalószínűbb a lehetséges okok közül, hogy a kezelőorvosok nem voltak eléggé tudatában annak, hogy a követésnek döntő fontossága van a pontenciálisan életmentő tényezők között, amely arra utal, hogy javítani kell az orvosok ismereteit a szűréssel és betegkövetéssel kapcsolatban, s nem elegendő, ha csak a kezelőorvos „legjobb belátása” érvényesül, a beteg és orvos együttes felelőssége nélkül (29, 146).

2.3. Új követési modellek kidolgozásának az igénye

Az invazív követési módszerek (a colonoscopia elsősorban) bizonyos szövődményekkel, mellékhatásokkal járnak, s egyéb korlátai is ismertek (99, 100). Az újabban szűrésre is javasolt CTC (CT colonográfia, vagy „virtuális” colonoscopia) kíméletesebb módszer, de számos esetben a colonoscopiát nem teszi feleslegessé, bár hatékonyága kétségtelenül figyelemre méltó (94, 133).

A hatékonyabb és egységesebb betegkövetés mellett, mind a sebészet jelentős fejlődése, specializációja, mind egyéb gyógykezelési eljárások – elsősorban a

személyre szabott terápiás tervek elterjedése – terén tapasztalt előrelépés előnyös hatást gyakorolhat a túlélésre (8, 124).

Külön figyelmet érdemel a májáttétes CRC-s betegek követése az áttét eltávolítása után (58), amely a betegek 30%-nál jelen van már a beteg első jelentkezésekor és további 20%-nál pedig kialakul a primer CRC műtéti eltávolítása után (88). Kétségtelen, hogy a májműtét utáni követésre vonatkozó evidenciák ellentmondásos jellegűek, mégis, vannak olyan eredmények, amelyek szerint a korai kiújulások felfedezése javítja az ismételt rezekció sikerének az esélyét és növeli a magasabb túlélési arányt (47, 58). A követési eljárások ebben az esetben is rendkívül változatosak, de mindegyikében szerepelnek a CEA-mérések és a hasi képalkotóvizsgálatok, rendszerint a CT (58).

A CEA primer marker szerepe továbbra is tartja magát, a korábban már tárgyalt korlátai ellenére. Újabb vizsgálatok szerint különösen erős prediktív szerepet tulajdonítanak neki rectumrákos esetekben, a teljes túlélésre gyakorolt hatását is vizsgálva (134). Szerzők eredményei alapján megállapítható, hogy a tumor stádiuma önmagában nem képes tökéletesen megjósolni a prognózist, a CEA preoperatív meghatározása azonban független prognosztikai faktorként szerepelhet. A teljes túlélésben észlelt különbségek normál és emelkedett műtét előtti CEA-szintű betegek között, nemcsak statisztikailag voltak szignifikánsak, hanem klinikailag is értékelhetők (relevánsak), s így a megfigyelt különbségek valódiak voltak.

Mivel a CRC-s betegek 33%-a rectumráknak bizonyul, s a jelenlegi gyógykezelési stratégiák is lényegesen különbözőek a colon- és rectumrákok esetében (81), feltétlenül javasolt a műtét előtti rutinszerű CEA mérés, amelyet az a megfigyelés is megerősít, hogy emelkedett műtét előtti CEA-szint esetében a betegek halálozási kockázata duplájára nő (134).

A követés során a CEA meghatározás (a műtét előtti értékek birtokában) tehát indokolt, még a kezdetben normál szintet mutató (<5 ng/ml) estekben is, mert e betegek 41%-nál a betegség kiújulása esetén magasabb CEA-szint jelenik meg.

Az esetek több mint a felénél (de legalább harmadánál) azonban a műtét előtti normál CEA-érték soha nem ad pozitív eredményt (49, 51). Ezek a betegek

„védtelenek”, mert a felismerésnek egy biológiai indikátora kiesik, amely korlátai ellenére ma még nélkülözhetetlen eleme a műtét utáni betegkövetésnek.

A követési modellek megújítása a közeljövőben már nem kerülhető meg, s ennek igénye széles körben ismert. A megújítás igényére és a szemléletváltozására igen jó példa a korábban hivatkozott hollandiai, a követési ajánlások elfogadottságával foglalkozó tanulmány (49), amely szerint a megkérdezett kollégák igen nagy többsége igényelné új követési ajánlások kidolgozását, s ebben aktív szerepet is vállalna.

2.4. Az értekezés fő célkitűzései

1. Jelen munkában elsősorban a gyógyító daganat eltávolítással kapcsolatos követési stratégia jelenlegi kereteivel és ellentmondásaival kívánunk foglalkozni, mivel a módszertani és stratégiai viták napjainkban is folytatódnak. Kétségtelen, hogy új követési stratégia kidolgozása elkerülhetetlen, új biomarkerek esetleges bevonásával a követési modellekbe, a kiújulás kockázatbecslésével összekötve.

2. Az értekezés kísérleti munkáját illetően, egy új biomarker csoport a miRNS gyakorlati értékével és kombinációs lehetőségével szeretnénk foglalkozni, helyet keresve ezen új marker-családnak egy modell értékű hatékony követési stratégiában.

3. Segítséget kívánunk nyújtani a lehetséges nagyszámú marker-csoportból a valóban nagy értékű faktorok kiválasztásában új össszefüggések felismerésében, amely csak több intézmény munkájának eredményeként jöhet létre.

4. Az invazív eszközök és beavatkozások alkalmazása mellett nem-invazív módszerek lehetőségét is fel kell kínálni a tünetmentes „szubklinikai” esetek felismerésére, a hosszabb túlélés reményében.

5. Vizsgálni kívánjuk továbbá egyes betegszervezetek társszerepének előnyös hatását a túlélésre, új kapcsolódási pontokat keresve a korszerű laboratóriumi vizsgálatok és ezen betegszervezetek, szövetségek közötti, népegészségügyi keretben.

3. BIOMARKEREK – TUMORMARKEREK

3.1. A „biomarker” fogalma

A biomarker/tumormarker elnevezéseket az utóbbi évtizedben gyakran szinonimaként is használták, míg mások elválasztották a két fogalmat egymástól, s „biomarker” címszó alatt elsősorban a molekuláris markereket, genetikai bélyegeket emlegették. A „National Institute of Health’s Biomarkers Definitions Working Group” azonban 2001-ben a „biomarker” kifejezés fogalmát egységes rendszerbe foglalta (14); „a biomarkerek olyan jellegzetes indikátorok, amelyek normál biológiai vagy pathológiai folyamatok során jelennek meg, objektíve mérhető és értékelhető formában;de egy terápiás beavatkozásra adott pharmakológiai, pharmacodynámiás választ is jelenthetnek.” Ez a meghatározás ma már széles körben megerősített és elfogadott, s a daganatos megbetegedésekkel kapcsolatban magába foglalja a lakossági szűrésben és a klinikumban (diagnosztika, prognosztika, kockázatjelzés, betegkövetés) használatos jelzőrendszereket egyaránt (33, 50, 119).

A nemzetközi klinikai gyakorlat számára intézmény mérvadó FDA (US Food and Drug Administration) a klinikai használatra és költségtérítésre egyaránt javasolt biomarkereket tartalmazó táblázatot (1. táblázat) időnként felülvizsgálja és szükségszerint bővíti. A táblázat összeállítása óta azonban csak egyetlen markerrel egészítették ki (HE4 protein), a petefészekrákos betegek követése céljából (32).

3.2. A „klasszikus” tumormarkerek korlátozott klinikai értéke.

Új biomarkerek keresése és gyakorlati alkalmazása

A daganatos megbetegedésekkel összefüggésbe hozható indikátorok igen változatosak lehetnek, s a székletben megjelenő vér, a „klasszikus” tumormarkerek, valamint a molekuláris biológia módszereivel vizsgálható genetikus bélyegek (pl. génmutációk, kópiaszám variációk, egyes nukleotid polimorfizmusok) is ide sorolhatók, s utóbbiak, mint „új biomarkerek” szerepet játszhatnak a különböző betegségekre való hajlam, valamint egy adott kezelésre adott válasz, illetve toxicitás megítélésében is (31, 33).

1. táblázat: Az US Food and Drug Administration által klinikai használatra és költségtérítésre jóváhagyott rák biomarkerek (86)

biomarker	típus	forrás	tumoros lokalizáció	klinikai hAsználat
AFP	Glykoprotein	Szérum	Nem-szeminómás here	Staging
HCG	Glykoprotein	Szérum	Here	Staging
CA 19-9	Szénhidrát	Szérum	Pancreas	Monitorozás
CA 125	Glykoprotein	Szérum	Ovárium	Monitorozás
Pap kenet	Cervical kenet	Cervix	Cervix	Szűrés
CEA	Protein	Szérum	Colon	Monitorozás
Epidermális growth faktor receptor	Protein	Colon	Colon	A terápia kiválasztása
KIT	Protein (IHC*)	Gastrointestinális tumor	GIST	Diagnózis és a terápia kiválasztása
Thyreoglobulin	Protein	Szérum	Pajzsmirigy	Monitorozás
PSA (total)	Protein	Szérum	Prosztata	Szűrés és monitorozás
PSA (komplex)	Protein	Szérum	Prosztata	Szűrés és monitorozás
PSA (szabad %)	Protein	Szérum	Prosztata	Differenciál diagnózis (benignus-malignus)
CA 15-3	Glykoprotein	Szérum	Emlő	Monitorozás
CA 27-29	Glykoprotein	Szérum	Emlő	Monitorozás
Cytokeratinok	Protein (IHC*)	Emlőrák	Emlő	Prognózis
Östrogén és progesteron receptor	Protein (IHC*)	Emlőrák	Emlő	A hormonális terápia kiválasztása
HER2 / NEU	Protein (IHC*)	Emlőrák	Emlő	Prognózis és a terápia kiválasztása
HER2 / NEU	Protein	Szérum	Emlő	monitorozás
HER2 / NEU	DNS/FISH*	Emlőrák	Emlő	Prognózis és a terápia kiválasztása
Koromoszómák 3,7,9 és 17	DNS/FISH*	Vizelet	Hólyag	Szűrés és monitorozás
NMP 22*	Protein	Vizelet	Hólyag	Szűrés és monitorozás
Fibrin/FDP*	Protein	Vizelet	Hólyag	Monitorozás
BTA*	Protein	Vizelet	Hólyag	Monitorozás
Nagy molekulasúlyú CEA és mucin	Protein	Vizelet	Hólyag	Monitorozás
HE 4	Protein	Szérum	Petefészek	Monitorozás

*BTA, hólyag tumorhoz társult antigén;FDP, fibrin degradációs protein;
FISH, fluorescens in situ hybridizáció;IHC; immunkémiai; NMP22,nukleális matrix protein 22

Kétségtelen, hogy az évek során a „klasszikus” tumormarkereket számos kritika érte. Egyrészt nem tumor-specifikusak, másrészt, szenzitivitásuk sem kielégítő. Továbbá u.n. „fiziológiás” állapotokban is pozitív eredményt adhatnak, de gyulladásos állapotban szövetszétesés esetén (tumor nélkül is) emelkedhet a szintjük, s az ürítés (lebomlás) zavarai is fals-pozitív eredményt adhatnak (140), s ezért a klinikai döntést csak korlátozott mértékben befolyásolják (20). Fentiekre tekintettel, az „új biomarkerek” keresése elengedhetetlen, mivel olyan markerekre van szükség, amelyek potenciálisan képesek módosítani a daganatos betegek gyógykezelését, annak különböző stádiumaiban, az adott betegtől függően (62, 72).

Sajnálatos módon azonban, annak ellenére, hogy az elmúlt 15 évben „daganatos” biomarkerek felfedezésére és validálására óriási pénzeket költöttek, s az elmúlt 10 évben közlemények tömege adott hírt a diagnosztikát és gyógykezelést „forradalmasító” új biomarkerekről, a klinikai hasznosság elfogadható igazolása csak kísérlet maradt. Az „Early Detection Research Network of the National Cancer Institute, USA” alapítvány ez elmúlt 10 év alatt több százmillió dollárt költött új biomarkerek felfedezésére, de ezek közül klinikai használatra alig javasoltak, s jelenleg a publikált „rákbiomarkerek” kevesebb, mint 1%-a használható csak a klinikai gyakorlatban (65).

Lehetséges, hogy a kutatási és validálási munkák a vártnál jóval több nehézséget hordoznak, s ezeknek esetleges „alábecsülése”, valamint a kutatási tervekben rejlő hiányosságok a várt eredmények elmaradásához egyaránt hozzájárultak (31, 65, 119).

Új biomarkerek felismerése és azonosítása a daganatkutatás egyik legfontosabb feladata, a diagnosztika hatékonysága, a prognózis megítélése és az eredményesebb gyógykezelés érdekében. Az igen nagyszámú „jelöltből” nehéz azoknak a markereknek a kiválogatása, amelyek statisztikailag szignifikáns összefüggést mutatnak a vastag-és végbélrákok fontos klinikai jellemzőivel, s amelyek pontosabb működését további vizsgálatokkal tisztázni is lehet (11, 12, 38, 48, 59, 61, 91, 92, 110, 128, 151).

3.3. Tumor DNS kimutatása különböző testnedvekben

Ismeretes, hogy a rosszindulatú daganatokat többszörös szomatikus genetikai és epigenetikai elváltozások jellemzik. A CRC-ben leírt különböző típusú DNS-elváltozásokat ezen betegek szabad keringő DNS-ben is meglehet találni, amelyek közül a két leggyakrabban vizsgált molekuláris elváltozás a DNS-metilációs rendellenességek és a KRAS onkogén pontmutációk csoportja (77).

Utóbbiak esetében, a műtét után követett betegek nem sejthez kötötten keringő DNS-ében a KRAS okogén mutációt az esetek 17%-ban lehetett kimutatni, s ezen betegek 63%-ban a tumor ki is újult, a pozitív eredményt követve 4 hónap medián időn belül, amely prognosztikai szempontból figyelemre méltó (77, 118), bár újabb vizsgálatok szerint átlagos kockázatú CRC-s esetekben prognosztikai szerepe egyértelműen nem bizonyítható, s az általános túlélésre sincs befolyása (116).

Ismeretes, hogy a DNS-metiláció jelentős szerepet játszik a daganatok kialakulásának korai szakaszában. A keringő metilált SEPT9 DNS értékes új biomarker lehet egy nem (vagy csak minimálisan) invazív korai kimutatási módszer számára, amely a perifériás vérből is elvégezhető, s a plazma-alapú SEPT9 tesztek kidolgozása és alkalmazása (kellő további igazolás után) a betegkövetésben rendkívül kívánatos lenne (30).

Más szerzők tanulmányai szerint a vastag- és végbélrákos betegek székletében 75%-ban lehetett metilált DNS-t kimutatni, amely arány előrehaladott adenómáknál 44,4 %-os, míg normál mucosa esetén 10,6%-os értéknek bizonyult (91). Fenti eredmények is bizonyítják, hogy ezt a módszert a betegkövetés szempontjából is érdemes tovább vizsgálni, s remény van arra, hogy ezen új biomarkerek beépüljenek egy új követési modellbe (21, 94, 137).

Jelenleg korlátai közé tartozik (100), hogy a kereskedelmi árak magasak, s az FDA a klinikai használatra engedélyezett ezen módszerek,illetve reagensek térítését éppen a jelentős költségek miatt nem javasolja. Előrelépést jelent azonban az „új generációs” széklet DNS vizsgálati módszer kifejtesztése (2) amely automatizált, szenzitívebb mérési technikát alkalmaz, s szenzitivitása CRC-s betegeknél 85%-nak, míg adenomáknál ($\geq$ 1 cm) 54 % -nak bizonyult, 90%-os specificitással. A szenzitivitás nem függ a lokalizációtól (proximális-distalis), hanem csak a mérettől, s a

colorectum mindkét oldalán elhelyezkedő neoplazmák kimutatására alkalmas; az adenoma és a carcinoma között azonban nem tud különbséget tenni.

Követéses vizsgálatokban azonban a széklet tesztek kizárólag a lokális kiújulás felfedezésére alkalmasak, a metasztázisokat azonban már nem találják meg.

3.4. A keringő daganatsejtek kimutatása. Primer tumor és metasztázis

A primer CRC és metasztázisainak vizsgálata során számos olyan genetikai, epigenetikai mintát találtak, amelyek molekuláris profilja eltérőnek bizonyult a primer tumor és metasztázisainak esetében. Molekuláris patológiai vizsgálatok szerint pl. a KRAS és BRAF mutációs státus gyakran különböző a primer tumor és metasztázisai esetében, amelynek potenciális prognosztikai és terápiás jelentősége is lehet (6, 96).

Kétségtelen, hogy a daganatos esetek nagyobb részében a halálos kimenetel összefügg a primer daganat metasztázisaival, amely keringő tumorsejtek jelenlétével jár, CRC eseteiben is. Ezért a követés során nem elegendő a primer tumor visszatérésének a felfedezése, hanem a metasztázisok felismerése is létkérdés lehet. A vérből kimutatható, esetenként csekély számú daganatsejt mennyiségi meghatározására is alkalmas standardizált érzékeny módszer (Cell Search System) az FDA által is elfogadott és klinikai használatra engedélyezett. A metasztatikus elváltozások tumor-profil meghatározása eddig nem volt része a klinikai gyakorlatnak, a protein marker-vizsgálatok azonban ennek is utat nyithatnak, új terápiás eljárások felé (26, 45, 85).

A klinikai használat jóváhagyása azonban nem jár együtt a financiális térítés ajánlásával, mivel a költségek igen magasak, így széleskörű bevezetésre jelenleg nincs lehetőség, s a klinikai alkalmazás indikációit sem fogalmazták meg. Egyetlen vérminta vizsgálata jelentős összegbe kerül, ezért más szerzők alternatív megoldásként a TRC-módszert (Transcription – Reverse Transcription Concerted) ajánlják, technikailag gyorsabb és lényegesen olcsóbb (121).

Kétségtelen , hogy a vérben megjelenő tumorsejtek molekuláris analízisének klinikai hasznosítása,illetve ennek intenzív kutatása elkerülhetelen (70, 152). A hiteles klinikai validációra azonban több intézetben, nagyobb számú beteg követéses vizsgálatára van szükség. A CRC-s betegek keringő tumorsejt kimutatásának egyéb

módszerei is ismertek, s párhuzamos, összehasonlító vizsgálatok arra utalnak, hogy a jövő követéses modelljeiben a különböző keringő tumorsejt kimutatási eljárások kombinációban szerepelhetnek, jobb prognosztikus értékkel (85).

3.5. Hagyományos és új biomarkerek kombinációja a betegkövetésben

A további nagyszámú, de gyakorlati használatra meg nem erősített új biomarkerek közül kiemelt figyelmet érdemelnek azok a kutatási eredmények, amelyekben hagyományos és új biomarkerek ötvöződnek egymással. Mivel legalább két, egymástól független biológiai és biokémiai hátterű jelzőrendszer több információt szolgáltathat a daganatos folyamatról, jövőbeni haszna is nagyobb lehet (41). A keringő szabad DNS és a CEA párhuzamos meghatározása esetén a medián CEA szintek Duke's A-C stádiumban alacsonyabbak voltak, mint metasztatikus állapotokban, míg a szabad DNS koncentrációk már a korai stádiumtól kezdve magasabbak voltak, s a daganatos betegeknél kb. ötszörös szabad DNS szinteket mértek, mint egészséges donoroknál.

A daganatra vonatkoztatott szenzitivitást (81,3%) és specificitást (73,3%) a CEA-val kombinálva 84%-ra, illetve 88%-ra lehetett növelni, amelyet lehetséges alternatívának tartanak az invazív colonoscopia eseti kiváltására, s ez a kombináció hasznos diagnosztikus eszköz lehet a korai rákok felkutatásában (41). A metilált, szabad keringő DNS és a CEA kombinációt újabb vizsgálatok is hatékonynak tartják, mint prognosztikai tényezőt (109).

A követési stratégia egyszerűsítése, a hatékony, nem-invazív módszerek keresése napjainkban is tart, amelynek egyik fontos irányvonala a multiplex szerológiai biomarker-csoportok (panelek) felhasználása, pl. szérum autoantitest profilok kombinált kimutatása „colon carcinomához társult" antigén panellel szemben (23). Az 5 antigénre reagáló antitestek kimutatását szérum CEA meghatározásokkal társítva, jelentős szenzitivitás javulást (65,9%) lehetett elérni a korai rákok felkutatásában.

Egyértelművé vált, hogy a régi biomarkerek (az egyéb hagyományos módszerekkel együtt) már nem, az új biomarkerek pedig még nem alkotnak hatékony követési modellt a korai felkutatásra.

4. A MIKRORNS-EK, MINT ÚJ DAGANATOS BIOMARKEREK

4.1. A miRNS-ek, mint a CRC potenciális biomarkerei

A CRC-s betegek követésének első számú kulcskérdése a korai kimutatás, amely döntő jelentőségű azon törekvésünkben, hogy betegeink számára minél hosszabb távú túlélést tudjunk biztosítani.

A colonoscopiás és képalkotó vizsgálatok mellett feltétlenül indokolt egy nem-invazív, nagy szenzitivitással és specificitással rendelkező laboratóriumi teszt alkalmazása is, amelynek nem csak korai diagnosztikai, hanem prognosztikai értéke is van, s a kezelési protokollok tökéletesítéséhez is hozzájárulhat.

Protein alapú, DNS alapú, illetve keringő tumorsejtek kimutatását célzó szűrési módszerek kifejlesztésére már korábban is történtek jelentős erőfeszítések, a vérből kimutatható, nem kódoló miRNS-ek vizsgálata számos olyan eredményt hozott, amely mind a szűrésben, mind pedig a betegkövetésben új, hatékony biomarker csoport szerepét valószínűsítette (3, 40, 52, 71, 84, 115, 117, 122, 132).

Korábban a kutatások elsősorban a kódoló mRNS-hez kapcsolódtak, a stabilitással kapcsolatban azonban számos probléma merült fel, pl. a hirtelen fagyasztás hatása, amely előnytelennek bizonyult a minták stabilitására. Az a felismerés azonban, hogy formalinban fixált, parafinba ágyazott szövetminták miRNS összetevői rendkívül stabilnak bizonyúltak (76, 79, 155) oda vezetett, hogy a nem-kódoló miRNS-ek vizsgálata, kutatása felé fordult a biomarkereket kutatók jelentős hányada.

A miRNS-ek és a rosszindulatú daganatos megbetegedések közötti kapcsolatra az a kutató csoport hívta fel s figyelmet, amelyik összefüggést talált a miR-15 és miR-16 „alulregulációja” és a krónikus limfocitás leukémia között (19).

A későbbiek során azt is felismerték, hogy a miRNS-ek a testfolyadékokban pl. a plazmában és a szérumban is stabilak, s mind egér-modellben, mind pedig humán klinikai vérmintákban sikerült rákos folyamatra utaló miRNS-ek jelenlétét kimutatni (97), amely új biomarker kutatási vonalat indított el.

Felismerték, hogy az epigenetikus elváltozások, pl. változások a DNS-metilációban, hisztonmódusolások, valamint a nem-kódoló RNS-ek eltérései fontos szerepet

játszhatnak a tumorgenesisben, módosíthatják a tumorsejtek karakterét, s befolyásolhatják alkalmazkodási képességüket a tumoros mikrokörnyezet növekedési feltételeit illetően (40, 104). Annak ellenére, hogy nem kódolnak fehérjéket, azok célgénjeit konrolállják, s részt vesznek a génexpressió finom szabályozásában, amely a sejtciklus alapvető folyamataiban döntő jelentőségű (37, 71, 129).

Jelentős munka vár még azonban annak a kérdésnek az eldöntéséhez, hogy a keringő miRNS-ek honnan származnak? Lehetnek ugyanis szétesett tumorsejtek, exosomák termékei (69), de vérsejt eredetűek is megjelenhetnek (111). A sejtekből származó miRNS-ek vesiculumokban halmozódhatnak, vagy a vesiculomoktól függetlenül, proteinekhez kapcsolódnak (148) s arra is vannak már kísérleti adatok, hogy az exosomák mRNS-t és miRNS-t egyaránt szállíthatnak, amely a sejtek közötti genetikus cserének egy új lehetőségét jelenti (141).

A keringő miRNS-ek azonban csak akkor szerepelhetnek megbízható biomarkerként, ha a mennyiségi meghatározás technikai problémái megoldódnak, illetve a minták standardizált feldolgozási lehetőségei egységes keretekbe foglalhatók, széleskörű megegyezés alapján, amelynek egyre hatékonyabb módozatait már szélesebb körben, klinikai körülmények között is keresik (28, 60). A minták feldolgozásának egyik döntő mozzanata, hogy a szérum, vagy plasma minták ne szennyeződjenek vérlemezkékkel, s heparint sem tartalmazzanak. Ennek elkerülésére, a teljes vérminta azonnali feldolgozása kívánatos, de a megfelelő szérum /plasma alapú módszer megtalálása jobb megoldást bíztosít, amely az ugyancsak zavaró hemolízist is kiküszöbölheti (66, 68).

További módszertani kihívás a megbízható endogén kontroll kiválasztása, a különböző helyeken végzett vizsgálatokhoz azonos módon expresszálodó miRNS mintákból választott validáló csoport összeállításával (28, 40, 60, 67).

Jelentős kutatási területet jelent egy adott keringő miRNS mintának a kiválasztása és „fajlagosságának" (specificitásának) a meghatározása a rosszindulatú daganatok különböző fajtáinál, annak eldöntésére, hogy melyik lehet egy-egy lokalizációra potenciális biomarker, vagy pedig szélesebb spektrumú „rákmarkerrel" állunk szemben (63, 71, 80). A CRC-vel kapcsolatban, már vannak olyan miRNS-

mintázatok, amelyek a korai kimutatásban a prognózis és kockázat felmérésben egyaránt használhatók (13, 34, 40, 57, 59, 123, 144, 149).

4.2.Különböző miRNS-mintázatok hasznosítása a korai felismerésben és a prognosztikában

Egy biomarker hatékony alkalmazásának legfőbb ismérve a megfelelő (lehető legmagasabb) szenzitivitás és specificitás, mind a szűrésben, mind pedig a betegkövetésben.

Az utóbbi években egyre több keringő miRNS-ről mutatták ki, hogy a klinikai gyakorlat „jelöltje lehet", s képes hozzájárulni a rákelőző állapotok (elsősorban előrehaladott adenómák), a CRC és a normál kontrollok megbízhtó elkülünítéséhez (16, 57, 76, 100, 126).

CRC és normál kontrollok elkülönítésére miR-17-3p és miR-92 esetében 86%-os szenzitivitást és 70%-os specificitást találtak (101), míg emelkedett plasma miR-221 szintet mértek CRC-s betegeknél, a p53 státusszal összhangban (112). A miR-221 expresszió szenzitivitása 86%-os, míg specificitása 41%-os volt.

Viszonylag nagyobb vizsgálati anyagon (157 CRC-s és 59 egészséges kontroll) plasma mintáiban a miR-29a és miR-92a szignifikáns diagnosztikai értékkel rendelkezett, 83%-os szenzitivitással (6). Újabb vizsgálatok szerint a miR-92a és a miR-21 párhuzamos meghatározása során, a kombinált szenzitivitás és specificitás egyaránt 70%-onak bizonyult, a rákelőző adenómák megkülönböztetésére (83), míg egy 8 plasma miRNS-ből álló panellel (miR-532-3p, miR-331, miR-195, miR-17,miR-142-3p, miR-15b, miR-532 és miR-652) jelentős sikerrel lehetett az adenómákat felismerni, 88%-os szenzitititással és 64%-os specificitással (63).

Bizonyos miRNS-mintázatok csökkent expressziója is lehet kórjelző értékű, pl. 90 CRC-s, 43 adenómás beteg és 58 egészséges kontroll plazmájából a miR-601 és a miR-760 csökkent expressióját mutatták ki a kontrollal szemben, CRC-esetében 83,2%-os szenzitivitással és 93,1 %-os specificitással, amely értékek az adenómás betegek felismerésénél 72,1 %-osnak és 62,1% -osnak bizonyultak, ha a két marker hatékonyságát kombinációban vizsgálták (150).

Ismeretes, hogy a szöveti és plasma biomarkerek vizsgálata során gyakran eltérő eredményeket kapunk, amely jelenségnek pontos oka nem ismert. Egy hármas miRNS kombinált vizsgálat során a miR-193a-3p , a miR23a és a miR-338-5p mintázatok mindegyike fokozott expressiót mutatott CRC-s betegek tumorszövetében és plazmájában egyaránt ,80%-os szenzitivitással és 84,4%-os specificitással (161).

Az egyéni (személyre szabott) rákterápia kialakítása szempontjából, az egyes miRNS-mintázatok prognosztikai értéke eltérő lehet, s egyre fontosabb azon markerek megtalálása, amelyek a túléléssel, a metasztázisokkal, illetve a terápiára adott válaszokkal állhatnak kapcsolatban (40, 62, 115).

A szérum miR-92 expresszió összefügg a CRC-s beteg prognózisával (156), míg a miR-141 a túléléssel áll bizonyítható kapcsolatban (25).

Egyik leggyakrabban vizsgált keringő prognosztikai marker a miR-21. A CRC-s betegek tumorszövetében és szérumában/plazmájában egyaránt emelkedett értékben lehet jelen. Posztoperatív szérum mintákon (60 műtét utáni CRC-s beteg, 43 előrehaladott adenóma, és 53 kontroll) mind CRC-s betegeknél, mind pedig adóma jelenléténél a miR-21 expresszió szignifikánsan kapcsolódott a betegek túléléséhez (130, 136).

A miR-200c megemelkedett a májáttétes CRC-s betegeknél és távoli nyirokcsomó áttéteknél, szemben a regionális nyirokcsomó érintettséggel, amely téren független prediktorként szerepelhet, s a magasabb szérumszint csökkent túléléssel jár együtt (135).

58 áttétes és 56 nem-áttétes CRC-s beteg vizsgálata során a szérum miR-29a expresszió szignifikánsan magasabb volt, elsősorban májáttétek jelenléte esetében, 75%-os szenzitivitással és specificitással (149).

Továbbá, a kockázati tényezők szerepe jelentős lehet a terápiara adott válasz megítélése terén is. Oxaliplatin kezelésre reagáló, illetve nem- reagáló CRC-s betegeknél három miRNS (miRNS-106a, miR-484 és miR-130) expressziója különbözött egymástól, s emelkedett plasma értéket csak a nem-reagáló esetekben

mértek. Másik három miRNS (miR-27b, miR-148a, miR-326) fokozott expressziója pedig csökkent progresszió-mentes túléléssel társult (67).

A prognosztikai megítélés fogalomkörében jelentős szerepet játszik a kezeléseket követő relapsusok megjelenésének valószínűsítése. A miR-29c emelkedett szérumszintjei korai relapsust jelezhetnek, amely lokális kiújulás, vagy a műtétet követő 1 éven belül távoli áttét formájában jelenhet meg (159).

A prognózis megítélése, valamint a recurrens tumorok és áttétek korai felismerése terén a miRNS szintek periódikus meghatározása a jövőben jelentős szerepet játszhat. Erre utalnak ugyanis a pre-és postoperatív vizsgálatok eredményei, amelyek sajnos – a csekély betegszám (tíz-huszonegy) miatt- csak „előzetesként"értékelhetők (101, 138, 162).

A postoperatív miRNS expressió csökkenését több mintázat esetén kimutatták, de a betegeket továbbra sem követték.

Eddig egyetlen, viszonylag frissnek ítélhető közlemény lelhető csak fel az irodalomban (115) amely CRC-s betegek műtét elötti, a műtétet követő 2. és 7. napon, illetve a műtét után 6 hónappal nyert vérmintákból dolgozott. 35 beteggel indultak, de csak 27 beteg jelent meg a 6. hónapban.

A műtét elötti szinthez képest mindhárom műtétet követő időpontban nyert vérmintában 9 keringő miRNS (miR92a, miR18a, miR320a, miR106a, miR16-2, miR20a, miR223, miR17 és miR143) csökkenő értéket mutatott, 4 miRNS esetében (miR92a, miR320a, miR106a és miR18a) azonban 6 hónap múlva emelkedő tendenciát lehetett megfigyelni. A műtétet követő 6. hónapban az emelkedett miR106 és miR20a az idősebb korral szignifikáns összefüggést mutatott, a tumor stádiuma, s az esetleges kemoterápiás kezelés között azonban semmiféle kapcsolatot nem találtak (115). Más vizsgálati paneleknél (miR-409-3p,miR-7, miR-93) azonban, életkori függést nem észleletek (147).

Fenti vizsgálatok igazolták, hogy a plazma miRNs profilok a műtétet követően, napokon belül változhatnak. Nyitva marad azonban az a kérdés, hogy az expressió változása milyen sejtfolyamatokkal van összefüggésben? Honnan származnak a 6. hónapban emelkedést mutató miRNS mintázatok? Korábban már utaltunk a miRNS-

ek plazmában megjelenő esetleges eredetére (111), jelen esetekben azonban a „szubklinikai” tumorsejtek (áttétek, vagy kiújulások) „rejtőzködése” sem zárható ki, amely azonban csak hosszabb ideig tartó követéssel – nagyobb betegszámmal, több intézményben – tisztázható, amely a jövő szempontjából jelentős kutatási területet képviselhet. További kutatásoknak nagy jelentősége lehet nemcsak a kiújuló tumoroknak, hanem a metasztázisok korai felismerésének is.

Szövettani rezekciós tumormintákat használtak fel CRC-s betegek esetében, akiknél metasztázist nem találtak, illetve májmetasztázist diagnosztizáltak. MiRNS expressiós profilokat vizsgáltak, amelynek során kimutatták, hogy a miRNS-320b és homológja, a miRNS-320a különbözik egymástól a colorectális sejtproliferációra és invázióra gyakorolt hatásban, annak ellenére, hogy a minták csak egyetlen nucleotida tekintetében térnek el egymástól (164).

Korábban is feltételezték, hogy a CRC-metasztázisok miRNS regulációs zavarral társulhatnak. A vizsgált két komponens hatásukat illetően, „ vetélkedik” egymással, s a miRNS-320b elősegíti a colorectális rákok sejtjeinek proliferációját és invázióját, míg a miRNS-320a gátolja ezt a folyamatot. Ez a munka az első ilyen jellegű, a tumorsejtek proliferációjára gyakorolt miRNS hatás szerepének a megítélésére vonatkozó vizsgálatsorozat. A tumorsejt invázió konrolljában tehát jelentős szerepük lehet, ellentétes regulációval. A további kutatásoknak nagy jelentősége lehet a metasztázisok korai felismerésében, s a miRNS-320b a CRC- s betegek „target” terápiájában is szerepet játszhat (164).

Korábban csak egyetlen közlemény foglalkozott a microRNS expressios profilok összehasonlításával primer CRC adenocarcinoma és a májmetasztázisos forma között (82), s ezen vizsgálatok is arra utalnak, hogy a miRNS-320b egyik kulcstényező lehet a metasztázisok kialakulásában.

A fenti eredmények vérmintákból történő megerősítése új, hatékony diagnosztikus eszközt jelentene a primer és metasztázis formák korai elkülönítését illetően (25).

4.3. A miRNS-ek klinikai hasznosításának korlátai: Paradigmaváltás szükségessége

A miRNS adatbázisból kb. 900-1000 olyan „rövid” RNS-molekula ismert, amelyekből számos alkalmas lehet arra, hogy speciális mintázatának változása révén,

bizonyos kóros folyamatokat jellemezzen (125). Gyakorlati hasznosításuk azonban számos nehézségbe ütközik; a vérben található miRNS-ek expressziós profilja ugyanis az egyes kockázati tényezők miatt is változhat, másrészt az is számít, hogy a vérmintákat a kezelés előtt vagy után vették le, s az sem közömbös, hogy milyen terápiás beavatkozás történt a betegnél (69, 125). Továbbá, elfogadott endogén miRNS kontroll hiányában, a biológiai változások hatásai nehezebben értékelhetők. Indokolt tehát az a törekvés, hogy minden vizsgált miRNS-re meg kellene állapítani az átlag expressziós szinteket, a technikai variációk csökkentése érdekében (69, 125).

Ismeretes, hogy a keringő miRNS-ek elemzése csak nagyon rövid múltra tekinthet vissza (76), az értékelési nehézségek ellenére azonban, vannak olyan jelzések, amelyek arra utalnak, hogy egy ígéretes, új biomarker csoport van a kezünkben, amelynek részvétele a sejtek transzformálásában nem vitatható. Ennek a biológiai szerepnek a mélyebb megismerése azonban elengedhetetlen ahhoz, hogy a klinikai gyakorlatban is hatékony diagnosztikus, prognosztikai és prediktív biomarkerré válhassanak, amelyre alkalmassá teheti őket az a szoros kapcsolat, amely szabályozó mechanizmusuk zavara és a rák kifejlődése, valamint progressziója között fennáll.

A miRNS-el kapcsolatos irodalmi adatok szisztematikus vizsgálata révén, evidenciák keresésével és szintetizálásával (46 közlemény 43 vizsgálatból származó adatai alapján) megállapították, hogy a tanulmányok legtöbbször az általános túlélést, vagy a kiújulást mérték és kétségtelen, hogy a fokozott miRNS expresszió gyakran társult rossz prognózissal (99). A miRNS-ek klinikai értékének pontosabb megítéléséhez nagyobb daganatos betegcsoportok vizsgálatára van szükség (ellentétben az eddigi kisebb vizsgálati csoportokkal) amely ki tudja küszöbölni az eltérő és gyakran hiányos módszertani feltételeket, gondos külső validálással. Miután az egészséges emberek vérében több, mint 100 keringő miRNS-t lehet azonosítani, s eddig legalább 69 olyan miRNS-t mutattak ki, a vastag-és végbélrákos betegek szérumából, amelyek az egészségesek vérében nem fordulnak elő (24), kívánatos lenne egy egyszerű vérteszt kidolgozása, amely megfelelő vizsgálati modell részeként, a miRNS-szintek emelkedése alapján jelezhetné a kóros állapot súlyosbodását és a daganat aktuális stádiumát. Egy ilyen jellegű modell a magas kockázatú polypok felügyeletére, követésére is alkalmas lehetne. A reménykeltő eddigi adatok ellenére, önmagukban azonban nem alkalmasak arra, hogy megfelelő érzékenységű, tumor-specifikus

biomarkerek legyenek a klinikai gyakorlatban; de a vérből kimutatható, életkorhoz igazított miRNS profilok létrehozása (egészséges emberek és különböző stádiumú CRC-s betegek számára) pontosabb értékelést tenne lehetővé (3, 24, 52, 132, 125).

4.4. Széklet miRNS biomarkerek szerepe a CRC szűrésben és a betegkövetésben

A molekuláris és hagyományos biomarkerek kombinációja jelentősen növelheti a prognosztika és a betegkövetés hatékonyságát. A vastagbélrákra specifikus, vér-alapú miRNS kimutatásának és mennyiségi meghatározásának a CEA mérésekkel történő kombinációja hatékonyabb kórjóslást és betegkövetést eredményezhet (4). Mivel a miRNS meglehetősen stabil formában van jelen a szövetekben, s kis mérete miatt nagyon jól védett az endogén degradációval szemben (24, 97), nemcsak a szérumban, hanem egyéb testnedvekben, így a székletben megjelenő formáinak kimutatása is ígéretes lehet a vastag-és végbélrák korai felkutatásában, bár erről ma még csak korlátozott számú adat áll rendelkezésre.

Számos, korábban már kimutatott, CRC-ben kórosan expresszálódó miRNS minta mellett azonban székletben a jelen kutatások újabb „deregulált" miRNS- t is találtak, mind a colorectális adenómáknál (CRA), mind pedig CRC- nél (44).

A miR-125a-5p és miR-320 család regulációs típusa különbözött az ugyancsak vizsgált miR-23b, vagy miR-24 mintázatok eredményeitől, amely az eltérő tumor-lokalizációval, illetve a daganatok különböző stádiumaival lehet kapcsolatban, bár a korai miRNS- változások mechanizmusának felismerése még várat magára.

Ismeretes, hogy a ráksejtekből kiválasztott miRNS- ek, az exosomákon keresztül, bekerülve a testnedvekbe, hasznos diagnosztikai biomarkerek lehetnek a rákos folyamat kimutatásában (55). Újabb vizsgálatok szerint, a székletben megjelenő, bizonyos miRNS-mintázatok (elsősorban a miR-31 és miR-135b) alkalmasak lehetnek – mint nem-invazív biomarkerek – a CRC és az előrehaladott CRA korai felfedezése, mind a szűrés, mind pedig a betegkövetés során (154).

Ezen markerek expressziója CRA-s és CRC-s betegek szövettani anyagában kb. 13-szoros növekedést mutatott, a környező normál szövetekhez viszonyítva. Az eddigi adatok szerint, elsősorban a miR-135b mérése javasolt, adenómáknál és rákoknál egyaránt szignifikánsan magasabb értéket mutatott, szemben a normál kontrollokkal

és az IBD-s betegekkel. A széklet miR-135b szintje szignifikánsan lezuhant a CRA és a CRC eltávolítása után, jelentős különbség azonban nem mutatkozott a proximális és distális laesiok között. A biomarker szenzitivitása CRC- re 78%-nak, előrehaladott CRA- ra 73%-nak, míg bármely adenómára 65%-nak bizonyult, 68%-os specificitással.

Tünetmentes egyéneknél, illetve műtétre váró, már tünetekkel rendelkező betegnél szignifikáns mérési eltéréseket nem találtak, bár a késői stádiumú betegnél az esetleges torzító hatás felismerésére további vizsgálatok szükségesek. Az eredmények értékelése során az életkortól, vagy a nemtől eredeztethető függést nem találtak.

Egy másik szerzőcsoport két további, jelentősen „túlműködő" miRNS- mintázaton (miR-221 és miR-18a) összpontosított amely jelenséget szövet – és székletmintákban egyaránt igazolták (141). A két biomarker szignifikáns emelkedést mutatott a CRC korai és késői stádiumokban egyaránt, de előrehaladott adenómákban sem találtak magasabb értékeket. Különösen a miR-221-et lehetett potenciális diagnosztikus biomarkerként minősíteni, amely a plazma és a széklet miR-221 összehasonlító vizsgálati alapján eltérő eredményeket mutatott.

Míg a plazma miR-221 magas szenzitivitású (86%) volt specificitása azonban alacsonyabbnak (41%) bizonyult, addig a széklet miR-221 szenzitivitása alacsonyabb (62%) volt, magasabb specificitással (74%). Kétségtelen, hogy utóbbi specifikusabb CRC-re, a széklettel való jelenlegi módszertani munka azonban kevésbé vonzó tevékenység.

Korszerűbb technikai feltételek kidolgozásával kombinált vizsgálati random is elképzelhető, hatékonyság növelő hatása jelentős lenne. Mindenesetre, a széklet – alapú módszer nem invazív, s a bélrendszer előkészítését sem igényli.

A széklet tesztek hátrányai közé tartozik ,hogy az új biomarkerek kimutatása csak a lokális kiújulás felismerésében nyújthat segítséget, amint azt már korábban említettük.

Ismeretes azonban, hogy a székletben jelentős számú, daganatokról levált colonocyta jelenhet meg, s így a tumoros elváltozással kapcsolatos specifikus miRNS expresszió

esetenként könnyebben kimutatható, mint a vérből, a széklettel történő tevékenység azonban számos hátránnyal jár, esztétikai szempontokat is figyelembe véve, az adatgyűjtéshez a véralapú vizsgálatok kifejlesztése mellett ma még mindkét fajta vizsgálatot tovább kell fejleszteni, mind az adatgyűjtést, mind pedig a módszertani szempontokat illetően, Mivel a szenzitivitásban nincs különbség a korai és késői esetek között, a rezekábilis tumorok felismerésében is lehet jelentősége a miRNS vizsgálatoknak, amely a betegkövetésben jól felhasználható, így mortalitás csökkentő hatása is érvényesülhet.

A testnedvek lehetséges CRC biomarkereit a 2. táblázat foglalja össze (2).

2. táblázat: A széklet, a vér és a vizelet lehetséges biomarkerei a CRC nem invazív kimutatására (2)

Széklet	Vér
Vérzés Hemoglobin Plazmafehétjék	Keringő tumorsejtekből RNS, DNS, fehérjék Keringő phagocytákból RNS, DNS, fehérjék
Szekrétumok Mucinok Metalloproteinek	Plazmából, szérumból DNS Mutáns gének Metilált gének Fehérjék
Exudátumok Leukocyta-fehérjék Plazmafehérjék	
Exfoliátumok Széklet egész colonocyták DNS Mutáns gének Metilált gének Hosszú (nem apoptotikus) DNS RNS (génexpresszió) Tumorból származó fehérjék	Vizelet DNS Mutáns gének Nukleotidok Fehérjék Egyéb faktorok

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. Betegválogatás

43 szövettanilag igazolt CRC-s beteget vizsgáltunk (27 vastagbél- és 16 végbélrákos) 12 kontroll (nem rákos) személlyel együtt, akik panaszmentesek voltak, s egyéb betegségben sem szenvedtek (3. táblázat). A betegek mindegyike az Országos Onkológiai Intézetben állott kezelés alatt 2012-2014 között. Minden résztvevő írásos beleegyező nyilatkozatot adott.

3. táblázat: A tanulmány résztvevőinek válogatott jellemzői

Kontroll csoport	6 férfi	6 nő
	Kor: 59,00 (CI:50,48-67,52)	
Vastagbélrákosok (ICD-10: C18.9)	15 férfi	12 nő
	Kor: 65,33 (CI: 59,79-70,87)	
	1 TNM I. 9 TNM II. 4 TNM III. 1 TNM IV.	4 TNM II. 2 TNM III. 6 TNM IV.
Végbélrákosok (ICD-10: C20)	9 férfi	7 nő
	Kor: 60,81 (CI:54,53-67,10)	
	3 TNM II. 5 TNM III. 1 TNM IV.	2 TNM II. 5 TNM III.

5.2. A miRNS vizsgálatok menete és technikai módszertani jellemzői

RNS izoláció: a miRNS TRI-Reagent (Sigma-Aldrich Inc., Budapest, Hungary) történt a gyártó iránymutatásának megfelelően. Ezután a RNS minősége került ellenőrzésre nano-dropp abszorbciós fotometriai eljárással és csak a 260/280 nm A> 2.0 RNS frakciókat használatuk reverz transzkripcióra.

cDNS szintézis és RT PCR: 5 µg / µl RNS templátot használtunk Uversal cDNS szintézis kitett alkalmazva (Quiagen, Woburn, MA, USA) véletlenszerű hexamer feltöltéssel. A miRNS expresszió a Roche LC480 rendszerben (Roche) került meghatározásra. PCR primereket a ”primer kereső adatbázis” segítségével terveztük meg (miR-155, miR-21, miR-221, miR-30a, miR-34a, miR-29b; www.applied-science.roche.com) és TIB Molbiol, ADR Logistics (Roche Warehouse, Budapest, Hungary) szintetizálta. A PCR master mix 2 µl specifikus primert, 8 µl DNS

templátot és 10 µl LC480 SYBR Green I Master Mix-et tartalmazott, 20 µl végtérfogatban. A PCR LightCycler 2.0 carousel-alapú PCR rendszerben (Roche, Berlin, Germany) történt. A 20 µl reakció keverék 7.2 µl LightCycler RNS master SYBR Green I fluoreszkálóan jelölt festéket, 1.3 µl Mn(OAc)2 alap-oldatot, 2 µl specifikus primert 0.5 µM, 1 µl template miRNS-t és 8.2 µl RNA-áz mentes vizet tartalmazott. A reakció keveréket 30 percig inkubáltuk 95 °C-on, amit 45 három-lépcsős amplifikációs ciklus (95°C/5s, 50°C/15s, 72°C/5s) követett. Minden futtatást, beleértve a templát nélküli kontrollokat (nukleáz mentes víze víz) háromszor ismételtünk meg. Futtatások között kalibrátorokat használtunk a korrekciós faktorok kiszámolására, hogy elkerüljük a futtatások közötti különbségeket. Az adatokat 5SrRNS és U6snRNS használatával (mint endogen referensek) normalizáltuk. A relatív miRNS expressziós szinteket a $2^{-\Delta\Delta CT}$ módszerrel határoztuk meg. A statisztikai elemzéseket IBM SPSS 21 szoftverrel (Armonk, New York, USA) végeztük. Mann-Whitney U-tesztet használtunk a folyamatos és kategorikus változók összehasonlítására az adatelemzésre támaszkodva.

6. EREDMÉNYEK

6.1. Kontroll személyek és daganatos betegek

A kontroll csoportban a miR-155 expresszió szignifikánsan magasabb volt, mint a vastagbél – (p< 0,001) vagy végbélrákos (p< 0,001) betegnél.

További szignifikáns különbséget találtunk a vastag- és végbélrákosok között is (p=0,006), a végbélrákos esetekben magasabb értékkel. A miR-21 csak egyetlen betegnél volt szignifikánsan (p=0,005) magasabb vastagbélrák esetében, a végbélrákosokhoz képest.

A többi végbélrákos szérumában a miR-21 expressziós érték volt magasabb a kontroll csoporthoz (p<0,001) és a vastagbélrákhoz viszonyítva (p< 0,001).

A miR-29b, a miR-30a és a miR-34a hasonló irányú változásokat mutattak, ugyanis szignifikáns a különbség a kontroll – vastagbélrák, valamint a kontroll- végbélrákok között. A kontroll csoport értékei a daganatértékeket meghaladták. (4. táblázat, 1. ábra)

4. táblázat: microRNA expresszió statisztikai analízise

Mann-Whitney Test	A változók közötti kapcsolatok					
	miR-155	miR-21	miR-221	miR-30a	miR-34a	miR-29b
Csoport-változók: ICD						
Kontroll; vastagbélrákok	0,000*	0,442	0,543	0,002*	0,000*	0,000*
Kontroll; végbélrák	0,000*	0,057	0,000*	0,000*	0,000*	0,002*
Vastagbélrákok,végbélrák	0,006*	0,005*	0,000*	0,183	0,705	0,342
Csoport változók: stádium						
Kontroll ;TNM I.	0,114	0,114	0,752	0,113	0,114	-
Kontroll; TNM II.	0,000*	0,981	0,362	0,010*	0,000*	0,001*
Kontroll; TNM III.	0,000*	0,437	0,007*	0,001*	0,000*	0,001*
Kontroll; TNM IV.	0,000*	0,929	0,929	0,065	0,001*	0,011*

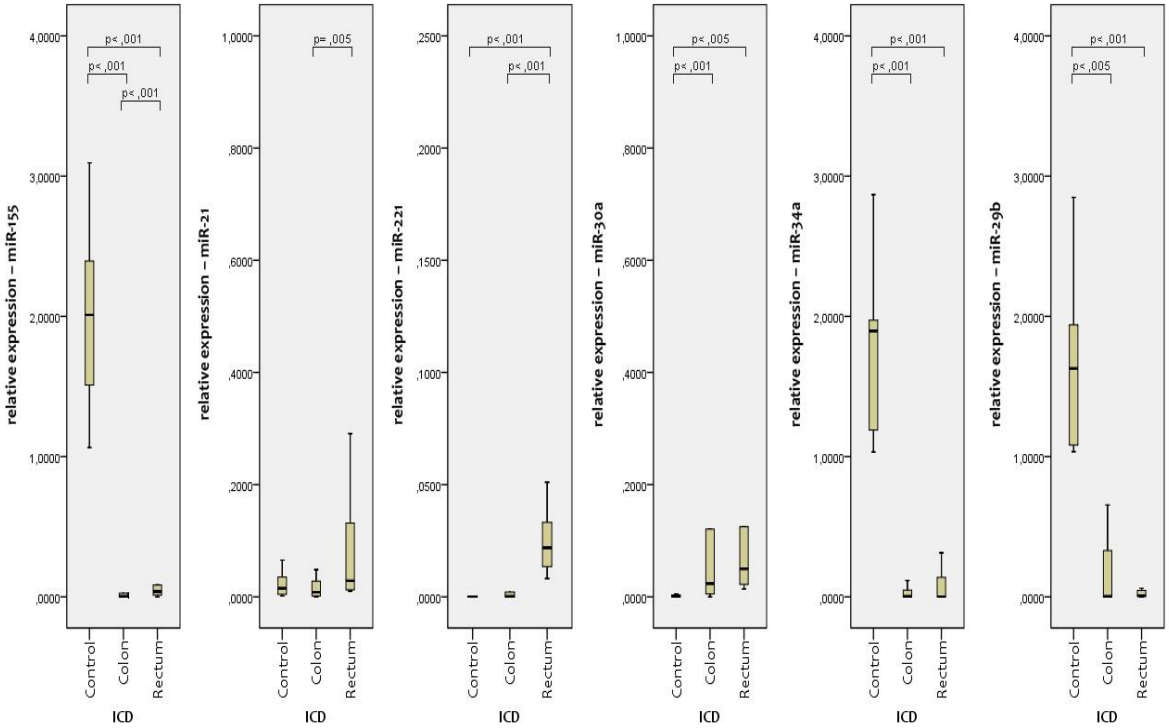
6.2. A kontrollok és a daganatos betegek összehasonlítása, a TNM beosztás szerint

A TNM I és a kontroll személyek szérum miRNS-értékei között egy esetben sem láttunk szignifikáns különbséget.

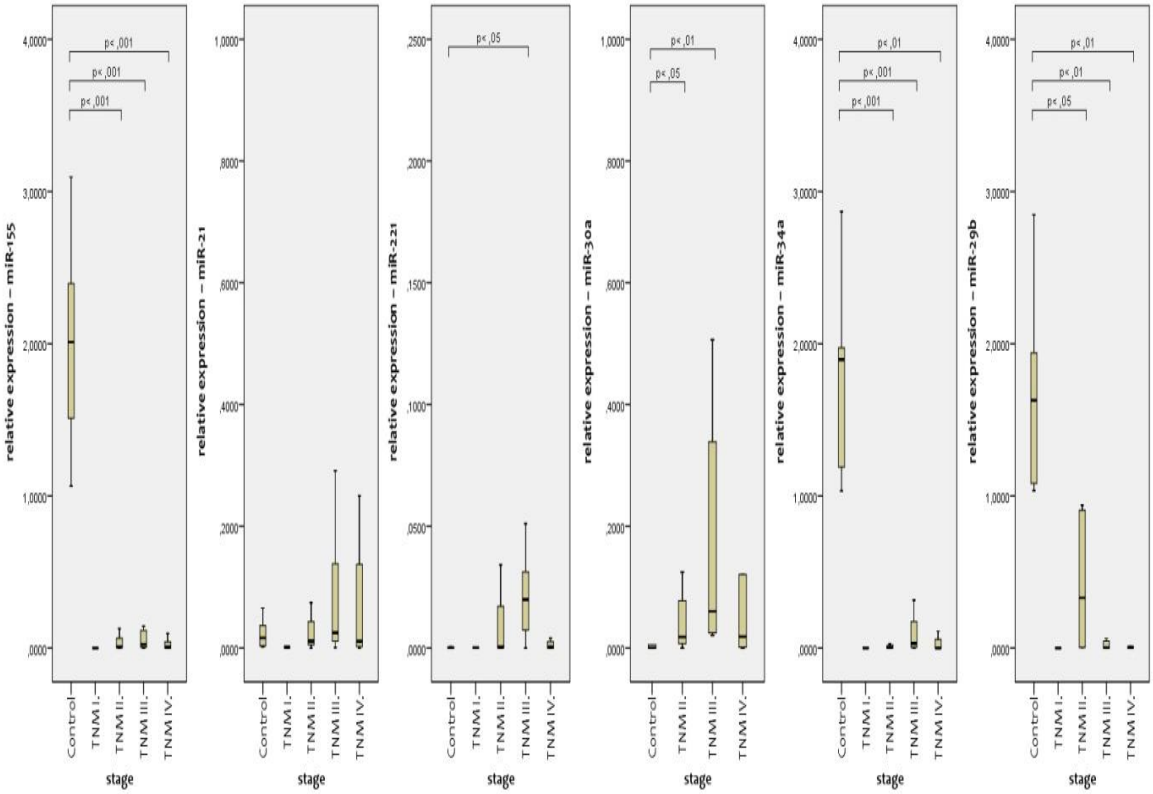
A TNM II, III és IV esetekben a miR-155, miR-34a és miR-29b szérumszintek szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak, a kontroll személyekhez viszonyítva, míg a miR-221 emelkedett expressziója csak a TNM III esetekben hasonlított a kontrollosokhoz (p=0,007).

Figyelemre méltó a miR-30a szignifikáns expressziója TNM II-nél (p=0,01) és III-nál (p=0,001), a kontroll csoporttal összehasonlítva (4. táblázat, 2. ábra).

1. ábra: A vizsgált miRNS markerek összehasonlítása a kontroll és a daganatos betegek csoportjai között



2. ábra: A daganatos stádiumok összehasonlítása


relative expression – miR-155
p<,001
p<,001
p<,001
relative expression – miR-21
relative expression – miR-221
p<,05
relative expression – miR-30a
p<,01
p<,05
relative expression – miR-34a
p<,01
p<,001
p<,001
relative expression – miR-29b
p<,01
p<,01
p<,05
Control
TNM I.
TNM II.
TNM III.
TNM IV.
stage

7. MEGBESZÉLÉS

7.1. Főbb epidemiológiai mutatók

Ismeretes, hogy a vastag- és végbélrák az Amerikai Egyesült Államokban és Európában egyaránt az egyik vezető haláloki tényező, s az összes daganat kb. 14-15% -át képviseli. Számos szerző már korábban a nyugati világ „csapásaként" emlegette (18, 39). Kétségtelen, hogy az európai CRC mortalitás az utóbbi két évtizedben csökkenő tendenciát mutatott mindkét nem esetében. A csökkenés számos európai országot is érint, de pl. Romániát és az Orosz Föderációt nem, s Magyarországon is csak némi stagnálás mutatható ki, hullámzó jelleggel (108).

A nemzetközi irodalomban fellelhető 5 éves túlélési adatok igen változatosak, az átlagos értékek az USA-ban 65 %- nak, míg Európában 55 %- nak bizonyultak, de vannak ennél alacsonyabb és magasabb értékek is, az északi államok adatai kedvezőbb képet mutatnak (39, 145).

A magyar Nemzeti Rákregiszter adatai alapján a férfi és női vastag – és végbélrákos betegek várható 5 éves túlélési aránya kb. 40% - os, s az összes daganatos halál fele már az első évben bekövetkezik (139). A CRC népegészségügyi jelentősége tehát kiemelkedő, s mint általában jól operálható daganat, gyógyítása - korai felismerés esetén - igen eredményes lehet.

7.2. A betegkövetés stratégiai ellentmondásai

A korai diagnosztika és a hatékony betegkövetés a vastag- és végbélrákos betegek eredményes gyógykezelésének és kedvező túlélésének két sarkalatos pontja.

A nyomon követő, vagy ellenőrző „follow up" elsősorban az olyan operált vastag- és végbélrákos betegek állapotának, követésére szolgál, akiknél a beavatkozást gyógyító jellegűnek minősítettük.

Sajnálatos módon, optimális stratégiát ma még nem lehet ajánlani a gyógyító műtéten átesett vastag- és végbélrákos betegek követésére. Bár a vizsgálati eredmények számos ellentmondástól terheltek, az összegyűjtött adatok alapján arra lehet következtetni, hogy az intenzív követés kedvezően hat a túlélésre.

Az invazív követési módszerek (a colonoscopia elsősorban) bizonyos szövődményekkel, mellékhatásokkal járnak, s egyéb korlátai is ismertek (53, 94). Az újabban szűrésre is javasolt CTC (CT colonográfia, vagy „virtuális” colonoscopia) kíméletesebb módszer, de számos esetben a colonoscopiát nem teszi feleslegessé, bár hatékonyága kétségtelenül figyelemre méltó (94, 126).

7.3. Klasszikus és új biomarkerek – mint indikátorok

A daganatos megbetegedésekkel összefüggésbe hozható indikátorok igen változatosak lehetnek, s a székletben megjelenő vér, a „klasszikus” tumormarkerek, valamint a molekuláris biológia módszereivel vizsgálható genetikus bélyegek (pl. génmutációk, kópiaszám variációk, egyes nukleotid polimorfizmusok) is ide sorolhatók, s utóbbiak, mint „új biomarkerek” szerepet játszhatnak a különböző betegségekre való hajlam, valamint egy adott kezelésre adott válasz, illetve toxicitás megítélésében is (31, 33).

Új biomarkerek felismerése és azonosítása a daganatkutatás egyik legfontosabb feladata, a diagnosztika hatékonysága, a prognózis megítélése és az eredményesebb gyógykezelés érdekében. Az igen nagyszámú „jelöltből” nehéz azoknak a markereknek a kiválogatása, amelyek statisztikailag szignifikáns összefüggést mutatnak a vastag-és végbélrákok fontos klinikai jellemzőivel, s amelyek pontosabb működését további vizsgálatokkal tisztázni is lehet (61).

Egyértelművé vált, hogy a régi biomarkerek (az egyéb hagyományos módszerekkel együtt) már nem, az új biomarkerek pedig még nem alkotnak kizárólagos hatékony követési modellt a korai felkutatásra.

Mivel a miRNS-ek speciális mintázatának jellegzetes változása bizonyos kóros folyamatokat jellemezhet, s remény van arra, hogy, a miRNS-profilok kiértékelése során a daganat kiújulás, terjedés és áttétképződés tendenciái is jósolhatók, a klinikai gyakorlat értékes biomarkere lehet, több szerzőcsoport kiterjedtebb vizsgálatai és ezek értékelése után (76).

7.4. A miRNS profilok változása - új diagnosztikai és követési lehetőségek

Ismeretes, hogy a keringő miRNS-ek elemzése csak nagyon rövid múltra tekinthet vissza (76), az értékelési nehézségek ellenére azonban, vannak olyan jelzések, amelyek arra utalnak, hogy egy ígéretes, új biomarker csoport van a kezünkben, amelynek részvétele a sejtek transzformálásában nem vitatható. Ennek a biológiai szerepnek a mélyebb megismerése azonban elengedhetetlen ahhoz, hogy a klinikai gyakorlatban is hatékony diagnosztikus, prognosztikai és prediktív biomarkerré válhassanak, amelyre alkalmassá teheti őket az a szoros kapcsolat, amely szabályozó mechanizmusuk zavara és a rák kifejlődése, valamint progressziója között fennáll (46).

A rákbetegek microRNS profiljának megértése segítheti a pontos diagnózist és a hatékony terápiát (98). A legtöbb microRNS kutatás összehasonlítja a daganatos és a normál szöveteket. Szerencsére a közelmúltban megjelent néhány cikk, melyek elemzik a keringő microRNS szintet a perifériális vérben. Ezek az adatok nagy diagnosztikai és prognosztikai potenciállal rendelkeznek. A keringő microRNS már a klinikai tünetek megjelenése előtt jelezheti a tumor jelenlétét és hosszabb túléléshez vezethet (56). Mindeközben a tumorból vett mintavétel feleslegessé válik. Azonban a daganatok keringő microRNS expresszio profilja adatbankja csak most kezd kifejlődni. Ráadásul a pontos diagnózishoz és terápiához, a vastagbélrák és a végbélrák elkülönítése elkerülhetetlen (98).

7.5. A miRNS expressziók összehasonlítása differenciál-diagnosztika, kedvezőbb túlélési lehetőségek

Jelen tanulmánynak a fő célja a vastagbélrákos, végbélrákos és egészséges páciensek szérumából nyert válogatott microRNS expressziójának összehasonlítása volt.

Olyan microRNS-ket találtunk, melyeknek expressziója szignifikánsan különbözött a kontroll csoportokétól vastagbél- és végbélrákos betegeknél. Néhány esetben eltérő expressziós szinteket mértünk vastagbél- és végbélrákos betegeknél. Sőt, előrehaladott daganatos állapotban néhány microRNS expressziója magasabb volt, mint a kontrollokban.

Az eddig közölt adatok alapján magas miR-155 expresszió – a vérben mérve – jellemzi a kontroll csoportot, ami magasabb túlélési rátához is vezet (87). Ezeket az

eredményeket a mi tanulmányunk is megerősíti. Különbséget láttunk a vastagbél és végbélrákos esetekben, mert a miR-155 expresszió alacsonyabb volt vastagbélrákban, mint végbélrákban.

Mima és kollégái rosszabb túlélésre következtettek a miR-21 magas expressziójánál (95), de ezeket az eredményeket a mi kísérleteink nem erősítették meg. Bár a vastagbélrákos betegek adatai egy p=0.057 értéket mutattak. A végbélrákos betegeknél a miR-21 expresszió matematikailag szignifikánsan magasabb, mint a vastagbélrákosoknál.

Hasonlóan a miR-21-hoz, a miR-221 magas expressziója is összefüggésben van a rosszabb túléléssel. Emelkedett expressziót találtak miR-21 és miR-221esetében is vastag- és végbélrákos betegek periferiális vérmintáiban (112, 120). Mi azt találtuk, hogy a miR-221 magasabb expressziójú a végbélrákos esetekben a vastagbélrákosokéval és az egészséges kontrollokéval szemben. Előrehaladottabb betegségben a miR-221 expresszió kifejezettebb volt.

Eredményeink azt igazolták, hogy a miR-30a expresszió enyhén, de statisztikailag szignifikánsan magasabb volt a 2. és 3. stádiumú vastagbél- és végbélrákos betegek vérében, mint a kontrollokében. Ez ellentmond az irodalmi adatoknak, mivel sok közlemény azt írja, hogy a miR-30a gátolja az áttétképződést és csökkent az expressziója colorectális tumoros betegeknél (158).

Acherne és munkatársai (1) azt említették, hogy a miR-34a szint szignifikánsan alacsonyabb a colorectális tumoros betegeknél, mint az egészségeseknél. Ez teljesen megegyezik a mi megfigyeléseinkkel, mivel matematikailag szignifikánsan csökkent expressziós szintet mértünk a 2. 3. és 4. stádiumú vastagbél- és végbélrákos betegeink vérében, mint a kontroll csoportban. A miR-29b tendenciák teljesen megegyeznek a miR-34a.-nél mértekkel. Eredményeink megerősítik az irodalomban leírtakat (9, 102). Vagyis, a miR-29b expresszió a vérben szignifikánsan alacsonyabb az 1-nél magasabb stádiumokban.

Általánosságban azt lehet állítani, hogy a miR-30a kivételével hasonló eredményeket találtunk, mint a korábbiak. Ezen túlmenően azt találtuk, hogy a colorectális rákban szenvedő betegek vérében a miR-155, miR-21és miR-221 expresszió szignifikánsan magasabb volt a végbélrákos pácienseknél, mint a vastagbélrákosoknál.

Eredményeink hozzájárulhatnak a microRNA tanulmányok jobb alkalmazásához a diagnózis felállításában és a terápiában.

7.6. Következtetés és a jövő perspektívái

Természetesen, a további anyaggyűjtés és módszertani munka elengedhetetlen, s egyéb markerek (régebbiek és újabbak) párhuzamos alkalmazása a hatékonyságot emelheti. A vizsgálati mintákban (testnedvekben) külső behatásokra igen ellenálló, mérésekben jól reprodukálható miRNS expressziós profilok, illetve ezek speciális mintázata ígéretes lehet az új és hagyományos biomarkerek kombinációjában. Az egymástól független rendszerek jól kiegészíthetik egymást, más erények és más hiányosságok eredőjeként, eredményesebb követési modell hozható létre.

Az idevágó nemzetközi felmérések szerint a javaslatok és a stratégiai ajánlások rendkívül sokszínűek, nem nélkülözve bizonyos nemzeti jelleget, illetve egyéni elképzelést sem, amely az ajánlások különböző mértékű betartását foglalja magába, érintve az orvosi gyakorlatot és szemléletmódot, valamint a betegek részvételi hajlandóságát egyaránt.

Ismeretes, hogy a korai felismerés az eredményes gyógykezelés eljövendő záloga. Nem hanyagolható el azonban minden egyes beteg kockázatbecslése sem, mivel a nagykockázatú betegeknél a kiújulási arány igen magas, s ebben a csoportban az intenzívebb követés a kívánatos. A választási lehetőség adott, figyelembe véve bizonyos tradíciókat és financiális lehetőségeket.

Új stratégia kialakítása, új biomarkerek bevonása érdekében szélesebb körű nemzetközi összefogás és rendszeres információcsere szükséges, a klinikai validálás feltételeinek egységesítésével.

7.7. Az értekezés klinikai gyakorlatban hasznosítható megfigyelései és eredményei

7.1. új eredményként értékelhető, hogy a miR-155, a miR-21 és a miR-221 expresszió szignifikánsan magasabb lett a végbélrákos betegknél, mint a vastagbélrákosoknál. Továbbá előrehaladottabb betegségnél a miR-221 expresszió kifejezettebb volt. Ezen megfigyelésnek nemcsak a korai diagnosztikában és gyógykezelésben, hanem a kórjóslat megitélésén is jelentősége lehet. Mivel a követés során egy újabb más lokalizációjú (pl. vastagbélrák-végbélrák, vagy fordítva) daganat felismerése a gyógykezelés módosítását teheti szükségessé.

7.2. A miR-30a expresszó enyhén, de statisztikailag szignifikánsan magasabb volt a 2. és 3. stádiumú vastag-és végbélrákos betegek vérében, mint a kontrollokéban, amely cáfolja azt a korábbi véleményt, hogy a fenti biomarker gátolja az áttétképződést és expressziója csökkent mértékű vastag- és végbélrákosoknál. További, kiterjesztettebb vizsgálata új adatokat eredményezhet a tumorgenezissel kapcsolatban is.

7.3. Megerősítettünk egy olyan korábbi megfigyelést, hogy a miR-34a vérszint szignifikánsan alacsonyabb a vastag-és végbélrákos betegeknél, mint az egészségeseknél. Saját vizsgálataink szerint a miR-34a érték matematikailag szignifikánsan csökkent a 2., 3. és 4. stádiumú vastag- és végbélrákos betegeknél szemben a kontroll csoporttal. Ezzel párhuzamosan, a miR-29b mérési tendencia megegyezik a miR-34a értékek alakulásával.

7.4. Mivel a miR-155, a miR-21 és a miR-221 expressziós értékkel ellentétes irányban „mozognak” a miR-34a és a miR-29b vérszintekkel, párhuzamos vizsgálatunk a követés során magának a tumoros folymatnak a változásáról is nyújthatnak újabb információkat.

7.5. A vastag- és végbélráknak, mint kiemelt népegészségügyi daganat-csoportnak a fentebb hivatkozott „klubszintű” szerveződésbe kedvezőbb környezeti és életmódbeli feltételeket teremthet a korszerű követési technikák számára.

8. KÖRNYEZETI HATÁSOK, ÉLETMÓD, PSZICHÉS TÉNYEZŐK.

8. 1. Esélyt a kedvezőbb túlélésre!

A betegkövetés megfelelő kereteit azonban meg kell találni, s ez nem kizárólag „szakmai" jellegű, hanem függ a betegtől s környezetétől is. A hatékony stratégia nem csak az ajánlásokat és javaslatokat hanem, ezek különböző mértékű „betartását" is magába foglalja, érintve az orvosi gyakorlatot és szemléletmódot, valamint a beteg részvételi hajlandóságát egyaránt. Az Országos Onkológiai Intézet munkacsoportja csokorba szedett néhány stratégiai ajánlást (10, 105, 106), s kidolgozta saját, „kompromisszumos jellegű" követési javaslatát is.

Sajnálatos módon országos jellegű, hivatalos hazai felmérésnek jelenleg nincs meg a feltétele, akár az egészségügy jelenlegi helyzete, akár pedig a benne uralkodó szemléletmód miatt. Jelen munkánk során azonban lehetőségünk nyílott arra, hogy a betegek egy civil szervezetben tömörülő csoportját (Magyar ILCO Szövetség) önkéntes válaszadásra alapított kérdőív segítségével megkérdezzük, amelynek a betegkövetéssel, kontrollvizsgálatokkal kapcsolatos „6 pontos modellje" általánosabb jellegű következtetések levonására (pl. túlélés) is alkalmas lehet.

Ehhez hasonló felméréssel az általunk elérhető irodalomban nem találkoztunk.

Lehetségesnek tartjuk, hogy egy korszerű laboratóriumi módszer, s annak elméleti és gyakorlati háttere, valamint a beteg környezete, pszichoszociális hatásaival együtt egy eredményesebb követési stratégia érdekében összekapcsolható egymással. Ennek érdekében vizsgáltunk egy jól szervezett betegtársaság tagjainak esélyeit, működési kereteinek hasznosítását egy „non invasiv" követési rendszer létrehozásában.

A válaszadók csoportja – szövetségi keretek

A Magyar ILCO szövetség tagsága olyan emberekből szerveződött, akiknél döntően daganatos betegségből következően, műtéti úton, a hasfalon végbélnyílást alakítottak ki. Önsegítő, „nonprofit" szerveződés, amelynek célja „a stómás emberek rehabilitációjának támogatása, érdekvédelme és társadalmi visszailleszkedésének elősegítése". Jelenleg kb. 3200 regisztrált tagot számlál, s 1985 óta a Nemzetközi

Stómás Szövetség tagja. A betegválasztás a Szövetség keretein belül működő klubok tagjai közül történt (107).

Az életminőséggel kapcsolatos klinikai vizsgálatok azonban fontossá váltak az utóbbi években, melyeknek jelentős tényezője a célcsoportok betegeinek visszajelzése (5, 124). A betegek egy része ugyanis „visszajelez", ha megkérdezik őket. Ezek a visszajelzések azonban igen változatosak, jelentős számban elégedetlenséget tükröznek. Állhatnak etnikai alapon, a gazdasági státusztól, biztosítási rendszertől, vagy a pszichoszociális tényezőktől függve (42, 54, 107, 131,153).

Ha összehasonlítjuk a Szövetségen belüli adatokat az általános népegészségügyi adatokkal, igen jelentős a különbség a Szövetségi mutatók javára, amely akkor is felveti a klubtevékenységre alapozott szervezeti keretek előnyét és jótékony hatását, ha „egy az egyben" nem tekinthető hiteles összehasonlítási alapnak.

A felmérésünkből származó, nagyszámú értékelhető betegválaszból (1071) leszűrhető, hogy az ILCO klubokból nyert túlélési adatok még a legjobb nemzetközi adatokat is meghaladják, amely a közösség integráló, összetartó, segítő szerepére és erejére utal. Fentiekre tekintettel, a társadalmi, önkéntes „civil" betegszerveződések keretei korszerű, új laboratóriumi vizsgálatok segítségével hatékonyabb betegkövetési túlélési stratégia kialakítását tudnak elősegíteni, egy népegészségügyi szempontból igen jelentős rosszindulatú daganatos betegségcsoport pusztítóerjének mérséklése révén.

8.2. Betegválasztás és módszer

8.2.1. A válaszadók csoportja – szövetségi keretek

A Magyar ILCO szövetség tagsága olyan emberekből szerveződött, akiknél döntően daganatos beteségből következően, műtéti úton a hasfalon végbélnyílást akítottak ki. Önsegítő, „nonprofit" szerveződés, amelynek célja „a stómás emberek rehabilitációjának támogatása, érdekvédelme és társadalmi visszailleszkedésének elősegítése". Jelenleg kb. 3200 regisztrált tagot számlál, s 1985 óta a Nemzetközi Stómás Szövetség tagja. A betegválasztás a Szövetség keretein belül működő klubok tagjai közül történt.

8.2.2. Az adatgyűjtés modellje

Az önkéntes válaszadásra alapított kérdőívet a Szövetség vastag- és végbélrákkal operált stómás tagja kapta, az alábbi kérdésekkel:

1. férfi, nő
2. születési év
3. mikor operálták (a stomaképzés ideje)?
4. hova jár kontrollra (az intézmény neve, a város megjelölésével)?
5. milyen időközönként jár kontrollra?
6. mikor volt utoljára kontroll vizsgálaton?

A válaszadásban 23 klub, 1650 tagja vett részt, amely nagyrészt lefedi az egész ország területét. A kérdőívet 1340-en küldték vissza (81,21%), amelyből 1071-et (64,90%) tartottunk értékelhetőnek, főleg az 5. pontra adott bizonytalan válaszok (rendszertelenül, alkalmanként, panaszok esetén, stb.) miatt.

8.2.3. Statisztikai elemzés

A vizsgált populáció 5 és 10 éves túlélési adatai a teljes hazai vastag- és végbélrákos beteganyag túlélésével kerültek össszevetésre, melynek forrása a Nemzeti Rákregiszter és Biostatisztikai Központ 2001 és 2015 közötti adatbázisa volt. Ez utóbbi elemzése Kaplan-Meier görbék alapján történt, az 5 és 10 éves túlélési rátákat SAS Enterprise Guide 7.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, Egyesült Államok) szoftver segítségével határoztuk meg. A gyűjtött és a teljes beteganyag túlélési arányait khinégyzet teszttel hasonlítottuk össze, ehhez PAST version 1,86b szoftvert alkalmaztunk (51) a szignifikáns különbségnek a 0,5 alatti p- értékeket fogadtuk el.

9. EREDMÉNYEK

9.1. Az értékelés kettős szempontrendszere

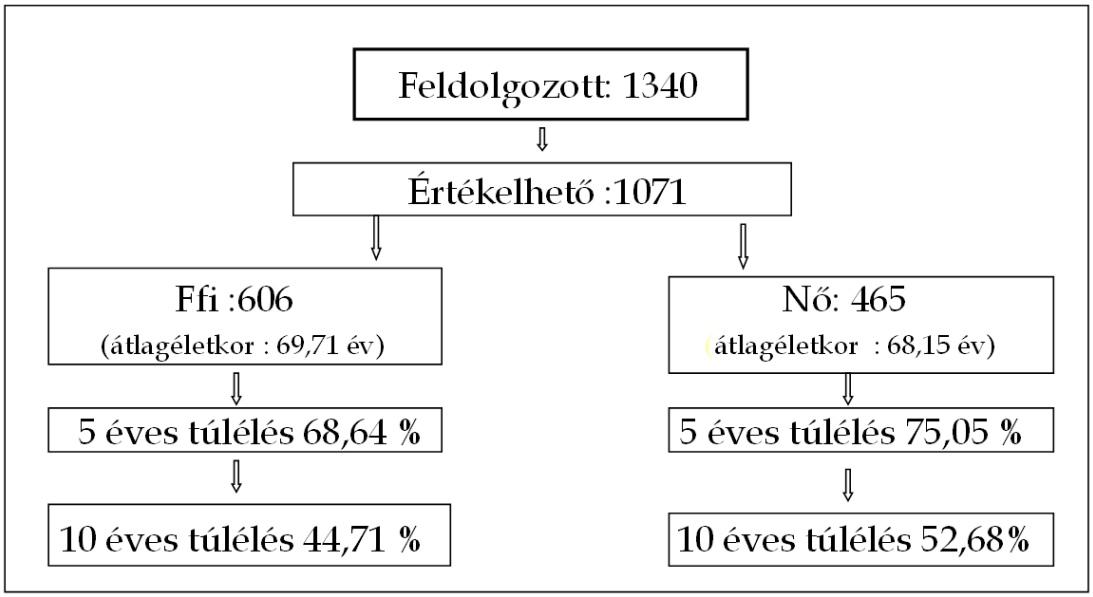
Az első csoportban

- A férfi – nő arányt
- Az átlagéletkort
- Az 5 és 10 éves túlélést, ugyancsak nemek szerinti bontásban (3. ábra) vizsgáltuk

A második csoportot a

- Kontrollidő és a
- Részvételi arány adatai alkotják (4. ábra)

3. ábra: Kérdőíves adatgyűjtés a sztómával élők körében (A Somogy megyei ILCO Klub segítségével, 2010)



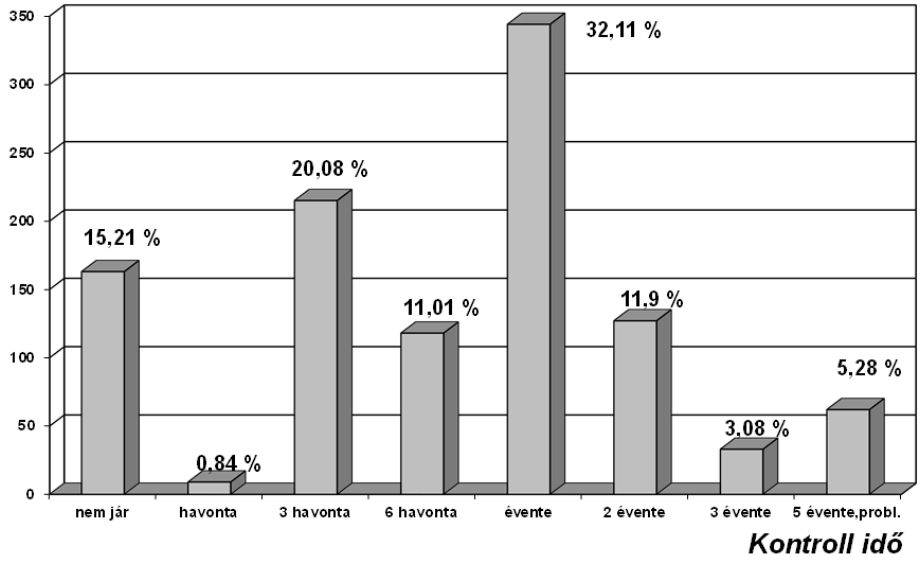
9.2. A nemek szerinti adatok összevetése

A 3. ábra adataiból egyértelműen kiderül, hogy a férfiak részvételi aránya magasabb, mint a nőké az átlagéletkort tekintve, azonban alig van eltérés. A túlélési adatok terén azonban már jelentős különbség figyelhető meg, a nő betegek javára (5 éves túlélés: 68.64 % és 75,05 %; 10 éves túlélés 44,71 % és 52,68 %).

Ha a hazai vastag- és végbélrákos gyakoriság kor szerinti megoszlását oszlopdiagrammal ábrázoljuk, akkor a férfiaknál szabályosabb, a nőknél kevésbé szabályos „Gauss- görbét” kapunk, amely jól szemlélteti a gyakoriság alakulását.

A csúcs férfiaknál a 65-74 éves, míg a nőknél 70-79 éves korcsoportban jelentkezik, amely feltehetően az életkori eltolódásokra vezethető vissza (5, 139), bár a túlélési különbségeket egyértelműen nem magyarázza.

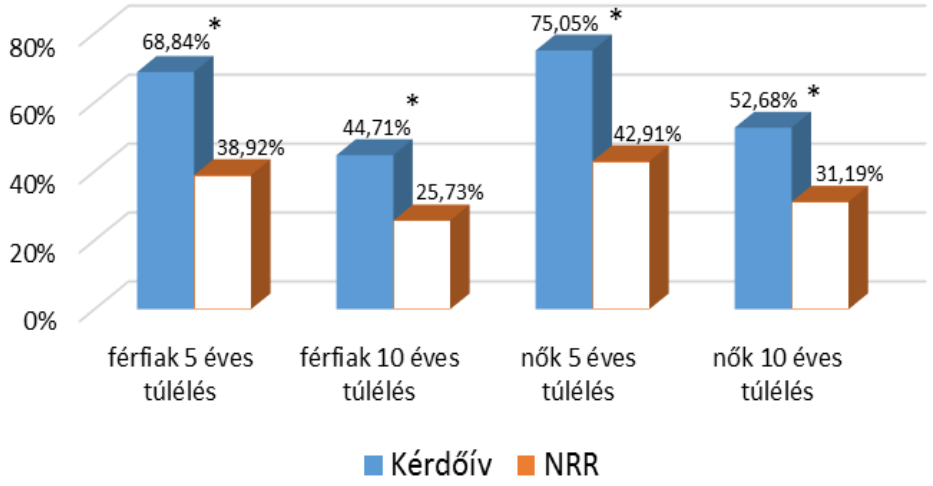
4 .ábra: Kérdőíves adatgyűjtés a sztómával élők körében (A Somogy megyei ILCO Klub segítségével, 2010)



Az egyes kontroll vizsgálatok között eltelt időt és az annak megfelelő részvételi arányt figyelembe véve (4. ábra), kiderül, hogy a válaszadók 15,21 %-a egyáltalán nem jár kontrollvizsgálatra, amely sajnálatos tény. Figyelemre méltó azonban, hogy a válaszadók 63,20 %-a 3 hónap – 12 hónapon belül rendszeresen megjelent a műtétet követő ellenőrző vizsgálatokon. A „kontroll vizsgálatok” pontos meghatározása ebben a tanulmányban nem ismert, részletes „orvosi válaszadást” igényelne. A korábban hivatkozott irodalmi adatok és a hazai gyakorlat ismeretében azonban ennek feltételei jelenleg nem adottak. A 2 évente (11,9 %) és 3 évente (3,08 %) megjelenők esetében a korai felismerés esélye jóval kevesebb s az „5 évente, probléma esetén” hatékonysága pedig már nem is értékelhető. Ha figyelembe vesszük, hogy a daganat „visszatérésére” nagyrészt (76 %- 91 %) 3 éven belül következik be (27,42), akkor az intenzív betegkövetés minimun 3 évig indokolt.

A gyűjtött (kérdőíves) és a Nemzeti Rákregiszter teljes beteganyaga túlélési adtait statisztikailag elemezve és összevetve, egyértelműen megállapítható, hogy a Nemzeti Rákregiszter 2001 és 2015 közötti túlélési mutatói, valamint az ILCO Szövetségbe tartózó betegek túlélési adatai (5. ábra) között at utóbbiak javára szignifikáns túlélési előny mutatkozik (*: $p < 0,05$).

5. ábra: A kérdőíves felmérés, valamint a teljes hazai vastag- és végbélrákos betegpopuláció túlélési adatai



10. MEGBESZÉLÉS

10.1. Gyógyító műtét – betegkövetés

A gyógyító műtét utáni betegkövetés feltételezett előnyeit az alábbi szempontrendszer keretében érdemes vizsgálni (5, 35, 36):

- A kiújulások minél koraibb felfedezése, amely a második gyógyító műtét hatékonyságát növelheti;
- Egy esetleges második primer tumor kimutatása;
- A beteg megnyugtatása, életminőségének javítása.

Hogy a fenti feltételezések közül melyik (és mennyire) igaz, azt számos tényező befolyásolhatja, így pl. a primer tumor elhelyezkedése, stádiuma (a beteg első jelentkezésekor); a hozzáférhető terápia hatékonysága; a beteg alkalmassága és hajlandósága; olyan módszertani elemek megválasztása, amelyek optimális követési stratégia kialakítását teszik lehetővé (10).

Sajnálatos módon, az optimális követést illetően, nincs konszenzus a szakirodalomban. Továbbá, az intenzív és kevésbé intenzív követést biztosító stratégiai elemek kiválasztása és társítása is jelentős különbséget mutathat (5, 8, 35), amely a hazai javaslatokra is vonatkozik (10, 54, 105-107).

Az életminőséggel kapcsolatos klinikai vizsgálatok azonban fontossá váltak az utóbbi években, melyeknek jelentős tényezője a célcsoportok betegeinek visszajelzése . A betegek egy része ugyanis „visszajelez”, ha megkérdezik őket. Ezek a visszajelzések azonban igen változatosak, jelentős számban elégedetlenséget tükröznek. Állhatnak etnikai alapon, a gazdasági státusztól, biztosítási rendszertől, vagy a pszichoszociális tényezőktől függve (113, 127, 131).

10.2. Célcsoport választás – civil bázisok

Mivel egy hatékony stratégia hazai kialakítása nem csak szakmai, hanem népegészségügyi, társadalmi kereteket is igényel, a betegkövetés terén a Magyar ILCO Szövetség klubjait céloztuk meg, mivel magasabb arányú válaszadásra lehetett számítani, mint a szervezetet nem látogató betegk között. A Szövetség működését ismerve, egyrészt orvos patrónusokkal is rendelkezik, másrészt pedig, a szervezett

tagság jóval tájékozottabb, mint a nem klubtag betegek, ezért feltételezhető a tömegesebb és reálisabb közreműködés. Fentiek alapján, az országban fellelhető CRC-s betegek „egészére” nézve felmérésünket nem tartjuk reprezentatívnak, de mint „nagyminta” feltétlenül figyelemre méltó, akkor is, ha az országos szintű helyzetkép vigasztalanabb lehet. Feltehető, hogy az egészségpolitika, az orvos és beteg felelőssége egyaránt fennáll ebben a kérdésben, csak nem azonos mértékben.

10.3. A túlélési adatok összehasonlító vizsgálata

A különbségek lehetséges okai

A válaszadók számát tekintve, jelentős különbség adódik a nemek szerinti bontásban;

606 a férfiak, míg 465 a nők száma. A résztevevők átlagéletkorát tekintve, a férfiak-nők közötti különbség (69,71 év; 68,15 év) minimális. A nemek szerinti túlélési arányokat tekintve, már jelentős eltérés mutatkozik, egyrészt az országosan nyilvántartott vastag – és végbélrákos betegek túlélési adatai és a Szövetség válaszadó tagjai, másrészt, a Szövetségen belüli férfiak – nők viszonylatában is, amely a nők javára kifejezett eltérést mutat (5 éves túlélés: 68,64%/75,05%. 10 éves túlélés: 44,71%/52,68%).

Ennek okát pontosan nem ismerjük. Kétségtelenül szerepet játszhat az ismert életkori eltolódás is, de önmagában a különbségeket nem magyarázza, mivel a férfi- női válaszadók átlagéletkorában alig van különbség (69,71 év; 68,15 év). Feltétlenül figyelmet érdemel azonban, hogy a nők „egészségtudatosabb” életmódja sem ismeretlen jelenség.

Ha összehasonlítjuk a Szövetségen belüli adatokat az általános népegészségügyi adatokkal, igen jelentős a különbség a Szövetségi mutatók javára, amely akkor is felveti a klubtevékenységre alapozott szervezeti keretek előnyét és jótékony hatását, ha „egy az egyben” nem tekinthető hiteles összehasonlítási alapnak.

Az idevágó legjobb nemzetközi túlélési adatok alapján, az USA és Németország 5 éves CRC-túlélése mindkét nemre 65 %, míg az EU-s átlag 55 % (27, 89, 90).

Az Egyesült Királyság (UK) 5 éves férfi túlélése 49,6 %-os, míg a női 50,8%-osnak bizonyult, mindkét nemre 45%-os 10 éves túléléssel (113).

A korábban hivatkozott hazai (CRC-s betegekre általában) vonatkozó 5 éves túlélési adatok három közölt tanulmányból az alábbiak szerint alakultak: férfiakra és nőkre vonatkoztatva 40%-s; 42%-os férfi és 50%-os női; továbbá, műtéti anyagból férfi és női együttes adat 40%-os (vastagbél);és mindösssze 22%-os végbél , amely különösen elszomorító (7, 54, 139)!

Fentiekre tekintettel, a felmérésünkből származó, nagyszámú értékelhető betegválaszból (1071) leszűrhető, hogy az ILCO klubokból nyert túlélési adatok még a legjobb nemzetközi adatokat is meghaladják, amely a közösség integráló, össszetartó, segítő szerepére és erejére utal.

A kisközösség „lelkibékét", kellemes közérzetet összetartó erőt, szolidaritást teremthet, amelyet szeretnénk fenntartani, s amely a túlélésünk szempontjából hasznos lehet (64, 114, 116). Fentieket támaszják alá a statisztikai elemzés eredményei, amelyek szerint a Nemzeti Rákregiszterből származó túlélési adatok lényegesen rosszabbak, mint a kérdőíves felmérés alapján számított százalékok. A két adatrendszer közötti különbségek szignifikánsnak adódtak. A statisztikai elemzés során felhasznált rákregiszteri adatok a jelen helyzetre inkább jellemzőek, mint a korábban közölt túlélési mutatók, ezért az összehasonlítás számára is hitelesebbek (7, 107, 139).

Fentiekre tekintettel, a társadalmi, önkéntes „civil" betegszerveződések keretei korszerű, új laboratóriumi vizsgálatok segítségével hatékonyabb betegkövetési túlélési stratégia kialakítását tudnak elősegíteni, egy népegészségügyi szempontból igen jelentős rosszindulatú daganatos betegségcsoport pusztító erejének mérséklése révén.

11. AZ ÉRTEKEZÉS KLINIKAI GYAKORLATBAN HASZNOSÍTHATÓ ÚJ MEGFIGYELÉSEI ÉS EREDMÉNYEI A SZÖVETSÉGI FELMÉRÉS ADATAI ALAPJÁN

11.1. Megkeresésünkre nagy számok (1071 példány) értékelhető betegválasz érkezett, amely nagy mintaként tekinthető.

11.2. Azok az adatok nem csak egy betegszervezet működésére világítnak rá, hanem összehasonlítási alapot szolgálhatnak az országban fellelhető vastag- és végbélrákos betegek „egészére” nézve is, a Nemzeti Rákregiszter bázisán.

11.3. A Szövetségen belüli adatokat összehasonlítva az általános népegészségügyi adatokkal, igen jelentős a különbség a szövetségi mutatók javára.

11.4. Az ILCO klubbokból nyert túlélési adatok még a legjobb nemzetközi adatokat is meghaladják, amely a közösség integráló, összetartó, segítő szerepére és erejére utal.

11.5. A két adatrendszer statisztikai elemzése során a különbségek szignifikánsnak adódtak, a szövetségi mutatók javára.

12. IRODALOMJEGYZÉK

1. *AherneS.T., Madden S.F., Hughes D.J., Pardini B., Naccarati A.,Levy M., Vodicka P., Neary P., Dowling P., Clynes M.*: CirculatingmiRNAs miR-34a and miR-150 associated with colorectal cancer progression. BMC Cancer.15: 329, 2015.

2. *Ahlquist DA, Zou H, Domanico M et al*: Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas. Gastroenterology 142:248-256, 2012.

3. *Ahmed FE, Amed NC, Vos PW et al*: Diagnostic microRNA markers to screen for sporadic human colon cancer in blood. Cancer Genom Proteon 9:179-192, 2012.

4. *Aslam M ,Taylor K, Pringle JH et al* : MicroRNAs are novel biomarkers of colorectal cancer. Br J Surg 96:702-710,2009.

5. *Baca B, Beart RW, Etzioni DA:* Surveillance after colorectal cancer resection: A systematic review. Dis Colon Rectum 54:1036-1048,2011.

6. *Baldus SE, Schaefer KL, Engels R et al:* Prevalence and heterogeneity of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in primary colorectal adenocarcinomas and their corresponding metastases. Clin Cancer Res 16:790-799, 2010.

7. *Balogh Á:* A sebészi daganatgyógyításról a harmadik évezred küszöbén. Magyar Onkol 54: 101-115, 2010.

8. *Barbas AS ,Turley RS,Mantyh CR et al :* Effect of surgeon specialization on long-term survival following. Colon cancer resection at an NCI - designated cancer center. J Surg Oncol 106:219-223, 2012

9. *Basati G., Razavi A.E., Pakzad I., Malayeri F.A.:* Circulating levels of the miRNAs, miR-194, and miR-29b, as clinically useful biomarkers for colorectal cancer.Tumour Biol.37(2):1781- 1788, 2016.

10. *Beczássy E, Ottó Sz, Vámosi Nagy I:* A tumormarkerek szerepe a vastag – és végbélrákos betegek követésében és ellenőrzésében. Magyar Onkol 48: 57- 61, 2004.

11. *Berg M, Soreide K :* Genetic and epigenetic traits as biomarkers in colorectal cancer Int J Mol Sci 12:9426-9439, 2011.

12. *Bertagnolli M M:* The forest and the trees:pathways and proteins as colorectal cancer biomarkers. J Clin Oncol 27: 5866-5867, 2009

13. *Bérczi B, Kiss I, Ember I:* A mikro RNS polimorfizmus és a daganatos betegségek kockázatbecslése. Magyar Epidemiol 8: 97-108, 2011.

14. *Biomarkers Definitions Working Group:* Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther 69:89-95, 2001.

15. *Bosetti C,Levi F, Rosato V et al:* Recent trends in colorectal cancer mortality in Europe. Int J Cancer 129:180-191,2011.

16. *Brase J, Wuttig D, Kuner R, et al:* Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. Mol Cancer 9:306, 2010.

17. *Brawarsky P, Neville BA, Garrett M et al:* Surveillance after resection for colorectal cancer. Cancer 119: 1235-1242, 2013

18. *Bray F, Sankila F, Ferlay J et al*: Estimates ef cancer incidence and mortality in Europe in 1995. Eur J Cancer 38:99-166, 2002.

19. *Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al*: Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci USA 99(22):15524-15529, 2002.

20. *Canil CM, Tannok IF:* Doctor's dilemma: incorporating tumor markers into clinical decision-making. Semin Oncol 29: 286-293, 2002.

21. *Cassinotti E, Melson J, Ligetti T et al:* DNA methylation patters in blood of patients with colorectal cancer and adenomatous colorectal polyps. Int J Cancer 31:1153-1157, 2012.

22. *Cavalli-Björkman N, Lambe M, Eaker S et al*: Differences according to aducational level is the management and survival of colorectal cancer in Sweden . Eur J Cancer 47:1398-1406, 2011.

23. *Chan C-C, Fan C-W, Kuo Y-B, et al:* Multiple serological biomarkers for colorectal cancer detection. Int J Cancer 126:1683-1690, 2010.

24. *Chen C, Ba Y, Ma L, et al :* Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. Cell Res 18:997-1006, 2008.

25. *Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, et al:* Circulating plasma miR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis . PloS ONE 6(3):e17745, 2011.

26. *Cohen SJ, Punt CJA, Iannotti N et al:* Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 26: 3213-3221, 2008.

27. *Coleman MP:* Cancer survival:global surveillance will stimulate health policy and improve equity. The Lancet 383: 564-573, 2014.

28. *Cortez MA, Calin GA*: MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases . Expert Opin Biol Ther 9(6): 703-711, 2009.

29. *Criblez D:* Revidierte Konsensus-Empfehlungen zur Nachsorge nach koloskopischer Polypektomie und nach kurativ operiertem kolorektalem Karzinom. Schweiz Med Forum 7:994-999, 2007.

30. *De Vos T, Tetzner R, Model F, et al:* Circulating methylated SEPT9 DNA in plasma is a biomarker for colorectal cancer. Clin Chem 55:1337-1346, 2009.

31. *Diamandis EP*: Cancer Biomarkers: Can we turn recent failures into success? J Natl Cancer Inst 102:1462-1467, 2010.

32. *Diamandis EP, Voelkerding KV, Drmanac R et al:* Next-generation sequencing:a new revolution in molecular diagnostics? Clin Chem 55:2088-2092,2009.

33. *Dunn BK, Wagner PD, Anderson D et al:* Molecular markers for early detection. Semin Oncol 37:224-242, 2010.

34. *Ember Á, Budán F, Ghodratollah N, et al:* Molekuláris biomarkerek alkalmazása a colorectális carcinómás betegeken, a műtéti hatás monitorozására követéses vizsgálattal. Egészségtudomány 53:50–59, 2009.

35. *Fahy BN*: Folow-up after curative resection of colorectal cancer. Ann. Surg Oncol 21:738-746, 2014.

36. *Fahy BN*: Follow–up after curative surgery: understanding costs and benefits Ann Surg Oncol 21: 731-732, 2014.

37. *Falus A:* Mit öröklünk és mit nem? Perspektíva és realitás. Magyar Tudomány 6:674- 679, 2015.

38. *Fearon ER, Carethers JM:* Molecular subtyping of colorectal cancer: Time to explore both intertumoral and intratumoral heterogeneity to evaluate patient outcome. Gastroenterology 148:10-12, 2015.

39. *Ferlay J, Autier P, Boniol M et al:* Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. Ann Oncol 18:581-592,2007.

40. *Fesler A, Jiang J, Zhai H, et al:* Circulating microRNA testing for the early diagnosis and follow-up of colorectal cancer patiens .Mol Diagn Ther 18:303-308, 2014.

41. *Flamini E, Mercatali L, Nanni O, et al*: Free DNA and carcinoembryonic antigen serum levels: an important combination for diagnosis of colorectal cancer. Clin Cancer Res 12:6985-6988, 2006

42. *Furman MJ, Lambert AL, Sullivan ME et al:* Rational follow-up after curative cancer resection. J Clin Oncol 31: 1130-1133, 2013.

43. *Fuszek P, Horváth HCs, Speer G és mtsai:* A colorectális rákok lokalizációjának változása Magyarországon 1993 és 2004 között. Orv Hetil 147:741-746, 2006.

44. *Gattolliat CH, Uguen A, Pesson M et al:* Micro RNA and targeted mRNA expression profiling analysis in human colorectal adenomas and adenocarcinomas .Eur J Cancer 51:409-420, 2015.

45. *Gervasoni A, Sandri MT, Nascimbeni R et al:* Comparison of three distinct methods for the detection of circulating tumor cells in colorectal cancer patients. Oncology 25: 1669 -1676, 2011.

46. Global Burden of DiseaseCancerCollaboration, Fitzmaurice C. [et al.] (154 szerző): Global, Regional, and National CancerIncidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of DiseaseStudy.JAMA Oncol.3(4): 524-548, 2017.

47. *Gomez D, Sangha VK, Morris-Stiff G:* Outcomes of intensive surveillance after resection of hepatic colorectal metastases. Br J Surg 97:1552-1560, 2010.

48. *Gőcze K, Gombos K ,Pajkos G és mtsai:* Mikro-RNS-ek jelentősége a molekuláris epidemiológiában. Orv Hetil 152: 633-641, 2011.

49. *Grossmann I, de Bock GH, van de Velde et al:* Resalts of a national survey among Dutch surgeons treating patients with colorectal carcinoma. Current opinion about follow-up, treatment of metastasis, and reasons to revise follow-up practice. Colorect Dis 9: 782-792, 2007.

50. *Gutman S, Kessler LG*: The US Food and Drug Administration perspective on cancer biomarker development. Nature Rev/Cancer 6:565-571 2006.

51. *Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D.*:PAST: Paleontological statictics software package for education and data analysis. Palaeontol. Electron, 4, 1-9, 2001.

52. *Heichmann KA*: Blood-based testing for colorectal cancer screening. Mol Diagn Ther 18: 127-135, 2014.

53. *Ho JM, Juurlink DN, Cavalcanti RB:* Hypokalemia following polyethylene glycol- based bowel preparation for colonoscopy in older hospitalized patients with significant comorbidities. Ann Pharmacother 44:466-470, 2010.

54. *Horváth Zs* :Rákból gyógyult betegek követése. Kommentár. Orvostovábbképző Szemle 22:26-27, 2015.

55. *Hu G, Drescher KM, Chen XM:* Exosomal miRNAs: biological properties and therapeutic potential . Front Genet 3:56,2012.

56. *Huang Q, Ge B, Hu M, Zhou J, Bai X:* Circulating MicroRNAs in Colorectal Cancer.J Mol GenetMed. 11: 274, 2017.

57. *Huang Z, Huang D, Ni S, et al :* Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. Int J Cancer 127:118-126, 2010.

58. *Jones RP, Jackson R, Dunne DFJ et al :* Systematic review and meta-analysis of follow-up after hepatectomy for colorectal liver metastases. Br J Surg 99:477-486, 2012.

59. *Ju J:* miRNAs as biomarkers in colorectal cancer diagnosis and prognosis. Bioanalysis 2:901-6, 2010.

60. *Jung EJ, Santarpia L, Kim J, et al:* Plasma microRNA 210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients. Cancer 118 (10):2603-2614, 2012.

61. *Jung Y, Lee S, Choi H-S et a* : Clinical validation of colorectal cancer biomarkers identified from bioinformatics analysis of public expression data. Clin Cancer Res 17:700-709, 2011.

62. *Kalia M:* Biomarkers for personalized oncology: recent advances and future challenges. Metabolism 64: S16-S21, 2015.

63. *Kanaan Z, Roberts H, Eichenberger MR, et al*: A plasma microRNA panel for detection of colorectal adenomas: a step toward more precise screening for colorectal cancer . Ann Surg 258(3):400-408, 2013.

64. *Kegye A.:* A pszichoszociális támogatás helye a komplex onkológiai ellátásban. (In.A NemzetköziILCO Konferencia 2010-es válogatott, lektorált tanulmányai (szerk. Gy.Kiss E., Polyák L.). A Magyar ILCO Szövetségkiadvány, Kaposvár, 34-45, 2010, www.magyarilcoszovetseg.hu

65. *Kern SE:* Why your new cancer biomarker may never work: recurrent patterns and remarkable diversity in biomarker failures. Cancer Res 72(23):6097- 6101, 2012.

66. *Kim DJ, Linnstaedt S, Palma J, et al:* Plasma components affect accurasy of circulating cancer – related microRNA quantitation. J Mol Diagn 14(1):71-80, 2012.

67. *Kjersen JB, Ikdahl T, Lingjaerde OC, et al:* Plasma microRNAs predicting clinical outcome in metastatic colorectal cancer patients receiving first- line oxaliplatin – based treatment . Mol Oncol 09.001, 2013.

68. *Koberle V, Pleli T, Schmithals C, et al*:Differential stability of cell – free circulating microRNAs :implications for their utilization as biomarkers. PtoS ONE 8(9): e75184, 2013.

69. *Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T*: Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. Cancer Sci 101:2087-2092, 2010.

70. *Kopper L :* Keringő tumorsejtek – új információk forrása. Klin Onkol 2: 113-116, 2015.

71. *Kovács L G*: Új lehetőségek és bevált utak a prosztatarák laboratóriumi diagnosztikájában. 2014. Magyar Onkol 58: 301-309,2014.

72. *Kovács L G* : Korai diagnosztika, prognosztika és szűrések a laboratóriumi diagnosztikában. Magyar Belorv Arch 68: 81-84, 2015.

73. *La Vecchia C, Bosetti C, Lucchini F et a :* Cancer mortality in Europe, 2000-2004, and overview of trends since 1975. Ann Oncol 21:1323-1360, 2010.

74. *Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD et al:* Primary colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up. Ann Oncol 21 (Suppl 5):v70-v77, 2010.

75. *Labianca R, NordlingerB, Beretta GD et al:* Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 24(supplement6):vi64-vi72, 2013.

76. *Lawrie CH, Gal S, Dunlop H.M, et al* : Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br J Haematol, 141:672-675, 2008.

77. *Lecomte T, Ceze N, Dorval É et al:* Circulating free tumor DNA and colorectal cancer. Gastroen Clin Biol 34: 662-681, 2010.

78. *Levin B, Liberman DA, McFarland B et al:* American Cancer Society Colorectal Cancer Advisory Group. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multy-Society Task Force on colorectal cancer, and the American College of Radiology. Gastroenterology 134:1570-1595,2008.

79. *Li J, Smyth P, Cahill S, et al:* Comparison of miRNA expression patterns using total RNA extracted from matched samples of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) cells and snap frozen cells . BMC Biotechnol 7:36, 2007.

80. *Liedner RS, Li L, Thompson CL:* Dampening enthusiasm for circulating microRNA in breast cancer .PloS ONE 8(3):e57841, 2013.

81. *Lin JK, Lin CC, Yang SH et al:* Early postoperative CEA level is a better prognostic indicator than is preoperative CEA level in predicting prognosis of patiens with curable colorectal cancer. Int J Colorectal Dis 26(9):1135-1141, 2011.

82. *Lin M, Chen W, Huang H, et al:* MicroRNA expression profiles in human olorectal cancers with liver metastases. Oncol Rep 25:739-747, 2011.

83. *Liu GH, Zhou ZG, Chen R, et al*: Serum miR-21 and miR-92a as biomarkers in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer. Tumour Biol 34(4)2175-2181,2013.

84. *Liu M, Chen H:* The role of microRNAs in colorectal cancer. Genet genomics 37: 347-358, 2010.

85. *Lowes LE, Hegley BD, Keeney M et al*: User-defined protein marker assay development for characterization of circulating tumor cells using the CellSearch® System Cytometry Part A 81A:983 – 995, 2012.

86. *Ludwig JA, Weinstein J :* Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection. Nature Rev/Cancer 5:845-856, 2005.

87. *Lv Z.C., Fan Y.S., Chen H.B., Zhao D.W.*: Investigation of microRNA-155 as a serum diagnostic and prognostic biomarker for colorectal cancer. Tumour Biol.36(3):1619-1625, 2015.

88. *Lyass S, Zamir G, Matot I et al*: Combined colon and hepatic resection for synchronous colorectal liver metastases. J Surg Oncol 78:17-21, 2001.

89. *Majek O, Gondos A, Jansen L et al* : Survival from colorectal cancer in Germany in the early 21 st century .Br J Cancer 106: 1875-1880, 2012.

90. *Malvezzi M, Bertuccio P, Levi F et al:* European cancer mortality predictions for the year 2012. Ann Oncology 23:1044 -1052,2012.

91. *Matsubara N:* Epigenetic regulation and colorectal cancer. Dis Colon Rectum 55: 96-104, 2012.

92. *McShane LM, Hayes DF*: Publication of tumor marker research result: the necessity for complete and transparent reporting. J Clin Oncol 30:4223-4232, 2012.

93. *Meyerhardt JA, Mangu PB, Flynn PJ et al :* Follow-up care. Surveillance protocol, and secondary prevention measures for survivors of colorectal cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement. J Clin Oncol: 31: 4465-4470, 2013.

94. *Miller A,Steele S :* Novell molecular screening approaches in corectal cancer. J Surg Oncol 105:459-467, 2012

95. *Mima K., Nishihara R., Yang J., Dou R., Masugi Y.,Shi Y., da Silva A., Cao Y., Song M., Nowak J.,Gu M., Li W., Morikawa T., Zhang X., Wu K.,Baba H., Giovannucci E.L., Meyerhardt J.A., Chan A.T., Fuchs C.S.,Qian Z.R., Ogino S.:* microRNA MIR21 (miR-21) and PTGS2 Expressionin Colorectal Cancer and Patient Survival. Clin Cancer Res. 22(15): 3841-8, 2016.

96. *Miranda E, Bianchi P, Destro A et al :* Genetic and epigenetic alterations in primary colorectal cancers and related lymph node and liver metastases. Cancer 119:266-276, 2013.

97. *Mitchell P.S, Parkin RK, Kroh EM, et al*: Circulating microRNAs as stable blood- based markers for cancer detection. Proc Natl Acad Sci 105:10513-10518, 2008.

98. *Mohammadi A, Mansoori B, Baradaran B.*:The role of microRNAs in colorectal cancer.Biomed Pharmacother. 84: 705-713, 2016.

99. *Nair VS, Maeda LS, Ioannidis JPA:* Clinical outcome prediction by microRNAs in human cancer. A systematic review. Reviews/JNCI 104:528-540, 2012.

100. *Nishida N, Yamashita S, Minori K et al:* MicroRNA-10b is a prognostic indicator in colorectal cancer and confers resistance to the chemotherapeutic agent 5-Fluorouracil in colorectal cancer cells. Ann Surg Oncol 19:3065-3071, 2012.

101. *Ng EK, Chong WW, Jin H, et al:* Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer a potential marker for colorectal cancer screening. Gut 58: 1375-1381, 2009.

102. *Nugent M.,Miller N., Kerin M.J.:* Circulating miR-34a levels arer educed in colorectal cancer. J Surg Oncol.106(8):947-952, 2012.

103. *Olesen F,Hansen RP, Vedsted P :* Delay in diagnosis: the experience in Denmark. Br J Cancer 101:55-58,2009.

104. *Omrane I, Benammar-Elgaaied A*:The immune microenvironment of the colorectal tumor: Involvement of immunity genes and microRNAs belonging to the TH17 pathway. Biochim Biophys Acta 1856(1):28-38, 2015.

105. *Orosz E, Ember I, Gombos K és mtsai:* Új követési stratégia kidolgozásának szükségessége a vastag – és végbélrákos betegek követésére; a miRNS –ek (miRNS) mint a korai felismerés lehetséges új biomarkerei. Magyar Oncol 56: 93-102, 2012.

106. *Orosz E, Ember I, Gombos K et al*: Alternatives for the intensive follow-up after curative resection of colorectal cancer. Potential novel biomarkers for the recommendations. Pathol Oncol Res 19: 619-629, 2013.

107. *Orosz E, Nagy AP,Kiss I et. al*: A vastag-és végbékrákos betegek főbb epidemiológiai mutatói a túlélés alakulása a civil ráktársaságok keretein belül. Focus Med 18/4:3-8,2016.

108. *Ottó Sz:* Cancer epidemiology in Hungary and the Béla Johan National Program for the decade of health. Pathol Oncol Res 2:126-130,2003.

109. *Phillipp AB, Stieber P, Nagel D et al:* Prognostic role of methylated free circulating DNA in colorectal cancer. Int J Cancer 131:2308-2319, 2012.

110. *Phipps AI, Limburg PJ, Baron JA, et al :* Association between molecular subtypes of colorectal cancer and patient survival. Gastroenterology 148:77- 87, 2015.

111. *Pritchard CC, Kroh E, Wood B, et al :* Blood cell origin of circulating microRNAs: a cautionary note for cancer biomarker studies. Cancer Prev Res (Phila) 5(3): 492- 497, 2012.

112. *Pu XX, Huang GL, Guo HQ, et al:* Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression. J Gastroenterol Hepatol 25(10):1674-1680, 2010.

113. *Rachet B, Woods LM, Mitry E et al*: Cancer survival in England and Wales at the end of the 20th century. Br J Cancer 99:S2-S10,2008.

114. *Riskó Á*: Az onkopszichológia első 25 éve az Országos Onkológiai Intézetben: előzmények és események (1988-2013). Magyar Onkol 59:241-250, 2015.

115. *Ristau J, Staffa J, Schrotz-King P, et al:* Suitability of circulating miRNAs as potential prognostic markers in colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 23: 2632-2637, 2014.

116. *Rohánszky M., Katonai R., Konkoly Thege B.:* Magyar daganatos betegek pszichoszociális állapota. Orv. Hetil., 155, 1024-1032,2014.

117. *Ruvkun G:* Clariffications on miRNA and cancer. Science 311 (5757): 36-37,2006.

118. *Ryan BM, Lefort F ,McManus R et al:* A prospective study of circulating mutant KRAS2 in the serum of patients with colorectal neoplasia: strong prognostic indicator in postoperatve follow-up. Gut 52:101-108, 2003.

119. *Saijo N:* Critical comments for roles of biomarkers. Cancer Treat Rev 38:63-67, 2012.

120. *Sarlinova M., Halasa M., Mistuna D., Musak L., Iliev R.,Slaby O., Mazuchova J., Valentova V., Plank L., Halasova E.*:miR-21, miR-221 and miR-150 Are Deregulated in Peripheral Blood of Patients with Colorectal Cancer.Anticancer Res.36(10):5449-5454, 2016.

121. *Sato N, Hayashi N, Imamura Y et al:* Usefulness of Transcription-Reserve Transcription Concerted reaction method for detecting ciculating tumor cells in patiens with colorectal cancer. Ann Surg Oncol 19: 2060-2065, 2012.

122. *Schee K, Fodstad O, Flatmark K, et al:* MicroRNAs as biomarkers in colorectal cancer. Am J Pathol 177: 15292-9, 2010.

123. *Schmit SL, Gollub J, Shapero MH, et al:* MicroRNA polymorphisms and risk of colorectal cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 24: 65-72, 2015.

124. *Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A et al* : ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. A personalized approach to clinical decision making. Ann Oncol 23:2479-516,2012.

125. *Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K:* Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. Nature Rev/Cancer 11:426-436, 2011.

126. *Shibuya H, Linuma H, Shimada R, et al:* Clinicopathological and prognostic value of microRNA-21 and microRNA-155 in colorectal cancer. Oncology 79:313-320, 2010.

127. *Sinha G:* Colorectal cancer survivors need better follow-up care. JNCI 106: News 1-2, 2014.

128. *Sinicrope FA, Shi Q, Smyrk TC, et al*: Molecular markers identify subtypes of Stage III colon cancer associated with patient outcomes. Gastroenterology 148:88- 89, 2015.

129. *Skuladottir H, Olsen JH*: Conditional survival of patients with the four major histologic subgroups of lung cancer in Denmark. J Clin Oncol 21(16):3035-3040, 2003

130. *Slaby O, Svoboda M, Fabian P, et al:* Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. Oncology 72(5-6):397-402, 2007.

131. *Sloan JA, Berk L, Roscoe J. et al:* Integrating patient-reported outcomes into cancer symptom management clinical trials supported by the National Cancer Institite- sponsored trials networks. J Clin Oncol 25: 5070-5077, 2007.

132. *Stintzing S, Lenz H-J*: MicroRNA-21 in colorectal cancer: „Just another brick in the wall”? JNCI 105: 840-841, 2013.

133. *Stoop EM, de Haan MC, de Wijkerslooth TR et al:* Participation and yield of colonoscopy versus non-cathartic CT colonography in population-based screening for colorectal cancer: a randomised controlled trial. Lancet Oncol 13:55-64, 2012.

134. *Tarantino I, Warschkow R, Worni M et al :* Elevated preoperative CEA is associated with worse survival in stage I-III cancer patiens. Br J Cancer 107:266- 274, 2012.

135. *Toijama Y, Hur K, Tanaka K, et al:* Serum miR-200c is a novel prognostic and metastasis-predictive biomarker in patiens with colorectal cancer. Ann Surg 6013e3182a6909d, 2013

136. *Toiyama Y, Takahashi M,Hur K, et al*: Serum miR-21 as a diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancer . J Natl Cancer Inst 105(12):849-859, 2013.

137. *Tóth K, Galamb O, Spisák S és mtsai*: Szabad DNS-alapú vastagbéldaganat-szűrés perifériás vérből: a metilált szeptin – 9 génmarker lehetőségei. Orv Hetil 150: 969-977 ,2009.

138. *Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, et al:* Characterization of extracellular circulating microRNA. Nucleic Acids Res 39:7223-7233, 2011.

139. *Tusnády G, Gaudi I, Rejtő L és mtsai*: A magyar daganatos betegek túlélési esélye a Nemzeti Rákregiszter adatai alapján. Magyar Onkol 52: 339-349, 2008.

140. *Trapé J, Fiella X, Alsina-Donadeu et al:* Increased plasma concentrations of tumour markers in the absence of neoplasia. Clin Chem Lab Med 49 (10):1605-1620, 2011.

141. *Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, et al:* Exosome - mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells .Nat Cell Biol 9(6):654-659, 2007.

142. *van de Velde CJH, Aristei C, Boelens PG et al:* EURECCA colorectal: Multidisciplinary Mission statement on better care for patients with colon and rectal cancer in Europe. Eur J Cancer 49: 2784-2790, 2013.

143. *van de Velde CJH, Boelns PG, Borras JM et al:* EURECCA colorectal: Multidisciplinary management: European consensus conference colon and rectum. Eur J Cancer 50:1.e1-1.e34, 2014.

144. *Vega AB, Pericay C, Moya I, et al*: microRNA expression profile in stage III colorectal cancer circulating miR-18a and miR-29a as promising biomarkers. Oncol Rep 30 (1):320-326, 2013.

145. *Verdecchia A, Francisci S, Brenner H et al :* Recent cancer survival in Europe: A 2000-02 period analysis of EUROCARE-4 data. Lancet Oncol 8:784-796, 2007.

146. *Viehl CT,Ochsner A, von Holzen U et al* :Inadequate quality of surveillance after curative surgery for colon cancer. Ann Surg Oncol 17:2663-2669, 2010.

147. *Wang A, Xiang J, Li Z, et al:* A plasma microRNA panel for early detection of cololectal cancer. Int J Cancer 136:152-161, 2015.

148. *Wang K, Zhang S, Weber J, et al:* Export of miRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. Nucleic Acids Res 38(20):7248-7259, 2010.

149. *Wang LG, Gu J:* Serum microRNA-29a is a promising novel marker for early detection of colorectal liver metastasis. Cancer Epidemiol 36(1):e61-7, 2012.

150. *Wang Q, Huang Z, Ni S, et al:* Plasma miR-601 and miR-760 are novel biomarkers for the early detection of colorectal cancer .PloS ONE 7(9):e44398, 2012

151. *Weng W, Feng J, Qin H, et al:* Molecular therapy of colorectal cancer: progress and future directions. Int J Cancer 136: 493-502, 2015.

152. *Wilbur J:* Daganatos kórelőzményű betegek követése, ellenőrzése. Orvostovábbképző Szemle 22:19-25, 2015.

153. *Wind J, Duineveld RP, van der Heijden et al:* Follow-up after colon cancer treatment in the Netherlands; a survery of patients, GPS, and colorectal surgeons. EJSO 39: 837-843, 2013.

154. *Wu CW,Ng SC, Dong Y et al :* Identification of microRNA-135b in stool as a potential noninvasive biomarker for colorectal cancer and adenoma. Clin Cancer Res 20:2994-3002, 2014.

155. *Xi Y, Nakajima G, Gavin E, et al*: Systematic analysis of microRNA expression of RNA extracted from frozen and formalin –fixed paraffin - embedded samples. RNA 13(10):1668-1674, 2007.

156. *Yamada N, Nakagawa Y, Tsujimura N, et al:* Role of intracellular and extracellular microRNA-92a in colorectal cancer. Trans Oncol 6(4):482-492, 2013.

157. *Yang L, Fujimoto J, Qiu D et al:* Trends in cancer mortality in the elderly in Japan, 1970-2007. Ann Oncol 21:389-396,2010.

158. *Yang L.H., Yin S.Y., He R.Q., Mo W.J, Pang Y.Y., Wu Y.Z., Peng Z.G., Gan T.Q.:* Prospective target genes and pathways of miR-30a-5p in colorectal cancer: an investigation using TCGA and bioinformatics analysis. Int J ClinExpMed. 10(3):4373-4385, 2017.

159. *Yang YP,Tsai HL, Huang CW, et al:* The functional significance of microRNA-29c in patients with colorectal cancer a potential circulating biomarker for predicting early relapse . PloS ONE 8(6):e66842, 2013.

160. *Yau TO, Wu CW, Dong Y et al*: microRNA-221 and microRNA-18a identification in stool as potential biomarkers for the non-invasive diagnosis of colorectal carcinoma Br J Cancer 111:1765-1771,2014.

161. *Yong FL, Law CW, Wang CW:* Potentiality of triple microRNA classiffer: miR193a-3p, miR-23a and miR-338-5p for early detection of colorectal cancer.BMC Cancer 13:280, 2013 .

162. *Zhang GJ, Zhou T, Liu ZL, et al:* Plasma miR-200c and miR18a as potential biomarkers for the detection of colorectal carcinoma. Mol Clin Oncol 1:379-384, 2013.

163. *Zhang J., Raju G.S., Chang D.W., Lin S.H., Chen Z,Wu X.:* Global and targeted circulating microRNA profiling of colorectal adenoma and colorectal cancer.Cancer. 124(4): 785-796, 2018.

164. *Zhou J, Zhang M, Huang Y, et al:* MicroRNA-320b promotes colorectal cancer proliferation and invasion by competing with its homologous microRNA-320a. Cancer Lett 356:669-675, 2015.

13. KÖZLEMÉNYEK

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁVAL KAPCSOLATOS TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

1) **BECZÁSSY E*,** OTTÓ SZ, VÁMOSI N I : A tumormarkerek szerepe a vastag- és végbélrákos betegek követésében és ellenőrzésében. Magyar Onkol 48: 57-61,2004.

2) TARPAY Á, SZABADOSNÉ N M, **OROSZ E,** KÁSLER M BURAI M, PAP, OTTÓ SZ: Széklethaemolglobin és albumin kettős immunkémiai vizsgálat colorectális szűrésnél. Magyar Onkol 55:268-273, 2011.

3) BONCZ I, NÉMETH M, **OROSZ E**, ENDREI D, MOLICS B, OTTÓ SZ. :FIT Performance in Early-Stage Colorectal Cancer--Letter. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011;20(7):1562. (If:4,125)

4) AFZAL S, GUSELLA M, JENSEN SA, VAINER B, FOGEL U, ANDERSEN J, BRODBEAK K, MORETEN P, JIMENEZ-SOLEM E, ADLEF V, BUDAI B, HITRE E, LÁNG I, **OROSZ**, E, et al: The asssociation polymorphisms in 5-fluoracil metabolism genes with outcome in adjuvant treatment colrectal cancer. Pharmacogenonics 12: 1257-1267,2011.(If: 3,218)

5) **OROSZ E ,** EMBER I, GOMBOS K , TÓTH L,VÁMOSI NAGY I, TARPAY Á, PAP Á, OTTÓ SZ: Új követési stratégia kidolgozásának szükségessége a vastag – és végbélrákos betegek követésére; a mikroRNS-ek (miRNS) mint a korai felismerés lehetséges új biomarkerei. Magyar Onkol 56:93-102, 2012.

6) **OROSZ E**, EMBER I, GOMBOS K, TÓTH L, TARPAY Á, PAP Á, OTTÓ SZ: Alternatives for the intensive follow-up after curative resection of colorectal cancer. Potential novel biomarkers for the recommendations. Pathol Oncol Res 19:619-629, 2013 (If: 1,855)

7) PAPP J, KOVÁCS ME, MÁTRAI Z, **OROSZ E**, KÁSLER M, BORRENSEN-D AL, OLAH E: contribution of APC and MUTYH mutations to familial adenomatous poliposis susceptibility in Hungary. Familial Cancer 15: 85-97, 2016 (If: 1,977)

8) OROSZ E, NAGY AP,KISS I et. al: A vastag-és végbékrákos betegek főbb epidemiológiai mutatói a túlélés alakulása a civil ráktársaságok keretein belül. Focus Med 18/4:3-8,2016.

*névvváltozás miatt: Orosz E

EGYÉB TÉMÁJÚ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

1) GÉCZI L, HORVÁTH ZS, **BECZÁSSY E**, KISBENEDEK L, BAK M, BODROGI I: A heredaganatok korai diagnózisa. Magyar Onkol 44: 275-284, 2000.

2) BÁNFALVI T, GILDE K, BOLDIZSÁR M, FEJŐS ZS, HORVÁTH B, LISZKAY G, **BECZÁSSY E**, KREMMER T: Serum concentration of 5- S-cysteinyldopa in patiens with melanoma. Eur .J. Clin. Inv 30:900-904, 2000. (If:2,734)

3) BÁNFALVI T , GERGYE M, **BECZÁSSY** E,* és mtsa. : Az S100 B protein marker szerepe daganatokban és más kórképekben. Magyar Onkol 48: 71-74, 2004.

4) BÁNFALVI T , GERGYE M, **OROSZ E**, BORBOLA K, FEJŐS ZS, LISZKAY G, PAPP A, GILDE K, OTTÓ SZ: S-100 B protein és LDH összehasonlító vizsgálatok disszeminált melanómában. Bőrgyógy. Veneral Szemle 1: 11-19,2008.

5) VARJAS T, ARANY I, SZABÓ I, MAGDA I, VARGA ZS, PÁZSIT E, SEBESTYÉN A, CSEJTEI A, **OROSZ E**, BONCZ I, EMBER I, KISS I: Lack of the c-Jun NH(2)-terminal kinase (JNK) ½ activation int he liver and leukocytes int he first hours after DMBA exposure. J Proactive Med 2: 5-7,2013.

*névvváltozás miatt: Orosz E

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁVAL KAPCSOLATOS IDÉZHEZŐ KONGRESSZUSI ÖSSZEFOGLALÓK

1. **OROSZ E**: „Some aspects of cancer epidemiology in Hungary", Magyar Epidemiol 7: 546-547,2010
2. **OROSZ E,** EMBER I, GOMBOS K, OTTÓ SZ: Új biomarkerek keresése és hasznosítása a vastag –és végbélrákok korai felismerésében. A mikroRNS-ek (miRNS) mint a vastag- és végbélrákok új biomarkerei. Magyar Epidemiol 8:567-568.2011
3. **OROSZ E**: Some new aspects of the follow-up investigations colorectal cancer. Clin Chem Lab Med 50(8):e A4,2012
4. OLÁH E, PAPP J, VASZKÓ T, BOZSIK A, SZABÓ É, OTTÓ ,**OROSZ E**, TÓTH L, ANTONIOU A: Genetikailag meghatározott daganatok molekuláris (genetikai és genomikai) elemzése. Magyar Oncol 55 (1. Suppl.): 55-56,2011
5. PAPP J, **OROSZ E**, OTTÓ SZ, MÁTRAI Z, OLÁH E: Családi halmozódású kolorektális polipózis szindrómák genetikai háttere Magyarországon. Magyar Onkol 55:58, 2011
6. OTTÓ SZ, **OROSZ E**: A hazai daganatszűrés főbb problémái nemzetközi keretben. Magyar Epidemiol 10: S 32.2013.
7. NAGY AP, **OROSZ E**: Colorectalis tumorral operált betegek utánkövetésének tapasztalatai. Magyar Seb 67: 190-191,2014

EGYÉB TÉMÁJÚ IDÉZHETŐ KONGRESSSZUSI ÖSSZEFOGLALÓK

1) BEZZEG A., SCHUMANN B.,**BECZÁSSY E*.,** OTTÓ SZ., ÖHRVIK A., BRUNDELL J., HIRSCHBERG L.,: Két cytokeratin immunoassay összehasonlítása jó és rosszindulatú tüdőbetegek, valamint véradók savói segítségével. Klin Kísérleti Lab Med 24: 117,1997

2) SZÁMEL I ,**BECZÁSSY E***, BUDAI B ,SULYOK Z, BAK M, OTTÓ SZ, REED MJ: Tumor markers in human breast cyst fluid (BCF). J Endocrinol 159 (Suppl.) P4:1998

3) **BECZÁSSY E***, SZÁMEL I, BUDAI B, SULYOK Z, OTTÓ SZ : A nagycisztás mastopathia és az emlőrák kockázata. Klin Kísérleti lab Med 25:141, 1998

4) SZÁMEL I, **BECZÁSSY E*,** SULYOK Z, BAK M, OTTÓ SZ: Hormonal markers in human breast cyst fluid (BCF). Tumor Marker Oncol 14:64,1999

5) **BECZÁSSY E***, SZÁMEL I, SULYOK Z, BAK M, OTTÓ SZ: Tumor markers in human breast cyst fluid (BCF). Tumor Marker Oncol 14:64-65,1999

6) SZÉKELY G, REMENÁR É, **BECZÁSSY E*,** GUNDI S: A HSU-féle Bleomycin-teszt a rákhajlam becslésére. Magyar Onkol 43:279,1999

7) SZÁMEL I, TÓFALVI M, **BECZÁSSY E***, SULYOK Z, PÉLAY G, NÉMET M, OTTÓ SZ, NAGY K,GHILCHIK M W, REED MJ, PARICH D : Presence of Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α) in human breast cyst fluid (BCF). J Endocrinol 163, P35,1999.

8) **BECZÁSSY E*,**SZÁMEL I, SULYOK Z, OTTÓ SZ: Emlőciszta-folyadék markereinek vizsgálata nagycisztás masthopathiában. Magyar Onkol. 43:224,1999

9) SZÁMEL I,BUDAI B, TÓFALVI M, **BECZÁSSY E*,** SULYOK Z, BAK M, NÉMETH M, OTTÓ SZ : Összefüggés az emlőciszta folyadék (BCF)

prognosztikai típusa és a betegek endokrin anamnézise között. Magyar Onkol 43:237,1999

10) TÓFALVI M, SZÁMEL I, **BECZÁSSY E*,** SULYOK Z, BAK M, NÉMETH M, OTTÓ SZ, NAGY K, REED MJ, PARISH D : Tumor nekrózis faktor-alpha (TNF-alpha) jelenléte humán emlőciszta folyadékban (BCF). Magyar Onkol 43:238,1999

*névváltozás miatt: Orosz E

14. RÖVIDÍTÉSEK

BTA: hólyag tumorhoz társult antigén

CRC: Colorectal cancer

FDP: fibrin degradációs protein

FISC: fluorescens in situ hybridizáció

IHC: immunkémiai

NMP22: nukleális matrix protein 22

FDA : Food and Drug Administration

TRC-módszert : Transcription - ReverseTranscription Concerted

CRA: Colorectal adenoma

NRR: Nemzeti Rákregiszter

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetet mondok témavezetőimnek, néhai prof. Dr. Ember Istvánnak és prof. Dr. Kiss István intézeti igazgatónak a szakmai irányításért, valamint munkatársainak dr. Gombos Katalinnak, dr. Gyöngyi Zoltánnak és dr. Varjas Tímeának a munkám szervezésében és tervezésében nyújtott segítségért.

Továbbá köszönet illeti prof. dr. Kásler Miklós főigazgató főorvost az Országos Onkológiai Intézet korábbi és prof. dr. Polgár Csaba az intézmény jelenlegi főigazgatóját, valamint prof. dr. Ottó Szabolcsot az intézeti témavezetőmet.

A kézirat szerkesztését és gépelését pedig köszönöm Balázs Ibolya szakasszisztensnek, az adatbázis szolgáltatást pedig dr. Nagy Andrásnak az ILCO Szövetség elnökének és titkárának Dittrich Katalinak.