

# Mesopharynx és hypopharynx tumorok HPV és miRNS- analízise

Doktori (PhD) értekezés

**Dr. Orosz Éva**

Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos

Doktori program vezetője: Prof. Dr. Miseta Attila

Témavezető: Dr. habil. Szanyi István

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Általános Orvostudományi kar

Klinikai Központ, Fül-, Orr-, Gégészeti és Fej-, Nyaksebészeti Klinika

Pécs

2021

**BEVEZETÉS**

A meso- és hypopharynx lokalizációban előforduló malignus daganatok túlnyomó többsége laphám karcinóma. Az ezen lokalizációban előforduló daganatok, különösen a hypopharynx tumor, prognózisa napjainkban is igen kedvezőtlen, kezelésük igen gyakran kihívást jelent. A daganat lokalizációja, kiterjedése és a tumoros folyamat stádiuma a meghatározó a terápia szempontjából. Meso- és hypopharynx tumorok kezelésében két lokális modalitás van, a sebészi és a radioterápia, míg a szisztémás terápia része a kemoterápia és a biológiai terápia. A korai stádiumú daganat esetén bármelyik modalitás választható, túlélés tekintetében nincs különbség az onkológiai illetve a műtéti modalitás között, törekedni kell azonban a funkciómegőrzésre, továbbá arra, hogy az adott választott modalitás teljes mértékben kuratív legyen. Míg lokoregionálisan előrehaladott daganat esetében leggyakrabban a kombinált terápia a célravezető, ebben az esetben a funkcionalitás kevésbé őrizhető meg műtéti terápiával, ám lebe nyplasztikai megoldások nagyon sokat javíthatnak a funkción, így a beteg általános életminőségén.

### **A humán papilloma vírus szerepe a mesopharynx daganatokban**

A HPV indukált daganat elsősorban a tonsilláris régiókat érinti, egyéb fej-nyaki régiókban a HPV jelenléte 20% alatti. Az oropharynx daganatainak HPV-pozitivitása világviszonylatban 30-40%, viszont az USA-ban és a skandináv országokban eléri a 80%-ot. A HPV benignus és malignus elváltozásokért egyaránt felelőssé tehető. Ezt a genomba való beépülése határozza meg: ha a vírus csak epizomálisan van jelen, jóindulatú, míg, ha integrálódik a genomba, rosszindulatú elváltozást okozhat.

A HPV pozitív oropharyngeális daganatokra vonatkozó klinikai megfigyelések azt mutatják, hogy viselkedésük jelentősen különbözik a HPV negatív oropharyngeális tumoroktól, miszerint kevésbé agresszívak, fiatalabb életkorban jelennek meg, jellemző a nagy nyirokcsomó áttét egy viszonylagos kis kiterjedésű tumor jelenléte mellett, továbbá jobban reagálnak az onkológiai kezelésre.

### **A mikro-RNS**

A mi-RNS-ek kis, 19-25 bázispár hosszúságú RNS-ek. Eddig 38.589 miRNS-t azonosítottak. Fontos szerepet játszanak a sejtek posztranszkripció szabályozásában. Valószínűsítik, hogy a genom 50-60%-át szabályozzák a miRNS-ek. Egy mRNS-t több miRNS szabályozhat, és egy miRNS több mRNS translációját befolyásolhatja. Aszerint, hogy mely gén funkcióját gátolják, a miRNS-ek viselkedhetnek onkogénként (onkomir) illetve tumorszupresszor géneként.

Mutathatnak csökkent vagy fokozott expressziót. Mivel a miRNS-ek kifejeződése sejt és szövet specifikus, a különböző szervek daganatai más miRNS kifejeződést eredményeznek.

### **Cancer-field (tissue organization field theory, TOFT)**

A field-cancerization lényege, hogy a malignus lézió mikroszkopikus kialakulása előtt a normál sejtvonal pro-tumorogén epigenetikai változásokat szenved, és ezek a változások pozitívan szelektálódnak az egyébként egészséges szerv, szövet mikro környezetében. A teória értelmében a karcinogenezis elsősorban a szöveti szerveződés problémája. A környezeti karcinogének elpusztítják a normál szöveti architektúrát, ezáltal megzavarják a sejtek közti jelátvitelt és veszélyeztetik a genom integritását. Ennélfogva a TOFT-ban a DNS-mutációk a szöveti események következményei és nem okai.

## **A VIZSGÁLAT ELSŐ SZAKASZA**

### **Anyag és módszerek**

Vizsgálatunk első fázisában szövettanilag igazolt meso- és hypopharynx laphámkarcinómákat vizsgáltunk. Mintáink a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Fül-, Orr-, Gégészeti és Fej-, Nyaksebészeti Klinika betegeitől származnak, a mintavételek 2014 szeptember – 2015 április között történtek. Mintáinkat egységes eljárás szerint, intraoperatívan a tumor széléből (0), a daganattól 1 cm-re (1), a daganattól 2 cm-re (2), illetve a tumortól legalább 3 cm-re (3) fekvő ép nyálkahartyszövetből vettük. A miRNS-expressziós analízis során összesen 52 szövetmintát vizsgáltunk 13 betegtől, amelyből 5 hypopharynx-, 8 mesopharynx daganatból származott. A tumoros szövetminták klinikopatológiailag II-es, III-as és IV-es stadiumú laphámsejtes karcinómának feleltek meg.

### **A vizsgált miRNS-ek**

A *miR-21* erős onkogén tulajdonságú miRNS. A *miR-34a* és *miR-143* tumorszuppresszor tulajdonságú miRNS-ek. A *miR-146a* és *miR-148a* szerepe a gyulladási folyamatok és a karcinogenezis kapcsolódási pontjaiban jelentős. A *miR-155* daganatinvázíót elősegítő miRNS. A *miR-221* a daganatok rossz prognózisával és a tumorinvázíó mértékével mutat összefüggéseket. A *miR-27a* a vizsgálatunk során mesopharynx és hypopharynx daganatokban egyaránt nagyon hasonló viselkedést mutatott, mint a *miR-21*.

## **RNS izolálás és reverz transzkripció**

A teljes nukleinsav-izolálás menetét a szövetszövetminták izolált homogenizálásával kezdtük, 60 µg kiindulási szövetből, amelyhez 150 µl lízispuffert adtunk (High Pure miRNA Isolation Kit, katalógusszám: 05080576001, Roche, Mannheim, Németország). Mintáinkat MagNA Pure Green Beads (Roche) kerámiagyöngyös homogenizálócsövekbe mértük, és MagNA Lyzer (Roche) rázóhomogenizátor segítségével homogenizáltuk. Ezt követően a nukleinsav-izolálást a Roche High Pure miRNA izolációs kit vegyszereinek felhasználásával végeztük. A miRNS-frakciókat reverz transzkripció során írtuk át cDNS-re.

## **PCR analízis**

A teljes szövetszöveti RNS-ről átírt cDNS-mintákat kvantitatív PCR-rendszerben (Roche LC480 rendszer és LightCycler 480 SYBR Green I Master Kit, Roche) amplifikáltuk. Az általunk vizsgált miRNS-eknek megfelelően specifikus primereket használtunk. A real time PCR során kapott expressziós értékeket az LC480-as PCR-gépen a Light Cycler Exor 4.0 szoftver segítségével a belső kontrollhoz viszonyítva relatív kvantifikációs analízissel számoltuk ki ( $\Delta\Delta C_p$  módszerrel).

## **Statisztikai analízis**

A kapott relatív kvantifikációs arányszámokat – a tumorszélei mintákban, a tőle 1 cm-re, 2 cm-re, illetve 3 cm-re lévő ép szövetekben kétszélű kétmintás t-próbával, valamint bináris logisztikus regresszió alkalmazásával – elemeztük SPSS 21.0 szoftver segítségével.

## **Eredmények I.**

A mesopharynx- és hypopharynx minták miRNS-expressziós adatait összehasonlítva a két lokalizáció között szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk. Statisztikailag szignifikánsnak bizonyult a miR-21, miR-143, miR-155 és miR-221 tekintetében.

A miR-21, -143, -155 a hypopharynxból származó mintákban szignifikánsan magasabb expressziós értékeket mutatott, míg a miR-221 kifejeződése kizárólag a mesopharynxból vett szövetekben volt kimutatható ( $p < 0,05$ ).

A daganatos és a peritumorális szöveteket vizsgálva mind hypo-, mind mesopharynx tekintetében a tumoros és a tumortól 1 cm-re lévő mikroszkóposan ép szövet epigenetikailag nagyon hasonló.

Tekintettel ezen miRNS expressziós eredményekre, a kutatásunk második szakaszában a ledominánsabb expressziós különbségeket mutató miR-21-et, miR-143-at, miR-155-öt és

miR-221-et alkalmaztuk a további vizsgálatainkban.

## **A VIZSGÁLAT MÁSODIK SZAKASZA**

### **Anyag és módszerek II.**

#### **Mintagyűjtés**

A szövetmintákat (10-60 mg) szövettanilag igazolt mesopharynx tumoros betegektől vettük, akik a PTE KK, Fül-, Orr-, Gégészeti-, és Fej-, Nyaksebészeti Klinikán 2017 november - 2018 április között műtéti kezelésben részesültek. Végül 25, T2-3 stádiumú mesopharynx daganatos beteget választottunk be a vizsgálatba. Az első mintát a tumorszövetből vettük, ezt követően pedig a tumor szélétől 1 cm-es, 2 cm-es és 3 cm-es távolságból.

#### **RNS izolálás és reverz transzkripció**

A 60 ug friss fagyasztott szövetmintából teljes szöveti RNS-t izoláltunk Aurum Total RNA mini kit (kat. Szám.: 7326820; Bio-Rad, Madison, USA) felhasználásával. Az egyes mintákból 5 ng teljes szöveti RNS-t írtunk át cDNS-re miRCURY LNA Universal RT microRNA PCR Kit (kat. Szám.: 339340, Qiagen) segítségével.

#### **Droplet digital PCR analízis**

A kvantitatív PCR-analízis során Qiagen miRCury LNA miRNA PCR-vizsgálatokat (Qiagen, Hilden, Dánia) a következő miRNS-célpontok szerint választottuk: hsa-miR-21-5p, hsa-miR-143, hsa-miR-155, hsa -miR-221-5p. A PCR amplifikáció a QX200 Thermo cyclerben történt. A QX200 csepp-leolvasó PCR-reakciója után a cseppeket azonnal elemeztük. A fluoreszcencia adatokat a QuantaSoft® analízis Pro szoftver verzió 1.0.596 (Bio-Rad, CA, USA) által használt Poisson disztribúciós statisztikai analízis szerint koncentrációkra alakítottuk át.

#### **HPV P16 immunhisztokémiai festés**

Összesen 25 esetet értékeltünk ki standard H&E festéssel és p16 immunhisztokémiával. Ezt követően egy CINtec p16INK4a detektáló rendszert használtunk (Ref.: 9511, Roche mtm labor. AG, Sandhofer Strasse, Mannheim, Németország). Az immunjelzést a gyártó protokollja alapján végeztük.

## **DNS-extrakció és HPV-genotipizálás**

A teljes DNS-extrakcióhoz 60 µg frissen fagyasztott szövetmintát használtunk HighPure templát előkészítő készlet alkalmazásával (kat. Szám.: 11796828001, Roche, Molecular Diagnostics, Mannheim, Németország).

Lineáris array HPV-genotípus-tesztet (kat. Szám.: 04391853 190; Roche Molecular Diagnostics) alkalmaztunk annak meghatározására, hogy mely HPV-genotípusok vannak jelen a szövetmintákban.

## **Statisztikai analízis**

A QuantaSoft szoftverből származó koncentrációs adatokat exportáltuk és elemeztük. A szövetminták kórszöveti, kvantitatív különbségeit, a tumoroktól való távolságot, a lokalizációt és a HPV-státusz elemzését az IBM SPSS Statistics 21.0 ANOVA analízissel ( $p \leq 0,05$ ) és Pearson-analízissel végeztük ( $0,887 p \leq 0,19$ ).

## **A cancer-field ábrázolására kidolgozott kombinált molekuláris-radiológiai alapú 3 dimenziós modell létrehozása**

A 3D modellező mérnökök artériás és vénás fázisú, kontraszterősített, nagyfelbontású sorozatokat (szeletvastagság = 0,75 mm, mátrix = 512 x 512, pixelméret = 0,445 mm) tartalmazó CT DICOM-adatokat nifti formátumba MRIConvert 2.1.0 segítségével (Lewis Center, Neuroimaging számára, Oregon Egyetem, USA) konvertálták át és 3D Slicer 4.1. programba töltötték fel. A daganat 3D modelljére alkalmazott *offset* paranccsal felvették a 10, 20 és 30 mm-es régiókat, majd a *boolean* paranccsal kivonták a 30 mm-es régióból a 20 mm-es, a 20 mm-es régióból a 10 mm-es térfogatot, végül a 10 mm-es régióból magát a tumort. A logikai operátor eszközzel metszeteket hoztak létre a nyálkahártya szegmentációja és a daganatra alkalmazott eltolási térfogatok, valamint a tumor felhasználásával, hogy megkapják a tumor 10, 20 és 30 mm-es környezetének a nyálkahártyára eső felületének modelljét.

## **Eredmények II.**

### **A HPV pozitivitással kapcsolatos miRNS profil elemzése**

A 25 mesopharynx tumorból nyolc eset bizonyult HPV pozitívnak (28%) p16 immunhisztokémiai festéssel. A genotípus meghatározás során hét esetben találtunk HPV 16 pozitívítást, egy esetben pedig HPV 16 és 52 genotípus kombinált pozitívítást mutattuk ki.

A HPV negatív tumormintákat alacsonyabb miRNS kifejeződés jellemzi mind a 4 vizsgált miRNS tekintetében, legmagasabb a miR-221 expressziója, a további 3 miRNS kifejeződésének mértéke közel hasonló.

A HPV pozitív daganatmintákban a miR-221 expressziója duplája a többi értéknek, ezt követi a szintén kiemelkedő miR-143 expresszió, ez tehát a két domináló miRNS és értékük többszöröse a HPV negatív tumormintákban mértéknek. A miR-21 és miR-155 értéke csak enyhén magasabb a HPV pozitív mintákban. Továbbá megfigyelhető, hogy a miRNS expresszió csökkenése nem grádiensszerű a HPV pozitív minták esetében.

### **A cancer fielddel korreláló miRNS profil analízise**

A daganatokban és a szomszédos ép peritumorális szövetekben a miR-21 fokozatosan csökkenő értéket mutatott, csökkenése összhangban volt a tumortól való távolsággal, ám az 1 cm-es peritumorális nyálkahártyában az expressziós értékek nem különböztek szignifikánsan. Viszont egyértelmű szignifikáns csökkenést találtunk a daganattól távolabb, 2 és 3 cm-re.

A miR-221 koncentrációja a tumorban igen magas volt, míg a tumortól távolodva az expressziója szintén fokozatosan csökkent. a daganattól távolabb, attól 2 és 3 cm-re szignifikánsan kisebb expressziót mértünk.

A miR-143 expresszió esetében is a tumortól távolodva fokozatosan csökkenő kifejeződést figyeltünk meg, viszont ezek a változások statisztikailag nem bizonyultak szignifikánsnak.

A miR-155 esetében nem mutattunk ki összefüggést az expressziós értékek és a tumortól való távolság tekintetében.

### **A molekuláris-radiológiai alapú 3 dimenziós modell megjelenítése**

A 3D-s modell egy jobb oldali, HPV negatív, kifehélyződő, T3-as kiterjedésű tonsillából kiinduló tumoros beteg anyaga alapján készült. A 3D Slicer programban a daganatot piros színnel jelenítettük meg. A tumor szélétől 1 cm-es távolságban lévő nyálkahártyát a tumorhoz hasonló pirosas árnyalattal jelöltük, figyelembe véve, hogy ezen terület miRNS kifejeződésének mértéke hasonló a tumoréhoz. A feltételezett cancer fieldet jelöli. A tumortól távolabbi ép szöveteket zölddel, valamint sárgával jelöltük, ezzel a színváltozással is jelezve, hogy itt az általunk vizsgált miRNS-ek expressziójának mértéke szignifikánsan eltér a tumortól.

## **MEGBESZÉLÉS**

Statisztikai elemzésünkben az összes oropharynx tumor 32%-a volt HPV pozitív szemben a 68%-os HPV negativitással, korlátozza az eredményeink széleskörű interpretációját az alacsony esetszám. A miRNS expressziós különbségeket a HPV pozitív és negatív daganatokban és azoktól távolodva is össze tudtuk hasonlítani. Vizsgálatainkban különbséget találtunk a HPV negatív és pozitív tumorszövetek, valamint a tumort körülvevő ép nyálkahártyaszövetek miRNS expresszió mintázatában.

### **miR-21**

Vizsgálatunkban a miR-21 expresszió magasabb szintet ért el a HPV pozitív daganatokban, ám a tumortól távolabb (2, 3 cm-re) a miR-21 expresszió meredeken esett. Míg a HPV negatív tumoroktól távolodva (2 cm-re) nem csökkent olyan alacsony szintre az expressziója. Mindezeket az eredményeket figyelembe véve magyarázatot kaphatunk a HPV negatív és pozitív tumorok közti eltérő genetikai háttérre és eltérő prognózisra. Az eddig közzétett vizsgálatok szerint a miR-21 szignifikánsan alacsonyabb expressziót mutatott a HPV pozitív fej-nyaki daganatokban.

### **miR-143**

A lokalizációk összehasonlításakor hypopharynx tumorok esetében magasabb expressziós értékeket kaptunk. Kizárólag hypopharynx lokalizációjú tumor miR-143 expressziójára jelenleg nincs a nemzetközi irodalomban adat.

A HPV pozitív daganatokban magasabb miR-143 expressziót találtunk, mint a HPV negatív mintákban, ám a különbség inkább a peritumorális, tumormentes nyálkahártyán volt szembetűnő, amely szignifikánsabb magasabb miR-143 expressziót mutatott. Ez szintén bizonyíthatja a HPV pozitív daganat jobb prognózisát. Nemzetközi tanulmányok HPV pozitív fej-nyak tumoros mintákban csökkent expresszióját írták le. Ismert, hogy a HPV fertőzés megváltoztatja a miRNS profilokat fej-nyaki laphámkarzinómában és a miR-143 a HPV egyik célpontja lehet.

### **miR-221**

Megállapításaink megerősítik, hogy a miR-221 részt vesz a tumor növekedésében és a tumor körüli 1 cm-es területen mért magasabb expresszió feltételezi a cancer-field meglétét a HPV negatív daganat esetében. Továbbá a HPV negatív mintákban a tumort körülvevő ép szövetben



a miR-221 csökkenése nem olyan nagymértékű, mint a HPV pozitív mintákban, ez a különbség magyarázhatja a tumorgenezisbeli és prognosztiai különbségeket a két tumortípus között.

### **miR-155**

Vizsgálatunk során miR-155 biomarker értékei a tumormintákban voltak a legmagasabbak, míg a tumortól távolodva egyre csökkentek, ám a szingifikáns értéket nem érték el. Laryngealis laphámkarzinómák vizsgálata során leírták a szérumban és a tumoros szövetben emelkedett miR-155 expresszióját, és azt találták, hogy a tumor eltávolítását követően a szérumban miR-155 szintje szignifikánsan csökkent. Továbbá a miR-155 lehet az egyik korreláció a krónikus gyulladás és a rosszindulatú daganat kialakulása között.

### **A molekuláris-radiológiai alapú 3 dimenziós modell jelentősége**

A cancer-field molekuláris alapú bizonyítását követően célunk volt ennek klinikai szemmel is érthető prezentálása. E célból létrehoztunk egy molekuláris radiológiai alapú 3D modellt, mellyel szemléltetni tudjuk a daganat és a daganat körüli megváltozott szöveti szerződési területet, azaz cancer-fieldet. A modell felhasználható a műtéti tervezésben az optimális és pontosabb tumorrezekciós vonal meghatározására azáltal, hogy a molekuláris-onkológiai adatokat és a CT-képeket együtt ábrázolva a 3 dimenzióban egy olyan pontosságú képet kapunk a daganat valódi, vagyis a tényleges molekuláris-onkológiai kiterjedéséről, melyre korábban nem volt lehetőség.

### **Összegzés, tézisek, új klinikai megállapítások**

- I. A cancer field vagy szöveti organizációs terület (tissue organization field) molekuláris jellemzése céljából elsőként hoztunk létre egy térképbiopsziás modellt, mely a későbbiekben alkalmassá vált ezen epigenetikailag megváltozott terület vizsgálatára.
- II. Először vizsgáltuk és alkalmaztunk mikroRNS expressziós mintázatot a meso- és hypopharynx laphámrákok elkülönítésében és az őket körülvevő megváltozott szöveti organizációs terület kimutatásában. A miR-21, -143 és -155 marker magasabb kifejeződést mutatott a hypopharynx laphámdaganatokban, míg a miR-221 mesopharynx tumorokban volt szignifikánsan magasabb. Az onkomirek (miR-

21, miR-221) leginkább a tumoros és a közvetlen peritumoralis (tumortól 1 cm-re) szövetekben expresszálódtak, míg a tumor szupresszor jellegű miRNS-ek (miR-34a, miR-143) a tumortól távolabb jelentek meg.

- III. Eltérő mikroRNS mintázatot találtunk a HPV pozitív és negatív oropharynx laphámrákokban. A HPV pozitív tumoros szövetek minden vizsgált miRNS tekintetében magasabb expressziót mutattak a HPV negatívokkal összevetve. Szignifikáns overexpresszió volt kimutatható a miR-21-5p, miR-143 és a miR-221-5p esetében HPV pozitív tumorszövetekben.
- IV. Az oropharynx tumor körüli nyálkahártyán, a miR-21 és a miR-155 elszórt mintázatot mutatott a HPV pozitív esetekben, míg graduális csökkenést lehetett látni minden vizsgált miRNS expresszióban a HPV negatív tumoroknál, miR-21 és miR-221 esetén a változás szignifikáns volt. A fentiek igazolhatják a HPV pozitív és negatív daganatok eltérő tumorfejlődési modelljét.
- V. Molekuláris és radiológiai alapú 3D modellünkben elsőként sikerült vizualizálni a tumoros propagációt és a tumor körüli megváltozott szöveti szerveződésű területet, figyelembe véve térképbiopsziás stratégiánkat és a szöveti miRNS expressziós eredményeinket. A modell hasznos lehet a preoperatív sebészi tervezésnél.

#### **A dolgozat alapjául szolgáló közlemények**

**Éva Orosz**, Katalin Gombos, Nerina Petrevszky, David Csonka, Istvan Haber, Balint Kaszas, Arnold Toth, Krisztian Molnar, Krisztina Kalacs, Zalan Piski, Imre Gerlinger, Andras Burian, Szabolcs Bellyei, István Szanyi, Visualization of mucosal field in HPV positive and negative oropharyngeal squamous cell carcinomas: combined genomic and radiology based 3D model. Scientific Reports, Sci Rep., 2020, Jan 8;10 (1) doi: 10.1038/s41598-019-56429-4. (IF 4,4)

**Éva Orosz**, Katalin Gombos, Nerina Petrevszky, Bálint Kaszás, Krisztina Kalács, Gréta Bodzai, Imre Gerlinger, István Szanyi, miRNA expression pattern differences of HPV negative and HPV positive advanced stage mesopharynx cancers. Fül-Orr-Gégegyógyászat, 2019, 65 (2): 63-68.

**Orosz Éva**, Gombos Katalin, Tamás Riedling, Priscilla Afiakurue, Kiss István, Pytel József, Gerlinger Imre, Szanyi István, Comparative miRNA expression profile analysis of squamous cell carcinoma and peritumoral mucosa from the meso- and hypopharynx. *Cancer Genomics and Proteomics*. 2017 JulAug;14 (4): 285-292. (IF 2,5)

**Orosz Éva dr.**, Gombos Katalin dr., Révész Péter dr., Kiss István dr., Pytel József dr., Gerlinger Imre dr., Szanyi István dr., MicroRNA expression profiles in squamous cell carcinomas of the meso- and hypopharynx. *Orvosi Hetilap*, 2014, 155, 27: 1063–1070. (IF 0,3)

### **A témában tartott előadások**

Orosz Éva, Kiss István, Pytel József, Gerlinger Imre, Szanyi István, Gombos Katalin, Mesopharynx, hypopharynx daganatok vizsgálata mikro-RNS markerek segítségével. *Fiatal Onkológusok III. Konferenciája*, Budapest, 2014. szeptember 12.

Orosz Éva, Szanyi István, Révész Péter, Gombos Katalin, Meso- és hypopharynx lokalizációjú fej-nyaki laphám karcinómák együttes miRNS-mRNS expressziós mintázatainak értékelése. *Magyar Onkológusok Társaságának XXX. Kongresszusa*, Pécs, 2013. november 14-16.

Orosz Éva, Gombos Katalin, Kiss István, Gerlinger Imre, Szanyi István, Mesopharynx, hypopharynx daganatok és a peritumorális ép szövetek mikro-RNS expressziós mintázatának analízise.

*A Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesületének 43. Kongresszusa*, Tapolca, 2014. október 15-18.

Orosz Éva, Gombos Katalin, Szanyi István, Molekuláris epidemiológiai biomarkerek jelentősége, lehetőségei a fej-nyaki daganatokban. *MFOE Tudományos Ülés*, Budapest, 2015. április

Orosz Éva, Afiakurue Priscilla, Gerlinger Imre, Gombos Katalin, Szanyi István, Magas kockázatú HPV összefüggései meso-, hypopharynx és szájüregi daganatok megjelenésével és micro-RNS mintázatával.

*Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 44. Kongresszusa és az MFOE Audiológiai Szekciójának 53. Vándorgyűlése*, 2016. október 6-9.

Orosz Éva, Nerina Petrevszky, Gombos Katalin, Szanyi István: MicroRNA expression profiles in squamous cell carcinomas of the meso- and hypopharynx.

4th Congress of European ORL-HNS, Barcelona, 2017. október 7-11.

Orosz Éva, Gombos Katalin, Petrevszky Nerina, Kaszás Bálint, Háber István, Csonka Dávid, Szanyi István: Szöveti miR-21, miR-143, miR-155 és miR-221 expresszió, mint a tumor lokalizáció és HPV pozitivitást jelző biomarkerek laphámsejtes fej-nyak karcinómákban.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 45. Kongresszusa és az MFOE Audiológiai Szekciójának 55. Vándorgyűlése, Szeged, 2018. szeptember 13-16.