

**TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 ÉS
VANILLOID 1 IONCSATORNÁK EXPRESSZIÓJÁNAK
ÉS EXPRESSZIÓ VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA
SZÁJJÜREGI LOKALIZÁCIÓJÚ LAPHÁMSEJTES
KARCINÓMÁBAN**

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI



Dr. Kiss Fruzsina

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Neuro-immun interakciók szerepe fájdalomban és gyulladásban program
Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Pintér Erika
Programvezető: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna

Témavezetők: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna, Dr. Pohóczky Krisztina

Pécs, 2022

BEVEZETÉS

1. A szájüregi lokalizációjú laphámsejtes karcinóma és kezelése

Magyarország, a szájüregi daganatok miatti, 100.000 lakosra kivetített mortalitás tekintetében Európában az első, világviszonylatban a hatodik helyen áll [1, 2]. A szájüregi és fej-nyak lokalizációban, a rosszindulatú daganatok leggyakoribb szövettani típusa, az esetek 90%-ában laphámsejtes karcinóma (*squamous cell carcinoma*, SCC) [3]. A szájnyálkahártya számtalan közvetlen ingernek van kitéve, beleértve a meleg, hideg és fűszeres ételeket, italokat, a cigarettázást és az alkoholt [4, 5], valamint a fej-nyak laphámsejtes karcinóma (*head and neck squamous cell carcinoma*, HNSCC) etiológiai tényezői közé tartoznak a vírusfertőzések, például a humán papilloma vírus [6, 7]. HNSCC esetén, a betegség kiújulása 70%-os a jelenleg elérhető multimodális kezelés ellenére is. A betegség magas mortalitása miatt, különösen fontos az új célzott terápiák bevezetése a standard citosztatikus kezelés mellé [8]. A lokális vagy lokoregionálisan korlátozott HNSCC kuratív terápiájának három fő módja a sebészi eltávolítás, a sugárkezelés és szisztémás kemoterápia. Extranodalis kiterjedés, közeli vagy érintett műtéti szélek vagy perineurális invázió jelenléte esetén nagy dózisú ciszplatin kemoterápia és sugárkezelés egyidejű alkalmazása javítja a betegségmentes túlélést (*disease free survival*, DFS) a legmagasabb kockázatú csoportokban [9]. A ciszplatin, az anti-epidermális növekedési faktor receptor (*anti-epidermal growth factor receptor*, anti-EGFR) monoklonális antitest, cetuximabbal kombinálva növeli a progresszió mentes túlélést (*progression free survival*, PFS) és teljes túlélést (*overall survival*, OS) előrehaladott HNSCC betegek esetében [10]. Az EGFR, egy transzmembrán receptor tirozin kináz, az erythroblastosis onkogén B (ErbB) család tagja. Az EGFR mutációja és túlzott expressziója egyaránt elősegítik a daganatképződést: HNSCC-ben az esetek 80–100%-ában figyelhető meg az EGFR fehérje túlzott expressziója [11]. Az EGFR-ellenes szerek gátolják a receptor aktivációt, annak jelátviteli folyamatát és az ebből következő sejtproliferációt, amely végső soron a betegség jobb prognózisához vezet [12]. Bár számos EGFR-inhibitorról kimutatták, hogy meghosszabbítják a PFS-t, gyakran megfigyelhetőek súlyos mellékhatásaik, például bőrkiütések, fáradtság és nyálkahártyagyulladás, amelyek ronthatják a betegek életminőségét és a compliance-t [13]. Kedvezőtlen mellékhatásaik mellett, az is bizonyított tény, hogy az anti-EGFR terápiának nincs klinikai előnye az immunterápiákkal szemben, de a jelenleg jóváhagyott immunterápia és a cetuximab kombinációja esetleg ígéretes kombinációs kezelési stratégia lehet a jövőben. A HNSCC-ben szenvedő betegekben számos különböző génmutáció, például a p53 segíti a tumorsejtek túlélését, invazivitását és a terápiás rezisztencia kialakulását [14, 15]. A gendicine, az első

HNSCC-re jóváhagyott génterápia, melynek tumorelles hatása a p53 funkciójának, adenovirális vektor segítségével történő helyreállításán alapszik [15]. HNSCC esetén a PD1 (*programmed cell death protein 1*, programozott sejthalál fehérje 1) ellenes antitestek, a pembrolizumab és a nivolumab a két engedélyezett gyógyszer, melyet az EGFR-hez hasonlóan visszatérő vagy metasztatikus HNSCC esetén alkalmaznak [16].

2. Tranziens Receptor Potenciál ionsatornák

A TRP ionsatorna család tagjai nem-szelektív, Ca^{2+} és Na^+ áteresztő, polimodális csatornák [17], melyeket közvetlenül ligand kötéssel vagy közvetve más receptorokon keresztül, intracelluláris jelátviteli útvonalak révén lehet aktiválni vagy szenzibilizálni [18, 19]. A TRPA1-et hideg és mechanikai ingerek, elektrofil vegyületek, hipertóniás oldatok és farmakológiai szerek is aktiválják [20, 21]. Kovalensen módosítják és aktiválják, többek között az allil-izotiocianát (AITC), a tioszulfínát-vegyületek, amelyek a mustárolaj és a fokhagyma csípős alkotórészei, a fokhagymában lévő allicin, a fahéjaldehid, a borsban lévő poligodial, a környezeti irritáló anyagok, például az akrolein, a könnygázok és a hipoklorit [22-26], valamint a dohányfüstben lévő acetaldehid [27] és krontonaldehid [28]. A C- típusú, polimodális nociceptorok jelentős mértékben érzékenyek a csípős paprikából izolálható alkaloida, a kapszaicin iránt. A kapszaicin a TRPV1-en hatva szelektíven aktiválja a fájdalomérző idegvégződés hőérzékeny csoportját [29, 30]. Az aktiváció során először fokozott érzékenység, hiperalgécia vagy allodínia lép fel, melyet a sejtbe történő Na^+ - és Ca^{2+} beáramlás, majd az ezt követő K^+ kiáramlás okoz. Kapszaicin nagy dózisú, tartós adása után az idegvégződés relatív működésképtelenné válik, melynek hátterében a sejtben felhalmozódó kationok magas koncentrációja miatti citoplazma és mitokondrium duzzadás áll. Ezt a mechanizmust nevezzük deszenzitizációnak [31, 32]. A TRPV1 csatornát a kapszaicinen és ultrapotens analógián a resiniferatoxinon (RTX) kívül aktiválhatja a gyömbérben lévő zingeron, a szegfűszegben lévő eugenol és a borsban található piperin [33]. Ezen túlmenően a 5.9 alatti pH és 43 fok feletti hőingerek is szenzitizálhatják [34]. A TRPA1 és TRPV1 elsősorban idegvégződéseken expresszálódik, gyakran együttesen, lévén, hogy a TRPV1-et expresszáló idegsejtek 30-50%-a tartalmaz TRPA1 receptort, míg a TRPA1 ritkán található meg TRPV1 nélküli idegsejtekben [25]. A TRPA1 fontos szerepet játszik a vaszkularizációban, mivel aktiválja a kis és közepes vezetőképességű Ca^{2+} -aktivált K^+ csatornákat, ami endotélium-függő simaizomsejt hiperpolarizációhoz és vazodilatációhoz vezet és különböző ingerek molekuláris integrátoraként működik az érzékelés, a fájdalom és a neurogén gyulladás közvetítésében [35]. A TRPA1 ezen túlmenően extraneuronálisan is expresszálódik, például humán légúti

hámsejtekben [36], simaizomsejtekben [35], fibroblaszt sejtekben [37], epidermális keratinocitákban [38], melanocitákban [39] és immunsejtekben [40].

A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződéseknél hármasszerepük van: afferens, valamint lokális- és szisztémás efferens funkciók [41]. A TRPV1 az emberi bőr, a légutak és a húgyhólyag nem neuronális sejtjeiben [42], hízósejtekben [43], dendritikus sejtjeiben, T-limfocitákban [44] vaszkuláris simaizom sejtjeiben [45] és keratinocitákban is expresszálódik, ez utóbbiakban részt vesznek olyan fontos funkciókban, mint a növekedés, a differenciálódás, a sejt túlélés és a gyulladás [33]. A kapszaicin orális hámsejtekben emeli az intracelluláris Ca^{2+} szintet, bizonyítva ezáltal a funkcionális TRPV1 expressziót [46].

Irodalmi adatok szerint a Ca^{2+} homeosztázisban résztvevő fehérjék egy része a kapcsolatba hozható egyes tumorok progressziójával. A Ca^{2+} , mint intracelluláris másodlagos jelátvivő, számos folyamatot szabályoz a daganatképződésben, például a sejtproliferációt és a sejt motilitását. Megváltozott ioncsatorna expresszió számos rosszindulatú tumoros betegségben mutatható ki [19], amely aktívan elősegíti a neoplasztikus transzformációt, a malignus lézió progresszióját, a tumor mikroköznyezetéhez történő alkalmazkodását, a metasztázis képzését és a tumorelles terápiaira való rezisztenciát. Az onkogénnel szemben, az ioncsatornák nem a neoplasztikus transzformáció elindításáért felelősek, hanem az onkogén folyamatok irányítói, például a Ca^{2+} szignalizáció és a membrán feszültség szabályozásán keresztül. A TRP csatornák növelhetik az intracelluláris Ca^{2+} koncentrációt [19], ezáltal megváltoztatva olyan gének transzkripcióját, melyek a sejtproliferációt, a differenciálódást, a migrációt, az inváziót, a motilitást és az apoptózist Ca^{2+} függő jelátviteli kaszkádok révén befolyásolják [47]. Az ultrapotens kapszaicin analóg, az RTX nem segítette elő a tumor képződését [48] és a TRPV1 antagonisták, az AMG-980 és az SB-705498 sem befolyásolták a bőr karcinogenezisét [49]. Ezzel szemben a TRPV1-csatorna feltételezett tumor szupresszor szerepét írták le melanómában [50] és vastagbélrákban [51]. Nem tumoros és nyelőcső-laphámsejtes karcinóma sejtjeiben egyaránt expresszálódott a TRPV1 fehérje- és mRNS-szinten egyaránt és a TRPV1-et nagyobb mértékben expresszálták a nyelőcső laphámsejtes karcinóma (*esophageal squamous cell carcinoma*, ESCC) sejtjei, mint a nyelőcső egészséges laphámsejtjei [52]. A TRPV1 mRNS expresszió fokozódását bizonyos típusú emlőrákokban is detektálták [53], humán emlő adenokarcinóma pleurális metasztázis eredetű MCF-7 sejtjei, a fokozott expresszió mellett érzékenyebbek voltak a kapszaicin által kiváltott sejthalálra [54]. A TRPV1 mRNS és fehérje szintje szignifikánsan csökkent humán primer gyomorrákos szövetekben a szomszédos, normál szövetekhez képest, és a csökkent szintek rossz prognózissal korrelálnak [55]. Vese- és

esetén a TRPV1 fokozottan fejeződik ki a normál vese tubulusokban, de expressziójuk jelentősen csökkent vagy hiányzik karcinóma esetén [56]. Egyes TRPA1- aktivátorok, például az AITC, elősegítik a sejtek túlélését és proliferációját kissejtes tüdőrákban [57]. Kimutatták azonban, hogy a TRPA1 csatornafüggő és független útvonalon egyaránt, gátolja a Panc-1 hasnyálmirigy duktális adenokarcinóma sejtvonal sejteinek migrációját [58]. OSCC patkánymodelljében a trigeminalis ganglionok idegsejtjeiben a TRPV1 expresszió fokozódik és a TRPV1 szabályozza a tumor által kiváltott termális hiperalgesia mértékét [59]. Fokozott TRPA1-specifikus immunpozitivitást írtak le humán nasopharyngealis karcinómás (nasopharyngeal carcinoma, NPC) mintákban és ez negatív prediktív tényezőt jelent a specifikus, távoli áttét és helyi kiújulásmentes túlélésben [60].

TRPV1-szerű immunpozitivitást észleltek humán nyelv HNSCC sejtvonalak, SCC4, C25 és HSC3 esetén. A *TRPV1* mRNS expressziója a HSC3 sejtekben viszonylag hasonlóak a normál keratinocitákéhoz, de SCC4 és SCC25 sejtekben, relatív expressziója lényegesen magasabb [61]. A TRPV1 expresszáldott a tenyésztett, emberi nyelv laphámsejtes karcinóma eredetű CAL27 sejteken is [62]. Humán HNSCC-ben, kvantitatív PCR-rel (*polymerase chain reaction*, polimeráz lánreakció) a *TRPV1-TRPV4* ioncsatornák fokozott mRNS expresszióját találták a szájüreg több területén. [63]. A *TRPV1* expressziójának mértéke szignifikánsan nagyobb a nyelv prekancerózus elváltozásában (leukoplakia) és laphám karcinóma esetén, azonban az expresszió szintje, a tumor malignitásának fokával nem korrelál [62].

CÉLKITŰZÉSEK

1. Számos eredmény érhető el az irodalomban a TRPV1 szájnyálkahártyában lévő expressziójáról normál és patológias körülmények között, a TRPA1 expressziójára azonban nem állnak rendelkezésre irodalmi adatok. A TRPA1 és TRPV1 esetében a meglévő, expresszióra vonatkozó adatok többsége immunhisztokémiai vizsgálatokon alapul, amelyeket –különösen a TRPA1 esetében– az antitestek specificitásának megkérdőjelezhetősége miatt, revideálni szükséges. Célunk volt ezért, hogy meghatározzuk a TRPA1 és TRPV1 receptorok expresszióját OSCC-ben, egészséges mintákkal összehasonlítva, feltérképezzük expressziójukat és megvizsgáljuk funkcionalitásukat humán OSCC sejtvonalban.
2. Ezen kívül célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, hogy előrehaladott állapotú HNSCC-s betegek esetében, a standard kemoterápiához adott anti-EGFR kezelés alkalmazása hogyan befolyásolja a páciensek teljes (*overall survival*, OS) és progresszió-mentes (*progression-free*, PFS) túlélését. Ezen túlmenően analizáltunk egyes mellékhatások, a

bőrkiütések, fáradtság, nyálkahártya-gyulladás előfordulásának gyakoriságát az anti-EGFR-el kezelt betegcsoportban, összehasonlítva azt a standard kemoterápiát kapó betegcsoporttal.

KÍSÉRLETI MODELLEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 ÉS VANILLOID 1 IONCSATORNÁK EXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA HUMÁN LAPHÁMSEJTÉS KARCINÓMA MINTÁKBAN ÉS HUMÁN OSCC SEJTVONALBAN

1. Humán műtéti minták gyűjtése és OSCC sejtvonal

Vizsgálataink során humán szövetmintát használtunk fel, melyeket a Somogy Megyei Kaposi Mór Oktatókórház Arc – Álcson- Szájsebészeti Osztályának beteg anyagából nyertük. Etikai engedély száma: 7250- PTE 2018. A szövetmintákat (n=15) altatásban, vagy ambulánsan, helyi érzéstelenítést követően, diagnosztikus vagy terápiás tumor excíziók során nyertük. Kontrollként (n=10) egészséges, korábbi anamnézisében szájüregi malignus léziótól mentes, önkéntesek nyálkahártya szövete került eltávolításra. Ezen túlmenően PE/CA-PJ41 (D2 klón) OSCC sejtvonalat is használtunk, mely egy 67 éves nőbeteg orális laphámjából származik (Merck KGaA, Darmstadt, Németország).

2. RNS *in situ* hibridizáció immunhisztokémiai jelöléssel kombinálva

A PBS-ben tárolt mintákat dehidráltuk és paraffinba ágyasztuk, majd vibratóm segítségével 5 µm metszeteket készítettünk belőlük. A PE/CA-PJ41 sejtvonalat 48 órás tenyésztést követően szubkonfluens fázisban gyűjtöttük össze 6 lyukú sejttenyésztő lemezeiről. A sejteket 5 percig 1%-os tripszin-EDTA oldattal kezeltük (Merck Kga. Németország), majd az enzimet 3 ml RPMI oldattal állítottuk le. Ezt követően a sejteket 15 ml-es centrifugacsőbe gyűjtöttük, majd Luna-II automata sejtszámlálóval kvantifikáltuk (Logos Biosystems, Dél- Korea). A sejteket 5.000.000/ml koncentrációra hígítottuk, majd Thermo Shandon Cytospin 3 Centrifuge (Marshall Scientific, USA) centrifuga és citospin rotor segítségével 5 percig 500 rpm-en centrifugáltuk, melynek során 500.000 sejtet transzferáltunk EpreDia™ Superfrost ultra-plus mikroszkóp tárgylemezre. A tárgylemezen lévő sejtek előkezelését az RNAscope® Multiplex Fluorescent Reagent v2 Kittel (ACD, Hayward, CA, USA) végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. Munkánk során az RNAscope Multiplex Fluorescent Reagent Kit v2 -t (ACD, Hayward, CA, USA) gyártójának utasításait követtük. A humán metszeteket deparaffinálás után H₂O₂-vel kezeltük, majd alacsony pH-n hővel való feltárás után Protease Plus-szal inkubáltuk.

PE / CA-PJ41 sejt vonal esetén a proteáz III kezelést végeztünk. Ezt követően a mintákat humán *TRPA1* (ACD, katalógusszám: 837411-C2), *TRPV1* (ACD, katalógusszám: 415381) mRNS-el valamint 3-plex pozitív (ACD, katalógusszám: 320861) és negatív (ACD, katalógusszám: 320871) kontroll próbákkal hibridizáltuk. A szekvenciális jelerősítést és csatorna előhívást a gyártó utasításai szerint végeztük. Az RNAscope után immunhisztokémiai vizsgálatot végeztünk, monoklonális, nyúlban termeltetett humán citokeratin-14 ellenes antitesttel (Abcam, EPR17350, katalógusszám: ab181595, 1: 500-as hígításban) 12 órán keresztül 24 ° C-on. A mintákat 2x15 perces PBS-es mosás után Alexa 647-konjugált számban termeltetett anti-nyúl (AB_2492288, Jackson ImmunoResearch Europe Ltd, Cambridgeshire, Egyesült Királyság; katalógusszám: 711-605-152, 1: 500-ra hígítva) antitesttel kezeltük. A sejtmagokat 4',6-diamidino-2-fenilindollal (DAPI) festettük meg, majd a metszeteket ProLong Gold Antifade (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; katalógusszám: P10144) médiummal fedtük le. Humán pozitív kontrollként (ACD; katalógusszám.: 320881) *POLR2A* (*Protein Coding RNA Polymerase II*) (fluoreszcein), *PPIB* (*Peptidylprolyl Isomerase B*) (Cy3) és *UBC* (*ubiquitin C*) (cianin 5, Cy5) próbákat és negatív kontrollként (ACD; katalógusszám: 320871) bakteriális dabP próbát használtunk a humán laphámsejtes karcinómában és a PE/ CA-PJ41 sejt vonalon. A fluoreszcens képeket Olympus Fluoview FV-1000 lézeres pásztázó konfokális mikroszkóppal (Olympus, Tokió, Japán) és Fluo-View FV-1000S-IX81 képfelvevő szoftver rendszerrel készítettük. A konfokális rekeszt 80 µm-re állítottuk be. Az analóg szekvenciális pásztázást 40x objektívlencsével (NA: 0,75) végeztük. Az optikai vastagságot 1 µm -re, a felbontást 1024x1024 pixelre, a gerjesztési időt 4 µs / pix-el értékre állítottuk be. Kék, zöld, piros és fehér virtuális színeket választottunk a DAPI (nukleáris festés), a fluoreszcein (*TRPV1* mRNS), a cianin 3 (*TRPA1* mRNS) és az Alexa 647 (citokeratin-14 fehérje) fluoreszcens jelének ábrázolására. DAPI-t 405 nm-en, fluoreszcein-t 488 nm-nél, Cy3-t 550 nm-nél és az Alexa 647-et 650 nm-nél gerjesztettük.

3. TRPA1 és TRPV1 génexpresszió vizsgálata

A szövetminták esetében a homogenizálást 1000 µl TRI-reagensben (Thermo Fischer Scientific, USA) végeztük el rozsdamentes acél golyók és Tissue Lyser berendezés (VWR International Ltd, Magyarország) segítségével. A PE / CA-PJ41 sejt vonal esetében 1000 µl TRI-reagensben vortexeléssel homogenizáltuk. Mindkét mintatípus RNS tartalmát a Direct-zolTM RNS MiniPrep (szöveti lizátumokhoz) és MicroPrep (sejtlizátumokhoz, Zymo Research, Irvine, CA, USA) alkalmazásával izoláltuk a gyártó utasításainak megfelelően. Az RNS mennyiségét és tisztaságát Nanodrop ND-1000 V3.5 spektrofotométerrel (NanoDrop

Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) határoztuk meg. A mintákat 1U DNáz I enzimmel kezeltük a maradék genomiális DNS eltávolítása céljából. A cDNS szintézis során szövetmintáknál a Maxima First Strand cDNS Synthesis Kit -et (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), míg sejtvonal minta esetében az Applied Biosystems™ High capacity reverse transcription Kit-et (Thermo Fisher Scientific, USA) használtuk. Mindkét mintatípusból 500 ng RNS-t írtunk át. A humán *TRPA1* és *TRPV1* relatív génexpressziós arányait QuantStudio™ 5 rendszerrel (Life Technologies Magyarország Ltd, Magyarország) határoztuk meg, az importin 8 (*IPO8*) referenciagénhez viszonyítva [64]. A méréseket triplikátumban, 10 µl reakciótérfogóban végeztük, amely 1x SensiFAST™ Probe Lo-ROX keveréket (Meridiane Bioscience, Memphis, Egyesült Államok), 400 nM FAM-konjugált TaqMan™ specifikus próbát (szensz és antiszensz) és 20 ng cDNS-t tartalmazott. (*IPO8*: Hs00914057_m1; *TRPA1*: Hs00175798_m1 és *TRPV1*: Hs00218912, Thermo Scientific). A triplikátumok Cq értékeinek geometriai átlagát mindkét célgén esetében kiszámítottuk, és a génexpressziót $\Delta\Delta C_t$ módszerrel határoztuk meg [65]. A PE/CA-PJ41 *TRPA1* és *TRPV1* specifikus PCR termékeit 0,01% GelRed-et (Biotium, Harward CA, USA) tartalmazó 2,5%-os agaróz gélen 70% -os feszültségen 40 percig elektroforetizáltuk, és a Safe View (Clever 182 Scientific Ltd, Warwickshire, Egyesült Királyság) transzilluminátor segítségével vizsgáltuk.

4. Radioaktív $^{45}\text{Ca}^{2+}$ felvételi kísérletek PE/CA-PJ41 sejteken és TRPV1 vagy TRPA1 receptorokat expresszáló CHO (chinese hamster ovarium, kínai hörcsög ovárium) sejtvonalakon

A receptor aktivációs kísérletek során vizsgáltuk a PE/CA-PJ41 sejtek kapszaicinre (CAPS) és az AITC-re adott válaszait, amely a TRPV1 illetve TRPA1 ioncsatornákon keresztül valósul meg. Pozitív kontrollként a receptorokat stabilan expresszáló CHO sejteket használtunk. A detektált válaszok specificitását TRPV1 antagonistá capsazepine (CZP, 10 µM) és TRPA1 antagonistá HC-030031(10 µM) vegyületek adásával verifikáltuk. A mérés során a sejteket Microwell Minitrays -en (Sigma-Aldrich Magyarország Kft, Budapest) 15 µl sejttenyésztő tápközegben tenyészettük egy éjszakán át. Másnap a sejteket kalciummentes Hanks -oldattal (pH 7,4) mostuk, majd 10 µl végtérfogóban 3 percig inkubáltuk kapszaicint (10 nM, 100 nM) vagy AITC -t (10 µM, 100 µM) és 200 µCi / ml $^{45}\text{Ca}^{2+}$ izotópot (1,3 Ci / mmol, Amersham) tartalmazó médiummal. Inkubálást követően ECS- el (extracellular solution, extracelluláris oldat) mostuk a sejteket, melynek összetevői (mM-ban kifejezve): NaCl (160), KCl (2,5), CaCl_2 (1), MgCl_2 (2), HEPES (10), glükóz (10); pH 7,3. A visszamaradt puffert szobahőn elpárologtattuk, a megmaradt izotópot pedig 15 µl 0,1%-os SDS-ben gyűjtöttük össze. A minták

radioaktivitását 2 ml szcintillációs folyadékban mértük Packard Tri-Carb 2800 TR (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, USA) szcintillációs számlálóban. A $^{45}\text{Ca}^{2+}$ izotóp-retenciót percenkénti ciklus számban (Counts Per Minute, CPM) adtuk meg.

5. Sejtek életképességének vizsgálata

A sejtek életképességének vizsgálatát 24 órás 100 nM, 1 μM , 2,5 μM , 5 μM , 10 μM , 15 μM , 25 μM , 45 μM koncentrációjú kapszaicin (Thermo Fisher Scientific) és 100 nM, 1 μM , 5 μM , 7 μM , 10 μM , 15 μM , 45 μM koncentrációjú AITC kezelést követően végeztük el. Negatív kontrollként oldószerrel kezelt (dimetilszulfoxid -DMSO Merck KGaA, Németország), sejteket használtunk. Kapszaicin kezelés esetében 0,45%, 0,25%, 0,15%, míg AITC esetében 0,45%, 0,15%, 0,1% DMSO koncentrációk hatását vizsgáltuk [66]. A sejteket 96 lyukú szövettenyésztő lemezekben tenyésztettük szubkonfluens fázisig, majd a tesztvegyületek hozzáadása után egy napig inkubáltuk. A sejtek életképességét CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (Merck KGaA, Németország) segítségével végeztük el a gyártó utasításainak megfelelően. A lumineszcenciát 560 nm-en mértük le, Perkin Elmer luminometer segítségével. A sejtek viabilitását a háttérrel korrigált lumineszcencia értékek alapján számítottuk ki az alábbiak szerint: Életképesség (%) = a kísérleti well abszorbancia értéke/kontroll well abszorbancia értéke \times 100.

6. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéseket GraphPad Prism 8 szoftverrel végeztük. Az adatok statisztikai eloszlását a Kolmogorov–Smirnov normalitás teszttel vizsgáltuk, majd egyirányú ANOVA és Dunnett féle post hoc tesztet (normál eloszlás esetén) vagy Mann–Whitney U-tesztet (ha az adatok nem normálisan oszlanak el) csináltunk. Minden esetben $p < 0,05$ -öt tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

EPIDERMÁLIS NÖVEKEDÉSI FAKTOR RECEPTOR (EGFR) GÁTLÓSZEREK HASZNÁLATA ELŐREHALADOTT ÁLLAPOTÚ FEJ- NYAK RÉGIÓBAN LÉVŐ LAPHÁM KARCINÓMÁS BETEGEK KEZELÉSÉBEN

1. Protokoll, regisztráció

Munkánk során követtük az egészségügyi beavatkozások értékelésével kapcsolatos áttekintő közlemények és metaanalízisek megalkotásához kidolgozott ún. *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses* (PRISMA) ajánlást [67]. Analízisünk protokollja és

módszerei az *International Prospective Register of Systematic Reviews*-ban (PROSPERO, CRD42021233047) kerültek regisztrálásra, melytől munkánk során nem tértünk el.

2. Keresési feltételek

A szakirodalmi keresés a MEDLINE, az EMBASE és a Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) adatbázisokban történt 2020. október 26-tól kezdődően. A keresés során az alábbi keresési kulcsot alkalmaztuk: (HNSCC OR "head and neck squamous cell carcinoma" OR "squamous cell carcinoma of head and neck" OR "head and neck cancer" OR "head and neck neoplasm") AND (inoperable OR advanced OR recurrent OR metastatic OR metastasis OR unresectable) AND (random*). A szakirodalom nyelvi és megjelenési dátuma alapján nem állítottunk be korlátozást. A kiválogatott cikkek hivatkozási keresését is elvégeztük.

3. Tanulmányok kiválasztása, alkalmassági kritériumok

A keresési eredményeket EndNote X9 3.3. (Clarivate Analytics) segítségével rendszereztük, melynek során először automatikus, majd manuális duplikátum eltávolítást végeztünk. A vizsgálatba a következő kritériumokkal rendelkező cikkek kerültek: (1) randomizált, kontrollált vizsgálatok (randomized controlled trials - RCT), (2) a populációban felnőtt betegek (≥ 18 év) vettek részt, szövettanilag igazolt HNSCC-vel (primer szájgarat-, szájüreg-, hypopharynx-, ill. gége, amely visszatérő és/vagy áttétes volt, és sebészi elávolításra vagy sugárterápiára alkalmas volt), (3) az Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) teljesítményszűrésük 0 vagy 1 volt; egy vagy több mérhető cél lézióval a Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST) 1.0 verziója alapján, és (4) várható élettartamuk legalább 3 hónap volt. A bevont tanulmányokban szerepelnie kellett a PFS-nek és/vagy az OS-nek mint végpont, és egy olyan intervenciós csoportnak is, amelyben a páciensek EGFR-gátló kezelést kaptak a standard kemoterápia mellé.

4. Adatok kinyerése

Az elsődleges kimenetelnek a PFS- t és/vagy az OS- t, míg másodlagos kimenetelnek a 3. súlyossági szint feletti és a teljes fáradtságot, nyálkahártyagyulladást és bőrkiütést tekintettük. A következő adatokat nyertük ki a bevont tanulmányokból: első szerző, megjelenési év, DOI-szám, tanulmányterv és időtartam, randomizációs folyamat, résztvevő ország és a résztvevő vizsgáló központok száma. A résztvevők adatait is kinyertük, például a vizsgálatban részt vevő betegek számát, életkorát, nemét, felvételi és kizárási kritériumait. Mind az intervenciós, mind a komparátor csoportból a következő adatokat gyűjtöttük ki: a gyógyszer/placebo típusa,

dózisok, az adagolás típusa és gyakorisága, a kezelés időtartama, a betegek randomizált és teljes száma. A fő eredmények (PFS, OS) adatai, összegyűjtött kockázati arányok (*hazard ratios*, HR) vagy esélyhányadok (*odds ratio*, OR) formájában lettek összegyűjtve a dichotóm kimenetekre, és ezek 95%-os konfidencia intervallumát (*confidence interval*, CI) számítottuk ki.

5. Torzítások kockázata az egyes tanulmányokban

Az egyes tanulmányok esetében a torzításból adódó hibák becslésére a RoB 2 [68] szoftvert alkalmaztuk, amely a Cochrane Collaboration aktuális ajánlása alapján működő, átdolgozott eszköz a torzítás kockázatának értékelésére randomizált vizsgálatokban.

6. Statisztikai analízis

A kiválasztási folyamat során az értékelők közötti egyezést és megbízhatóságot Cohen-féle kappa-együtthatóval (κ) határoztuk meg [69]. A dichotóm kimeneteknél a 95%-os CI-vel rendelkező OR-okat a cikkek eredeti nyers adataiból számítottuk ki. A PFS és az OS összevont HR-jét is megbecsültük. A heterogenitás meghatározására minden esetben a DerSimonian és Laird véletlen hatás modellt alkalmaztuk [70]. A heterogenitást az I^2 értékek kiszámításával határoztuk meg. $I^2 = 0\% - 40\%$ nem tekinthető jelentős heterogenitásnak, $I^2 = 30\% - 60\%$ mérsékelt heterogenitásnak tekinthető, $I^2 = 50\% - 90\%$ jelentős heterogenitásnak tekinthető, $I^2 = 75\% - 100\%$ megfontolandó heterogenitásnak tekinthető. Az egyes metaanalízisek eredményeit (becsült hatás és konfidencia intervallumok) grafikusán jelenítettük meg erdő grafikonok (forest plot) segítségével. A torzítás értékelését funnel plotok vizsgálatával végeztük el a standard hibák nem szimmetrikus eloszlásának kimutatására, és az egyik fő kimenetel (OS) Egger-tesztjét használtuk. Ebben az esetben a $p < 0,05$ statisztikailag szignifikáns aszimmetriának számított. Alcsoport-elemzéseket is végeztünk minden eredményre, ahol az alcsoportokat különböző típusú EGFR-gátlók határozták meg (mAb-k versus TKI-k). Mivel az alacsony módszertani minőségű, publikációs torzítású és kis mintaszámú kísérletek hamis p -értéket generálhatnak, a szükséges információméret kiszámításához *Trial Sequential Analysis* eszközt (TSA, Koppenhágai Trial Unit, Center for Clinical Intervention Research, Dánia) használtunk [71]. A TSA eszköz a szükséges mintaszámot úgy számította ki, hogy 5%-os általános I típusú hibát és 20%-os II. típusú hibát vett figyelembe. Ennek eredményeként egy kétoldalas grafikon jelenik meg, ahol a piros egyenes vonalak a hagyományos metaanalízis szignifikancia határait, a kék vonal a kumulatív Z-pontszámot, a befelé dőlő piros vonalak pedig a kísérleti szekvenciális monitorozás határait korrigált p -értékekkel mutatják. Minden adatot és statisztikai elemzést Stata (16.0-s verzió, StataCorp) és TSA eszközzel végeztünk.

7. Az eredmények megbízhatóságának vizsgálata

Eredményeink megbízhatóságát a GRADE Approach (GRADEpro GDT: GRADEpro Guideline Development Tool McMaster University) segítségével végeztük [72].

EREDMÉNYEK

TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL ANKYRIN 1 ÉS VANILLOID 1 IONCSATORNÁK EXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA HUMÁN LAPHÁMSEJTES KARCINÓMA MINTÁKBAN ÉS HUMÁN OSCC SEJTVONALBAN

1. A *TRPA1* és *TRPV1* mRNS-ek expresszálódnak az egészséges humán szájnyálkahártya és az OSCC epiteliális sejtjeiben és a PE/CA-PJ41 sejtvonalban

A konfokális lézeres pásztázó mikroszkópos vizsgálat és a kvalitatív morfológiai értékelés kimutatta, hogy mind a *TRPA1*, mind a *TRPV1* mRNS expresszálódik az egészséges szájnyálkahártya (n=3) és OSCC (n=6) laphám mintáiban. Ezzel összhangban, mindkét féle mRNS-t kimutattuk PE/CA-PJ41 sejtekben is. Szinte az összes *TRPA1*- és *TRPV1*-pozitív sejt minden mintában tartalmazta a citokeratin-14 epitélium-specifikus keratinocita markert. A Novus 40763 *TRPA1* ellenes antitesttel immunpozitivitás figyelhető meg az egészséges humán szájnyálkahártya *stratum basale* és *stratum spinosum* rétegeiben, elsősorban a citoplazmatikus, és a nukleáris régiókban. A legtöbb OSCC mintában, különösen a rosszul differenciált esetekben a az immunpozitivitás a Novus 40763 *TRPA1* antitesttel lényegesen erősebb volt a hám-, a vaszkuláris endotél- és néhány limfoid sejtben, de a jel elsősorban a sejtmagokra lokalizálódott, ami egyértelműen nem specifikus reakcióra utal. A piros és a zöld mesterséges színeket a számítógép által generált képelemzéssel értük el (ImageQuant,3DHistech) és ezek arányosak az immunpozitivitás intenzitásával, egy olyan skálán, ahol a piros a legerősebb festődés, a kék pedig a festődés hiánya. Ezek, természetesen nem adnak információt, az antitest specifikusáról. Továbbá, ez az antitest nem adott jelet a humán *TRPA1* receptort stabilan expresszáló CHO-sejteken (az adatokat nem mutatjuk be). Bár számos specifikációját tekintve humán szövetek vizsgálatára alkalmas anti-*TRPV1* antitest kapható a kereskedelmi forgalomban (Biorbyt Ltd, katalógusszám: orb251483; Novus Biologicals, katalógusszám: NB100-98886; Abcam plc., katalógusszám: ab3487), esetünkben egyik sem bizonyult specifikusnak parafinba ágyazott SCC metszeteken.

2. A *TRPA1* és *TRPV1* mRNS-ek szignifikánsan nagyobb mértékben expresszálódnak az OSCC mintákban

Az RNAscope eredményeivel összhangban mind a *TRPA1*, mind a *TRPV1* mRNS stabilan expresszáldott az egészséges humán szájnyálkahártya-mintákban (n=10). Szignifikáns, körülbelül 4-szeres *TRPA1*, illetve 2-szeres *TRPV1* mRNS expresszió-növekedés volt kimutatható az OSCC (n=15) mintákban, az egészséges kontroll mintákhoz képest. Mind a *TRPA1*, mind a *TRPV1* detektálható az OSCC PE/CA-PJ41 sejtvonalban, Ct 29.4 (*TRPA1*) és 25.1 (*TRPV1*) küszöbciklus értékekkel.

3. A TRPA1 ÉS a TRPV1 aktiválása radioaktív $^{45}\text{Ca}^{2+}$ felvételt indukál a PE/CA-PJ41 sejtekben

Annak bizonyítására, hogy a PE/CA-PJ41 sejtek funkcionálisan aktív TRPA1 és TRPV1 ioncsatornákat expresszálnak, AITC- és kapszaicin-indukált $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -beáramlást mértünk. A TRPA1 agonista AITC (10 és 100 μM) koncentrációfüggő, $418,3 \pm 120,2$ és $1928 \pm 315,8$ CPM $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -beáramlást eredményezett a PE/CA-PJ41 sejtekbe. A pozitív kontrollos összehasonlításhoz, $4874 \pm 545,97$ értéket mértünk stabil TRPA1-receptort expresszázó CHO-sejteken 100 μM AITC hatására. A TRPV1 agonista kapszaicin (10 és 100 nM) koncentrációfüggő $1353,3 \pm 315,4$ és $5443,3 \pm 1335,8$ CPM $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -retenciót indukált PE/CA-PJ41 sejtekben. Ez a válasz $12324,7 \pm 1168,1$ CPM volt, a TRPV1 receptort expresszázó CHO sejtvonalon, 100 nM kapszaicinnal történő stimulációra. A $^{45}\text{Ca}^{2+}$ visszatartása elhanyagolható, 100-200 CPM körüli érték volt a tiszta Hank-oldatban és a Hank-oldathoz adott izotóp-kontrollokban. A TRPV1 antagonistá kapszazepin (CZP, 10 μM) jelentősen gátolta a kapszaicin kiváltotta, a TRPA1 antagonistá HC-030031 (10 μM) pedig szignifikánsan csökkentette az AITC-indukálta $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -felvételt.

4. A TRPA1 és a TRPV1 aktiválása egyaránt csökkenti a PE/CA-PJ41 sejtek életképességét

A PE/CA-PJ41 sejtek 3 különböző koncentrációjú TRPA1 agonista AITC-vel történő 24 órán keresztüli inkubálása koncentrációfüggő módon csökkentette a sejtek életképességét. 10 nM koncentráció esetén 18%-os, nem szignifikáns, 100 nM esetén, 48%-os, szignifikáns csökkenés történt, míg 5000 nM esetén a sejtek teljes életképesség elvesztése (99%) következett be. Eközben a kapszaicin nem szignifikáns, 19-32%-os csökkenést indukált a sejt életképességében a 100-45000 nM koncentráció tartományban. Az oldószer kezelt kontroll sejtek esetében, a DMSO a legmagasabb koncentrációkban sem befolyásolta a sejtek életképességét.

EPIDERMÁLIS NÖVEKEDÉSI FAKTOR RECEPTOR (EGFR) GÁTLÓSZEREK HASZNÁLATA ELŐREHALADOTT ÁLLAPOTÚ FEJ- NYAK RÉGIÓBAN LÉVŐ LAPHÁM KARCINÓMÁS BETEGEK KEZELÉSÉBEN

1. Epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) gátlók hozzáadása előrehaladott állapotú fej- nyak régióban lévő laphám karcinómás betegeknél növeli a progresszió mentes (PFS) és a teljes túlélést (OS), nem fokozzák a fáradtságot és a nyálkahártyagyulladást, de növelik a bőrkiütéseket

Tíz tanulmányt vettünk be az OS elemzésébe, és nyolcat a PFS-re vonatkozóan. Az EGFR-gátlók hozzáadása a standard kemoterápiához szignifikánsan csökkentette a halálozás vagy a betegség progressziójának kockázatát (PFS HR: 0,68, 95% CI: 0,55-0,81), jelentős heterogenitással ($I^2 = 65,5\%$, $p = 0,005$) és a halálozás kockázatát (OS HR: 0,83, 95% CI: 0,72–0,94) szignifikánsan mérsékelt heterogenitással ($I^2 = 42,3\%$, $p = 0,076$) csökkentette. Az EGFR inhibitor + kemoterápiát és a csak kemoterápiát kapott csoport között az összes súlyossági szintű mucositis és fáradtság tekintetében nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget. A 3. súlyossági szint feletti mucositis esetében nem találtunk szignifikáns eltérést, de az EGFR inhibitorok TKI alcsoportjában szignifikánsan nagyobb valószínűséggel fordul elő a 3. súlyossági szint feletti mucositis a hagyományos kemoterápiás csoporttal összehasonlítva ($p = 0,017$, OR: 0,39, 95% CI: 0,18-0,84). Az EGFR-inhibitor csoportban a 3. súlyossági szint feletti bőrkiütések szignifikánsan nagyobb valószínűséggel fordulnak elő a hagyományos kemoterápiás csoporthoz képest. ($p = 0,008$, OR: 4,86, 95% CI: 1,52-15,49), szignifikáns heterogenitás nélkül ($I^2=2,3\%$, $p=0,407$). A mAb alcsoportban szignifikáns különbséget detektáltunk a kontroll és az EGFR inhibitor kapó csoport között ($p = 0,023$, OR: 13,53, 95% CI: 1,44-127,58, $I^2 = 0,0\%$), míg a TKI alcsoportban ($p = 0,120$, OR: 3,42, 95% CI: 0,72-16,12, $I^2 = 22,2\%$) ez nem volt megfigyelhető. Az összes súlyossági szintű bőrkiütés elemzése során szignifikáns különbség volt az EGFR-gátló és a hagyományos kemoterápiás csoport között ($p < 0,001$), az EGFR-gátló csoportban (OR: 18,32, 95%, CI: 8,07–41,60) nagyobb valószínűséggel fordult elő az összes súlyossági szintű bőrkiütés, közepes heterogenitás mellett ($I^2 = 56,6\%$, $p = 0,032$). Mindkét alcsoportban szignifikáns különbségek voltak a két csoport között (mAb: $p < 0,001$, TKI: $p < 0,001$) A bőrkiütés mellékhatás vizsgálata esetén a TSA nem végezhető el az irreleváns kockázatcsökkentés miatt.

MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Először írtuk le a *TRPA1* ioncsatorna expresszióját és lokális mRNS expresszió-fokozódását OSCC-ben, valamint a csatornák funkcionalitását is bizonyítottuk humán OSCC sejtvonalban. Ezen túlmenően eredményeink megerősítik a *TRPV1* mRNS expresszióját és expresszió-növekedését is ebben a kórképben. Összefoglaló közleményünkben bemutattuk, hogy számos TRP csatorna expressziós szintje, szignifikáns különbségeket mutat a rákos és a normál szövetek között HNSCC esetén, ami fontos következményekkel jár a diagnózis, a prognózis és a terápia szempontjából [73]. TRPA1 fehérje fokozódást számos daganat esetében leírták a szakirodalomban, például nasopharyngealis karcinómában [60]. Emelkedett TRPV1 fehérje expressziós szintet találtak méhnyakrák esetén [74], prosztatarákban pedig a *TRPV1* emelkedését mRNS és fehérje szinten is leírták [75]. A *TRPV1* mRNS és az immunpozitivitás szignifikánsan emelkedett az epidermisz minden rétegében a nyelv, az orca, a szájfenek és az íny HNSCC mintáiban, a normál szájnyálkahártyával összehasonlítva [63]. Annak ellenére, hogy a szakirodalomban sok adat áll rendelkezésre a fent említett sejtípusokban a receptor expresszióját illetően, ezek többsége immunhisztokémiai módszerekkel kimutatott fehérje-expressziós eredményekre támaszkodik. Azonban, 2019-ben Virk és munkacsoportja a Science Reportsban megjelent tanulmányukban rávilágítottak egy, a TRPA1 immunhisztokémiát érintő sarkalatos metodikai problémára [76]. Kísérleteink alátámasztják következtetéseiket, mivel a TRPA1 festődést immunhisztokémiai módszerekkel mi is aspecifikusnak találtuk. Megállapítottuk, hogy mind a TRPA1, mind a TRPV1 funkcionálisan aktív humán OSCC sejtvonalban, mivel az AITC, és a kapszaicin is Ca^{2+} -beáramlást indukál a sejtekbe. Mérési eredményeink által kiváltott hatásuk összhangban van a HeLa méhnyakrák sejtvonalból [66, 77] és gyomorráksejtekben [78] nyert egyéb eredményekkel. A 24 órás, 100 nM AITC kezelés szignifikánsan csökkentette az OSCC vonal életképességét illetve 5 μ M koncentrációnál 99%-kal, azaz majdnem teljesen lecsökkentette a viabilitást. Liu és munkatársai arról számoltak be, hogy nagy dózisu AITC ($\geq 20 \mu$ M) csökkentette a HepG2 humán hepatocelluláris karcinóma sejtek életképességét, növelte a DNS-károsodást és gátolta a sejt migrációt [79], ráadásul *in vivo* vizsgálatokban az AITC antiangiogén hatással bír [80]. Számos tanulmány azt is kimutatta, hogy az AITC negatívan befolyásolja az emlő [81], a hólyag [77] és a méhnyakrák sejtek sejtproliferációját [66, 77]. Ezen receptoroknak karcinogenezisben betöltött szerepére vonatkozó adatok ellentmondásosak a szakirodalomban. Egyes TRPA1-aktivátorok, például az AITC, elősegítik a sejtek túlélését és proliferációját kissejtes tüdőrákban [57], ezzel szemben azonban a TRPA1 agonisták gátolják a Panc-1 hasnyálmirigy duktális adenokarcinóma sejtvonal sejteinek migrációját [58]. Humán emlőráksejtekben az AITC mitokondriumon keresztül közvetített apoptózist indukált citokrom-c-n keresztül, valamint apoptózist indukáló

faktor és endonukleáz G felszabadulását, valamint a kaszpáz-9 és kaszpáz-3 aktiválását idézte elő [81]. Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a TRPA1 és TRPV1 aktiválása csökkenti az OSCC sejtek életképességét, feltehetően az intracelluláris Ca^{2+} szint növelésével és a kapcsolódó jelátviteli útvonalak aktiválásával. A TRP csatornák a rosszindulatú tumoros folyamat progressziójának számos aspektusát befolyásolhatják azáltal, hogy modulálják a Ca^{2+} által szabályozott sejtfolymatokat, beleértve a proliferációt, a túlélést, sőt a daganatképződést is [73]. A klinikailag hasznos TRP-modulátorok ígéretes terápiás szerek lehetnek, de a fájdalomcsillapító célokra kifejlesztett TRPV1-antagonisták súlyos szisztémás mellékhatásai, mint például a hipertermia, hátráltatják a szisztémásan alkalmazható gyógyszerek fejlesztését. A helyileg alkalmazott TRPA1 és/vagy TRPV1 agonisták azonban nélkülözhetik a nem kívánt szisztémás mellékhatásokat, és ezért előnyös kezelési potenciállal bírhatnak a szájnyalakhartyán kialakuló karcinóma megjelenésével és progressziójával szemben.

Előrehaladott HNSCC-ben szenvedő betegeknél bizonyítottuk azt, hogy a hagyományos kemoterápia mellett adott EGFR-inhibitor terápia, viszonylag jó tolerálhatóság mellett növeli betegek túlélését. Munkánk során három különböző adatbázis anyagának felhasználásával, naprakész információkat gyűjtöttünk össze az EGFR-gátlók hatékonyságát és biztonsági profilját tekintve. Metaanalízisünkben csak randomizált klinikai vizsgálatok szerepelnek, mivel ezek lehetővé teszik a kísérleti változók jobb összehasonlíthatóságát és ezáltal az eredményeket megbízhatóbbakká teszik. Az előrehaladott vagy inoperabilis HNSCC-ben szenvedő betegek esetén a ciszplatinnal kombinált sugárkezelést követő 6 hónapon belül, vagy az első vonalbeli platina alapú kemoterápia 6 hónapja alatt progresszió mutatható ki, ott a prognózis nagyon kedvezőtlen és teljes átlagos túlélés idő mindössze 10 hónap körüli [82]. HNSCC-ben az EGFR az esetek többségében fokozott expressziót mutat, és szintje negatívan korrelál a betegek túlélésével [83]. Bár az anti-EGFR kezeléssel kiegészített kemoterápia jótékony hatásait számos RCT megállapította, az előrehaladott HNSCC-ben szenvedő betegek túlélési aránya továbbra is csekély, többek között a páciensek súlyos mellékhatások miatt tanúsított alacsony együttműködése miatt. A mAb-k és TKI-k leggyakrabban leírt mellékhatása a bőr akneiform kiütése, amely a betegek mintegy 65-90%-ban fordulnak elő és súlyos esetekben akár a dózis csökkentését teszi szükségessé [84]. Ezek az elváltozások jelentősen rontják a betegek életminőségét, és esetenként a daganatellenes kezelés abbahagyásához is vezetnek [85]. Analízisünk kimutatta, hogy az EGFR-gátló mAb-ek vagy TKI-k kombinálása standard kemoterápiával növeli a PFS-t és az OS-t is. Biztonsági profiljukat és tolerálhatóságukat tekintve azt találtuk, hogy csak a bőrkiütések előfordulása nőtt az EGFR-gátló csoportban,

összehasonlítva az önmagában alkalmazott standard kemoterápiával. Napjainkban az előrehaladott HNSCC esetek kezelésében meghatározó szerepet játszanak a PD1- gátlók, amelyek immunaktiválással kontrollálhatják a daganat progresszióját. A nivolumab, mely egy anti-PD1 monoklonális antitest, metotrexáttal, docetaxellel vagy cetuximabbal való összehasonlítása azt mutatta, hogy a teljes túlélési idő mediánja szignifikánsan javult a nivolumab csoportban (7,5 hónap) a kontrollcsoporttal (5,1 hónap) összehasonlítva [86]. Azonban annak ellenére, hogy a PD1 inhibitorok bekerültek a kezelési protokollba, a visszatérő, áttétes HNSCC-s betegek prognózisa továbbra is rossz és a cetuximab-cisplatin maradt a standard ellátási protokoll azoknál a betegeknél, akiknél a PD-1 gátlók alkalmazása ellenjavallt, és azon betegcsoportban is, akiknél PD-L1-et nem kifejező daganat áll fenn [87]. A kombinált terápiák és az egyéb jelátviteli utakat befolyásoló többcélpontú EGFR-gátlók potenciális eszközök lehetnek a gyógyszer rezisztenciához vezető EGFR-mutációk ellen. Előnyeik, hogy csökkentik a mellékhatásokat és a gyógyszer kölcsönhatásokat, megkönnyítve a dózis optimalizálást és a klinikai alkalmazásukat [88]. Vizsgálatunk során a viszonylag alacsony elemszám miatt hátrányt jelentett a betegpopuláció nagysága, az RCT-kben használt EGFR-gátlók heterogenitása, valamint a mellékhatások sokfélesége. A követési idők mediánja is különböző volt az RCT-kben, ami a HR értékek nehezebb összehasonlításához vezetett. Eredményeink igazolják, hogy nagyobb számú RCT-re van szükség ahhoz, hogy további bizonyítékokat lehessen szolgáltatni az anti-EGFR terápia hatékonyságára és biztonságosságára, vizsgálva ezen terápiás megoldás különböző típusait. További kutatásokra van szükség a pontos molekuláris mechanizmusok feltárására az EGFR- gátlók terápiás hatását és a potenciális rezisztencia kialakulását illetően. Összefoglalásként megállapítható, hogy az EGFR-inhibitor kezelés a fent említett mellékhatásai ellenére is, hatékony másodvonalbeli szernek tekinthető inoperábilis, metasztatikus HNSCC páciensek kezelésében azoknál a betegeknél, akiknél az immun- ellenőrzőpont-gátló (*immune checkpoint inhibitors*, ICI) kezelés ellenére is progresszió jelentkezik.

ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS EGYSÉGES ÉRTELMEZÉSE

1) Először írtuk le a **TRPA1 ioncsatorna expresszióját és lokális mRNS expresszió-fokozódását OSCC-ben**, valamint a **csatornák funkcionalitását** is bizonyítottuk humán OSCC sejtvonalban. Ezen túlmenően eredményeink megerősítik a **TRPV1 mRNS expresszióját és expresszió-növekedését** is ebben a kórképben. Ezen következtetések alapján, a klinikailag hasznos TRP modulátorok ígéretes terápiás szerek lehetnek, de a

fájdalomcsillapító céllal kifejlesztett TRPV1 antagonisták súlyos szisztémás mellékhatásai, mint pl. a hipertermia, gátolja a szisztémásan alkalmazható gyógyszercélpontok kifejlesztését. Azonban, a helyileg alkalmazott TRPA1 és/vagy TRPV1 agonisták elkerülhetik a szisztémás nem kívánatos hatásokat és ezáltal előnyös kezelési lehetőségeket biztosíthatnak a szájnyálkahártyán akár az OSCC kialakulásával és progressziójával szemben is.

2) Meta- analízis vizsgálatunkban megállapítottuk, hogy előrehaladott állapotú HNSCC-s betegek esetében, a standard kemoterápiához adott anti-EGFR kezelés alkalmazása javítja a páciensek teljes és progresszió-mentes túlélését. Biztonsági profiljukat és tolerálhatóságukat vizsgálva pedig azt találtuk, hogy a bőrkiütések, mint mellékhatás előfordulása nőtt az EGFR-gátló csoportban, összehasonlítva az önmagában alkalmazott standard kemoterápiával.

IRODALOMJEGYZÉK

1. International, W.C.R.F., *Mouth, Pharynx & Larynx Cancer Statistics. Cancers of the Lip and Oral Cavity are the 16th Most Common Cancers Worldwide.* . 2020: <https://www.wcrf.org/cancer-trends/mouth-and-oral-cancer-statistics/>.
2. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.* CA Cancer J Clin, 2018. **68**(6): p. 394-424.
3. Byers, R.M., et al., *Can we detect or predict the presence of occult nodal metastases in patients with squamous carcinoma of the oral tongue?* Head Neck, 1998. **20**(2): p. 138-44.
4. Suzuki, T., et al., *Effect of dietary antioxidants and risk of oral, pharyngeal and laryngeal squamous cell carcinoma according to smoking and drinking habits.* Cancer Sci, 2006. **97**(8): p. 760-7.
5. *Alcohol drinking. Epidemiological studies of cancer in humans.* IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 1988. **44**: p. 153-250.
6. Sankaranarayanan, R., et al., *Head and neck cancer: a global perspective on epidemiology and prognosis.* Anticancer Res, 1998. **18**(6b): p. 4779-86.
7. Chaturvedi, A.K., et al., *Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States.* J Clin Oncol, 2011. **29**(32): p. 4294-301.
8. Argiris, A., et al., *Head and neck cancer.* Lancet, 2008. **371**(9625): p. 1695-709.
9. Bernier, J., et al., *Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer.* N Engl J Med, 2004. **350**(19): p. 1945-52.
10. Bossi, P., et al., *A randomized, phase 2 study of cetuximab plus cisplatin with or without paclitaxel for the first-line treatment of patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck.* Ann Oncol, 2017. **28**(11): p. 2820-2826.
11. Sharafinski, M.E., et al., *Epidermal growth factor receptor targeted therapy of squamous cell carcinoma of the head and neck.* Head Neck, 2010. **32**(10): p. 1412-21.
12. Zimmermann, M., et al., *The epidermal growth factor receptor (EGFR) in head and neck cancer: its role and treatment implications.* Radiat Oncol, 2006. **1**: p. 11.
13. Mitchell, E.P., et al., *Clinical presentation and pathophysiology of EGFR inhibitor dermatologic toxicities.* Oncology (Williston Park), 2007. **21**(11 Suppl 5): p. 4-9.
14. Farmer, Z.L., E.S. Kim, and D.R. Carrizosa, *Gene Therapy in Head and Neck Cancer.* Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2019. **31**(1): p. 117-124.

15. Porcheri, C. and T.A. Mitsiadis, *New Scenarios in Pharmacological Treatments of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas*. *Cancers* (Basel), 2021. **13**(21).
16. Santuray, R.T., D.E. Johnson, and J.R. Grandis, *New Therapies in Head and Neck Cancer*. *Trends Cancer*, 2018. **4**(5): p. 385-396.
17. Nilius, B. and G. Owsianik, *The transient receptor potential family of ion channels*. *Genome Biology*, 2011. **12**(3): p. 218.
18. Cargnello, M. and P.P. Roux, *Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011. **75**(1): p. 50-83.
19. Kadio, B., et al., *Calcium role in human carcinogenesis: a comprehensive analysis and critical review of literature*. *Cancer Metastasis Rev*, 2016. **35**(3): p. 391-411.
20. Karashima, Y., et al., *TRPA1 acts as a cold sensor in vitro and in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009. **106**(4): p. 1273-8.
21. Zhang, X.F., et al., *Transient receptor potential A1 mediates an osmotically activated ion channel*. *Eur J Neurosci*, 2008. **27**(3): p. 605-11.
22. Bautista, D.M., M. Pellegrino, and M. Tsunozaki, *TRPA1: A gatekeeper for inflammation*. *Annu Rev Physiol*, 2013. **75**: p. 181-200.
23. Olivier Radresa, H.D., Eva Nyman, Andreas Nolting, Jeffrey S. Albert, Patrick Raboisson, *Roles of TRPA1 in Pain Pathophysiology and Implications for the Development of a New Class of Analgesic Drugs*. *The Open Pain Journal*, 2013. **6**: p. 137-153.
24. Bautista, D.M., et al., *TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents*. *Cell*, 2006. **124**(6): p. 1269-82.
25. Story, G.M., et al., *ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures*. *Cell*, 2003. **112**(6): p. 819-29.
26. Escalera, J., et al., *TRPA1 mediates the noxious effects of natural sesquiterpene deterrents*. *J Biol Chem*, 2008. **283**(35): p. 24136-44.
27. Bang, S., et al., *Transient receptor potential A1 mediates acetaldehyde-evoked pain sensation*. *Eur J Neurosci*, 2007. **26**(9): p. 2516-23.
28. André, E., et al., *Cigarette smoke-induced neurogenic inflammation is mediated by alpha,beta-unsaturated aldehydes and the TRPA1 receptor in rodents*. *J Clin Invest*, 2008. **118**(7): p. 2574-82.
29. Szolcsányi, J. and A. Jancsó-Gábor, *Sensory effects of capsaicin congeners. Part II: Importance of chemical structure and pungency in desensitizing activity of capsaicin-type compounds*. *Arzneimittelforschung*, 1976. **26**(1): p. 33-7.
30. Jancsó, N., A. Jancsó-Gábor, and J. Szolcsányi, *Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin*. *British journal of pharmacology and chemotherapy*, 1967. **31**(1): p. 138-151.
31. Szolcsányi, J., *A pharmacological approach to elucidation of the role of different nerve fibres and receptor endings in mediation of pain*. *J Physiol (Paris)*, 1977. **73**(3): p. 251-9.
32. Winter, J., et al., *Cellular mechanism of action of resiniferatoxin: a potent sensory neuron excitotoxin*. *Brain Res*, 1990. **520**(1-2): p. 131-40.
33. Caterina, M.J., et al., *The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway*. *Nature*, 1997. **389**(6653): p. 816-24.
34. Ifinca, M., M. Defaye, and C. Altier, *TRPV1-Targeted Drugs in Development for Human Pain Conditions*. *Drugs*, 2021. **81**(1): p. 7-27.
35. Earley, S., *TRPA1 channels in the vasculature*. *Br J Pharmacol*, 2012. **167**(1): p. 13-22.
36. Nassini, R., et al., *Transient receptor potential ankyrin 1 channel localized to non-neuronal airway cells promotes non-neurogenic inflammation*. *PLoS One*, 2012. **7**(8): p. e42454.
37. Mukhopadhyay, I., et al., *Expression of functional TRPA1 receptor on human lung fibroblast and epithelial cells*. *J Recept Signal Transduct Res*, 2011. **31**(5): p. 350-8.
38. Maglie, R., et al., *The Role of TRPA1 in Skin Physiology and Pathology*. *Int J Mol Sci*, 2021. **22**(6).

39. Bellono, N.W., et al., *UV light phototransduction activates transient receptor potential A1 ion channels in human melanocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(6): p. 2383-8.
40. Naert, R., A. López-Requena, and K. Talavera, *TRPA1 Expression and Pathophysiology in Immune Cells*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(21).
41. Helyes, Z., et al., *Inhibitory effect of anandamide on resiniferatoxin-induced sensory neuropeptide release in vivo and neuropathic hyperalgesia in the rat*. Life Sci, 2003. **73**(18): p. 2345-53.
42. Szallasi, A., et al., *The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept*. Nat Rev Drug Discov, 2007. **6**(5): p. 357-72.
43. Ständer, S., et al., *Expression of vanilloid receptor subtype 1 in cutaneous sensory nerve fibers, mast cells, and epithelial cells of appendage structures*. Exp Dermatol, 2004. **13**(3): p. 129-39.
44. Omari, S.A., M.J. Adams, and D.P. Geraghty, *TRPV1 Channels in Immune Cells and Hematological Malignancies*. Adv Pharmacol, 2017. **79**: p. 173-198.
45. Kark, T., et al., *Tissue-specific regulation of microvascular diameter: opposite functional roles of neuronal and smooth muscle located vanilloid receptor-1*. Mol Pharmacol, 2008. **73**(5): p. 1405-12.
46. Wang, B., et al., *Oral epithelial cells are activated via TRP channels*. J Dent Res, 2011. **90**(2): p. 163-7.
47. Guo, Y.J., et al., *ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis*. Exp Ther Med, 2020. **19**(3): p. 1997-2007.
48. zur Hausen, H., et al., *Human papilloma viruses and cancer*. Bibl Haematol, 1975(43): p. 569-71.
49. Park, M., et al., *Do TRPV1 antagonists increase the risk for skin tumourigenesis? A collaborative in vitro and in vivo assessment*. Cell Biol Toxicol, 2018. **34**(2): p. 143-162.
50. Yang, Y., et al., *Downregulated TRPV1 Expression Contributes to Melanoma Growth via the Calcineurin-ATF3-p53 Pathway*. J Invest Dermatol, 2018. **138**(10): p. 2205-2215.
51. Vinuesa, A.G., et al., *Vanilloid receptor-1 regulates neurogenic inflammation in colon and protects mice from colon cancer*. Cancer Res, 2012. **72**(7): p. 1705-16.
52. Huang, R., et al., *Recurrent activations of transient receptor potential vanilloid-1 and vanilloid-4 promote cellular proliferation and migration in esophageal squamous cell carcinoma cells*. FEBS Open Bio, 2019. **9**(2): p. 206-225.
53. Weber, L.V., et al., *Expression and functionality of TRPV1 in breast cancer cells*. Breast Cancer (Dove Med Press), 2016. **8**: p. 243-252.
54. Vercelli, C., et al., *Expression and functionality of TRPV1 receptor in human MCF-7 and canine CF.41 cells*. Vet Comp Oncol, 2015. **13**(2): p. 133-42.
55. Gao, N., et al., *The role of TRPV1 ion channels in the suppression of gastric cancer development*. J Exp Clin Cancer Res, 2020. **39**(1): p. 206.
56. Wu, Y.Y., et al., *Decreased expression of TRPV1 in renal cell carcinoma: association with tumor Fuhrman grades and histopathological subtypes*. Cancer Manag Res, 2018. **10**: p. 1647-1655.
57. Schaefer, E.A., et al., *Stimulation of the chemosensory TRPA1 cation channel by volatile toxic substances promotes cell survival of small cell lung cancer cells*. Biochem Pharmacol, 2013. **85**(3): p. 426-38.
58. Cojocaru, F., et al., *Functional expression of the transient receptor potential ankyrin type 1 channel in pancreatic adenocarcinoma cells*. Scientific Reports, 2021. **11**(1): p. 2018.
59. Ye, Y., et al., *IB4(+) and TRPV1(+) sensory neurons mediate pain but not proliferation in a mouse model of squamous cell carcinoma*. Behav Brain Funct, 2014. **10**: p. 5.
60. Wu, Y.T., et al., *Overexpression of Transient Receptor Protein Cation Channel Subfamily A Member 1, Confers an Independent Prognostic Indicator in Nasopharyngeal Carcinoma*. J Cancer, 2016. **7**(10): p. 1181-8.
61. Gonzales, C.B., et al., *Vanilloids induce oral cancer apoptosis independent of TRPV1*. Oral Oncol, 2014. **50**(5): p. 437-47.
62. Marincsak, R., et al., *Increased expression of TRPV1 in squamous cell carcinoma of the human tongue*. Oral Dis, 2009. **15**(5): p. 328-35.
63. Sakakibara, A., et al., *Upregulated Expression of Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Receptors in Mucosae of Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma and Patients with a History of Alcohol Consumption or Smoking*. PLoS One, 2017. **12**(1): p. e0169723.

64. Iyer, G., et al., *Identification of stable housekeeping genes in response to ionizing radiation in cancer research*. Scientific Reports, 2017. **7**(1): p. 43763.
65. Pfaffl, M.W., *A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR*. Nucleic Acids Res, 2001. **29**(9): p. e45.
66. Qin, G., P. Li, and Z. Xue, *Effect of allyl isothiocyanate on the viability and apoptosis of the human cervical cancer HeLa cell line in vitro*. Oncol Lett, 2018. **15**(6): p. 8756-8760.
67. Moher, D., et al., *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement*. Ann Intern Med, 2009. **151**(4): p. 264-9, w64.
68. Sterne, J.A.C., et al., *RoB 2: a revised tool for assessing risk of bias in randomised trials*. Bmj, 2019. **366**: p. 14898.
69. McHugh, M.L., *Interrater reliability: the kappa statistic*. Biochem Med (Zagreb), 2012. **22**(3): p. 276-82.
70. George, B.J. and I.B. Aban, *An application of meta-analysis based on DerSimonian and Laird method*. J Nucl Cardiol, 2016. **23**(4): p. 690-2.
71. Lan, K.K.G. and D.L. DeMets, *Discrete Sequential Boundaries for Clinical Trials*. Biometrika, 1983. **70**(3): p. 659-663.
72. Holger Schünemann, J.B., Gordon Guyatt and Andrew Oxman. *GRADE Handbook*. 2013; Available from: <https://gdt.grade.org/app/handbook/handbook.html>.
73. Kiss, F., et al., *Transient Receptor Potential (TRP) Channels in Head-and-Neck Squamous Cell Carcinomas: Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Potentials*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(17).
74. Han, G.H., et al., *The Combination of Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1) and Phosphatase and Tension Homolog (PTEN) is an Effective Prognostic Biomarker in Cervical Cancer*. Int J Gynecol Pathol, 2021. **40**(3): p. 214-223.
75. Czifra, G., et al., *Increased expressions of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1 in human prostate carcinoma*. J Cancer Res Clin Oncol, 2009. **135**(4): p. 507-14.
76. Virk, H.S., et al., *Validation of antibodies for the specific detection of human TRPA1*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 18500.
77. Sávio, A.L., G.N. da Silva, and D.M. Salvadori, *Inhibition of bladder cancer cell proliferation by allyl isothiocyanate (mustard essential oil)*. Mutat Res, 2015. **771**: p. 29-35.
78. Meral, O., et al., *Capsaicin inhibits cell proliferation by cytochrome c release in gastric cancer cells*. Tumour Biol, 2014. **35**(7): p. 6485-92.
79. Liu, P., et al., *Anti-cancer activities of allyl isothiocyanate and its conjugated silicon quantum dots*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 1084.
80. Thejass, P. and G. Kuttan, *Inhibition of endothelial cell differentiation and proinflammatory cytokine production during angiogenesis by allyl isothiocyanate and phenyl isothiocyanate*. Integr Cancer Ther, 2007. **6**(4): p. 389-99.
81. Bo, P., et al., *Allyl Isothiocyanate Induces Cell Toxicity by Multiple Pathways in Human Breast Cancer Cells*. Am J Chin Med, 2016. **44**(2): p. 415-37.
82. Price, K.A. and E.E. Cohen, *Current treatment options for metastatic head and neck cancer*. Curr Treat Options Oncol, 2012. **13**(1): p. 35-46.
83. Bossi, P., et al., *Prognostic and predictive value of EGFR in head and neck squamous cell carcinoma*. Oncotarget, 2016. **7**(45): p. 74362-74379.
84. Heidary, N., H. Naik, and S. Burgin, *Chemotherapeutic agents and the skin: An update*. J Am Acad Dermatol, 2008. **58**(4): p. 545-70.
85. Fabbrocini, G., et al., *Acneiform Rash Induced by EGFR Inhibitors: Review of the Literature and New Insights*. Skin Appendage Disord, 2015. **1**(1): p. 31-7.
86. Ferris, R.L., et al., *Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck*. N Engl J Med, 2016. **375**(19): p. 1856-1867.
87. Machiels, J.P., et al., *Squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx, oropharynx and hypopharynx: EHN–ESMO–ESTRO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Annals of Oncology, 2020. **31**(11): p. 1462-1475.

88. Ayati, A., et al., *A review on progression of epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors as an efficient approach in cancer targeted therapy*. Bioorg Chem, 2020. **99**: p. 103811.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK

Kiss Fruzsina, Pohóczky Krisztina, Szállási Árpád, Helyes Zsuzsanna: Transient Receptor Potential (TRP) Channels in Head-and-Neck Squamous Cell Carcinomas: Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Potentials Review .Int J Mol Sci. 2020 Sep 2;21(17):6374. doi: 10.3390/ijms21176374 PMID: 32887395 *megosztott első szerzős közlemény* **IF: 5, 923 Q1/D1**

Kiss Fruzsina, Kormos Viktória, Szőke Éva, Kecskés Angéla, Tóth Norbert, Steib Anita, Szállási Árpád, Scheich Bálint, Gaszner Balázs, Kun József, Fülöp Gábor, Pohóczky Krisztina, Helyes Zsuzsanna: Functional Transient Receptor Potential Ankyrin 1 and Vanilloid 1 Ion Channels Are Overexpressed in Human Oral Squamous Cell Carcinoma. Int J Mol Sci. 2022 Feb 8;23(3):1921. doi: 10.3390/ijms23031921 PMID: 35163843 **IF: 5, 923 Q1/ D1**

Kiss Fruzsina, Pohóczky Krisztina, Görbe Anikó, Dembrovszky Fanni, Kiss Szabolcs, Hegyi Péter, Szakó Lajos, Tóth Lilla, Somogyiné Ezer Éva, Szalai Eszter, Helyes Zsuzsanna: Addition of EGFR inhibitors to standard chemotherapy increases survival of advanced head and neck squamous cell carcinoma patients: a systematic review and meta-analysis Oral Dis 2022 Apr 29. doi: 10.1111/odi.14228 PMID: 35485982 *megosztott első szerzős közlemény* **IF: 3, 511 Q1**

EGYÉB EREDETI PUBLIKÁCIÓK

Kiss Fruzsina, Fülöp Gábor, Oberna Ferenc, Battyáni Zita: Head and neck mucosal melanoma: clinicopathological analysis of 5 cases and review of the literature. Fogorv Sz. 2017 Mar;110(1):25-29. PMID: 29847065 Review. English, Hungarian. **Publikációs feltételekbe beszámítható, impakt faktoral nem rendelkező hazai folyóirat**

Tóth Lilla, Juhász Márk F, Szabó László, Abada Alan, **Kiss Fruzsina**, Hegyi Péter, Farkas Nelli, Nagy György, Helyes Zsuzsanna: Janus Kinase Inhibitors Improve Disease Activity and Patient-Reported Outcomes in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of 24,135 Patients. Int J Mol Sci. 2022 Jan 23;23(3):1246. doi: 10.3390/ijms23031246. PMID: 35163173 **IF: 5, 923 Q1/ D1**

AZ ÖSSZES PUBLIKÁCIÓ (TELJES KÖZLEMÉNYEK ÉS KIVONATOK) KUMULATÍV IMPAKT FAKTORA

A tézis alapját képező három publikáció összesített IF:15,357

Összes IF (citálható absztraktok nélkül): 21, 380

Összes idézők száma (MTMT): 9

Ebből független (MTMT): 6

KONGRESSZUSI SZÓBELI ELŐADÁSOK JEGYZÉKE

2015: Pannon Szekció és a Magyar Arc Álcson és Szájsebészeti Társaság éves találkozó:
Ritka, orális manifesztációjú primer melanomákról

2016: Magyar Arc Álcson és Szájsebészeti Társaság éves találkozó: Ajaktumорок ellátásának
gyakorlata Somogy megyében (Méhes Károly díj)

2017: Magyar Arc Álcson és Szájsebészeti Társaság éves találkozó: Neuropáthiás
arcfájdalmak diagnosztikai lehetőségei és nehézségei a mindennapi szájsebészeti
gyakorlatban

Doktoranduszok a klinikai kutatásokban konferencia: Fej-nyak területén lévő daganatok
tömegspektrometriás vizsgálata

2018: Pannon Szekció: Fej- nyaki daganatok brachyterápiája, Magyar Arc Álcson és
Szájsebészeti Társaság éves találkozó: Fej- nyaki daganatok brachyterápiája

2019: Szegedi Fogorvosnapok A Magyar Fogpótlástani Társaság XIII. kongresszusa Szegedi
fogorvostalálkozó és tudományos konferencia: Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1
ioncsatorna expressziója és expresszió-növekedése fej-nyak régióban lévő laphám
karcinómában és prekancerózisokban

2022: Pannon Szekció: Granulomatosis polyangiitis és MRONJ- esettanulmány

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni Témavezetőimnek a rengeteg segítséget, amelyet PhD
dolgozatom elkészítéséhez nyújtottak. Helyes Zsuzsanna Professzorasszonynak hálával
tartozom, mert a szárnyai alá vett, támogatott, iránymutatásokkal szolgált, és mert elsőszámú
példaképemmé vált, szakma iránti elkötelezettsége és kivételes személyisége miatt. Dr.
Pohóczky Krisztinának köszönöm a szakmai irányítását, hogy idejét, energiáját nem kímélve,

lelkiismeretesen és kiváló szaktudásával felvértezve támogatott. Optimista gondolkodása, kedves személyisége nagyon sokat jelentett a közös munkánk során. Szeretnék köszönetet mondani Pintér Erika Professzorasszonynak, a Gyógyszertudományok Doktori Iskola vezetőjének, hogy lehetővé tette, hogy ennek a remek csapatnak a tagja lehettem. Köszöntetet szeretnék mondani Dr. Kormos Viktóriának, Dr. Szőke Évának, Tóth Norbertnek és Dr. Kun Józsefnek a kísérletek során és a kéziratok elkészítéséhez nyújtott szakmai segítségükért. Köszönöm a kísérletek során nyújtott nélkülözhetetlen segítségét Perkecz Anikónak. Köszönettel tartozom kollaborátorainknak, munkahelyemnek, a Somogy Megyei Kaposi Mór Oktatókórháznak, különös tekintettel Fülöp Gábor Főorvos Úrnak, a Semmelweis Egyetem I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetének, azon belül különös tekintettel Dr. Szállási Árpádnak és a PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézetének, különös tekintettel Hegyi Péter Professzor Úrnak. Köszönettel tartozom a családomnak is, Férjemnek, Szüleimnek, Húgomnak, Sógoromnak, három Gyermekeimnek és Nagyszüleimnek, akik támogattak és lehetővé tették számomra, hogy időt áldozhassak a dolgozat elkészítésére.