

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető: Prof. Dr. Bogár Lajos

Programvezető: Dr. Kovács Kálmán

Témavezető: Prof. Dr. Bellyei Szabolcs

**A colorectalis daganatos páciensek ellátását, túlélését
előrejelző tényezők: az egészségügyben eltöltött várakozási
idők és új biomarkerek szerepe**

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Fodor Dávid

Pécs, 2024.

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
2. ÖSSZEFOGLALÓ (MAGYAR).....	4
3. ABSTRACT.....	6
4. BEVEZETÉS.....	8
4.1 A KUTATÁSI TÉMAVÁLASZTÁS INDOKAI	8
4.2 A COLORECTALIS ÉS A RECTUM DAGANATOK NÉPEGÉSZSÉGÜGYI JELENTŐSÉGE	8
4.3 A COLORECTALIS DAGANATOK ELHELYEZKEDÉSE, TÜNETTANA, EPIDEMIOLÓGIÁJA	9
4.4 A LOKÁLISAN ELŐREHALADOTT VÉGBÉLDAGANATOK KEZELÉSE	13
4.5 AZ EGÉSZSÉGÜGYBEN ELTÖLTÖTT VÁRAKOZÁSI IDŐK COLORECTALIS DAGANATOS PÁCIENSEK ESETÉBEN	14
4.6 PREDIKTÍV TÉNYEZŐK SZEREPE A RECTUM DAGANATOK KEZELÉSRE ADOTT VÁLASZÁNÁL	16
5. CÉLKITŰZÉSEK.....	19
5.1 A KUTATÁS CÉLJAI	19
5.2 A KUTATÁSI KÉRDÉSEINK.....	19
6. MÓDSZERTAN	21
6.1 „A COLORECTALIS DAGANATOS BETEGEK KEZELÉSHEZ JUTÁSÁNAK JELLEMZŐI EGY BARANYA MEGYEI PILOT VIZSGÁLAT KERETÉBEN” C. KUTATÁSRA VONATKOZÓAN	21
6.2 „A LOKÁLISAN ELŐREHALADOTT RECTUM DAGANATOS PÁCIENSEK TÚLÉLÉSÉT ELŐREJELZŐ TUMOR-ASSZOCIÁLT FEHÉRJÉK EXPRESSZIÓJA” C. KUTATÁSRA VONATKOZÓAN	23
7. EREDMÉNYEK	27
7.1 „A COLORECTALIS DAGANATOS BETEGEK KEZELÉSHEZ JUTÁSÁNAK JELLEMZŐI EGY BARANYA MEGYEI PILOT VIZSGÁLAT KERETÉBEN” C. KUTATÁSRA VONATKOZÓAN	27
7.1.1. <i>A betegek, a daganatok és a kivizsgálás jellemzői</i>	<i>27</i>
7.1.2. <i>A beutalást/kivizsgálást indító orvos szakiránya és a tünetek jellegének kapcsolata</i>	<i>30</i>
7.1.3. <i>A daganat stádiuma és a tünetek gyakoriságának kapcsolata</i>	<i>31</i>
7.1.4. <i>A Terápiáig Eltelt Intervallum (TEI), a kivizsgálást indító orvos szakiránya, valamint a daganat stádiumának összefüggése.....</i>	<i>32</i>
7.2 „A LOKÁLISAN ELŐREHALADOTT RECTUM DAGANATOS PÁCIENSEK TÚLÉLÉSÉT ELŐREJELZŐ TUMOR-ASSZOCIÁLT FEHÉRJÉK EXPRESSZIÓJA” C. KUTATÁSRA VONATKOZÓAN	33
7.2.1. <i>A fehérjeexpresszió a kezelés előtti mintákban, klinikai paraméterek és a terápiára adott szövettani válasz</i>	<i>33</i>
7.2.2. <i>A kezelés előtti fehérjék expressziója és a 10 éves teljes túlélés (OS) közötti kapcsolat.....</i>	<i>37</i>
7.2.3. <i>A klinikai paraméterek (szövettani válasz, tumor lokalizációja, nem) és a 10 éves OS közötti kapcsolat.....</i>	<i>38</i>
7.2.4. <i>A kezelés előtti fehérjék expressziójának és a klinikai paramétereknek, mint a teljes túlélés potenciális független prognosztikai tényezőinek elemzése</i>	<i>39</i>
7.2.5. <i>A kezelés előtti fehérjék expressziója, a klinikai paraméterek és az áttétképződésig eltelt idő közötti kapcsolat.....</i>	<i>40</i>
8. MEGBESZÉLÉS.....	43
9. TÉZISEIM	52
9.1 „A COLORECTALIS DAGANATOS BETEGEK KEZELÉSHEZ JUTÁSÁNAK JELLEMZŐI EGY BARANYA MEGYEI PILOT VIZSGÁLAT KERETÉBEN” C. KUTATÁSRA VONATKOZÓAN	52
9.2 „A LOKÁLISAN ELŐREHALADOTT RECTUM DAGANATOS PÁCIENSEK TÚLÉLÉSÉT ELŐREJELZŐ TUMOR-ASSZOCIÁLT FEHÉRJÉK EXPRESSZIÓJA” C. KUTATÁSRA VONATKOZÓAN	52
10. KÖVETKEZTETÉSEK.....	54
11. REFERENCIÁK.....	56
12. PUBLIKÁCIÓK.....	63
12.1 A TÉZISHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK	63
12.2 A TÉZISHEZ NEM KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK	63
13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	64

1. Rövidítések jegyzéke

Capox – capecitabine (5 FU), oxaliplatin

CRC - kolorektális karcinóma

DEI – diagnózisig eltelt idő

ED – Emergency Department (sürgősségi ellátó hely)

FOLFIRINOX – 5 FU, oxaliplatin, irinotecan, leukovorin

FOLFOX – 5 FU, oxaliplatin, leukovorin

GHRH – growth hormone-releasing hormone

GP - general practitioner (házi orvos)

GHRH-R – growth hormone-releasing hormone receptor

Hsp – hősokk protein

Hsp 16.2 – hősokk protein 16.2

Hsp90 – hősokk protein 90

sHsp – kis hősokk protein

IGF-I - inzulinszerű növekedési faktor I

LMR – lymphocyt-monocyt ratio (lymphocyt-monocyt arány)

MSI-high – microsatellita instabil

NRCT – neoadjuváns radiokemoterápia

OS – overall survival (teljes túlélés)

p-Akt – foszforilált Akt

PD-1 - programozott sejthalál receptor-1

PDL-1 - programozott sejthalál receptor ligand-1

RCT – radiokemoterápia

SOUL - heme-binding protein 2

TEI – terápiáig eltelt idő

TRG – tumor regressziós grádus

TTI - Total Treatment Intervals (terápiáig eltelt idő)

2. Összefoglaló (magyar)

Bevezetés

Az európai országok közül Magyarország a colorectalis daganatos incidencia és mortalitás szempontjából az élen szerepel. Ennek hátterében a beteghez és az egészségügyi rendszerhez köthető tényezők is állhatnak. A végbélrák az összes colorectalis daganat közel egyharmadát teszi ki. Korábbi vizsgálatok szerint egyes klinikai és molekuláris markerek a betegek túlélésének lehetséges prognosztikai mutatói.

Célkitűzések:

I. Kutatásunk célja egyrészt az volt, hogy egy pilot vizsgálat keretében feltárjuk a colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának körülményeit, azáltal, hogy a betegek első tüneteinek, kivizsgálásuk jellemzőinek, betegségük stádiumának, és a terápiaig eltelt idők közötti összefüggéseket elemezzük.

II. Tanulmányunk másik célja az volt, hogy megvizsgáljuk az összefüggést egyes jelátviteli fehérjék expressziójának (GHRH-R, a Hsp90, a Hsp16.2, a p-Akt és a SOUL fehérjék) intenzitása és az áttétképződésig eltelt idő, valamint a 10 éves teljes túlélés (OS) között, lokálisan előrehaladott végbélrákos betegek mintáiban. Azt is megvizsgáltuk, hogy a betegség kimenetele összefüggésben áll-e más klinikai paraméterek jelenlétével.

Módszertan

I. Retrospektív adatgyűjtés történt 26 Baranya megyei háziorvosi praxis colorectalis daganatos betegeinek (n=212) adataira vonatkozóan a praxis, valamint a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ (PTE KK) adatbázisából. Meghatároztuk a Terápiaig Eltelt Intervallumot (TEI), ami az első orvos-beteg találkozástól, amikor a beteg colorectalis daganatra utaló tünetekkel először jelentkezett orvosnál, a terápia megkezdésének első napjáig eltelt időt jelenti. Az statisztikai elemzés során deskriptív analízist, valamint varianciaanalízist végeztünk.

II. 109 beteg tumormintáit vizsgáltuk retrospektív módon. A kezelés előtti tumormintákon immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a GHRH-R, Hsp90, Hsp16.2, p-Akt és SOUL fehérjék expressziójának intenzitását. Kaplan-Meier görbéken mutattuk be a biomarkerek expressziójának intenzitása, a klinikai paraméterek, az áttétképződésig eltelt idő és a 10 éves teljes túlélés közötti kapcsolatokat.

Eredmények

I. A sürgősségire került betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbéltáji fájdalom volt, míg a háziorvost felkereső betegek a véres székletet említették legtöbbször. A sürgősségi osztályon jelentkező betegek esetében lényegesen magasabb arányban (61%) diagnosztizáltak késői (III-IV.) stádiumú daganatot, mint a háziorvoshoz forduló betegek körében (42,7%). A TEI rövidebb volt, ha a betegek sürgősségi osztályra kerültek (TEI medián: 15 nap késői (III-IV.), 34,5 nap korai (I-II.) stádiumú daganat esetén), mint amikor háziorvosnál jelentkeztek először (TEI medián: 86 nap késői, 83 nap korai stádiumú daganat esetén).

II. A p-Akt, a GHRH-R és a Hsp90 fokozott expressziója szignifikáns korrelációt ($p=0,001$; $p=0,000$; $p=0,004$;) mutatott az alacsonyabb 10 éves túléléssel, továbbá a p-Akt és a GHRH-R magas expressziós szintje szignifikánsan rövidebb áttétképződésig eltelt idővel korrelált. A végbél alsó harmadára lokalizált tumorok mind a hosszabb áttétképződésig eltelt idővel, mind a 10 éves túlélés javulásával mutattak szignifikáns összefüggést.

Következtetések

I. A sürgősségi és a háziorvosi kivizsgálás esetén észlelt terápiáig eltelt intervallumok összemérhetőek a nyugat-európai országokéval. A hazai magas mortalitási mutatók háttérben inkább a betegek késedelmes orvoshoz fordulása állhat, mely a primer és szekunder prevenció fontosságára hívja fel a figyelmet. A vizsgálatunk által meghatározott markerek lehetőséget nyújthatnak a rectum daganatok elleni terápiák egyénre szabásában és jól előrejelezhetik a várható 10 éves túlélést.

II. A Hsp 90, a pAkt és a GHRH-R expressziós szintje, valamint a végbél alsó harmadára történő lokalizáció előre jelezte a várható 10 éves túlélést lokálisan előrehaladott végbélrákos betegeknél. A GHRH-R és a Hsp90 expressziója a túlélés független prognosztikai tényezői voltak. Eredményeink alapján felmerül, hogy a GHRH-R különösen fontos szerepet játszhat mind molekuláris biomarkerként, mind pedig az előrehaladott végbélrák daganatellenes kezelésének célpontjaként.

3. Abstract

Introduction

Hungary has one of the leading colorectal cancer incidence and mortality rates in Europe.

Patient-related and healthcare-related factors may all play a role.

Rectal cancer constitutes nearly one-third of all colorectal cancer diagnoses and certain clinical and molecular markers have been studied as potential prognosticators of patient survival.

Objectives

I. Our objective was to investigate the characteristics related to the treatment of colorectal cancer patients by analysing their initial symptoms, disease stage, referral characteristics and Total Treatment Intervals (TTI).

II. The main objective of our study was to investigate the relationship between the expression intensities of certain proteins: Growth hormone-releasing hormone receptor (GHRH-R), Hsp90, Hsp16.2, p-Akt and SOUL in specimens of locally advanced rectal cancer patients and time to metastasis as well as 10-year overall survival (OS). We also investigated whether these outcome measures were associated with the presence of other clinical parameters.

Methods

I. A retrospective study was conducted based on data from colorectal patients (n=212) from the databases of 26 General Physician (GP) practices and the University of Pécs Clinical Center. The Total Treatment Interval (TTI) was determined as the number of days from the first patient-physician consultation with symptoms until the first day of treatment. Descriptive analysis and analysis of variance were performed.

II. 109 patients were investigated retrospectively. Samples of pretreatment tumors were stained for proteins GHRH-R, Hsp90, Hsp16.2, p-Akt and SOUL using immunohistochemistry methods. Kaplan-Meier curves were used to show the relationship between intensity of expression of biomarkers, clinical parameters, time-to metastasis and 10-year OS.

Results

I. Patients' most common symptom was abdominal/rectal pain when presenting at the Emergency Department while bloody stool was the most common among patients visiting their GP. The proportion of patients with advanced stage (III.-IV.) cancer was significantly higher at the Emergency Department (ED), than among patients visiting their GP (61% and 42.7%, respectively). The TTI was shorter when patients presented at the ED (TTI median: 15 days for advanced stage, 34.5 days for early (I-II.) stage cancer), than when they initially visited their GP (TTI median: 83 days for early stage, 86 days for advanced stage cancers).

II. High levels of p-Akt, GHRH-R and Hsp90 were associated with significantly decreased 10-year OS ($p=0.001$; $p=0.000$; $p=0.004$;) and high expression levels of p-Akt and GHRH-R were correlated with significantly shorter time to metastasis. Tumors localized in the lower third of the rectum were linked to both significantly longer time to metastasis and improved 10-year OS.

Conclusions

I. The TTIs for patients visiting the ED or their GPs were similar to those found in Western European countries. The high mortality rates in Hungary are more probably due to patient-related delays, which highlight the importance of primary and secondary prevention.

II. Hsp 90, pAkt and GHRH-R as well as the lower-third localization of the tumor were predictive of 10-year OS in locally advanced rectal cancer patients. GHRH-R and Hsp90 expression were independent prognosticators of OS. Our results imply that GHRH-R could play a particularly important role both as a molecular biomarker and as a target for anticancer treatment of advanced rectal cancer.

4. Bevezetés

4.1 A kutatási témaválasztás indokai

Magyarországon az elmúlt két évtizedben a colorectalis daganatok incidenciájában növekvő tendencia volt megfigyelhető (1). A hazai helyzet súlyossága még nyilvánvalóbbá válik, ha figyelembe vesszük, hogy a colorectalis daganatok okozta halálozás jelentős része megelőzhető lenne, mivel a vastag- és végbélrák fejlődésének biológiai sajátosságai lehetőséget adnak arra, hogy korai stádiumban felismerésre kerüljön a malignus elváltozás. A colorectalis daganatok kialakulása hosszú, időigényes folyamat, kifejlődésük az adenoma–carcinoma tengelyen keresztül történik. Ennek lényege, hogy a kezdetben bizonyos fokú sejttípiát mutató polipból elsőként in situ elváltozás keletkezik, mely invazív carcinomává progrediál (2, 3). A folyamat hosszú évekbe telik, ami megfelelő szűrőprogramokkal és hatékony lakossági tájékoztató programokkal esélyt adhat a betegség korai diagnosztizálására. Sajnos hazánkban jellemzően a colorectalis daganatok többsége késői stádiumban kerül felfedezésre, ennek egyaránt vannak a páciensekhez és az egészségüghöz köthető vonatkozásai is. Kutatásunk egyik célja ezért az volt, hogy az egészségüghöz kapcsolódó tényezőket meghatározzuk, és elemezzük az orvoshoz forduló betegek tüneteit, valamint a kivizsgálásuk jellemzői és a terápiáig eltelt időintervallumok közötti összefüggéseket. Ezáltal azonosíthatók azok a tényezők, melyek szerepet játszhatnak a colorectalis daganatok korábbi diagnosztizálásában. Kutatásunk másik célja pedig olyan biomarkerek azonosítása volt, melyek összefüggésbe hozhatók az áttétképződésig eltelt idővel és a betegek 10 éves teljes túlélésével végbéldaganatos betegeknél.

4.2 A colorectalis és a rectum daganatok népegészségügyi jelentősége

A colorectalis daganatok világszerte komoly népegészségügyi problémát jelentenek. Incidenciáját tekintve a férfiak között a második, a nők esetében a harmadik leggyakrabban diagnosztizált daganatos megbetegedés a világon, évente 1.2 millió új esettel világszerte (4). A közép-európai országok, beleértve hazánkat is, magas incidenciával és kedvezőtlen mortalitási adatokkal rendelkeznek. Magyarországon az elmúlt két évtizedben az incidenciában növekvő tendenciát figyeltek meg, ezzel párhuzamosan a mortalitás enyhén hullámzó jelleggel stagnáló számokat mutat (5). Az európai országok közül hazánk incidenciája szempontjából az első, az életkor szerinti standardizált mortalitás szerint pedig a második helyen szerepel. A magyarországi mortalitás évente 4-10/10.000 fő (EUROSTAT, Causes of death - deaths by

country of residence and occurrence, https://doi.org/10.2908/HLTH_CD_ARO).

A medián életkor a diagnózis megállapításakor Magyarországon 70 év, azonban az előrejelzések szerint ez a szám a jövőben emelkedhet. A betegség fiatal korban ritkán fordul elő, amennyiben mégis megjelenik, döntő többségben familiáris eredetű. Az esetek mindössze 6.7%-ban jelentkezik 50 éves kor alatt, azonban 50 éves kor felett 5 évente majdnem kétszeresére nő az incidencia, az előfordulás erőteljes férfi dominanciát mutat.

4.3 A colorectalis daganatok elhelyezkedése, tünettana, epidemiológiája

A vastagbél keretszerűen helyezkedik el a hasüregben, teljes egészében és lefutásában peritoneum felülettel borított, az ileocecalis határtól a sigma-rectum határig terjed. A sigma-rectum határt az anusnyílástól számított 16 cm-ben határozták meg. A colorectalis daganatokat anatómiailag 3 csoportba szokták sorolni. Az 1. csoportba tartoznak a jobb colonfél daganatai: a caecum, a colon ascendens, a flexura hepatica és a colon transversum daganatai. A 2. csoportba a bal colonfél daganatait soroljuk: a flexura lienalis, a colon descendens, a colon sigmoideum daganatait. A 3. csoportba pedig a rectum daganatai tartoznak. A rectum tumorok elhelyezkedésük alapján tovább oszthatóak alsó, középső és felső harmadi tumorokra. Ezek határai sorrendben az anusnyílástól 4-8 cm, 8-12 cm és 12-16 cm. A 4 cm-ig terjedő canalis analis folyamatait az anuscarinomák közé soroljuk. A colorectalis daganatok 25-45%-a végbélben fordul elő. A jobb colonfél vérellátását az arteria mesenterica superior, a bal colonfélét az arteria mesenterica inferior biztosítja. A colon vérellátására a szegmentális struktúra jellemző, ami collateralis, összekötő anastomosisokból áll. A rectum vérellátását három artéria látja el. A felső az arteria mesenterica inferior ága, a középső az arteria iliaca interna ága, az alsó pedig az arteria pudenda internából ered. A colon vénás elvezetése az artériákat követi és a vena portae irányába vezet. Nyirokelvezetése a serosa közeli nyirokcsomókon keresztül az aorta menti retroperitonealis nyirokcsomókban folytatódik. A rectum vénás elvezetése három irányba is tart, a vena cava inferior irányába, a vena mesenterica irányába, illetve a gerincet övező vénás plexus irányába. Ez magyarázatot ad arra, hogy haematogén úton nemcsak a hasüregen belül, hanem azon kívül is képződhetnek primeren áttétek. Nyirokelvezetése a felső és a középső harmadból a mesorectumon át, az artériák mentén futó nyirokelvezetéssel történik. Az alsó harmadból, különösen az anusnyíláshoz közel a nyirokelvezetés jelentős része a lágyékhajlati nyirokrégió felé tart. Ezek ismerete rendkívül fontos, mert a colorectalis daganatok radikális sebészi kezelése csak akkor biztonságos, ha a

tumorról együtt ezeket a struktúrákat is eltávolítják, így csökkenthető a recidívaképződés veszélye (1) (6).

A colorectalis daganatok gyakori tünetei közé tartozik a hasi/végbéltáji fájdalom, a véres széklet, a széklet habitus változás és a hasmenés. Előfordulnak, kevésbé gyakori tünetek is, mint például a gyengeség/fáradékonyság, fogyás és hasi diszkomfort érzés. Ezek mellett előfordulhat még hasi teltségérzés, székrekedés, hányinger, vagy hányás. Előfordul, hogy a colorectalis daganat okozta obstrukció, vagy a kialakult ileus okoz először panaszt a betegnek. A colorectalis daganatok sokáig tünetmentesek is lehetnek, illetve előfordul, hogy a már kialakult áttétek okoznak először panaszt, tünetet a páciensnek, ilyenek lehetnek például a csontfájdalom, fejfájás vagy különböző neurológiai tünetek (7, 8).

A rosszindulatú daganatok kiemelt jelentőségű betegcsoportnak számítanak népegészségügyi szempontból az egész világon. A szív-és érrendszeri megbetegedések után a második leggyakoribb halálok a daganatos megbetegedések. Magyarországon körülbelül minden negyedik ember halálát daganatos betegség okozza, minden évben. Az EUROSTAT adatai szerint mind a férfi, mind a női rákhalálozásban az első helyen áll Magyarország az Európai Unió 27 tagállama között (1. táblázat). Hazánkban az utóbbi években az új daganatos betegségek incidenciája folyamatosan emelkedik, míg a halálozás enyhén hullámzó jelleggel stagnáló számokat mutat. Gyakorisági sorrendben (incidencia) szempontjából Magyarországon első a tüdőrák, második a colorectalis daganat és harmadik az emlőrák, mindkét nemre nézve (2. táblázat, 1. grafikon). Nemekre lebontva a primer lokalizációk gyakorisági sorrendje férfiaknál a tüdőrák, a colorectalis rák és a prosztata rák. Nőknél az emlőrák, a tüdőrák és a colorectalis daganat a sorrend.

Magyarországon a rákhalálozási gyakoriságot a tüdőrák vezeti, amelyet a colorectalis daganat, valamint az emlőrák követ (3. táblázat, 2. grafikon). Férfiaknál a sorrend tüdőrák, colorectalis daganat, prosztatarák, nőknél tüdőrák, emlőrák, colorectalis rák, csökkenő sorrendben, az első három daganatos halálok (az EUROSTAT, a Nemzeti Rákregiszter és a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján).

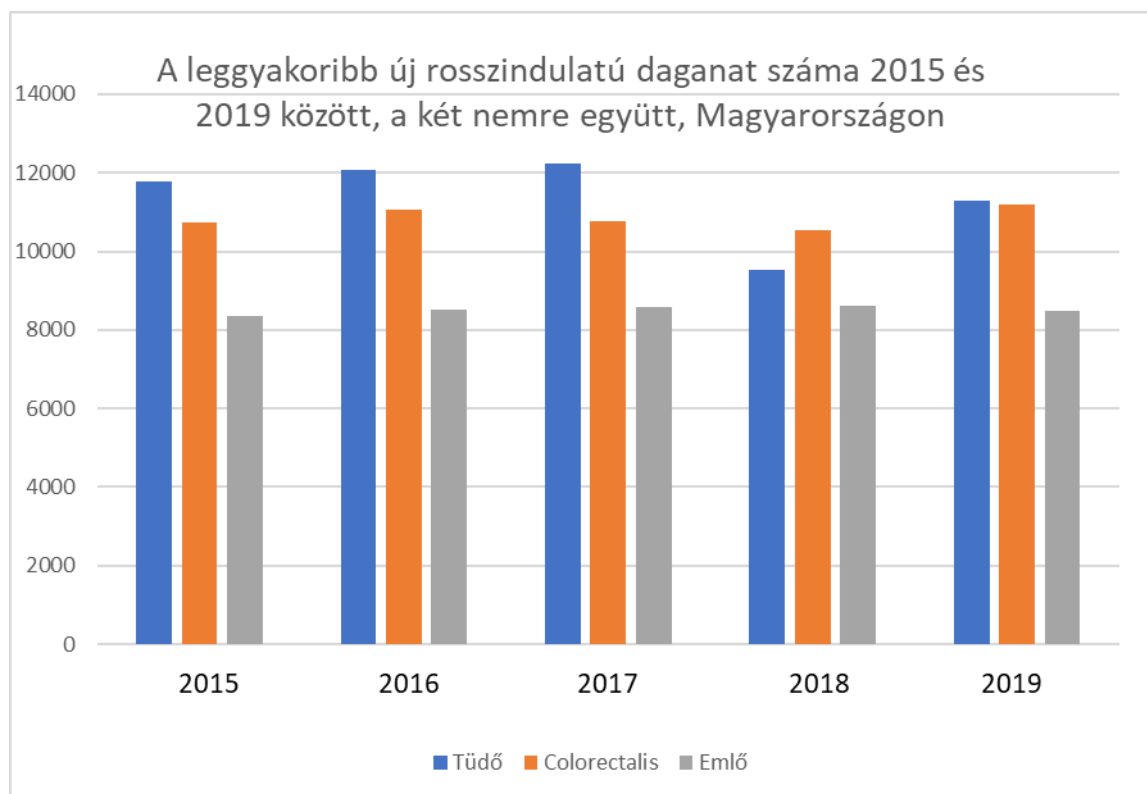
1. Táblázat: A standardizált daganatos halálozási arány (100 000 lakosra számítva) az Európai Unió 27 tagállamában együtt, Magyarországon, illetve néhány nyugat-európai és kelet-közép európai országgal összehasonlítva. Zárójelben Magyarország pozíciója a 27 tagállam között. Saját ábra, az EUROSTAT adatai alapján

Ország	Standardizált daganatos halálozási arány (100 000 lakosra számítva)		
	Összesen	Férfi	Nő
EU-27	251,5	349,1	200,6
Magyarország	348,1 (1.)	478,7 (1.)	266,5 (1.)
Németország	253,2	328,4	202,1
Franciaország	245,4	339,9	178,3
Lengyelország	292,3	405,9	222
Románia	273,2	381,8	194,3

2. Táblázat: A leggyakoribb új rosszindulatú daganatok száma, férfiakra és nőkre vonatkoztatva. Saját ábra, a Nemzeti Rákregiszter és a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján

A leggyakoribb új rosszindulatú daganat száma 2015 és 2019 között, a két nemre együtt, Magyarországon					
Lokalizáció	2015	2016	2017	2018	2019
Tüdő	11772	12062	12234	9526	11305
Colorectalis	10721	11046	10780	10530	11198
Emlő	8362	8532	8587	8609	8488

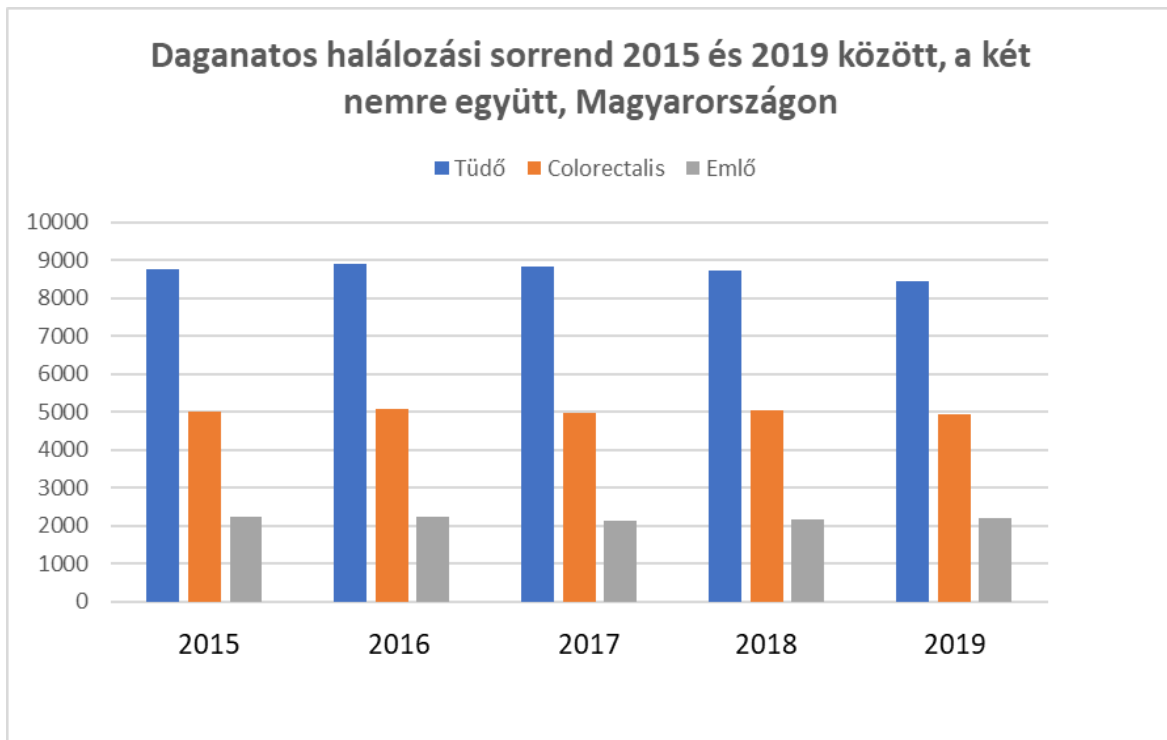
1. grafikon A leggyakoribb új rosszindulatú daganatok száma, a két nemre együtt. Saját ábra, a Nemzeti Rákregiszter és a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján



3. Táblázat: Daganatos halálozási sorrend Magyarországon, a két nemre együtt. Saját ábra a Nemzeti Rákregiszter és a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján

Daganatos halálozási sorrend 2015 és 2019 között, a két nemre együtt, Magyarországon					
Lokalizáció	2015	2016	2017	2018	2019
Tüdő	8753	8883	8840	8716	8447
Colorectalis	5008	5059	4985	5034	4933
Emlő	2250	2248	2138	2149	2200

2. Grafikon: Daganatos halálozási sorrend Magyarországon, a két nemre együtt. Saját ábra a Nemzeti Rákregiszter és a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján



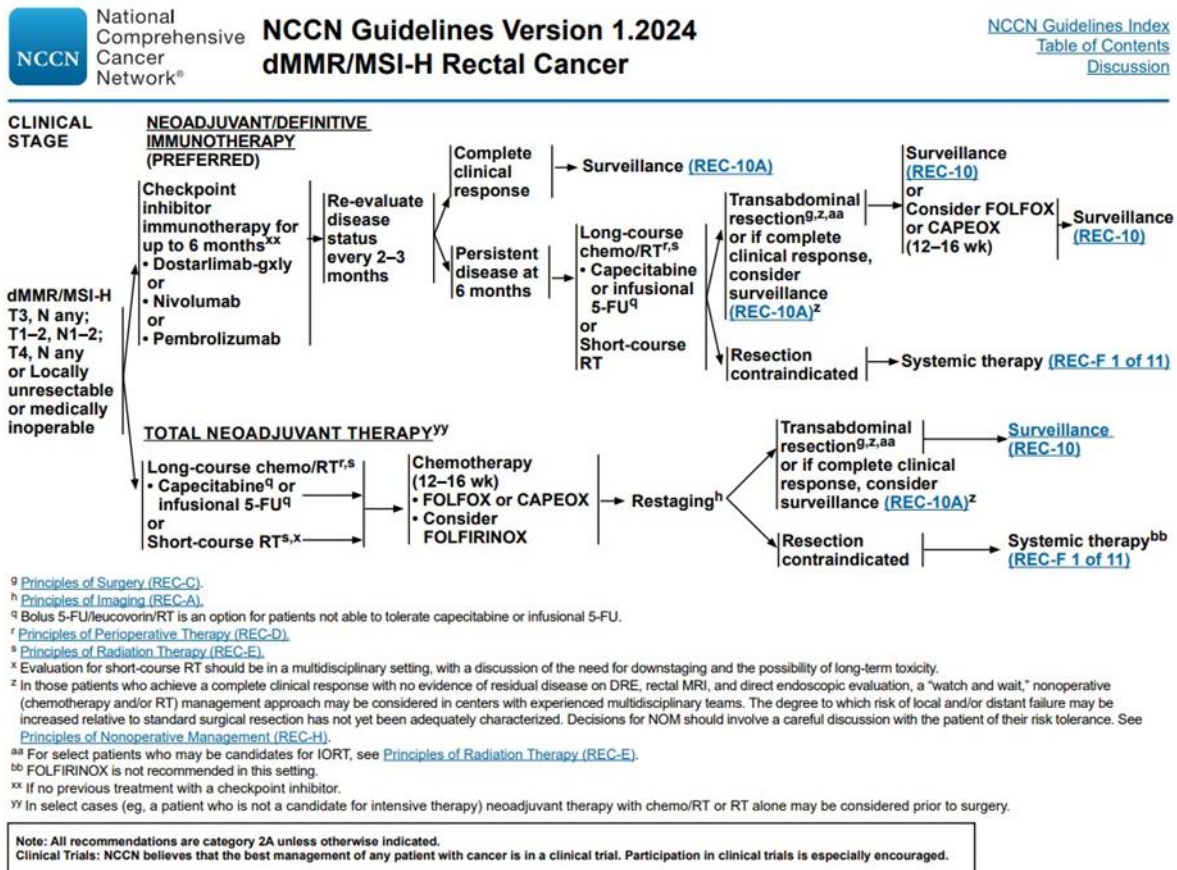
4.4 A lokálisan előrehaladott végbéldaganatok kezelése

A lokálisan előrehaladott vagy adott esetben irrezekábilis rectum tumorok ellátásában nagy szerepe van a neoadjuváns radiokemoterápiának. Ez azt jelenti, hogy egy időben kerül alkalmazásra a két fő onkológiai ellátási mód, a kemo- és a sugárterápia. Ezek együttes, egymást erősítő (szinnergikus) hatásától várjuk, hogy a kezdetben irrezekábilis tumor regressziót mutasson és rezekábilissá váljon. Jellemzően hosszú, 5 hetes sugárkezelést végeznek, 45-50 Gy dózisban a kismedencére, 1,8-2 Gy frakciódózissal, emellett az 1. és 5. héten 5 FU kemoterápia adásával vagy alternatívaként capecitabine per os tablettás kezelés alkalmazásával. A kemoterápiára nem alkalmas betegek esetén rendszeresen alkalmaznak, úgynevezett rövid sugárterápiát, amely során a betegek 5x5 Gy kismedencei besugárzásban részesülnek, kemoterápia nélkül (9).

Újfajta kezelési modalitás az úgynevezett TNT (Totál Neoadjuváns Terápia). Ebben az esetben a hosszú radiokemoterápia mellett a beteg FOLFOX vagy FOLFIRINOX kemoterápiában is részesül. A kemoterápia történhet a radiokemoterápia előtt vagy után is. A vénás 5 FU kemoterápia, per os capecitabine 5 FU-val is helyettesíthető az egyes protokollokban (7).

A legújabb kezelési lehetőség, az immunterápia is helyet szerzett a lokálisan előrehaladott rectumtumorkok ellátásában, MSI-high szövettani típus esetében. Az immunterápia során a szervezet saját sejt immunelemei ismerik fel és pusztítják el a daganatsejteket, a PD1-PDL1 útvonal gátlása révén. Többnyire pembrolizumabot (PD1 gátló antitest) alkalmaznak ebben a kezelési formában (NCCN2024).

Printed by Dávid Fodor on 2/13/2024 6:57:45 AM. For personal use only. Not approved for distribution. Copyright © 2024 National Comprehensive Cancer Network, Inc., All Rights Reserved.



REC-14

4.5 Az egészségügyben eltöltött várakozási idők colorectalis daganatos páciensek esetében

A colorectalis carcinoma kialakulása hosszú időbe telik: egy premalignus elváltozás 10-15 év alatt alakul át rosszindulatú betegséggé. Ez az intervallum lehetővé teszi a betegség időben történő felismerését, például szűréssel, és ezt követően a sikeres kezelést (10). A páciens túlélésének meghatározó előrejelző tényezője a colorectalis daganat diagnóziskor megállapított stádiuma (11, 12). A korai stádiumban (I-II-es stádium) felfedezett colorectalis carcinomák esetében 80-90 %-os 5 éves túlélést figyeltek meg. Előrehaladott (III-as stádium) formában ez a szám 50-60 %. Metasztatizáló (IV. stádium) stádiumban az 5 éves túlélés mindössze 10-12 % (13).

A colorectalis carcinoma helyes diagnózisának felállításában mutatkozó késedelmek részben a beteggel kapcsolatos késedelmek, részben pedig az egészségügyi ellátással kapcsolatos késedelmek miatt következnek be. A betegek hónapokig tünetmentesek maradhatnak (14), vagy tüneteiket elbagatellizálják, ami végső soron a beteggel kapcsolatos késedelmeket eredményezi (15-18). A betegek leggyakrabban bélspecifikus tünetekkel jelentkeznek orvosnál, például végbélvérzéssel, hasi fájdalommal, vagy széklet habitus változással. Egyes betegek pedig általános tünetek miatt kerülnek az egészségügyi rendszerbe, mint például fogyással, étvágytalansággal vagy fáradékonysággal (19, 20).

A colorectalis carcinoma diagnózisának késedelmes felállításának más okai az egészségügyi ellátással hozhatók összefüggésbe. Lyratzopoulos és munkatársainak tanulmánya szerint a colorectalis carcinomában szenvedő betegek egyharmada három vagy több alkalommal jelentkezik a háziorvosánál, mielőtt szakorvoshoz irányítják, míg ez az arány az összes rákos megbetegedés esetében csak 17,9 % (21). A diagnosztikai erőforrások elégtelensége, beleértve a képalkotó eljárások és a képzett endoszkópos szakemberek hiányát, tovább növeli a várakozási időt az egészségügyi ellátásban.

Számos nyugati országban tanulmányozták a tünetek megjelenésétől a diagnózis felállításáig és a daganat kezeléséig eltelt várakozási időket (22-26). Egyes országok iránymutatásokat fogalmaztak meg és vezettek be a diagnosztikai és terápiás várakozási időkre vonatkozóan. Dániában az ajánlás szerint például az orvosi beutalás és a colorectalis szövettani diagnózis felállítása között legfeljebb 14 nap telhet el, a kezelés pedig legkésőbb további 14 napon belül el kell kezdődjön (27). Az Egyesült Királyságban az irányelvek szerint a daganatos betegek kezelését a háziorvos által történő beutalástól számított 2 hónapon belül meg kell kezdeni (28).

A tünetmentes lakosság colorectalis carcinoma szűrése bizonyítottan csökkenti a colorectalis carcinoma halálozását, és értékes módszernek bizonyult a colorectalis daganattal összefüggő halálozások megelőzésében, ezért számos országban colorectalis carcinoma szűrési stratégiát dolgoztak ki (29-31). Hazánkban 2000 óta végeznek pilot modellszűrési programokat a lakosság körében (3), de az egy- vagy kétlépcsős szűrési eljárások elfogadása körüli viták akadályozták a rendszeres lakossági szűrőprogram bevezetését (32). Bár jelenleg az ország egész területén elvileg már lehetőség van vastagbél-daganat szűrésen részt venni, a gyakorlatban a teljeskörű szűrés még nem valósult meg.

Magyarországon a colorectalis carcinomában szenvedő betegek nagyobb eséllyel halnak meg betegségük következtében, mint bármely más európai országban (3, 32, 33). A magyar lakosság colorectalis carcinomával kapcsolatos magas morbiditási és mortalitási rátái miatt indokolt a kiváltó okok vizsgálata.

4.6 Prediktív tényezők szerepe a rectum daganatok kezelésre adott válaszában

A lokálisan előrehaladott rectum daganat kimenetele összefügg a neoadjuváns radiokemoterápiára adott válasszal, ez a válasz azonban betegenként eltérő (34). Az egyéni különbségek miatt tehát alapvető fontosságú, hogy a neoadjuváns radiokemoterápiára várhatóan nem reagáló betegek, feleslegesen ne essenek át a kezelésen, mert így csak időt veszítenek a műtéig, viszont a daganatban nem következik be megfelelő mértékű regresszió. A kezelésre adott válasz előrejelzése, és személyre szabott terápia alkalmazása lenne optimális ezen betegek kezelésében, az időveszteség, valamint a neoadjuváns radiokemoterápia mellékhatásainak elkerülése céljából, ezért az elmúlt években több kutatás is a neoadjuváns kezelésre adott várható válasz előrejelzését, úgynevezett prediktív markerek azonosítását tűzte ki célul (35).

Az egyes kutatások a betegségeket és a terápiák eredményeit különböző időintervallumok mentén értékelik, ezek közül a teljes túlélési idő a diagnózistól számított teljes élettartamot jelöli. Az 5 vagy 10 éves teljes túlélési idő azt jelzi, hogy a diagnózis utáni 5. vagy 10. évben a betegek hány százaléka él, függetlenül attól, hogy a vizsgált időpontban rendelkezik-e a páciens aktív daganattal vagy sem. Kimutatták, hogy a colorectalis carcinoma prognózisa és a beteg várható túlélése szorosan összefügg a daganat lokális kiterjedtségével, illetve a daganat stádiumával (36). Egyes klinikai paramétereket és molekuláris markereket a teljes túlélés előrejelző tényezőjeként azonosítottak korábbi kutatások (36-41). A limfocita / monocita arány (LMR) például összefüggésbe hozható a túléléssel különböző ráktípusokban, beleértve a vastag- és végbélrákot is, több vizsgálat szerint (42-45).

A növekedési hormont serkentő hormon (GHRH) egy hipotalamusz által termelt peptid hormon, amely a különféle szövetekben és daganatokban van jelen. A daganatos szövetek jelentősen több GHRH receptort tartalmaznak, mint a normál szövetek. A GHRH stimulálja a növekedési hormon (GH) szekrécióját, a GHRH-receptorokhoz való kötődést követően a hipofízis elülső részén (46-48). A GH stimulálja az inzulinszerű növekedési faktor I (IGF-I) termelését, amely nagy szerepet játszik a sejtek malignus transzformációjában és az áttétképződésben a különféle rákos megbetegedések kialakulása során (49, 50).

A GHRH receptor és splice variánsainak jelenlétét számos rákos sejtvonalnál kimutatták (46, 48). A GHRH a tumorok autokrin / parakrin növekedési faktorának tekinthető, mivel jelenlétét igazolták emlő-, endometrium-, petefészek-, vastagbél-, gyomor-és tüdőrákban is (51). Ezért a GHRH/GHRH-R jelátviteli útvonal elleni célzott beavatkozás tumorellenes hatású lehet egyes daganatos megbetegedésekben (52). Kísérleti körülmények között, in vitro sejtvonalakon keresztül vizsgálták a GHRH inhibitorok daganatellenes hatását (53). A GHRH inhibitorok például gátolják a GH szekréción és az autokrin GHRH kötődést a daganatsejteken lévő GHRH-receptorokhoz, ezáltal csökkentik a tumor által kibocsájtott IGF-I. termelődését (54-56).

A hősokk fehérjék (Hsp) egy népes fehérje család tagjai, melyek minden élőlényben megtalálhatóak. A sejtek az őket érő különböző típusú stresszekre adott válaszként termelik a hősokk fehérjéket. Ilyen stresszhatásokat jelenthetnek például környezeti változások, extrém hőmérséklet, anoxia, hipoxia, különféle kémiai ágensok, melyek fehérje denaturációt indukálhatnak a sejtekben (57). Ilyen esetekben, a hősokk fehérjék molekuláris chaperonként működnek, elősegítik a sejtfehérjék stabilizálását, így fontos szerepet játszanak a sejtvédelemben és sejt túlélésben, azaz antiapoptotikus hatásúak (58). A Hsp-k ATP-áz aktivitással rendelkező ATP-függő fehérjék, kivéve a kis hősokk fehérjéket (sHsp) (59).

A hősokk fehérjéket a molekulatömegük alapján csoportosíthatjuk. A kis hősokk fehérjék (sHsp-k) alacsony (2 és 43 kD közti) molekuláris tömeggel rendelkeznek. A többi Hsp-hez hasonlóan ezek is molekuláris chaperonok, és szerepet játszanak többféle daganat kialakulásában (60, 61).

A Hsp90 is egy molekuláris chaperone, mely biztosítja számos olyan kliens fehérje stabil konformációját, melynek szerepe lehet a rosszindulatú sejtek progressziójáért felelős jelátviteli utak működésében (62). A kliens fehérjéi közé tartozik az EGFR, IGF-1R, CDK4, Akt, ERbB2, c-Met, BCR-ABL, RET, Fms-szerű tirozin kináz 3 (FLT3), BRAF, NF- κ B, Raf-1, HER2/Neu, NPM-ALK, neuronális nitrogén-oxid szintáz (nNOS). Így a Hsp90 sokat tanulmányozott molekulává vált a rákkutatásban (58, 59, 63, 64). Több daganattípusban is bizonyították a Hsp90 fokozott expresszióját, beleértve az oropharyngealis laphám sejt carcinoma, myeloma multiplexet, tüdő-, emlő-, petefészek-és hasnyálmirigyrákot (58, 59). A kutatások szerint a Hsp90 fokozott expressziója biomarkerként szolgálhat a rossz prognózisú nyelöcsőrák, tüdőrák és hólyagrákok esetében (65).

A néhány éve a munkacsoportunk által először leírt sHsp16.2-ről kimutatták, hogy expresszálódik neuroektodermális tumorokban (40). Egy későbbi tanulmányban egyértelmű

összefüggést találtak a fokozott expressziója és az agydaganatok grádusa között, jelezve, hogy potenciális biomarker lehet agydaganatok esetében (39, 40). A Hsp16.2-nek direkt mitokondriális stabilitást fokozó hatása is van, és a Hsp90-hez kapcsolódva tudja annak hatását potenciózni (41).

Egy másik lehetséges célpont a rákellenes terápiában az Akt jelátviteli útvonal, mivel gyakran túlműködik daganatos sejtekben. Az Akt jelátviteli útvonalat tartják az egyik legjelentősebb apoptozist gátló útvonalnak (66, 67).

A SOUL fehérje, melyet szintén munkacsoportunk írt le először, egy BH3 doménnel rendelkező fehérjecsalád tagja, és oxidatív stressz esetén a mitokondriális permeabilitás megváltoztatásával segíti a nekrotikus sejthalált (68). A BH3 doménnel rendelkező Bcl-2 fehérjéről feltételezik, hogy szerepet játszanak a mitokondriális apoptózisban. A Bid és a Bim a Bax típusú fehérjékhez kötődnek a külső mitokondriális membránon BH3 doménjükön keresztül. Ez kiváltja a fehérjék konformációs változását, és a külső mitokondriális membrán oligomerizációja és permeabilizációja nélkül befolyásolja a belső membrán integritását. A lipid kettős réteg és a proapoptotikus Bcl-2 család tagjai között fellépő kölcsönhatások hozzájárulnak az apoptotikus folyamatok lejátszódásához. Míg a Bcl-2 család tagjai csak az apoptotikus folyamatokra hatnak, addig, a Bax fehérje képes a nekrotikus és az apoptotikus sejthalált is önmagában befolyásolni. A BH3-doménnel rendelkező fehérje, a SOUL, bizonyos ingerek, például oxidatív stressz hatására, sejthalált és nekrotikus sejtpusztulást vált ki (68, 69).

Új, fehérje-természetű molekuláris markerek azonosítása azért lehet fontos rectum daganatokban, mert egyrészt potenciális biomarkerekként előre jelezhetik a daganat neoadjuváns radiokemoterápiára adott várható választ, másrészt, mert összefüggés lehet a fehérjék expressziós szintje és a páciens várható teljes túlélési ideje között.

Egy korábbi tanulmányban a kutatócsoportunk elemezte a GHRH-R, Hsp 90, p-Akt, Hsp16.2 és SOUL expressziós szintjét a kezelés előtti rectum daganatmintákban. Az eredmények arra utaltak, hogy a GHRH-R és a Hsp90 független prediktív tényezői voltak a neoadjuváns radiokemoterápiára adott hisztopatológiai válasznak, lokálisan előrehaladott végbélrákos betegeknél (36).

5. Célkitűzések

5.1 A kutatás céljai

„A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilot vizsgálat keretében” c. kutatásra vonatkozóan

Figyelembe véve a colorectalis daganatok magas hazai morbiditási és mortalitási rátáját, kutatásunk célja az volt, hogy pilot vizsgálat keretében elemezzük a colorectalis daganatos betegek első tünetei, valamint kivizsgálásuk jellemzői és a terápiaig eltelt időintervallumok közötti összefüggéseket.

„A lokálisan előrehaladott rectum daganatos páciensek túlélését előrejelző tumor-asszociált fehérjék expressziója” c. kutatásra vonatkozóan

Tanulmányunk másik célja olyan fehérjék azonosítása volt, melyek a betegség kimenetelének potenciális biomarkerei, alapvető fontosságúak a lokálisan előrehaladott végbélrák kezelésének egyénre szabása és hatékonyságának növelése érdekében. Megvizsgáltuk a kezelés előtti tumormintákban a fehérjeexpressziók (GHRH-R, Hsp90, Hsp16.2, p-Akt és SOUL) intenzitását és a 10 éves teljes túlélés (OS), illetve az áttétképződésig eltelt idő közötti kapcsolatokat. Célunk volt továbbá annak vizsgálata, hogy a betegek áttétképződésig eltelt ideje és a 10 éves teljes túlélés (OS) összefügg-e a betegek bizonyos klinikai paramétereivel (nem, a műtétig eltelt idő, a tumor lokalizációja).

5.2 A kutatási kérdéseink

„A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilot vizsgálat keretében” c. kutatásra vonatkozóan

1. Milyen volt a kapcsolat a colorectalis daganat kivizsgálását indító orvos szakiránya és a tünetek jellege között?
2. Milyen volt a colorectalis daganat stádiuma és a tünetek gyakoriságának kapcsolata?
3. Milyen volt a kapcsolat a colorectalis daganat stádiuma és a kivizsgálást indító orvos szakiránya között?
4. Hogyan változott a Terápiaig Eltelt Intervallum medián értéke a colorectalis daganat stádiumától és a kivizsgálást indító orvos szakirányától függően?

„A lokálisan előrehaladott rectum daganatos páciensek túlélését előrejelző tumor-asszociált fehérjék expressziója” c. kutatásra vonatkozóan

1. Van-e összefüggés a GHRH-R, Hsp 90, Hsp 16.2, SOUL és p-Akt expressziója és a neoadjuváns radiokemoterápiára adott hisztopatológiai válasz között lokálisan előrehaladott rectum daganatok esetében?
2. Van-e összefüggés egyes klinikai paraméterek és a neoadjuváns radiokemoterápiára adott hisztopatológiai válasz között lokálisan előrehaladott rectum daganatok esetében?
3. Van-e összefüggés a GHRH-R, Hsp 90, Hsp 16.2, SOUL és p-Akt expressziója és a 10-éves túlélés között lokálisan előrehaladott rectum daganatok esetében?
4. Van-e összefüggés egyes klinikai paraméterek (hisztopatológiai válasz, tumor lokalizáció, nem) és a 10 éves túlélés lokálisan előrehaladott rectum daganatok esetében?
5. Azonosítható-e valamelyik klinikai paraméter vagy fehérje expressziója a túlélés független prognosztikai markereként?
6. Van-e összefüggés egyes klinikai paraméterek (hisztopatológiai válasz, tumor lokalizáció, nem), a vizsgált fehérjék expressziója és a metasztázisig eltelt idő között lokálisan előrehaladott rectum daganatok esetében?

6. Módszertan

6.1 „A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilot vizsgálat keretében” c. kutatásra vonatkozóan

Etikai engedély

A retrospektív vizsgálat a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottságának engedélyével történt (etikai engedély szám: 2017/6744).

Vizsgálati terv

Kutatásunkban retrospektív adatgyűjtés történt Baranya megyei háziorvosok colorectalis daganatos betegeinek adataira vonatkozóan egy 5 éves intervallumon belül (2012.01.01.-2016.12.31). Minden Baranya megyei háziorvosi praxis két alkalommal kapott értesítést a vizsgálatban történő részvétel lehetőségéről, végül 26 háziorvosi praxis jelentkezett önként a praxisukban megjelent colorectalis daganatos betegek adatainak kigyűjtésére. A résztvevő háziorvosi praxisok három dokumentumot kaptak az adatgyűjtés megkezdése előtt: egy a vizsgálat céljait leíró ismertetőt, egy Microsoft Excel formátumú adatrögzítő táblázatot a gyűjtendő adatokról, valamint egy beleegyező nyilatkozatot, melyet kitöltés után visszajuttattak a vizsgálat vezetőjéhez.

Adatgyűjtés

Az adatok kigyűjtése elsősorban a háziorvosi praxisok adatbázisából, további, kiegészítő információk gyűjtése pedig a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ (PTE KK) eMedSol adatbázisából történt. Azon betegek adatai kerültek be a vizsgálatba, akiknek a megadott időintervallumon belül bármilyen stádiumú colorectalis daganata volt (az International Classification of Diseases csoportosítása alapján), és “C”-s kódú diagnózisukat a megadott intervallumon belül vagy az azt megelőző maximum 5 éven belül kapták. Összesen 390 colorectalis daganatos beteg adatait gyűjtöttük össze. A 18 év alatti betegek, vagy azok, akiknek korábbi colorectalis daganatuk újult ki az időintervallumon belül, vagy a vizsgálandó adatok közül valamilyen okból hiányoztak az adataik, kizárásra kerültek a kutatásból. Emiatt végül 212 beteg adatait elemeztük a jelen tanulmányban.

A háziorvosi praxisok, valamint a PTE KK eMedSol adatbázisaiból a következő adatok kerültek kigyűjtésre: (1) demográfiai adatok, (2) beteg tünetei az első (kivizsgálást indító) orvosnál történő jelentkezéskor (3) első (kivizsgálást indító) orvos szakiránya (4) daganat

stádiuma a diagnózis felállításakor (5) a daganatellenes terápia indításának dátuma. Az első orvosnak azt az orvost tekintettük, aki először találkozott a beteggel és elindította a kivizsgálást (pl. labor, hasi ultrahang stb.) és/vagy a kezelés első lépését, aki lehetett a házi orvos, sürgősségin dolgozó orvos vagy bármilyen más szakorvos. A daganat stádium beosztása a szövettan, a képalkotó vizsgálatok, valamint a hivatalos Onkoteam vélemény alapján történt, a 8. Európai Klinikai Onkológiai Társaság “Alsó gasztrointesztinális daganatok” (8. *European Society for Medical Oncology Lower gastrointestinal cancers*) irányelvei alapján. Kiinduló dátumként az első orvos-beteg találkozást tekintettük, amikor a beteg először jelentkezett az orvosnál colorectalis daganatra utaló tünetekkel. Amennyiben a beteg panaszmentes volt, azt a házi orvosi megjelenést tekintettük az első orvos-beteg találkozásnak, amikor a beteg először kapott olyan beutalót az orvostól (pl. labor, hasi ultrahang, stb), mely elindította a betegnél a kivizsgálást colorectalis daganat irányába, és a daganat diagnózisa, a vizsgálatok eredményeként ezután be is igazolódott. A Terápiáig Eltelt Intervallum (TEI) a kiinduló dátumtól, a terápia megkezdéséig eltelt időt jelenti (napok száma). A terápia megkezdésének pedig azt a dátumot tekintettük, amikor a daganatellenes terápia bármilyen formája (sebészi, onkológiai) elkezdődött. Az adatok rögzítését, majd ellenőrzését két független kutató végezte, az adatok pontosságának biztosítása érdekében.

Adatelemzés, statisztikai analízis

A statisztikai elemzés az IBM SPSS Statistics for Windows 24 verzióval történt. Az elemzés során deskriptív analízist (frekvencia és keresztábra elemzést), valamint varianciaanalízist végeztünk. A statisztikai szignifikanciát Kruskal-Wallis és Fisher teszttel számítottuk ki. A tesztek eredményét $p < 0,05$ érték esetében tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

6.2 „A lokálisan előrehaladott rectum daganatos páciensek túlélését előrejelző tumor-asszociált fehérjék expressziója” c. kutatásra vonatkozóan

Etikai engedély

A vizsgálat a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Regionális Tudományos és Kutatásetikai Bizottságának engedélyével történt (etikai engedély szám: 7532-PTE 2019).

Módszerek, betegek, tumorminták

A vizsgálat a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központjában történt, amely a dél-dunántúli régió ellátását biztosító, dedikált onkológiai központ (beleértve a sebészeti és az onkoterápiás osztályokat). Összesen 114, lokálisan előrehaladott (cT3/T4 és/vagy cN+ és cM0) rectumdaganatos beteg vett részt vizsgálatunkban (69 beteg 2005. januárja és 2006. decembere között és 45 beteg 2009. januárja és 2010. márciusa között). Valamennyi beteg neoadjuváns radiokemoterápiában (NRCT) részesült, melyet műtét követett. A kezelés előtti vizsgálatok között szerepelt a digitális rectalis vizsgálat, rectosigmoidoscopy vagy colonoscopy, biopszia, hasi-kismedencei CT, kismedencei MRI, mellkasröntgen vagy CT. A 3D tervezett konformális sugárterápia minden esetben „belly board” pozicionáló eszközzel, hason fekvő helyzetben történt, 18 MV energiájú foton besugárással. A primer tumor és a regionális nyirokcsomók 3D konformális besugárzása 5 héten keresztül zajlott, 25 frakcióban 45/1.8 Gy-es sugárterápiás dózissal. A rádió-kemoterápia részeként, 500 mg/m² 5-Fluorouracil folyamatos infúzióban és 30 mg/m² folsavat bólusban kaptak a páciensek a sugárterápia 1. és 5. hetének 1-5. napján. Négy héttel a neoadjuváns radiokemoterápia befejezése után a betegek restaging vizsgálata történt, majd a sebészi rezekciót 6-9 héttel a neoadjuváns terápia befejezése után végezték el, összesen 109 betegnél (5 beteg kizárásra került a vizsgálatból). Minden esetben kuratív rezekciót végeztek. Minden beteg beleegyező nyilatkozatot töltött ki, amelyet a helyi etikai bizottság jóváhagyott. A műtéten átesett betegek főbb klinikai jellemzőit az 4. táblázat tartalmazza (4. táblázat).

4. táblázat: A betegek és daganatok jellemzői

Esetszám	N =109
Kor (év)	
≤ 60	60 (55%)
> 60	49 (45%)
Nem	
férfi	55 (50%)
nő	54 (50%)
Klinikai T stádium	
cT2	4 (4%)
cT3	93 (85%)
cT4	12 (11%)
Klinikai N stádium	
cN0	41 (38%)
cN1-2	68 (62%)
Távolság a végbélnyílástól (cm)	
<5	34 (31%)
5-10	43 (40%)
>10	32 (29%)
Műtétig eltelt idő (hét)	
≤ 7	64 (59%)
>7	45 (41%)

Hisztopatológiai kiértékelés

A rezekált minták szövettani értékelésekor a Mandard és munkatársai (70) által kidolgozott válaszrendszert használtuk a neoadjuváns kezelésre adott patológiai válasz meghatározásához. Az ötpontos tumorregressziós osztályozás (TRG) a reziduális tumorsejtek jelenlétén és a fibrózis mértékén alapul. A TRG osztályozás a következőket tartalmazza: A TRG1 (teljes regresszió) a maradék tumor és a végbélfal különböző rétegeire kiterjedő fibrózis hiányát jelenti, a TRG2-t a ritka, a fibrózisban elszórtan jelen lévő maradék tumorsejtek jellemzik, a TRG3-nál a maradék tumorsejtek nagyobb számban vannak már jelen, de a fibrózis még mindig túlsúlyban van, a TRG4 a fibrózis mértékét túlnövő maradék tumort mutatja, a TRG5 a tumorregresszió teljes hiányára utal. A korábbi tanulmányokkal összehangban a statisztikai elemzés megkönnyítése érdekében a TRG választ két csoportba soroltuk: a TRG1-2: jó tumorválaszt, míg a TRG 3-5: rossz tumorválaszt jelentett (70-72).

Hsp16.2 és SOUL elleni poliklonális antitestek előállítás

Nyulak szubkután immunizálása történt 100 pg rekombináns Hsp16.2/GST és SOUL/GST fúziós fehérjével, melyet a munkacsoport állított elő a PTE ÁOK Orvosi Kémiai és Biokémia Intézetében, a korábban leírtak szerint (39, 69, 73). Az emlékeztető injekciók adása 4 hetes időközönként történt, 50 pg fehérjével alkalmanként. Vérvétel után, centrifugálást követően az antiszérumokat -20°C-on tároltuk. Az IgG-eket a gyártó protokollja szerint megadott protein G-Sepharose kromatográfiával (Sigma) tisztítottuk.

Immunhisztokémia

A kezelés előtti tumorszövetminták metszetei formalinban lettek rögzítve és paraffinba ágyazva. Ezt követően a következő primer antitestekkel lettek inkubálva. A GHRH-R antitest mind a GHRH-R, mind a GHRH-R splice változatainak jelenlétét kimutatta. A p-Akt és teljes Hsp90 poliklonális nyúl primer antitestek, a Cell Signaling és a Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA, USA) cégektől lettek beszerezve, emellett a saját fejlesztésű anti-Hsp 16.2 és anti-SOUL poliklonális primer antitesteket használtuk. Az immunhisztokémiai festést a sztreptavidin-biotin-peroxidáz módszer szerint végeztük hidrogén-peroxid/ 3-amino-9-etil-karbazol előhívással, a korábban leírt Universal kit használatával (74). A kontrollmetszetekkel csak szekunder IgG-t inkubáltunk. A tárgylemezek kiértékelése egy Olympus BX50 fénymikroszkóp segítségével történt, beépített fényképező rendszerrel (Olympus Optical Co., Hamburg, Németország). A festődés intenzitása félkvantitatív módon enyhe (+), közepes (++)

vagy erős (+++) festődésként lett rögzítve, a korábban leírtak szerint (75). Belső pozitív kontrollként a minták normál sejtes és érrendszeri struktúráit használtuk. Minden tárgylemezt ugyanaz a tapasztalt patológus értékelte, aki az adott betegre vonatkozó klinikai, patológiai adatokat nem ismerte.

Adatgyűjtés, kategorizálás

A betegek számának csoportonkénti növelése érdekében az elemzésekhez a különböző változatok kategóriáit összevontuk: 60 év feletti életkor vs. 60 év vagy annál fiatalabb, cT2 vs. cT3 vs. cT4, cN0 vs. cN1-2, a végbélnyílástól való távolság kevesebb mint 5 cm vs. 5 és 10 cm közötti vs. több mint 10 cm, a műtétig eltelt idő 7 héten belül vs. 7 héten túl. A statisztikai vizsgálathoz az immunhisztokémiai intenzitásértékeket alacsony intenzitású (0, +) és magas intenzitású (++, +++) kategóriákra osztottuk. A teljes túlélést (OS) a diagnózis felállításának időpontjától a bármilyen okból bekövetkezett halál időpontjáig számítottuk. Az áttétképződésig eltelt időnek azt az időintervallumot tekintettük, amely a diagnózis felállításának időpontjától az első áttét/áttétek megjelenéséig telt el.

A betegparaméterekre és a túlélésre vonatkozó adatokat a klinika elektronikus orvosi adatbázisából (eMedsol adatbázis) és a Nemzeti E-health Infrastruktúra Adatbázisból (EESZT) nyertük. Azokban az esetekben, amikor a túlélésre vonatkozó adatok nem álltak rendelkezésre a fent említett adatbázisokból, kutatócsoportunk egyik tagja felvette a kapcsolatot a beteggel vagy családtagjaival telefonon, információszerezés céljából. Elérhetőségeket szintén az elektronikus egészségügyi rendszerekből nyertünk.

Statisztikai elemzés

A statisztikai elemzéseket a Statistical Package for the Social Sciences 16.0 szoftver (SPSS, Chicago, IL) segítségével végeztük. A klinikai paraméterek és a biológiai markerek összehasonlítására a tumorregresszió fokát és a klinikai választ vizsgáló Chi-négyzet tesztet használtunk. A klinikai- és biológiai markerek és a teljes túlélés (OS), valamint az áttétképződésig eltelt idő közötti kapcsolatot Kaplan-Meier görbék segítségével mutattuk ki, a szignifikancia szintjét pedig log-rank tesztel határoztuk meg. A $(p) < 0,05$ valószínűségi értékeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

7. Eredmények

7.1 „A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilot vizsgálat keretében” c. kutatásra vonatkozóan

7.1.1. *A betegek, a daganatok és a kivizsgálás jellemzői*

212 beteg adatait értékeltük, 56,1 %-uk férfi, 43,9 %-uk pedig nő volt, a betegek 53,3 %-ának vastagbél, 42,5 %-ának végbél daganata volt. A legtöbb beteg a 61-70 év közötti korosztályba tartozott. A colorectalis daganat a kutatásba bevont betegek kisebb része (36,7 %) esetében korai (I-II.) stádiumban, nagyobb része (59,9 %) pedig késői (III-IV.) stádiumban került diagnosztizálásra. A betegek több mint ötödének (22,6 %) voltak távoli áttétei a diagnózis felállításakor. A betegek többsége (59,9 %) a háziorvosát kereste fel először a tüneteivel és a háziorvosa utalta be kivizsgálásra. A betegek majdnem negyede (23,1 %) került rögtön a sürgősségi osztályra tünete miatt. (5.A Táblázat)

Vizsgáltuk a betegek colorectalis daganatra utaló tüneteit, melyekkel orvoshoz fordultak. 30,7 %-uknak volt hasi vagy végbéltáji fájdalma, illetve több mint negyedük (26,9 %) véres széklettről számolt be. Majdnem minden ötödik beteg számolt be fáradtság/gyengeségről (19,3 %), fogyásról (18,4 %) vagy hasmenésről (18,4 %). A betegek kisebb hányada említette a székelési habitus változását (11,8 %) vagy hasi teltség érzetet (9,0 %) és csak 4,0 %-uk volt panaszmentes az első orvos-beteg találkozáskor. (5.B Táblázat)

5.A Táblázat: A betegek, a daganatok, valamint a kivizsgálás jellemzői

	Betegek száma (%)	
Nem		
Férfi	119	(56,1)
Nő	93	(43,9)
Kor (év)		
28-50	13	(6,1)
51-60	49	(23,1)
61-70	75	(35,4)
71-80	53	(25,0)
80+	22	(10,4)
Daganat lokalizációja		
Vastagbél	113	(53,3)
Végbél	91	(42,9)
Ismeretlen	8	(3,8)
Daganat stádiuma		
I	15	(7,1)
II	63	(29,7)
III	79	(37,3)
IV	48	(22,6)
Ismeretlen	7	(3,3)
		78 (36,8)
		127 (59,9)
Kivizsgálások/kezelések indítása		
Háziorvos	127	(59,9)
Sürgősségi szakorvos	49	(23,1)
Egyéb szakorvos	35	(16,5)
Ismeretlen	1	(0,5)

5.B Táblázat: *Colorectalis daganatra* utaló első tünetek a beteg orvoshoz fordulásakor

Tünetek	Említések száma (%) *
Hasi/végbél táji fájdalom	65 (30,7)
Véres széklet	57 (26,9)
Gyengeség/fáradtság	41 (19,3)
Fogyás	39 (18,4)
Hasmenés	39 (18,4)
Széklethabitus változás	25 (11,8)
Hasi teltségérzet	19 (9,0)
Székrekedés	11 (5,2)
Tünetmentes	9 (4,2)
Áttétek jelenlétére utaló fájdalom (hátfájdalom, fejfájás)	3 (1,4)
Hányinger, hányás	3 (1,4)
Egyéb tünetek	22 (10,4)

* A betegek több tünetet is említhettek, így az említések összege több, mint 100%

7.1.2. A beutalást/kivizsgálást indító orvos szakiránya és a tünetek jellegének kapcsolata

Tekintettel arra, hogy a betegek többsége vagy háziorvoshoz fordult, vagy a sürgősségi osztályra került a tüneteivel, megvizsgáltuk, hogy melyek azok a leggyakrabban előforduló tünetek, amelyekkel a betegek nagyobb arányban fordultak háziorvoshoz, mint sürgősségi orvoshoz. A sürgősségire került betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbéltáji fájdalom volt, míg a háziorvost felkereső betegek a véres székletet említették legtöbbször. Azon betegeknek, akiknek a kivizsgálását sürgősségi szakorvos indította mindössze 16,3 % jelentkezett véres széklet, és 6,1 % fogyás panaszával. Ezzel szemben, a háziorvos által intézett betegek körében ezek az arányok 32,3 % illetve 22,8 % voltak. A háziorvosnál jelentkező betegeknél tehát, szignifikánsan nagyobb arányban fordult elő véres széklet és fogyás, mint azoknál a betegeknél, akik a sürgősségin jelentkeztek a panaszukkal. A többi tünet viszonylatában nem találtunk szignifikáns különbséget a kivizsgálást indító orvos szakirányával kapcsolatban (6. Táblázat).

6. Táblázat: A beutalást/kivizsgálást indító orvos szakiránya és a tünetek jellegének kapcsolata

Tünetek	n (%) Esetszám	n (%) Esetszám	Fisher teszt (p)
	Háziorvos indította (127)	Sürgősségi szakorvos indította (49)	
Hasi/végbéltáji fájdalom	31 (24,4)	18 (36,7)	0,133
Véres széklet	41 (32,3)	8 (16,3)	0,039
Gyengeség/fáradtság	27 (21,3)	9 (18,4)	0,835
Fogyás	29 (22,8)	3 (6,1)	0,009
Hasmenés	28 (22,0)	7 (14,3)	0,197
Széklethabitus változás	18 (14,2)	2 (4,1)	0,066
Hasi teltségérzet	9 (7,1)	7 (14,3)	0,150
Székrekedés	8 (6,3)	2 (4,1)	0,728

7.1.3. A daganat stádiuma és a tünetek gyakoriságának kapcsolata

A véres széklet, mint tünet a korai (I-II.) stádiumú daganatos betegek harmadánál (33,3 %) jelentkezett, míg a késői (III-IV.) stádiumba sorolt betegek mindössze 21,3 %-ánál. Ezzel szemben a fogyás előfordulása ellentétes tendenciát mutatott: a késői stádiumba sorolt betegek 25,2 %-ánál jelentkezett fogyás, míg korai (I-II.) stádium esetén csak a betegek 6,4 %-a említette ezt a tünetet. A különbségek mindkét tünet esetén szignifikánsnak bizonyultak (7.A Táblázat).

Azoknál a betegeknél, akiknél a véres széklet, mint tünet jelen volt, átlagosan 1,61 tünetük volt, míg azoknál, akiknél a véres széklet nem volt jelen, átlagosan csak 1,28.

A betegeknél, akik említették a fogyást, mint tünetet, átlagosan 2,20 tünetük volt míg, akiknél nem jelentkezett fogyás, átlagosan mindössze 1,18. Mind a véres széklet, mind a fogyás mellett szignifikánsan gyakrabban fordultak elő további, egyidejű tünetek, mint a vizsgált két tünet hiánya esetén (7.B Táblázat).

7.A Táblázat: A colorectalis daganat stádiuma, valamint a véres széklet és fogyás előfordulásának kapcsolata

Tünetek		Stádium	
Tünet megnevezése	Tünet előfordulása	I-II.	III-IV.
		Esetszám (%)	
Fogyás	Igen	5 (6,4)	32 (25,2)
	Nem	73 (93,6)	95 (74,8)
	<i>Fisher Teszt</i>	$p < 0,001$	
Véres széklet	Igen	26 (33,3)	27 (21,3)
	Nem	52 (66,7)	100 (78,7)
	<i>Fisher Teszt</i>	$p < 0,041$	

7.B Táblázat: A véres széklet és fogyás, valamint egyéb tünetek együttes gyakoriságának kapcsolata

Tünetek		Egyéb előforduló tünetek száma		
Tünet megnevezése	Tünet előfordulása	Átlag	Szórás	Esetszám
Fogyás	Igen	2,2051	0,86388	39
	Nem	1,1850	0,79270	173
	<i>ANOVA teszt</i>	<i>p < 0,001</i>		
Véres széklet	Igen	1,6140	0,75010	57
	Nem	1,2839	0,93110	155
	<i>ANOVA teszt</i>	<i>p < 0,017</i>		

7.1.4. A Terápiáig Eltelt Intervallum (TEI), a kivizsgálást indító orvos szakiránya, valamint a daganat stádiumának összefüggése

Az elemzés során megvizsgáltuk, hogy van-e összefüggés aközött, hogy a beteg kihez fordult először a tüneteivel (beutaló/kivizsgáló orvos szakiránya), illetve a daganatos betegség stádiuma között. A sürgősségin jelentkező betegek esetében lényegesen magasabb arányban (61%) diagnosztizáltak késői (III-IV.) stádiumú daganatot, mint a háziorvoshoz forduló betegek körében (42,7%). A Terápiáig Eltelt Intervallum (TEI) medián és átlag értékei alacsonyabbak voltak, ha a betegek sürgősségire kerültek, mint amikor háziorvosnál jelentkeztek először. A TEI medián értéke stádiumtól függően 83-86 nap volt, ha a beteg a háziorvosát kereste fel tüneteivel, míg 15-34,5 nap, amennyiben a sürgősségire került a beteg, Amennyiben háziorvos volt a kivizsgálást indító orvos, a TEI medián értéke minimális mértékben, de szignifikánsan volt magasabb késői stádiumú daganat esetén. Ezzel szemben jelentősen (kétszer) magasabb volt a TEI medián értéke korai stádiumú daganat esetén, ha a beteg a sürgősségire került (34,5 vs. 15 nap) (8. Táblázat).

8. Táblázat: Beutaló/kivizsgáló orvos szakiránya, daganat stádiuma és a TEI közötti összefüggés

	Daganat stádiuma	Esetek száma (%)	TEI átlag (nap)	Szórás	TEI medián (nap)
Háziorvos	I-II	47 (42,7)	98,19	66,40	83,00
	III-IV	63 (57,3)	100,06	66,37	86,00
Sürgősségi szakorvos	I-II	16 (39,0)	40,81	38,75	34,50
	III-IV	25 (61,0)	23,12	21,30	15,00
<i>Kruskal-Wallis teszt $P < 0.001$</i>					

7.2 „A lokálisan előrehaladott rectum daganatos páciensek túlélését előrejelző tumor-asszociált fehérjék expressziója” c. kutatásra vonatkozóan

7.2.1. A fehérjeexpresszió a kezelés előtti mintákban, klinikai paraméterek és a terápiára adott szövettani válasz

A kezelés előtti minták immunhisztokémiai értékelése, az esetek 60%, 54%, 67%, 67%, 67% és 76%-ában mutatott nagy intenzitású festődést (++, +++) a sorrendben SOUL, Hsp 16.2, Hsp90, GHRH-R és p-Akt fehérjékre vonatkozóan (9. táblázat).

9. Táblázat: A fehérjék immunhisztokémiai expressziója a kezelés előtti tumormintákban

Markerek	Immunhisztokémiai expresszió			
	alacsony intenzitás		magas intenzitás	
	0	+	++	+++
SOUL	44 (40%)		65 (60%)	
Hsp 16.2	50 (46%)		59 (54%)	
Hsp 90	36 (33%)		73 (67%)	
p-Akt	26 (24%)		83 (76%)	
GHRH-R	36 (33%)		73 (67%)	

A 109 vizsgált mintából 52 esetben volt „jó” a patológiai válasz, 57 esetben pedig „rossz” a patológiai válasz a neoadjuváns radiokemoterápia következtében. A GHRH-R expresszió magas szintje a kezelés előtti tumormintákban szignifikáns korrelációt mutatott a rossz szövettani válasszal ($P = 0,049$), míg más fehérjék expressziója és a tumor regressziós foka között nem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat (10. táblázat).

10. táblázat: A fehérjeexpresszió és a neoadjuváns radiokemoterápiára adott szövettani válasz közötti kapcsolat (n=109)

Markerek		Esetszám n=109	Jó szövettani válasz n=52	Rossz szövettani válasz n=57	P
SOUL	alacsony intenzitás	44 (40%)	20 (18%)	24 (22%)	0.699
	magas intenzitás	65 (60%)	32 (30%)	33 (30%)	
Hsp 16.2	alacsony intenzitás	50 (46%)	28 (26%)	22 (20%)	0.111
	magas intenzitás	59 (54%)	24 (22%)	35 (32%)	
HSP90	alacsony intenzitás	36 (33%)	20 (18%)	16 (15%)	0.249
	magas intenzitás	73 (67%)	32 (30%)	41 (37%)	
P-AKT	alacsony intenzitás	26 (24%)	12 (11%)	14 (13%)	0.856
	magas intenzitás	83 (76%)	40 (37%)	43 (39%)	
GHRH-R	alacsony intenzitás	36 (33%)	22 (20%)	14 (13%)	0.049
	magas intenzitás	73 (67%)	30 (28%)	43 (39%)	

Azoknak a betegeknek, akiknél a műtéig több mint 7 hét telt el a neoadjuváns radiokemoterápia befejeződésétől, szignifikánsan magasabb volt az esélyük arra, hogy „jó” választ adjanak a neoadjuváns radiokemoterápiára ($p = 0,003$), mint azoknak, akiket a neoadjuváns radiokemoterápiát követő 7 héten belül operáltak meg. A kezelés előtti egyéb klinikai

paraméterek közül egyik sem mutatott statisztikailag szignifikáns összefüggést a szövettani válasszal (11. táblázat).

11. táblázat: A klinikai paraméterek és a neoadjuváns radiokemoterápiára adott szövettani válasz közötti kapcsolat

	Klinikai faktor	Esetszám (n=109)	Jó szövettani válasz (n= 52)	Rossz szövettani válasz (n= 57)	P
Kor (év)	≤ 60	60 (55%)	30 (27,5%)	30 (27,5%)	0.596
	> 60	49 (45%)	22 (20%)	27 (25%)	
Nem	férfi	55 (50%)	28 (26%)	27 (25%)	0.499
	nő	54 (50%)	24 (22%)	30 (27%)	
Klinikai stádium T	cT2	4 (4%)	4 (4%)	0 (0%)	0.068
	cT3	93 (85%)	44 (40%)	49 (45%)	
	cT4	12 (11 %)	4 (4%)	8 (7%)	
Klinikai stádium N	cN0	41 (%)	18 (17%)	23 (21%)	0.537
	cN1-2	68 (%)	34 (31%)	34 (31%)	
Távolság a végbél nyílástól (cm)	< 5	34 (31%)	14 (13%)	20 (18%)	0.384
	5-10	43 (39%)	24 (22%)	19 (17%)	
	> 10	32 (30%)	14 (13%)	18 (17%)	
Műtéig eltelt idő (hét)	≤ 7	64 (59%)	23 (21%)	41 (38%)	0.003
	> 7	45 (41%)	29 (27%)	16 (14%)	

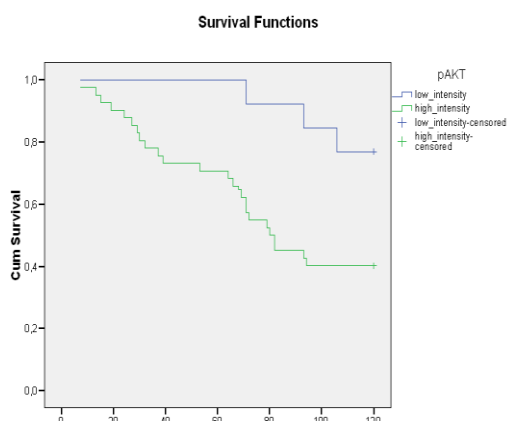
Statisztikai elemzés chi-négyzet teszttel, szignifikancia szint $P < 0,05$

7.2.2. A kezelés előtti fehérjék expressziója és a 10 éves teljes túlélés (OS) közötti kapcsolat

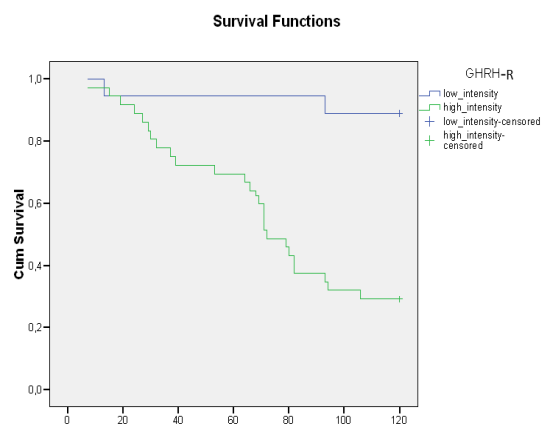
Megvizsgáltuk a kezelés előtti fehérjeexpresszió és a 10 éves túlélés (OS) közötti kapcsolatot. A GHRH-R-t fokozottan expresszáló daganatos betegek túlélési aránya 30 % alatt volt, ellentétben a GHRH-R-t alacsony mértékben expresszáló daganatos betegekkel, ahol a betegek közel 90%-a még életben volt 10 éves utánkövetéskor. A p-Akt, a GHRH-R és a Hsp90 fokozott expressziója szignifikánsan alacsonyabb 10 éves OS-sel járt együtt ($p=0,001$; $p=0,000$; $p=0,004$) (1 a,b,c ábra). A SOUL és a Hsp16.2 festődés intenzitása viszont nem befolyásolta szignifikánsan a 10 éves OS-t (1 d,e ábra).

Ábra 1. A kezelés előtti fehérjék a) p-Akt ($p=0,001$), b) GHRH-R ($p=0,000$), c) Hsp90 ($p=0,004$) d) SOUL ($p=0,661$), e) Hsp16.2 ($p=0,975$) festődési intenzitása és a 10 éves OS közötti kapcsolat. A biológiai markerek hatását a teljes túlélésre Kaplan-Meier görbék segítségével mutattuk ki, a szignifikancia szintjét pedig log-rank teszt segítségével határoztuk meg. A $p < 0,05$ valószínűségi (p) értékeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük

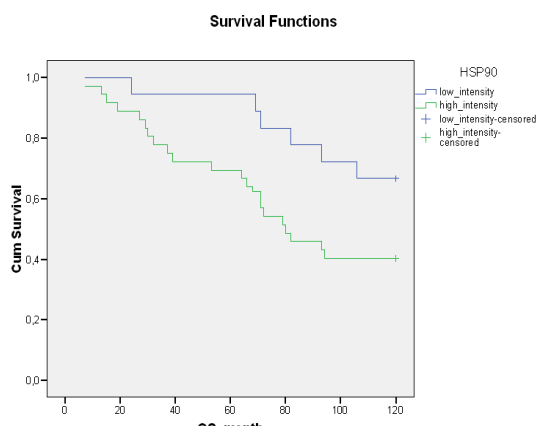
1a



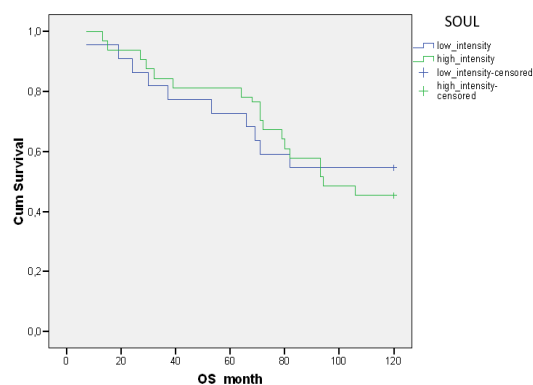
1b

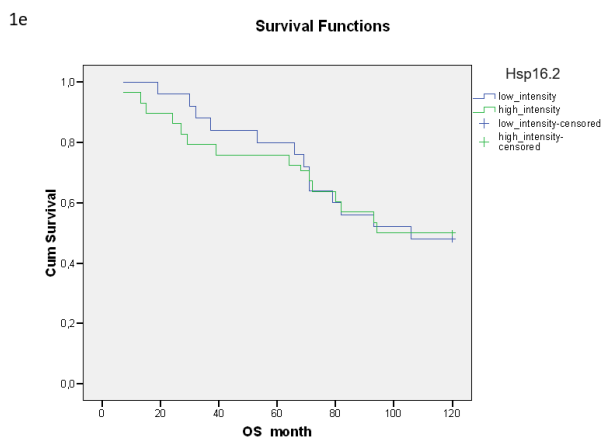


1c



1d

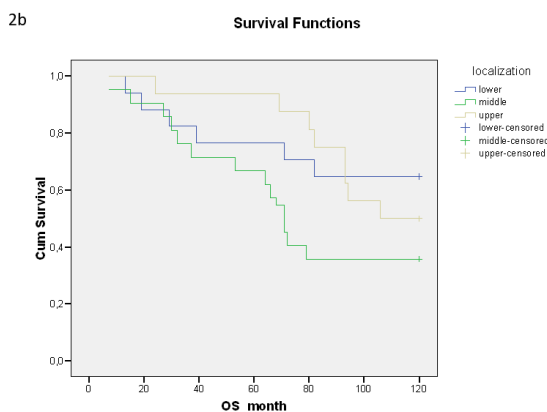
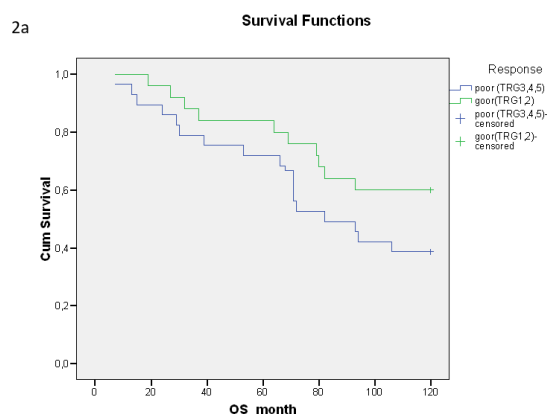


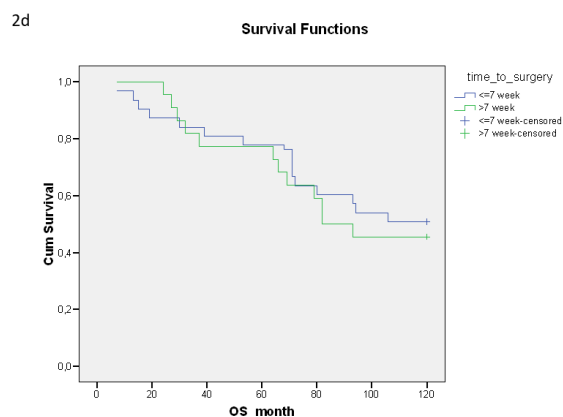
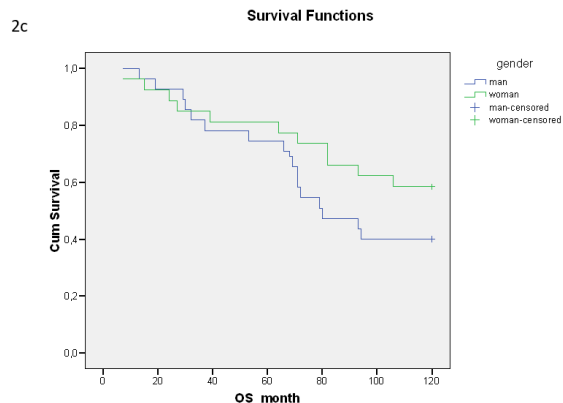


7.2.3. A klinikai paraméterek (szöveti válasz, tumor lokalizációja, nem) és a 10 éves OS közötti kapcsolat.

Vizgáltuk az egyes klinikai paraméterek hatását a 10 éves teljes túlélésre. A „jó” szöveti válasz és a tumor alsó harmadbeli lokalizációja szignifikánsan jobb 10 éves OS-sel járt együtt, a „rossz” szöveti választ mutató betegekhez vagy a felső vagy középső harmadbeli tumorokhoz képest ($p=0,029$; $p=0,015$) (2 a, b ábra). Bár az összefüggés nem volt szignifikáns, a női nem összefüggött a jobb 10 éves OS-sel (2 c. ábra). A műtétig eltelt idő nem befolyásolta szignifikánsan a 10 éves OS-t (2 d. ábra).

Ábra 2. A klinikai paraméterek közötti kapcsolat a) a szöveti válasz ($p=0,029$) b) a tumor lokalizációja ($p=0,015$) c) a nem ($p=0,057$) d) a műtétig eltelt idő ($p=0,568$) és a 10 éves OS. A klinikai paraméterek hatását a teljes túlélésre Kaplan-Meier görbék segítségével mutattuk ki, a szignifikancia szintjét pedig a log-rank teszt segítségével határoztuk meg. A $p<0,05$ valószínűségi (p) értékeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük





7.2.4. A kezelés előtti fehérjék expressziójának és a klinikai paramétereknek, mint a teljes túlélés potenciális független prognosztikai tényezőinek elemzése

A biológiai és klinikai markereket, melyek szignifikáns összefüggést mutattak a 10 éves OS-sel, többváltozós Cox-regressziós elemzéssel vizsgáltuk tovább. Két biológiai markert a GHRH-R-t és a Hsp90-et, azonosítottunk a teljes túlélés szignifikáns, független prognosztikai tényezőjeként (a GHRH-R esetében: $p: 0,000$, a Hsp90 esetében $p: 0,005$ (12. táblázat).

12. táblázat: A vizsgált biológiai és klinikai paraméterek Cox-regressziós elemzése után szignifikáns eltérést mutató markerek

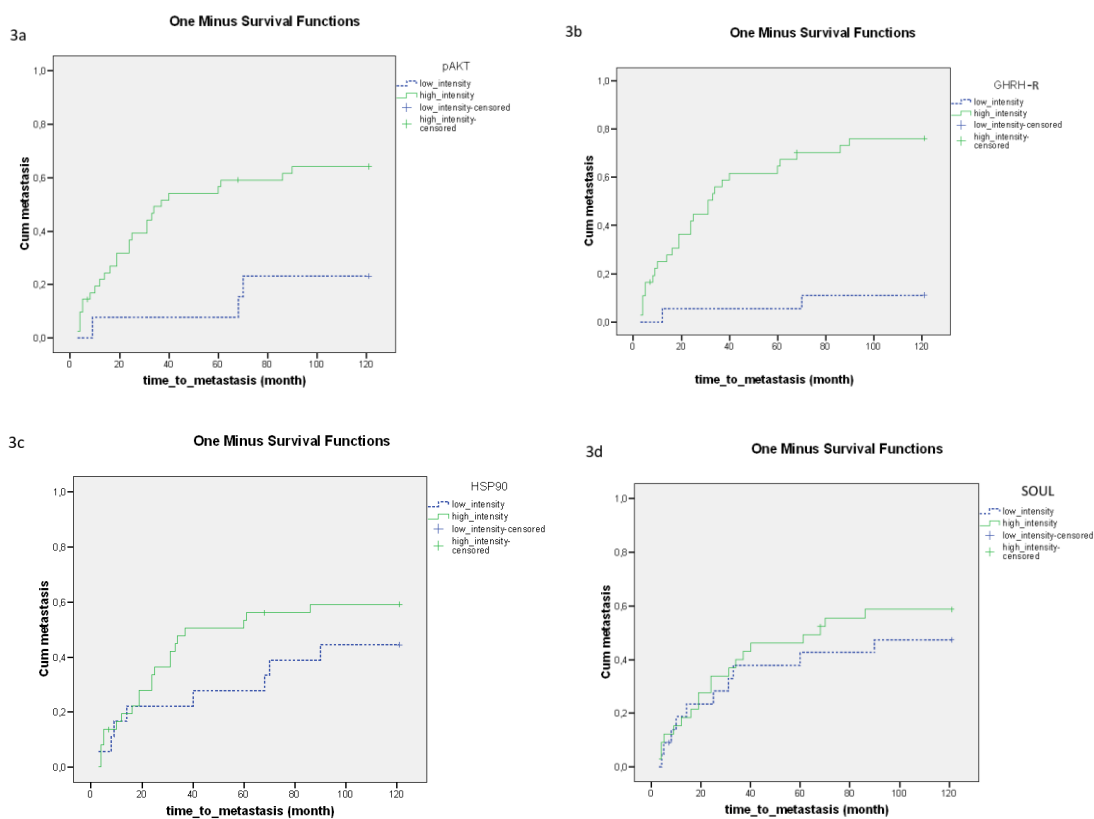
	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Sig.</i>	<i>Exp(B)</i>	<i>95.0% CI for Exp(B)</i>	
					lower	upper
Hsp90	-0.928	0.332	0.005	0.395	0.206	0.757
GHRH-R	-2.015	0.562	0.000	0.133	0.044	0.401
p-Akt	-0.666	0.470	0.157	0.514	0.205	1.291
válasz	0.321	0.284	0.259	1.378	0.789	2.406

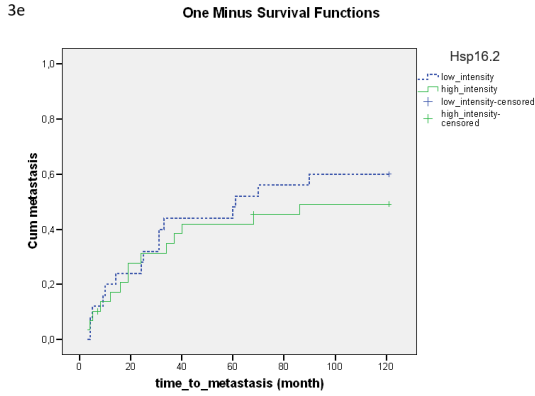
A p-Akt és a GHRH-R között mérsékelt korrelációt találtunk, ami valószínűleg magyarázatot ad arra, hogy a p-Akt miért nem bizonyult szignifikáns változónak. Amikor azonban a GHRH-R-t kizártuk a modelltől, a p-Akt továbbra is szignifikáns maradt ($p=0,000$; $\text{Exp}(B)=0,204$, 95,0% CI: 0,086 - 0,481), ami azt jelzi, hogy a p-Akt prognosztikus szerepe valószínűnek tűnik (az erre vonatkozó adatok nincsenek külön bemutatva).

7.2.5. A kezelés előtti fehérjék expressziója, a klinikai paraméterek és az áttétképződésig eltelt idő közötti kapcsolat

A p-Akt és a GHRH-R magas expressziós szintje szignifikánsan rövidebb áttétképződésig eltelt idővel járt együtt (3 a, b ábra). A Hsp90, SOUL és Hsp16.2 expressziós szintjei és az áttétképződésig eltelt idő között viszont nem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat (3 c, d, e ábra).

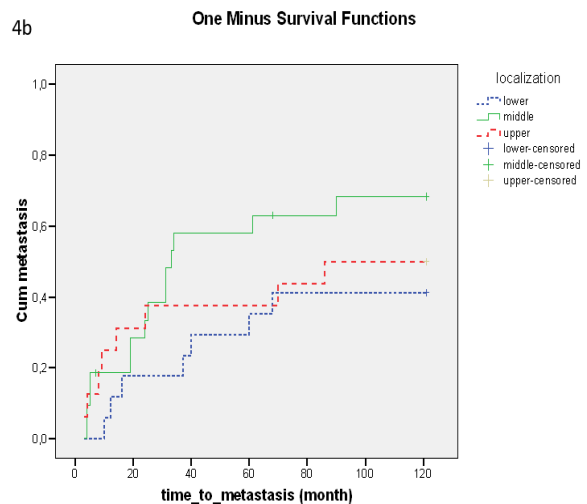
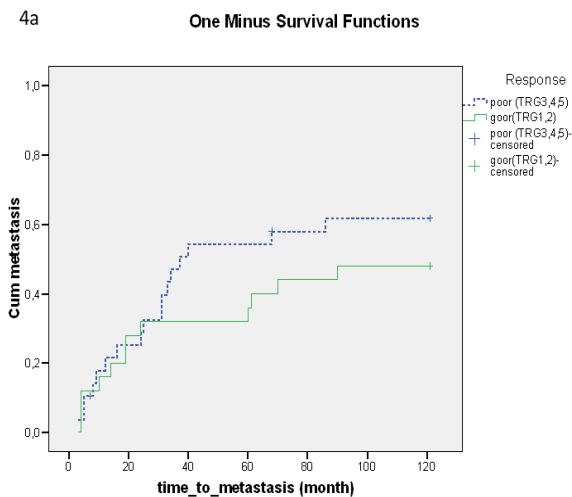
Ábra 3. A kezelés előtti fehérjeexpressziók a) p-Akt ($p=0,000$), b) GHRH-R ($p=0,000$), c) Hsp90 ($p=0,115$), d) SOUL ($p=0,310$), e) Hsp16.2 ($p=0,328$) és az áttétképződésig eltelt idő közötti kapcsolat. A biológiai markerek hatását az áttétképződésig eltelt időre Kaplan-Meier görbék segítségével értékeltük, a szignifikancia szintjét pedig a log-rank teszt segítségével határoztuk meg. A $p < 0,05$ valószínűségi (p) értékeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük





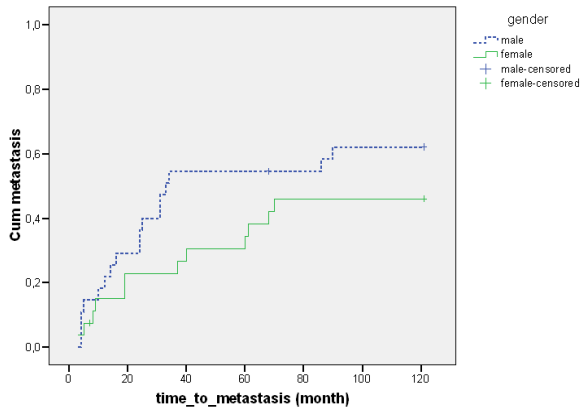
A végbél alsó harmadára lokalizálódó tumorok szignifikánsan hosszabb áttétképződésig eltelt idővel társultak (4 b ábra). A műtétig eltelt idő, a szövettani válasz, a nem és az áttétképződésig eltelt idő között nem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat (4 a, c, d ábra).

Ábra 4. A klinikai paraméterek közötti kapcsolat a) a szövettani válasz ($p=0,170$), b) a tumor lokalizációja ($p=0,048$), c) a nem ($p=0,064$), d) a műtépig eltelt idő ($p=0,319$) és az áttétképződésig eltelt idő. A klinikai paraméterek hatását az áttétképződésig eltelt időre Kaplan-Meier-görbék segítségével mutattuk ki, a szignifikancia szintjét pedig log-rank teszttel határoztuk meg. A $p < 0,05$ valószínűségi (p) értékeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük



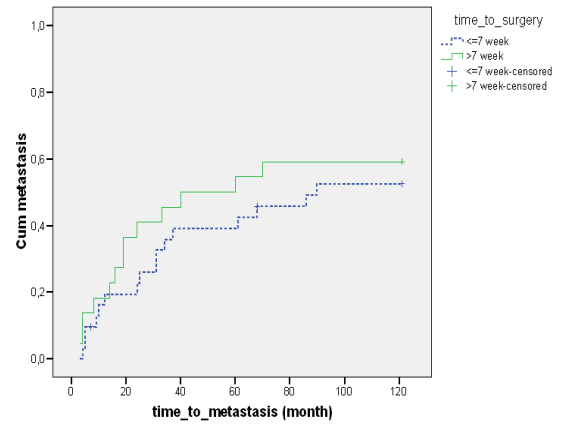
4c

One Minus Survival Functions



4d

One Minus Survival Functions



8. Megbeszélés

Hatékony szűrési módszerekkel a colorectalis daganatok azon kevés daganatos megbetegedések közé tartoznak, amelyek megelőzhetőek lennének (76). Randomizált klinikai vizsgálatok bizonyították, hogy ha az átlagos kockázattal rendelkező emberek arra alkalmas szűrővizsgálatokon vesznek részt, az a colorectalis carcinoma incidenciájának és mortalitásának csökkenéséhez vezet (29, 77). Korábbi tanulmányok azt is bebizonyították, hogy a daganat stádiuma a felfedezés időpontjában a colorectalis carcinoma meghatározó prognosztikai tényezője (31, 78). Mivel a colorectalis carcinoma által okozott megbetegedési és halálozási ráta Magyarországon rendkívül magas, ezért ennek a lehetséges kiváltó okait igyekeztünk feltárni.

Elemzésünk az első olyan hazai pilot vizsgálat, amely a colorectalis daganatos betegek jellemzőit, kivizsgálásuk körülményeit és a terápiaig eltelt intervallumot (TEI) összefüggéseiben vizsgálja.

Jelen kutatásunk első lépéseként megállapítottuk, hogy a betegek többségénél (59,9 %) előrehaladott stádiumban került felfedezésre a colorectalis carcinoma. Ezzel az eredménnyel ellentétben egy Spanyolországban végzett vizsgálat szerint csak 42,5 %-ban diagnosztizáltak előrehaladott colorectalis carcinomát a spanyolországi betegek körében (23). Egy amerikai tanulmányban szintén a miénknél alacsonyabb, 49 %-os arányban fedeztek fel előrehaladott stádiumú colorectalis carcinomat, és még alacsonyabb arányban (17,2 %) találtak III-IV. stádiumú tumort egy az Egyesült Királyságban végzett vizsgálatban (22), (24).

A colorectalis carcinoma sokáig tünetmentes maradhat, amíg a rák előrehaladottabb stádiumba nem kerül (79). Még ha a betegeknél jelentkeznek is tünetek, gyakran nem veszik figyelembe a riasztó jeleket, vagy egyes tüneteket elbagatellizálnak, például a végbélvérzést aranyérnek tulajdonítják (15, 17). Ahogy tanulmányunkban beszámoltunk róla a betegek körülbelül egyharmada hasi/végbéltáji fájdalommal és/vagy véres széklettel jelentkezett orvosnál. Ezek az eredmények hasonlóak voltak más országok adataihoz (23, 25). Érdekes módon a székelési szokások megváltozását néhány tanulmányban az egyik leggyakoribb (16-51,9 %) tünetként azonosították, de a magyarországi eseteknek csak 11,8 %-ában volt jelen ez a tünet (23, 80). Bár lehetséges, hogy vizsgált betegeink nem gyakran tapasztalták a széklethabitus megváltozását, megkérdőjelezhető, hogy a magyarországi lakosság megfelelően fel van-e világosítva az olyan tünetek észleléséről, mint a széklethabitus megváltozása. Mivel a betegek többsége fájdalom vagy gyengeség miatt fordult orvoshoz (ami a progresszív vérszegénység

következménye), lehetséges, hogy a betegeknek korábban más tüneteik is voltak, melyeket egy ideig elhanyagoltak, vagy egyáltalán nem vettek észre.

Tanulmányunkban a betegek többsége (59,89 %) először háziorvoshoz fordult a tüneteivel, ez az arány azonban jóval kisebb volt más országok tanulmányaiban tapasztalt adatokhoz képest, ahol a beteg első kivizsgálását és beutalását szinte mindig háziorvos végezte (23, 24). Érdekes módon a sürgősségi felvételek száma (23,1 %) nem különbözött néhány nyugat-európai tanulmányban szereplő sürgősségi felvételek számától (22, 23), ami arra utal, hogy Magyarországon a betegek nagyobb hányadánál a colorectalis carcinoma diagnózisának felállítása a háziorvosoktól vagy a sürgősségi orvosoktól eltérő szakorvos által történik, például gasztroenterológus által.

Az egészségügyi ellátással kapcsolatos várakozási időt, azaz a tünetek megjelenésétől a diagnózis felállításáig, illetve a kezelésig eltelt időt több nemzetközi tanulmány vizsgálta (22-24, 26), de hazai adatok korlátozottan állnak rendelkezésre. A legrövidebb diagnózisig eltelt időkről kanadai, amerikai és dán tanulmányokban számoltak be, amelyek egy hónapnál rövidebbtől, 64 napig terjedtek (26, 27, 81). A kezelésig eltelt idő szintén viszonylag rövid volt, az említett vizsgálatok szerint, 28-76 nap közötti (26, 81). A Spanyolországban és az Egyesült Királyságban végzett vizsgálatokban ennél hosszabb DEI-eket és TEI-eket észleltek. A spanyol vizsgálatban a medián DEI 91-111 nap volt az elsődleges beutalás helyétől függően, az Egyesült Királyságban végzett vizsgálatban pedig 119 nap volt az egészségüghöz köthető késlekedés mediánja (22, 23). A magyar populációban mért várakozási idők hasonlóak voltak a Kanadában és az Egyesült Államokban mért várakozási időkhöz. A DEI mediánja 42 nap, a TEI mediánja pedig 67 nap volt, ami azt jelzi, hogy a betegek legalább felénél a tünetek megjelenésétől számított 1,5 hónapon belül diagnosztizálták a betegséget, és 2,5 hónapon belül megkezdték a daganatellenes terápiát. A korábbi vizsgálatokkal összehangban a háziorvosok által indított kivizsgálások DEI-je és TEI-je jelentősen hosszabb volt annál, mint amikor a betegek először szakorvoshoz fordultak a tüneteikkel (23), aki lehetett sürgősségi vagy egyéb szakorvos, például gasztroenterológus. A kutatásunkban észlelt eltérések a hazai háziorvosok és az egyéb klinikai szakorvosok diagnosztizálási és betegutalási lehetőségeinek különbségei miatt fordulhattak elő. A DEI adatok nem kerültek bemutatásra, ezeket munkacsoportunk korábbi tanulmányokban részletezte.

A minimális és maximális várakozási idők között igen nagy volt a szórás (369 nap a DEI és 371 nap a TEI esetében), ami azt mutatja, hogy a betegek negyedének (23,1 %) több mint 3 hónapot

kellett várnia a diagnózisra és 49,8 %-nak a kezelésre. Ezzel szemben a kanadai, az amerikai és a spanyolországi vizsgálatokban a diagnosztikai várakozási idők közötti tartományok szűkebbek voltak, sorrendben: 264, 230 és 223 nap (23, 26, 81). Ezek az eredmények arra utalhatnak, hogy bár a várakozási idő a betegek többsége esetén elfogadható hosszúságú volt, a magyar páciensek számára nincsenek szabályos, esetleg irányított, rövidített beutalási útvonalak az egészségügyi ellátáson belül, ami végül nagy egyéni különbségeket eredményez az egészségügyi ellátással kapcsolatos várakozási időkben. Az e különbségek hátterében álló tényezők nem teljesen egyértelműek, de részben a magyar egészségügyi ellátórendszer szervezési módjának tudhatóak be. Amikor a hazai betegek colorectalis carcinomára utaló tüneteikkel az alapellátásban dolgozó háziorvosokhoz fordulnak, a háziorvosok szükség esetén további vizsgálatokra (pl. laboratóriumi, ultrahangos vizsgálatok) vagy más szakorvoshoz (pl. gasztroenterológus) irányítják őket. A háziorvosoknak nincs lehetőségük sürgősséggel utalni, csupán a sürgősségi osztályra tudják irányítani a beteget, azonban előfordulhatnak kivételek, amikor, például személyes kérésre, a háziorvosok közvetlenül kérhetnek gasztroenterológus kollégáiktól korábbi időpontot, betegek számára. Az egészségügyi szolgáltatások minden magyar állampolgár számára elvileg egyformán elérhetőek, ugyanakkor a rövidebb várakozási idő reményében a magánklinikák is népszerűek a betegek körében. Mivel a várakozási idők tartományai lényegesen szűkebbek voltak, amikor a betegeket a sürgősségi orvosok vagy más szakorvosok kezdték kivizsgálni, ez arra utal, hogy a háziorvosok nem rendelkeznek irányított beutalási útvonalakkal a magyar egészségügyi rendszeren belül. Hozzá kell tenni azonban, hogy a hosszabb DEI és TEI intervallumokban a beteghez köthető késedelmeknek is jelentős szerepük van. Ilyen például a tünetek, panaszok elbagatellizálása és a késői orvoshoz fordulás.

Kutatásunk során az is kiderült, hogy bár a Baranya megyei betegeink többsége (59,9 %-a) a háziorvosát kereste fel panaszával, ez az arány alacsonyabb volt, mint a Spanyolországban vagy Kanadában végzett tanulmányokban vizsgáltak szerint (23, 24), viszont a sürgősségin történő megjelenés aránya hasonló volt egyes nyugat-európai országokhoz képest (22, 37). A külföldi beszámolókkal egybehangzóan, a baranyai betegek leggyakoribb colorectalis daganatra utaló tünete is a hasi/végbéltáji fájdalom, valamint a véres széklet voltak (23, 82).

Mivel a betegek többségének háziorvos vagy sürgősségi orvos indította a kivizsgálását, elemeztük, hogy volt-e összefüggés a kivizsgálást indító orvos szakiránya és a tünetek típusa között. Azt találtuk, hogy szignifikánsan több beteg jelentkezett mind a véres széklet, mind a fogyás tünettől a háziorvosnál, mint a sürgősségi osztályon. Továbbá a véres széklet a korai stádiumú daganatoknál volt szignifikánsan gyakoribb, a fogyás viszont a daganatos betegség

késői stádiumában. Eredményeink arra utalhatnak, hogy a betegek nagyobb jelentőséget tulajdonítanak és sürgetőbb problémának tekintették a véres székletet, mint az ismeretlen eredetű fogyást, bár kevésbé valószínű, hogy sürgősségi osztályra kerültek ilyen jellegű panaszaikkal. Az irodalomban a fogyás nem specifikus daganatos tünetként ismert. Bár korábban egyértelműen előrehaladott daganatos betegségekre jellemzőnek tartották, a kutatások szerint nincs egyértelmű összefüggés a fogyás és a daganatos betegség stádiuma között (79, 83, 84). A vérszékelés sürgős ellátást indokoló tüneteket is okozhat, például a következményesen kialakuló anaemia miatt. E két tünet közül bármelyik jelenléte esetén javasolt a kivizsgálás a colorectalis daganat magas rizikója miatt (85). Ennek ellenére, számos szakirodalmi adat utal arra, hogy a betegek gyakran nem veszik komolyan a vérszékelést, mint alarmírozó tünetet, és aranyeres panaszoknak tartva, sokáig nem fordulnak orvoshoz (16, 17). A véres széklet gyakran már első, korai tünete a végbél daganatoknak, szemben a colon daganataival, ahol később jelentkezik vérzés, vagy csak okkult vérzés van jelen (80, 86). Más szerzők kutatása szerint, amennyiben a véres székleten kívül széklethabitus változásról is beszámolt a beteg, kétszeresére nőtt annak az esélye, hogy a betegnek colorectalis daganata van (80). Több colorectalis daganatra utaló tünet együttes jelenléte megnöveli annak az esélyét, hogy tényleg daganat áll a tünetek, panaszok hátterében (85, 87).

Vizsgálatunkban, amennyiben a betegeknek fogyás vagy véres széklet tünete volt, az egyéb tünetek jelenléte is gyakrabban fordult elő, mely eredmények arra utalnak, hogy ezeknek a tüneteknek az együttes előfordulása fokozottan kellene, hogy felhívják a beteg és a házi orvos figyelmét a kivizsgálás szükségességére. Feltételezhetően a már obstrukciót, fájdalmat okozó daganat miatt lehetett a hasi/végbéltáji fájdalom a leggyakoribb tünet a sürgősségi osztályon jelentkező betegek körében.

A sürgősségin megjelenő betegek körében magasabb arányban került diagnosztizálásra késői stádiumú daganat, mint a házi orvoshoz forduló betegek esetében. Korai stádiumban a colorectalis daganatok még gyakran aszimptomatikusak vagy kevés tünetet okoznak (76). Késői stádiumban viszont a betegek egy részénél bélobstrukciót, vagy vérzésből adódó gravis anaemiát okozhat a daganat (85, 88). A tünetek megnövekedett száma magyarázza a kutatásunk során észlelt előrehaladott betegségben szenvedők nagyobb arányát a sürgősségi osztályon. Ezen betegcsoport szignifikánsan rövidebb idő alatt kezeléshez jutott a sürgősségin (késői stádiumban TEI medián 15 nap vs. korai stádiumban TEI medián 34,5 nap) valószínűleg a tüneteik sürgős beavatkozást, például műtétet igénylő jellegéből adódóan. Amennyiben a beteg a házi orvosánál jelentkezett, a TEI medián értékében szintén szignifikáns, de jelentősen kisebb

(3 nap) volt az eltérés a korai és késői stádiumú daganatos betegek között, sőt a korai stádiumú betegek esetén a TEI rövidebb volt. Érthető módon a TEI viszont lényegesen rövidebb volt azoknál a betegeknél, akik a sürgősségi osztályra kerültek, mint akik házi orvosukhoz fordultak, függetlenül a daganat stádiumától. Mivel a daganatellenes terápiát többnyire a diagnózis pontos felállítása előzi meg, (mely alól a kivételt az akut kezelést, pl. ileust okozó esetek jelentik), kézenfekvő, hogy a jelenség hátterében a házi orvosi és sürgősségi ellátók eltérő kivizsgálási lehetőségei állhatnak. A sürgősségi osztályra súlyos tünetekkel érkező betegek rövid időn belül részletes kivizsgálásban részesülnek, de a kevésbé súlyos tünetekkel jelentkezők esetében is viszonylag hamarabb rendelkezésre áll labor vagy egyéb (pl. képalkotó) vizsgálat. Ezzel szemben a házi orvosoknak a sürgős eseteket leszámítva, amikor betegeiket a sürgősségi osztályra küldik, „gyorsított diagnosztikus betegutak” nem állnak rendelkezésükre, illetve a további vizsgálatok (labor, képalkotók) megszervezése is több időbe telik számukra.

A vizsgálatunk korlátai

Vizsgálatunk esetében három lényeges limitációt említenék. Tekintettel a vizsgálat pilot jellegére, a betegek száma viszonylag alacsony volt és jellemzőik nem reprezentatívak Magyarország lakosságára nézve. Másrészt a házi orvosi dokumentációk jellegükből adódóan pontatlanabbak, mint a klinikai adatbázisok. Továbbá kutatásunk egyetlen megye betegeinek vizsgálatára terjedt ki, holott valószínűleg különbségek vannak az egészségügyi ellátásban a különböző megyék között, így az észlelt TEI-k is különbözhetnek.

Miután megvizsgáltuk a colorectalis betegek jellemzőit, kivizsgálásuk körülményeit és a terápiáig eltelt intervallumokat (TEI) összefüggéseikben, kutatásunk következő célja olyan biomarkerek azonosítása, és már korábban azonosított markerek vizsgálata volt, melyek előre jelezhetik a lokálisan kiterjedt rectum daganatok áttétképzéséig eltelt időt és jól korrelálnak a teljes túléléssel (OS).

További kutatásunkban új molekuláris markereket azonosítottunk, és már a korábbi tanulmányaink során is vizsgált klinikai markereket elemeztük, a lokálisan előrehaladott rectum daganatok áttétképzéséig eltelt idő és 10 éves OS vonatkozásában. Korábbi vizsgálatunkban azt találtuk, hogy a GHRH-R és a Hsp90 expressziós szintje független előrejelző tényezője a neoadjuváns radiokemoterápiára adott szövettani válasznak (36). A terápiára adott válasz mellett az első áttét/áttétek megjelenése és a teljes túlélés egyaránt meghatározóak a kimenetel szempontjából a daganatos betegek számára. A lokálisan előrehaladott végbélrákban betöltött

lehetséges szerepüket alátámasztva azt találtuk, hogy a p-Akt, a Hsp90 és a GHRH-R fokozott expressziója szignifikánsan csökkent 10 éves OS-sel társult, míg a p-Akt és a GHRH-R fokozott festődési intenzitása az áttétképződésig eltelt szignifikánsan rövidebb idővel mutatott összefüggést. Különböző rosszindulatú daganatokban a növekedési hormon által stimulált inzulinszerű növekedési faktor I (IGF-I) elősegíti a sejtek malignus transzformációját és az áttétképződést (46-48), továbbá a GHRH antagonistáiról azt is bebizonyították, hogy a GH szekréciónak gátlása és az autokrin GHRH daganatos sejtek receptoraihoz való kötődésének blokkolása révén elnyomják a tumorok IGF-I és IGF-II termelését (51-53). Egy korábbi tanulmány arról számolt be, hogy gyomorrákos mintákban a GHRH-R megnövekedett szintje korrelációt mutatott a rosszabb teljes túléléssel, és független előrejelzője volt a betegség prognózisának (54). A GHRH-R overexpresszióját colorectalis malignus daganatokban is bizonyították (56). A GHRH-R antagonizálása DNS-károsodást okoz humán vastagbélrák sejtekben, majd ezt követően a p21 által közvetített sejtciklus megállásához és apoptózishoz vezet (55, 56). Eredményeink arra utalnak, hogy a GHRH-R-nek, következésképpen a GHRH-nak fontos szerepe lehet mind a terápiára adott válaszban, mind a betegség kimenetelének előrejelzésében. Bár a GHRH-R antagonisták még nem kerültek be a klinikai gyakorlatba (klinikai vizsgálatok folyamatban vannak), a GHRH-R potenciális jelentősége mind a terápia valószínű molekuláris célpontjaként, mind pedig - jelen eredményeink alapján is - a lokálisan előrehaladott végbélrák túlélésének prediktoraként igen valószínű.

A sejtproliferáció, a migráció és az angiogenezis olyan folyamatok, amelyek hozzájárulnak az áttétek kialakulásához (55). Vizsgálatok szerint a p-Akt szintje overexpresszált colorectalis carcinomákban a normál vastagbélnyálkahártyához képest (57), míg a colorectalis carcinoma angiogenezise az Akt/Erk jelátviteli útvonalak aktiválásával indukálható (66). Ehhez hasonlóan az intenzív p-Akt festődés rövidebb metasztázisig eltelt idővel és csökkent 10 éves OS-sel korrelált a mi vizsgálatunkban is. A Hsp 90 kliensfehérjéről is ismert, hogy fokozott expressziójuk összefüggésbe hozható a rákos sejtek kialakulásával és progressziójával (58, 59). A Hsp90 család négy tagját olyan gének kódolják, amelyek a tumorképződést, az adhéziót, az inváziót, a metasztázis kialakulását, az angiogenezist és az apoptózist szabályozzák (60, 61). Következésképpen a Hsp 90 overexpresszált lehet különféle daganatokban (60, 61), amint ezt számos vizsgálatban kimutatták (34), beleértve azt a tanulmányt, amely pozitív korrelációt talált a Hsp90 mRNS-ének fokozott expressziója és a metasztázisok kialakulása, illetve a rossz prognózis között colorectalis carcinomában (62). A vizsgálatok szerint a Hsp90 azáltal segíti elő a rákos sejtek progresszióját, hogy fokozza az onkogén protein-kinázok, köztük a MAPK,

a JAK2/STAT3 útvonalak és a korábban említett PI3K/Akt jelátviteli útvonal aktivitását, amely a sejtek proliferációjának és túlélésének elősegítéséért felelős, és gyakran túlműködik tumoros sejtekben (67). Ezekkel a vizsgálatokkal összhangban, a mi mintáinkban is számos beteg mintájában fokozott intenzitású Hsp 90 festődést találtunk, és az eredményeink szerint a Hsp 90 fokozott expressziója a kezelés előtti végbélrákos mintákban rosszabb prognózissal és csökkent 10 éves túléléssel járt együtt. A GHRH-R és a Hsp90 a teljes túlélés független prognosztikai tényezőjének bizonyult a vizsgálatunkban. A korábbi tanulmányok tükrében feltételezhető, hogy a Hsp90 emelkedett szintje elősegítette a PI3K/Akt jelátviteli útvonal aktiválását, és ezáltal növelte a p-Akt szintjét, ami végül azt a megfigyelésünket eredményezte, hogy mind a p-Akt, mind a Hsp90 emelkedett szintje a tumor progressziójával, valamint szignifikánsan rosszabb 10 éves túléléssel társult.

Tekintettel arra, hogy az extracelluláris vezikulák (EV-k) potenciális forrásként szolgálhatnak a klinikailag ígéretes biomarkerek és terápiás célpontok felfedezéséhez, különösen érdekes a HSP-k proteomikai profiljának vizsgálata a rákos betegek különböző biológiai folyadékaiból származó extracelluláris vezikulákból (89). A Hsp70 mennyiségének szérumban való növekedése például összefüggésbe hozható a vastagbélrák stádiumával, míg a magas szolubilis Hsp70 szint a rossz túléléssel függ össze (90, 91). A Hsp 90AA1/HSP90alfa expressziója szintén szignifikánsan magasabbnak bizonyult a colorectalis betegek szérumában, mint az egészséges egyénekében (38). Ezek az eredmények egyrészt alátámasztják a Hsp 90 prognosztikai jelentőségére vonatkozó megállapításainkat, másrészt tudomásunk szerint a mi vizsgálatunk az első, amely a végbélrákminták intracelluláris Hsp90 expressziója és a rossz 10 éves prognózis közötti szignifikáns összefüggésről számolt be. Mivel az immunhisztokémiai vizsgálat továbbra is viszonylag egyszerű és olcsó módszer, a szövettani vizsgálat pedig a tumordiagnosztika standard része, ezért tanulmányunk gyakorlati szempontból is releváns lehet. A tumorszövetek intracelluláris vizsgálata a Hsp90 és a GHRH-R tekintetében rutinszerűen és könnyen alkalmazható lenne a klinikai gyakorlatban, amennyiben további vizsgálatok történnek ilyen irányba.

Korábbi vizsgálataink alapján a Hsp16.2 a Hsp90-hez való kötődés révén és a PI-3kináz/Akt útvonal aktiválásán keresztül gátolja a sejthalált (73), továbbá nyelőcsőrák mintákban is fokozottan expresszálódik (92), a Hsp 16.2 festődés intenzitása nem mutatott szignifikáns összefüggést sem az áttétképződésig eltelt idővel, sem a 10 éves OS-sel. Továbbá a munkacsoport korábbi vizsgálata szerint a Hsp16.2 és a SOUL a neoadjuváns

radiokemoterápiára adott negatív válasz prediktora volt nyelőcsőrákban (92), azonban egyik fehérje sem korrelált a teljes túléléssel (OS) a mi betegeinknél.

A vizsgált klinikai paraméterek közül a műtétig eltelt idő szignifikáns összefüggést mutatott a terápiára adott válasszal, de nem befolyásolta az áttétképződésig eltelt időt vagy a 10 éves teljes túlélést. Eredményeinket alátámasztják más, a közelmúltban végbélrákos betegekkel kapcsolatos vizsgálatok, amelyekben nem találtak szignifikáns különbséget a betegségmentes vagy teljes túlélésben, vagy a műtétig eltelt különböző időintervallumok között (93-95). Továbbá, korábbi tanulmányok szerint a neoadjuváns radiokemoterápia befejezése és a műtét között eltelt 6-8 hétnél hosszabb időszak szignifikánsan jobb válaszadási aránnyal járt együtt (96, 97). Ez azzal a jelenséggel magyarázható, hogy a sugárterápia által kiváltott biológiai változások kialakulásához időre van szükség. Az elmúlt években több vizsgálat is alátámasztotta a TRG prognosztikai szerepét lokálisan előrehaladott végbélrákban. A TRG a tumor neoadjuváns radiokemoterápiára adott válaszát jelzi, ez pedig összefüggést mutatott a távoli áttétek kialakulásának idejével és a betegségmentes és a teljes túléléssel (98, 99). Ezekhez a tanulmányokhoz hasonlóan mi is azt figyeltük meg a vizsgálatunkban, hogy a jó szövettani válasz, a jó TRG, szignifikánsan jobb 10 éves teljes túléléshez vezetett.

Ellentmondásos tanulmányok születtek a tumor lokalizációjának szerepéről a lokálisan előrehaladott végbélrákos betegek esetében. Míg egy korábbi tanulmány arról számolt be, hogy a végbélnyílástól való 5 cm-nél nagyobb távolság szignifikánsan alacsonyabb down-staging rátával járt együtt (100), egy újabb, de kisebb tanulmány azt találta, hogy az 5 cm-nél nagyobb távolság szignifikánsan magasabb teljes patológiai válaszaránnyal és jobb 5 éves túléléssel járt együtt (101). Egy mostanában megjelent metaanalízis azonban arról számolt be, hogy a végbélnyíláshoz közelebbi tumoroknál szignifikánsan nagyobb valószínűséggel értek el teljes patológiai választ a neoadjuváns kezelést követően (102).

Ezen a metaanalízissel összhangban vizsgálatunkban mi is azt találtuk, hogy az alsó harmadi rectum tumorok, hosszabb áttétképződésig eltelt idővel és hosszabb 10 éves teljes túléléssel jártak együtt. Ezeket az eredményeket az alsó lokalizációjú végbélrákok jellemző klinikai viselkedése magyarázhatja. A végbél alsó harmadában lévő daganatok fizikális vizsgálattal könnyebben elérhetőek, és a vérzés jelei is hamarabb feltűnhetnek a beteg számára, mint a végbél középső vagy felső harmadában lévő daganatok esetében, ez pedig valószínűleg a daganat korábbi felismeréséhez vezet.

Egy másik klinikai paraméter, amelyet potenciális prognosztikai tényezőként vizsgáltak, a beteg neme. A nőknél a colorectalis carcinoma esetében szignifikánsan jobb OS-t találtak, mint a férfiaknál (102), és ezt a tendenciát a mi betegeinknél is megfigyeltük, bár az OS előny a mi betegeinknél nem bizonyult szignifikánsnak. Az általunk potenciális klinikai prognosztikai tényezőként vizsgált paraméterek többnyire alátámasztották a korábbi tanulmányok eredményeit, és eredményeink rávilágítanak a viszonylag könnyen hozzáférhető információk, például a tumor lokalizációjának a mindennapi gyakorlatban történő felhasználásának lehetséges jelentőségére.

Vizsgálatunkkal kapcsolatban felmerülhetnek korlátok. Ez egy viszonylag kis létszámú vizsgálat volt, több potenciálisan releváns klinikai információt (pl. BMI, dohányzási szokások), amelyek esetleg befolyásolhatják eredményeinket, nem gyűjtöttünk a betegekről. Ezenkívül, mivel ez egy retrospektív vizsgálat volt, hiányzott a betegek standardizálása, ami egy klinikai tanulmány előfeltétele. Ezért további kutatásokra van szükség, nagyobb betegmintákkal és pontosabban megtervezett és elvégzett klinikai vizsgálatokkal, hogy az eredményeinket validálni tudjuk.

9. Téziseim

9.1 „A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilot vizsgálat keretében” c. kutatásra vonatkozóan

1. A sürgősségire került colorectalis daganatos betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbéltáji fájdalom volt, míg a háziorvost felkereső betegek a véres székletet említették legtöbbször. Azon betegeknek, akiknek a kivizsgálását sürgősségi szakorvos indította mindössze 16,3 % jelentkezett véres széklet, és 6,1 % fogyás panaszával. Ezzel szemben, a háziorvos által intézett betegek körében ezek az arányok 32,3 % illetve 22,8 % voltak.
2. A véres széklet, mint tünet a korai (I-II.) stádiumú daganatos betegek harmadánál (33,3 %) jelentkezett, míg a késői (III-IV.) stádiumba sorolt betegek mindössze 21,3 %-ánál. A késői stádiumba sorolt betegek 25,2 %-ánál jelentkezett fogyás, míg korai (I-II.) stádium esetén csak a betegek 6,4 %-ánál.
3. A sürgősségin jelentkező betegek esetében lényegesen magasabb arányban (61 %) diagnosztizáltak késői (III-IV.) stádiumú daganatot, mint a háziorvoshoz forduló betegek körében (42,7 %).
4. A Terápiáig Eltelt Intervallum medián értéke stádiumtól függően 83-86 nap volt, ha a beteg a háziorvosát kereste fel tüneteivel, míg 15-34,5 nap, amennyiben a sürgősségire került a beteg, Amennyiben háziorvos volt a kivizsgálást indító orvos, a TEI medián értéke minimális mértékben, de szignifikánsan volt magasabb késői stádiumú daganat esetén. Ezzel szemben jelentősen (kétszer) magasabb volt a TEI medián értéke korai stádiumú daganat esetén, ha a beteg a sürgősségire került.

9.2 „A lokálisan előrehaladott rectum daganatos páciensek túlélését előrejelző tumor-asszociált fehérjék expressziója” c. kutatásra vonatkozóan

1. A GHRH-R expresszió magas szintje a kezelés előtti tumormintákban szignifikánsan korrelált a rossz szövettani válasszal ($P = 0,049$), míg más fehérjék expressziója és a tumor regresszió foka között nem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat.
2. Azoknak a betegeknek, akiknél a műtéig több mint 7 hét telt el a neoadjuváns radiokemoterápia befejezése után, szignifikánsan nagyobb volt az esélye annak, hogy jó tumor regressziós választ kapnak a neoadjuváns radiokemoterápiára ($p=0,003$), mint azoknál, akiket a neoadjuváns radiokemoterápiát követően 7 héten belül megműtöttek.

3. A p-Akt, a GHRH-R és a Hsp90 magas expressziós szintje szignifikánsan csökkent 10 éves OS-sel társult ($p=0,001$; $p=0,000$; $p=0,004$). A SOUL és a Hsp16.2 festődés intenzitása nem befolyásolta szignifikánsan a 10 éves OS-t.
4. A jó szövettani válasz neoadjuváns radiokemoterápiára és a tumor alsó harmadbeli lokalizációja szignifikánsan jobb 10 éves OS-sel társult, összehasonlítva a rossz szövettani válasszal vagy a felső, vagy középső harmadbeli tumorra rendelkező betegekkel ($p=0,029$; $p=0,015$).
5. Két biológiai marker, a GHRH-R és a Hsp90 jelentős, független prognosztikai tényezőnek bizonyult a teljes túlélés szempontjából. Amikor azonban a GHRH-R-t kizártuk a modelltől, a p-Akt továbbra is szignifikáns maradt, ami azt jelzi, hogy a p-Akt prognosztikus szerepe is valószínű.
6. A p-Akt és a GHRH-R magas expressziós szintje szignifikánsan rövidebb idővel társult a metasztázisok kialakulásáig. A Hsp90, a SOUL és a Hsp16.2 expressziós szintje és az áttétképződésig eltelt idő között nem volt kimutatható szignifikáns kapcsolat. A végbél alsó harmadában lokalizált tumorok szignifikánsan hosszabb áttétképződésig eltelt idővel társultak.

10. Következtetések

Tudomásunk szerint tanulmányunk az első olyan vizsgálat, amely a colorectalis carcinomával kapcsolatos egészségügyi várakozási időket, elemezte egy közép-kelet európai országban.

Pilot kutatásunk egyrészt vizsgálta a colorectalis daganat tüneteinek összefüggéseit, másrészt rávilágít a colorectalis daganatok magas morbiditási és mortalitási rátáinak lehetséges okaira.

A sürgősségi osztályra kerülő betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbéltáji fájdalom volt, ami a késői stádiumú daganatok nagyobb arányával (pl. obstrukciót okozó daganat) is kapcsolatba hozható. Háziorvoshoz fogyás és véres széklet tünetekkel gyakrabban fordultak a betegek, mint sürgősségi orvoshoz, és egyidejűleg több tünetet is említettek a háziorvosuknak. A sürgősségi osztályon jelentkező daganatos betegek lényegesen gyorsabban jutottak kezeléshez, mint a háziorvosuknál jelentkező betegek, ami a kétféle ellátó rendszer jellegzetességeiből, betegutalási, kivizsgálási lehetőségeinek eltéréseiből adódhat. Vizsgálatunk alapján, a sürgősségi vagy háziorvosi kivizsgálás esetén észlelt terápiáig eltelt intervallumok Baranya megyében hasonlóak voltak a nyugat-európai országokéhoz. A colorectalis daganatok esetében a diagnózis felállításakor a legfontosabb prognosztikai faktor a tumor stádiuma [34–36]. Ezek alapján arra következtettünk, hogy a hazai magas mortalitási mutatók hátterében meghatározó elem a betegek késedelmes orvoshoz fordulása.

Eredményeink a prevenció fontosságára hívják fel a figyelmet. A colorectalis daganat kifejlődése hosszú, akár 10-15 évig tartó folyamat, ezért ez a daganattípus kiválóan alkalmas szűrésre. A beteghez köthető késlekedés csökkentésének lényeges eleme a colorectalis daganatra utaló tünetek időben történő felismerése. Emiatt a daganat megelőzését elősegítő lakossági figyelemfelhívó kampányok bevezetésén kívül, a tünetek időben történő felismerését elősegítő betegedukáció is elengedhetetlen. A prevenció egy másik formája, egy rendszeres hazai colorectalis szűrőprogram bevezetése is jelentős mértékben segíthetné a colorectalis daganatok korai stádiumban történő felfedezését.

További kutatásunk elsőként számolt be arról, hogy a Hsp 90, a p-Akt és a GHRH-R a teljes túlélés lehetséges molekuláris prediktív markerei, lokálisan előrehaladott végbélrákos betegek esetében. Fokozott expressziójuk a kezelés előtti tumormintákban csökkent teljes túléléssel járt együtt. Továbbá a GHRH-R és a Hsp90 független prognosztikai faktorok a 10 éves teljes túlélés

szempontjából, illetve a p-Akt-nak is lehet prediktív szerepe. A fokozott GHRH-R és Hsp90 expresszió szignifikánsan csökkent 10 éves teljes túléléssel függött össze.

Azt is kimutattuk, hogy a p-Akt és a GHRH-R fokozott expressziója az áttétképződésig eltelt idő prognosztikai tényezője. Ezek, valamint korábbi eredményünk, miszerint a GHRH-R expressziója független prognosztikai tényező volt a terápiára adott válasz tekintetében (12), mind arra utalnak, hogy a GHRH-R különösen fontos szerepet játszhat molekuláris biomarkerként. Tanulmányunk fontos eleme a különösen hosszú, 10 éves utánkövetési időszak, amely a vizsgált biomarkerek hosszú távú hatását mutatja a betegség kimenetelére. Ezen túlmenően vizsgálatunk kihathat további kutatásokra, mivel kiegészíti a végbélrák potenciális biomarkereiről meglévő adatokat, és alapot nyújthat nagyobb betegpopulációk bevonásával végzett, további kutatásokhoz. Végezetül, megállapításaink potenciális gyakorlati és klinikai értékkel is bírhatnak. A biomarkerek előnyös tulajdonságai közé tartozik, hogy könnyen és egyáltalán nem-, vagy minimálisan invazív módon nyerhetőek a betegektől, valamint széleskörűen rendelkezésre állnak és alacsony költségűek. A biomarker fehérjék expressziójának kimutatása immunhisztokémiai módszerrel egyszerű és költséghatékony módja lehet a prognózis meghatározásának, továbbá potenciálisan akár a terápia megtervezését is segítheti, mivel a módszer elérhető a rákos betegek rutinszerű diagnosztizálását és kezelését végző orvosi centrumokban, és nincs szükség további mintavételre a betegről, tekintettel arra, hogy a szövettani vizsgálathoz és a diagnózis felállításához automatikusan vesznek biopsziát. A GHRH-R és a Hsp90 ígéretes biomarkereknek tűnnek a lokálisan előrehaladott végbélrák esetében. Eredményeink megerősítéséhez azonban további kutatásokra, nagyobb és validált vizsgálatokra van szükség.

11. Referenciák

1. Fodor D, Busa C, Cservenák N, Kiss I, Bellyei S, Csikós Á, et al. [Characteristics related to the treatment of colorectal cancer patients based on a pilot study in Baranya county, Hungary]. *Orv Hetil.* 2021;162(4):153-60 doi: 10 1556/650 2021 31982.
2. Döbrossy L, Kovács A, Budai A, Simon J, Horváth AR, Cornides A, et al. [Controversial issues in colorectal screening in Hungary: conflict of clinical and public health viewpoints]. *Orv Hetil.* 2011;152(31):1223-32 doi: 10 556/OH 2011 29167.
3. Döbrossy L, Kovács A, Budai A, Cornides A, Ottó S, Tulassay Z. [The state of the colorectal screening in Hungary: lessons of the pilot programs]. *Orv Hetil.* 2007;148(38):1787-93 doi: 10 556/OH 2007 28192.
4. Wong MCS, Huang J, Lok V, Wang J, Fung F, Ding H, et al. Differences in Incidence and Mortality Trends of Colorectal Cancer Worldwide Based on Sex, Age, and Anatomic Location. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2021;19(5):955-66 e61 doi: 10 1016/j cgh 2020 02 026 Epub Feb 21.
5. Giusti F, Martos C, Adriani S, Flego M, Carvalho RN, Bettio M, et al. The Joint Research Centre-European Network of Cancer Registries Quality Check Software (JRC-ENCR QCS). *Front Oncol.* 2023;13:1250195.(doi):10 3389/fonc 2023 1250195 eCollection 2023.
6. Glimelius B. Recent advances in rectal cancer treatment - are we on the right track? *Ups J Med Sci.* 2024;129.(doi):10 48101/ujms v129 10537 eCollection 2024.
7. Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Azad N, Chen YJ, Ciombor KK, et al. Rectal Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022;20(10):1139-67 doi: 10 6004/jnccn 2022 0051.
8. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet.* 2019;394(10207):1467-80 doi: 10 016/S0140-6736(19)32319-0.
9. Willett CG, Acklin-Wehnert S. Neoadjuvant Short- Vs. Long-Course Radiation for Locally Advanced Rectal Cancer: How to Choose. *Curr Treat Options Oncol.* 2024;25(4):427-33 doi: 10 1007/s11864-024-01185-5 Epub 2024 Feb 22.
10. Morson BC. The evolution of colorectal carcinoma. *Clin Radiol.* 1984;35(6):425-31 doi: 10 1016/s0009-9260(84)80033-1.
11. Hewitson P, Glasziou P, Irwig L, Towler B, Watson E. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;2007(1):CD001216 doi: 10 1002/14651858 CD001216 pub2.
12. Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, Wooldrage K, Hart AR, Northover JM, et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial.
13. Rutka M, Bor R, Molnár T, Farkas K, Pigniczki D, Fábíán A, et al. Efficacy of the population-based pilot colorectal cancer screening, Csongrád county, Hungary, 2015. *Turk J Med Sci.* 2020;50(4):756-63 doi: 10 3906/sag-1908-79.
14. Döbrossy L, Kovács A, Cornides Á, Budai A. Vastagbélvizsgálás: a lakossági részvételt befolyásoló tényezők. *Orvosi Hetilap* 2014.
15. Bnard F, Brkun AN, Martel M, Von Renteln D. Systematic review of colorectal cancer screening guidelines for average-risk adults: Summarizing the current global recommendations. *World Journal of Gastroenterology: Baishideng Publishing Group Co., Limited; 2018.* p. 124-38.
16. Macleod U, Mitchell ED, Burgess C, Macdonald S, Ramirez AJ. Risk factors for delayed presentation and referral of symptomatic cancer: Evidence for common cancers. *British Journal of Cancer.* 2009;101(Suppl 2):S92-S101.

17. Hall N, Birt L, Banks J, Emery J, Mills K, Johnson M, et al. Symptom appraisal and healthcare-seeking for symptoms suggestive of colorectal cancer: A qualitative study. *BMJ Open*. 2015;5(10).
18. Walter FM, Emery JD, Mendonca S, Hall N, Morris HC, Mills K, et al. Symptoms and patient factors associated with longer time to diagnosis for colorectal cancer: Results from a prospective cohort study. *British Journal of Cancer*. 2016;115(5):533-41.
19. Hamilton W, Round A, Sharp D, Peters TJ. Clinical features of colorectal cancer before diagnosis: A population-based case-control study. *British Journal of Cancer*. 2005;93(4):399-405.
20. Rasmussen S, Larsen PV, Søndergaard J, Elnegaard S, Svendsen RP, Jarbøl DE. Specific and non-specific symptoms of colorectal cancer and contact to general practice. *Family Practice*. 2015;32(4):387-94.
21. Lyratzopoulos G, Abel GA, McPhail S, Neal RD, Rubin GP. Measures of promptness of cancer diagnosis in primary care: secondary analysis of national audit data on patients with 18 common and rarer cancers. *Br J Cancer*. 2013;108(3):686-90 doi: 10.1038/bjc.2013.1 Epub Feb 7.
22. Murchie P, Raja EA, Brewster DH, Campbell NC, Ritchie LD, Robertson R, et al. Time from first presentation in primary care to treatment of symptomatic colorectal cancer: Effect on disease stage and survival. *British Journal of Cancer*. 2014;111(3):461-9.
23. Leiva A, Esteva M, Llobera J, Macià F, Pita-Fernández S, González-Luján L, et al. Time to diagnosis and stage of symptomatic colorectal cancer determined by three different sources of information: A population based retrospective study. *Cancer Epidemiology*. 2017;47:48-55.
24. Janssen RM, Takach O, Nap-Hill E, Enns RA. Time to Endoscopy in Patients with Colorectal Cancer: Analysis of Wait-Times. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016.
25. Wattacheril J, Kramer JR, Richardson P, Havemann BD, Green LK, Le A, et al. Lagtimes in diagnosis and treatment of colorectal cancer: Determinants and association with cancer stage and survival. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2008;28(9):1166-74.
26. Singh H, De Coster C, Shu E, Fradette K, Latosinsky S, Pitz M, et al. Wait times from presentation to treatment for colorectal cancer: A population-based study. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2010;24(1):33-9.
27. Korsgaard M, Pedersen L, Laurberg S. Delay of diagnosis and treatment of colorectal cancer-A population-based Danish Study. *Cancer Detection and Prevention*. 2008;32(1):45-51.
28. Raje D, La Touche S, Mukhtar H, Oshowo A, Ingham Clark C. Changing trends in the management of colorectal cancers and its impact on cancer waiting times. *Colorectal Dis*. 2006;8(2):140-4 doi: 10.1111/j.1463-3182.2005.00915.x.
29. Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, Wooldrage K, Hart AR, Northover JMA, et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*. 2010;375(9726):1624-33.
30. Tarring ML, Frydenberg M, Hamilton W, Hansen RP, Lautrup MD, Vedsted P. Diagnostic interval and mortality in colorectal cancer: U-shaped association demonstrated for three different datasets. *J Clin Epidemiol*. 2012;65(6):669-78.
31. Tarring ML, Frydenberg M, Hansen RP, Olesen F, Hamilton W, Vedsted P. Time to diagnosis and mortality in colorectal cancer: a cohort study in primary care. *Br J Cancer*. 2011;104(6):934-40.
32. Döbrossy L, Kovács A, Cornides Á, Budai A. Factors influencing the participation in colorectal screening. [Vastagbélvizsgálat: a lakossági részvételt befolyásoló tényezők.]. *Orvosi Hetilap: Akadémiai Kiadó Rt.*; 2014. p. 1051-6.

33. Döbrössy L, Kovács A, Budai A, Cornides Á, Ottó S, Tulassay Z. The state of the colorectal screening in Hungary: lessons of the pilot programs. [A népegészségügyi vastag- és végbélszűrés helyzete Magyarországon: A mintaprogramok tanulságai.]. *Orvosi Hetilap*. 2007;148(38):1787-93.
34. Tang Q, Liu YF, Zhu XJ, Li YH, Zhu J, Zhang JP, et al. Expression and prognostic significance of the α B-crystallin gene in human hepatocellular carcinoma. *Human Pathology*. 2009;40(3):300-5.
35. Costa TEMM, Raghavendra NM, Penido C. Natural heat shock protein 90 inhibitors in cancer and inflammation. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2020;189:112063-.
36. Farkas R, Pozsgai E, Schally AV, Szigeti A, Szigeti E, Laszlo Z, et al. Possible predictors of histopathological response to neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2012;138(3):387-95.
37. Pozsgai E, Busa C, Fodor D, Bellyei S, Csikos A. Wait times to diagnosis and treatment in patients with colorectal cancer in Hungary. *Cancer Epidemiology*. 2019;59:244-8.
38. Zoltan L, Farkas R, Schally AV, Pozsgai E, Papp A, Bognár L, et al. Possible Predictive Markers of Response to Therapy in Esophageal Squamous Cell Cancer. *Pathology and Oncology Research*. 2019;25(1):279-88.
39. Bellyei S, Szigeti A, Pozsgai E, Boronkai A, Gomori E, Hocsak E, et al. Preventing apoptotic cell death by a novel small heat shock protein. *European Journal of Cell Biology*. 2007;86(3):161-71.
40. Pozsgai E, Gomori E, Szigeti A, Boronkai A, Gallyas F, Sumegi B, et al. Correlation between the progressive cytoplasmic expression of a novel small heat shock protein (Hsp16.2) and malignancy in brain tumors. *BMC Cancer*. 2007;7:233.
41. Bellyei S, Szigeti A, Pozsgai E, Boronkai A, Gomori E, Hocsak E, et al. Preventing apoptotic cell death by a novel small heat shock protein. *Eur J Cell Biol*. 2007;86(3):161-71.
42. Iqbal MA, Arora S, Prakasam G, Calin GA, Syed MA. MicroRNA in lung cancer: role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance. *Mol Aspects Med*; 2019. p. 3-20.
43. Amaravadi RK, Thompson CB. The roles of therapy-induced autophagy and necrosis in cancer treatment. *Clinical Cancer Research*. 2007;13(24):7271-9.
44. Koda M, Grudzińska M, Kańczuga-Koda L, Famulski W, Jakubowska K. Monocyte-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor in peripheral whole blood samples of colorectal cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*. 2020;26(31):4639-55.
45. Hirahara T, Arigami T, Yanagita S, Matsushita D, Uchikado Y, Kita Y, et al. Combined neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio predicts chemotherapy response and prognosis in patients with advanced gastric cancer. *BMC Cancer*. 2019;19(1).
46. Schally AV, Wang H, He J, Cai R, Sha W, Popovics P, et al. Agonists of growth hormone-releasing hormone (GHRH) inhibit human experimental cancers in vivo by down-regulating receptors for GHRH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018;115(47):12028-33.
47. Schally AV, Varga JL, Engel JB. Antagonists of growth-hormone-releasing hormone: An emerging new therapy for cancer. 2008. p. 33-43.
48. Schally A, Varga J. Antagonists of Growth Hormone-Releasing Hormone in Oncology. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2006;9(3):163-70.
49. Schally AV, Comaru-Schally AM, Nagy A, Kovacs M, Szepeshazi K, Plonowski A, et al. Hypothalamic hormones and cancer. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2001;22(4):248-91.
50. Schally AV, Varga JL. Antagonistic analogs of growth hormone-releasing hormone: New potential antitumor agents. *Trends Endocrinol Metab*; 1999. p. 383-91.

51. Chatzistamou I, Schally AV, Varga JL, Groot K, Busto R, Armatis P, et al. Inhibition of growth and metastases of MDA-MB-435 human estrogen-independent breast cancers by an antagonist of growth hormone-releasing hormone. *Anti-Cancer Drugs*. 2001;12(9):761-8.
52. Braczkowski R, Schally AV, Plonowski A, Varga JL, Groot K, Krupa M, et al. Inhibition of proliferation in human MNNG/HOS osteosarcoma and SK-ES-1 ewing sarcoma cell lines in vitro and in vivo by antagonists of growth hormone-releasing hormone: Effects on insulin-like growth factor II. *Cancer*. 2002;95(8):1735-45.
53. Zeitler P, Siriwardana G. Antagonism of endogenous growth hormone-releasing hormone (GHRH) leads to reduced proliferation and apoptosis in MDA231 breast cancer cells. *Endocrine*. 2002;18(1):85-90.
54. Gan J, Ke X, Jiang J, Dong H, Yao Z, Lin Y, et al. Growth hormone-releasing hormone receptor antagonists inhibit human gastric cancer through downregulation of PAK1-STAT3/NF- κ B signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(51):14745-50.
55. Hohla F, Moder A, Mayrhauser U, Hauser-Kronberger C, Schally AV, Varga JL, et al. Differential expression of GHRH receptor and its splice variant 1 in human normal and malignant mucosa of the oesophagus and colon. *International Journal of Oncology*. 2008;33(1):137-43.
56. Hohla F, Buchholz S, Schally AV, Seitz S, Rick FG, Szalontay L, et al. GHRH antagonist causes DNA damage leading to p21 mediated cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *Cell Cycle*. 2009;8(19):3149-56.
57. Henderson-Jackson EB, Helm J, Ghayouri M, Hakam A, Nasir A, Leon M, et al. Correlation between Mcl-1 and pAkt protein expression in colorectal cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2010;3(8):768-74.
58. Tsutsumi S, Neckers L. Extracellular heat shock protein 90: A role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. *Cancer Sci*; 2007. p. 1536-9.
59. Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C. The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy. *Ann Oncol*; 2003. p. 1169-76.
60. Chen JS, Hsu YM, Chen CC, Chen LL, Lee CC, Huang TS. Secreted heat shock protein 90 α induces colorectal cancer cell invasion through CD91/LRP-1 and NF- κ B-mediated integrin α V expression. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(33):25458-66.
61. Chen WS, Lee CC, Hsu YM, Chen CC, Huang TS. Identification of heat shock protein 90 α as an IMH-2 epitope-associated protein and correlation of its mRNA overexpression with colorectal cancer metastasis and poor prognosis. *International Journal of Colorectal Disease*. 2011;26(8):1009-17.
62. Xiaofeng W, Xiaomin S, Wei Z, Yan F, Hubing S, Yun L, et al. The regulatory mechanism of Hsp90 α secretion and its function in tumor malignancy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(50):21288-93.
63. M T, I K, M K, C K, Kd W, Gi K, et al. Quantitative analysis of HSP90-client interactions reveals principles of substrate recognition. *Cell*. 2012;150(5):987-1001.
64. Ui T, Morishima K, Saito S, Sakuma Y, Fujii H, Hosoya Y, et al. The HSP90 inhibitor 17-N-allylamino-17-demethoxy geldanamycin (17-AAG) synergizes with cisplatin and induces apoptosis in cisplatin-resistant esophageal squamous cell carcinoma cell lines via the Akt/XIAP pathway. *Oncol Rep*. 2014;31(2):619-24.
65. Soo ET, Yip GW, Lwin ZM, Kumar SD, Bay BH. Heat shock proteins as novel therapeutic targets in cancer. *In Vivo*. 2008;22(3):311-5.
66. Cao F, Wang S, Wang H, Tang W. Fibroblast activation protein- α in tumor cells promotes colorectal cancer angiogenesis via the Akt and ERK signaling pathways. *Molecular Medicine Reports*. 2018;17(2):2593-9.

67. Liu H, Wang J, Tao Y, Li X, Qin J, Bai Z, et al. Curcumol inhibits colorectal cancer proliferation by targeting miR-21 and modulated PTEN/PI3K/Akt pathways. *Life Sciences*. 2019;221(November 2018):354-61.
68. Szigeti A, Bellyei S, Gasz B, Boronkai A, Hocsak E, Minik O, et al. Induction of necrotic cell death and mitochondrial permeabilization by heme binding protein 2/SOUL. *FEBS Letters*. 2006;580(27):6447-54.
69. Szigeti A, Hocsak E, Rapolti E, Racz B, Boronkai A, Pozsgai E, et al. Facilitation of mitochondrial outer and inner membrane permeabilization and cell death in oxidative stress by a novel Bcl-2 homology 3 domain protein. *J Biol Chem*. 2010;285(3):2140-51.
70. Mandard AMM, Dalibard F, Mandard JCC, Marnay J, Henry-Amar M, Petiot JFF, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer*. 1994;73(11):2680-6.
71. Gérard JP, Conroy T, Bonnetain F, Bouché O, Chapet O, Closon-Dejardin MT, et al. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3-4 rectal cancers: Results of FFCD 9203. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(28):4620-5.
72. Bosset J-F, Collette L, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radosevich-Jelic L, et al. Chemotherapy with Preoperative Radiotherapy in Rectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(11):1114-23.
73. Bellyei S, Szigeti A, Boronkai A, Pozsgai E, Gomori E, Meleg B, et al. Inhibition of cell death by a novel 16.2 kD heat shock protein predominantly via Hsp90 mediated lipid rafts stabilization and Akt activation pathway. *Apoptosis*. 2007;12(1):97-112.
74. Bratthauer GL. Immunohistochemistry. antigen detection in tissue. *Advanced laboratory methods in histology and pathology*. 1994.
75. Somji S, Sens MA, Lamm DL, Garrett SH, Sens DA. Metallothionein isoform 1 and 2 gene expression in the human bladder: evidence for upregulation of MT-1X mRNA in bladder cancer. *Cancer Detect Prev*. 2001;25(1):62-75.
76. Lieberman D, Ladabaum U, Cruz-Correa M, Ginsburg C, Inadomi JM, Kim LS, et al. Screening for colorectal cancer and evolving issues for physicians and patients: A review. *JAMA - Journal of the American Medical Association: American Medical Association*; 2016. p. 2135-45.
77. Shaikat A, Mongin SJ, Geisser MS, Lederle FA, Bond JH, Mandel JS, et al. Long-term mortality after screening for colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2013;369(12):1106-14 doi: 10.056/NEJMoa1300720.
78. Mulcahy HE, O'Donoghue DP. Duration of colorectal cancer symptoms and survival: The effect of confounding clinical and pathological variables. *European Journal of Cancer Part A*. 1997;33(9):1461-7.
79. Nicholson BD, Hamilton W, O'Sullivan J, Aveyard P, Hobbs FDR. Weight loss as a predictor of cancer in primary care: A systematic review and meta-analysis. *British Journal of General Practice: Royal College of General Practitioners*; 2018. p. e311-e22.
80. Thompson MR, Perera R, Senapati A, Dodds S. Predictive value of common symptom combinations in diagnosing colorectal cancer. *British Journal of Surgery*. 2007;94(10):1260-5.
81. Pruitt SL, Harzke AJ, Davidson NO, Schootman M. Do diagnostic and treatment delays for colorectal cancer increase risk of death? *Cancer Causes and Control*. 2013;24(5):961-77.
82. Pita-Fernández S, González-Sáez L, López-Calviño B, Seoane-Pillado T, Rodríguez-Camacho E, Pazos-Sierra A, et al. Effect of diagnostic delay on survival in patients with colorectal cancer: A retrospective cohort study. *BMC Cancer*. 2016;16(1).
83. Stapley S, Peters TJ, Sharp D, Hamilton W. The mortality of colorectal cancer in relation to the initial symptom at presentation to primary care and to the duration of

- symptoms: A cohort study using medical records. *British Journal of Cancer*. 2006;95(10):1321-5.
84. Ewing M, Naredi P, Zhang C, Månsson J. Identification of patients with non-metastatic colorectal cancer in primary care: A case-control study. *British Journal of General Practice*. 2016;66(653):e880-e6.
 85. Astin M, Griffin T, Neal RD, Rose P, Hamilton W. The diagnostic value of symptoms for colorectal cancer in primary care: A systematic review. *British Journal of General Practice: Br J Gen Pract*; 2011.
 86. Alvarez JA, Baldonado RF, Bear IG, Truán N, Pire G, Alvarez P. Presentation, treatment, and multivariate analysis of risk factors for obstructive and perforative colorectal carcinoma. *American Journal of Surgery*. 2005;190(3):376-82.
 87. Jellema P, Van Der Windt DAWM, Bruinvels DJ, Mallen CD, Van Weyenberg SJB, Mulder CJ, et al. Value of symptoms and additional diagnostic tests for colorectal cancer in primary care: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online): BMJ*; 2010. p. 795-.
 88. Baer C, Menon R, Bastawrous S, Bastawrous A. Emergency Presentations of Colorectal Cancer. *Surgical Clinics of North America: W.B. Saunders*; 2017. p. 529-45.
 89. Albakova Z, Siam MKS, Sacitharan PK, Ziganshin RH, Ryazantsev DY, Sapozhnikov AM. Extracellular heat shock proteins and cancer: New perspectives. *Transl Oncol*. 2021;14(2):100995 doi: 10.1016/j.tranon.2020.12.015 Epub 2020 Dec 15.
 90. Kocsis J, Madaras B, Tóth EK, Füst G, Prohászka Z. Serum level of soluble 70-kD heat shock protein is associated with high mortality in patients with colorectal cancer without distant metastasis. *Cell Stress Chaperones*. 2010;15(2):143-51 doi: 10.1007/s12192-009-0128-7 Epub 2009 Jul 4.
 91. Gráf L, Barabás L, Madaras B, Garam N, Maláti É, Horváth L, et al. High serum Hsp70 level predicts poor survival in colorectal cancer: Results obtained in an independent validation cohort. *Cancer Biomark*. 2018;23(4):539-47 doi: 10.3233/CBM-181683.
 92. Du D, Su Z, Wang D, Liu W, Wei Z. Optimal Interval to Surgery After Neoadjuvant Chemoradiotherapy in Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Colorectal Cancer*. 2018;17(1):13-24.
 93. Curtis NJ, West MA, Salib E, Ockrim J, Allison AS, Dalton R, et al. Time from colorectal cancer diagnosis to laparoscopic curative surgery—is there a safe window for prehabilitation? *International Journal of Colorectal Disease*. 2018;33(7):979-83.
 94. Mihmanlı M, Kabul Gürbulak E, Akgün İE, Celayir MF, Yazıcı P, Tunçel D, et al. Delaying surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy improves prognosis of rectal cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2016;8(9):695-.
 95. Kalady MF, De Campos-Lobato LF, Stocchi L, Geisler DP, Dietz D, Lavery IC, et al. Predictive factors of pathologic complete response after neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer. *Annals of Surgery*. 2009;250(4):582-8.
 96. Petrelli F, Sgroi G, Sarti E, Barni S. Increasing the interval between neoadjuvant chemoradiotherapy and surgery in rectal cancer : A meta-analysis of published studies. *Annals of Surgery*. 2016;263(3):458-64.
 97. Das P, Skibber JM, Rodrigues-Bigas MA, Feig BW, Chang GJ, Wolff RA, et al. Predictors of tumor response and downstaging in patients who receive preoperative chemoradiation for rectal cancer. *Cancer*. 2007;109(9):1750-5.
 98. Huh JW, Kim HC, Kim SH, Park YA, Cho YB, Yun SH, et al. Tumor regression grade as a clinically useful outcome predictor in patients with rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy. *Surgery (United States)*. 2019;165(3):579-85.
 99. Fokas E, Liersch T, Fietkau R, Hohenberger W, Beissbarth T, Hess C, et al. Tumor regression grading after preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal

carcinoma revisited: Updated results of the CAO/ARO/AIO-94 trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2014;32(15):1554-62.

100. Restivo A, Zorcolo L, Cocco IMF, Manunza R, Margiani C, Marongiu L, et al. Elevated CEA levels and low distance of the tumor from the anal verge are predictors of incomplete response to chemoradiation in patients with rectal cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2013;20(3):864-71.

101. Huang Y, Lee D, Young C. Predictors for complete pathological response for stage II and III rectal cancer following neoadjuvant therapy - A systematic review and meta-analysis. *Am J Surg*. 2020;220(2):300-8.

102. Yang Y, Wang G, He J, Ren S, Wu F, Zhang J, et al. Gender differences in colorectal cancer survival: A meta-analysis. *Int J Cancer*. 2017;141(10):1942-9.

12. Publikációk

12.1 A tézishez kapcsolódó publikációk

Pozsgai E, Busa C, **Fodor D**, Bellyei S, Csikos A. Wait times to diagnosis and treatment in patients with colorectal cancer in Hungary. *Cancer Epidemiol.* 2019 Apr;59:244-248. doi: 10.1016/j.canep.2019.02.015. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30849616.

IF: 2.89, Q2

Fodor D, Busa C, Cservenák N, Kiss I, Bellyei S, Csikós Á, Pozsgai É. A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilotvizsgálat keretében [Characteristics related to the treatment of colorectal cancer patients based on a pilot study in Baranya county, Hungary]. *Orv Hetil.* 2021 Jan 24;162(4):153-160. Hungarian. doi: 10.1556/650.2021.31982. PMID: 33486467.

IF: 0.707, Q4

Fodor, D.; Pozsgai, É.; Schally, A.V.; László, Z.; Gömöri, É.; Szabó, É.; Rumi, L.; Lócsei, D.; Boronkai, Á.; Bellyei, S. Expression Levels of GHRH-Receptor, pAkt and Hsp90 Predict 10-Year Overall Survival in Patients with Locally Advanced Rectal Cancer. *Biomedicines* 2023, 11, 719. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030719>

IF: 4.757, Q1

A témához kapcsolódó összesített impakt factorszám: 8.354

A tézishez kapcsolódó első szerzős szerzemények impakt faktor száma: 5.464

Bellyei S, Boronkai Á, Pozsgai E, **Fodor D**, Mangel L. Effective chemotherapy and targeted therapy supplemented with stereotactic radiotherapy of a patient with metastatic colon cancer following renal transplantation: a case report. *J Med Case Rep.* 2021 Mar 20;15(1):125. doi: 10.1186/s13256-021-02702-y. PMID: 33741057; PMCID: PMC7980581.

IF: 0.4, Q3

Az összes publikáció összesített impakt faktora: 8.754

13. Köszönetnyilvánítás

Szeretném kifejezni hálámat témavezetőmnek, Dr. Bellyei Szabolcs Professzor úrnak és a munkában jelentős segítséget nyújtó Dr. Pozsgai Éva Tanárnőnek, akik támogatása és segítségével nélkül ez az értekezés nem készülhetett volna el.

Hálával tartozom szerzőtársaimnak, akik nélkül nem valósulhatott volna meg a kutatási munka.

Szeretném megköszönni munkahelyi vezetőmnek, Dr. Mangel László Professzor Úrnak a folyamatos szakmai és tudományos segítséget.

Köszönettel tartozom a vizsgálatokban résztvevő házi orvosok munkájáért és köszönetemet fejezem ki munkacsoportunk tagjainak, szakmai tudásuk és a publikációkat érintő javaslataik megosztásáért, mellyel nagyban hozzájárultak a tudományos munka létrejöttéhez.

Köszönetemet fejezem ki édesanyámnak, Szoboszlai Editnek, a tanulmány szerkesztésében és megformálásában nyújtott informatikai segítségéért.

Különösen hálás vagyok családomnak és barátaimnak a töretlen támogatásukért, valamint, hogy lehetővé tették a kutatás megvalósítását.



Article

Expression Levels of GHRH-Receptor, pAkt and Hsp90 Predict 10-Year Overall Survival in Patients with Locally Advanced Rectal Cancer

Dávid Fodor ^{1,†}, Éva Pozsgai ^{2,3,†}, Andrew V. Schally ⁴, Zoltán László ⁵, Éva Gömöri ⁶, Éva Szabó ⁷, László Rumi ⁸, Dorottya Lőcsei ¹, Árpád Boronkai ¹ and Szabolcs Bellyei ^{1,*}

¹ Department of Oncotherapy, Clinical Center, University of Pécs, Édesanyák Street 10, 7624 Pécs, Hungary

² Department of Public Health Medicine, Medical School, University of Pécs, Szigeti Street 12, 7624 Pécs, Hungary

³ Department of Primary Health Care, Medical School, University of Pécs, Rákóczi Street 2, 7623 Pécs, Hungary

⁴ Veterans Affairs Medical Center and South Florida Veterans Affairs Foundation for Research and Education, 201 NW 16th Street, Miami, FL 33125, USA

⁵ Diagnostic, Radiation Oncology, Research and Teaching Center, Kaposi Somogy County Teaching Hospital Dr. József Baka, Guba Sándor Street 40, 7400 Kaposvár, Hungary

⁶ Department of Pathology, Medical School, University of Pécs, Szigeti Street 12, 7624 Pécs, Hungary

⁷ Department of Otorhinolaryngology, Clinical Center, University of Pécs, Munkácsy Mihály Street 2, 7621 Pécs, Hungary

⁸ Urology Clinic, Clinical Center, University of Pécs, Munkácsy Mihály Street 2, 7621 Pécs, Hungary

* Correspondence: bellyeisz@gmail.com; Tel.: +36-30-396-0464

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Fodor, D.; Pozsgai, É.; Schally, A.V.; László, Z.; Gömöri, É.; Szabó, É.; Rumi, L.; Lőcsei, D.; Boronkai, Á.; Bellyei, S. Expression Levels of GHRH-Receptor, pAkt and Hsp90 Predict 10-Year Overall Survival in Patients with Locally Advanced Rectal Cancer. *Biomedicines* **2023**, *11*, 719. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030719>

Academic Editors: Teresa Catalano and Gitana Maria Aceto

Received: 31 January 2023

Revised: 21 February 2023

Accepted: 24 February 2023

Published: 27 February 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: Rectal cancer constitutes nearly one-third of all colorectal cancer diagnoses, and certain clinical and molecular markers have been studied as potential prognosticators of patient survival. The main objective of our study was to investigate the relationship between the expression intensities of certain proteins, including growth-hormone-releasing hormone receptor (GHRH-R), Hsp90, Hsp16.2, p-Akt and SOUL, in specimens of locally advanced rectal cancer patients, as well as the time to metastasis and 10-year overall survival (OS) rates. We also investigated whether these outcome measures were associated with the presence of other clinical parameters. Methods: In total, 109 patients were investigated retrospectively. Samples of pretreatment tumors were stained for the proteins GHRH-R, Hsp90, Hsp16.2, p-Akt and SOUL using immunohistochemistry methods. Kaplan–Meier curves were used to show the relationships between the intensity of expression of biomarkers, clinical parameters, the time to metastasis and the 10-year OS rate. Results: High levels of p-Akt, GHRH-R and Hsp90 were associated with a significantly decreased 10-year OS rate ($p = 0.001$, $p = 0.000$, $p = 0.004$, respectively) and high expression levels of p-Akt and GHRH-R were correlated with a significantly shorter time to metastasis. Tumors localized in the lower third of the rectum were linked to both a significantly longer time to metastasis and an improved 10-year OS rate. Conclusions: Hsp 90, pAkt and GHRH-R as well as the lower-third localization of the tumor were predictive of the 10-year OS rate in locally advanced rectal cancer patients. The GHRH-R and Hsp90 expression levels were independent prognosticators of OS. Our results imply that GHRH-R could play a particularly important role both as a molecular biomarker and as a target for the anticancer treatment of advanced rectal cancer.

Keywords: neoadjuvant radiochemotherapy; rectal cancer; Hsp90; GHRH-R; predictive markers; overall survival

1. Introduction

Colorectal cancer is the third most common cancer in the world, and almost one-third of all of its diagnoses constitute rectal cancer [1]. The treatment protocol for rectal cancer

depends primarily on the clinical stage of the cancer, with neoadjuvant radiochemotherapy (NRCT) followed by total mesorectal excision being the standard of care for patients with locally advanced rectal cancer [2]. NRCT includes the administration of 5-FU or capecitabine, which has been shown to downregulate the inhibitory immune checkpoint, cytotoxic T-lymphocyte protein 4 (CTLA-4), in colorectal cancer cells, thereby regulating the antitumoral immune response and possibly resulting in its therapeutic antitumor effect [3].

Patient survival and the 10-year cumulative incidence rate of distant metastasis have been shown to correlate with the response to NRCT [4], although this varies characteristically among individual patients. The histopathological tumor regression grade (TRG) has been reported to be an independent predictor of disease-free survival with which the pathological response to NRCT can be assessed [5–7].

In addition to the TRG, other clinical parameters such as poor condition at the time of operation and certain molecular markers, including the expression of matrilysin-2, have been shown to be predictive factors for overall survival (OS) [8,9]. For example, the lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) has been shown to correlate with survival in different cancer types, including colorectal and rectal cancers [10,11].

In an earlier study, we analyzed the expression levels of the growth-hormone-releasing hormone receptor (GHRH-R), heat shock protein (Hsp) 90, p-Akt, Hsp16.2 and heme-binding protein 2 (SOUL) in pretreatment rectal tumor samples, and found that GHRH-R and Hsp90 were independent predictive factors of the histopathological response to NRCT [12].

In addition to its neuroendocrine function, growth-hormone-releasing hormone (GHRH) acts as an autocrine/paracrine growth factor in various cancers, including gastrointestinal cancers [13,14]. The presence of GHRH-R and its splice variants—supporting the role of GHRH—has been demonstrated in different cancers, such as esophageal and colorectal neoplasms [15,16].

Heat shock proteins and their members with lower molecular weights, called small Hsp-s, are chaperone molecules that are expressed in response to different types of damage affecting the cells [17]. Hsp 90 is the most abundant Hsp, which chaperones 400 different client proteins [18]. Members of the Hsp90 family have a molecular weight range of 81–99 kDa, and are found in the cytosol, mitochondria, endoplasmic reticulum and nucleus of the cells and have multiple functions, including the autoregulation of the heat shock response, the folding of new proteins and influencing the cell cycle and cell proliferation [19]. The Hsp 90 family includes the constitutively expressed Hsp 90 β and its stress-induced isoform, Hsp 90 α , along with other members, TNF-receptor-associated protein1 (TRAP1) and glucose-regulated protein 94 (GRP94) [19]. Increasing evidence has demonstrated that Hsps, including small Hsp-s, play important roles in different types of tumors [20–23]. Hsp 90 has been shown to influence multiple signal pathways associated with cell cycle arrest and apoptosis, the regulation of invasion and metastasis and the sensitization of drug resistance [19,24–26]. Hsp 90 has been reported to be upregulated in colorectal cancer tissue compared to healthy colon tissues, which has led to investigations regarding the use of Hsp 90 inhibitors as potential therapeutic agents in colorectal cancer [19]. The novel Hsp90 inhibitor ganetespib, for example, has been found to inhibit the growth of colorectal cancer cell lines, to reduce colony formation and to inhibit the growth of tumors in vivo [27]. Furthermore, Hsp 90 inhibition has also shown promising results in a phase I trial of the single-agent ganetespib [19]. In neuroectodermal tumors, the level of the expression of a previously characterized small Hsp, Hsp 16.2, was found to correlate with the histological grades of different types of brain tumors [28–30].

Members of cytoprotective pathways and those involved in tumor necrosis have also been investigated as possible molecular targets in cancer research [31,32]. The PI3K/Akt pathway is a major antiapoptotic pathway and has been associated with the proliferation of malignant cells [33], while tumor necrosis has been shown to be an independent prognostic variable of cancer-specific survival [34]. A member of the BH3-domain-only protein family,

heme-binding protein 2 (SOUL), was shown to facilitate necrotic cell death in oxidative stress through the permeabilization of the mitochondrial membranes [35,36].

In an earlier investigation, we analyzed the relationship between the expression of various proteins (Hsp 16.2, Hsp-90, GHRH-R and SOUL) and the response to NRCT, and found that GHRH-R and Hsp 90 were independent predictive factors of the histopathological response to NRCT [12]. The identification of proteins as potential biomarkers of outcomes is essential in order to individualize and increase the efficacy of treatment. Therefore, using our previous study as a basis, we recruited further patients to our study and followed up with them to investigate whether the mentioned proteins and additional clinical parameters could potentially be used as biomarkers for predicting patient outcomes.

In our present investigation, analyzing a larger patient sample than in our previous study [12], we aimed to investigate the relationship between the intensity levels of protein expression (GHRH-R, Hsp90, Hsp16.2, p-Akt and SOUL) in pretreatment tumor samples, as well as the 10-year overall survival (OS) and time to metastasis rates. It was also our objective to investigate whether the patients' time to metastasis and 10-year overall survival (OS) rates were associated with certain clinical parameters (gender, time to surgery, tumor localization) of the patients.

2. Materials and Methods

2.1. Setting, Patients and Tumor Specimens

The study was carried out at a single site, at the University of Pécs Clinical Center, which has a dedicated cancer center (including Departments of Surgery and Oncotherapy) providing care for the South Transdanubia region of Hungary. Altogether, 114 patients with locally advanced (cT3/T4 or cN+ and cM0) rectal adenocarcinoma participated in our study (69 consecutive patients between January 2005 and December 2006 and 45 consecutive patients between January 2009 and March 2010). All patients received neoadjuvant radiochemotherapy (NRCT) followed by surgery. The pretreatment examinations included a digital rectal examination, sigmoidoscopy, biopsy, abdominal–pelvic CT, pelvic MRI, chest X-ray or CT.

Here, 3D planned conformal radiotherapy was carried out in all cases with the belly board in the prone position, with 18 MV photons. The primary tumor as well as the lymph nodes at risk were covered with 3 irradiation fields and given 45 Gy-s in 25 fractions over a period of 5 weeks. As concomitant chemotherapy, 500 mg/m² of 5-fluorouracil in a continuous infusion and a 30 mg/m² folic acid bolus on days 1–5 of the 1st and the 5th weeks of radiotherapy were administered. Four weeks after the completion of NRCT, the patients were re-staged and a definitive surgical resection was performed 6–9 weeks after the neoadjuvant therapy in all 109 cases (5 patients were excluded from the study). A curative resection was performed in all cases. All patients gave informed consent, which was approved by the local ethics committee. The main clinical characteristics of the patients who underwent operations are given in Table 1.

Table 1. Patient and tumor characteristics.

Factor	N = 109
Age (years)	
≤60	60 (55%)
>60	49 (45%)
Sex	
Male	55 (50%)
Female	54 (50%)
Clinical T stage	
cT2	4 (4%)
cT3	93 (85%)
cT4	12 (11%)

Table 1. *Cont.*

Factor	N = 109
Clinical N stage	
cN0	41 (38%)
cN1-2	68 (62%)
Distance from AV (cm)	
<5	34 (31%)
5–10	43 (40%)
>10	32 (29%)
Time to surgery (weeks)	
≤7	64 (59%)
>7	45 (41%)
AV: anal verge	

2.2. Histopathological Evaluation

The rectal radiotherapy grading system adapted from the study by Mandard et al. [37] was used for the histological evaluation of the resected specimens to determine the pathological response to the neoadjuvant treatment. The five-point tumor regression grading (TRG) scale is based on the presence of residual tumor cells and the extent of fibrosis. The TRG includes the following: TRG1 (complete regression) is defined as the absence of residual tumor and fibrosis extending through the different layers of the rectal wall; TRG2 is characterized by the presence of rare residual tumor cells scattered throughout the fibrosis; TRG3 shows an increase in the number of residual tumor cells, but the fibrosis still predominates; TRG4 demonstrates residual tumor outgrowing the fibrosis; TRG5 is characterized by the absence of any tumor regression. In line with earlier studies to facilitate statistical analyses, the TRG sample was combined into two groups: good responders consisting of TRG1–2 and poor responders comprising TRG3–5 [37–39].

2.3. Preparation of Polyclonal Antibodies against Hsp16.2 and SOUL

Rabbits were immunized subcutaneously at multiple sites with 100 µg of recombinant Hsp16.2/GST and SOUL/GST fusion proteins, which were expressed as described previously [12,28,35] in Freund's complete adjuvant. Four subsequent booster injections at 4-week intervals were given with 50 µg of protein in Freund's incomplete adjuvant. Blood was collected 10 days after boosting, and the antisera were stored at 20 °C. The IgGs were affinity-purified from sera by protein G-Sepharose chromatography (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA.), according to the manufacturer's protocol.

2.4. Immunohistochemistry

Sections of the pretreatment tumor tissue samples were fixed in formalin and embedded in paraffin. Subsequently, they were incubated with the following primary antibodies: GHRH-R primary antibody purchased from Abcam (Abcam Inc., Cambridge, MA, USA) (GHRH-R antibody detected the presence of both GHRH-R as well as the splice variants of the GHRH-R); p-AKT and total Hsp90 polyclonal rabbit primary antibodies purchased from Cell Signaling and Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA, respectively; and the self-developed anti-Hsp 16.2 and anti-SOUL polyclonal primary antibodies. The immunohistochemical staining was carried out according to the streptavidin–biotin-peroxidase method with hydrogen peroxide/3-amino-9-ethylcarbazole development, using the Universal kit as previously described [40]. Only the secondary IgG was incubated with the control sections. The evaluation of the slides was performed with the help of an Olympus BX50 light microscope with an incorporated photography system (Olympus Optical Co., Hamburg, Germany). The staining intensity was recorded semiquantitatively as mild (+), moderate (++) or strong (+++), as described before [41]. For the internal positive control, the normal cellular and vascular structures of the samples were used. Positive areas

around necrotic fields were excluded due to their probable stress-related upregulation. All slides were assessed by the same experienced pathologist blinded to the clinicopathological data.

2.5. Data Collection, Categorization and Outcome Measures

To increase the number of patients per group, the categories of the various variables were combined for these analyses: age over 60 years vs. 60 years or below; cT2 vs. cT3 vs. cT4; cN0 vs. cN1–2; distance from the anal verge of less than 5 cm versus between 5 and 10 cm versus more than 10 cm; time to surgery within 7 weeks versus over 7 weeks. For the statistical testing, the immunohistochemistry intensity values were dichotomized into low-intensity (0, +) and high intensity (++, +++) categories. The overall survival (OS) was defined as being from the date of diagnosis until the time of death from any cause. The time to metastasis was defined as being from the date of diagnosis until the documented first appearance of metastasis.

Data relating to patient parameters and survival were extracted from the clinic's electronic medical database (eMedsol database) and the National E-health Infrastructure Database (EESZT). In cases where data regarding survival was not available from the above-mentioned databases, one researcher in the group contacted the patient or their family members for information.

2.6. Statistical Analysis

The statistical analyses were performed with use of Statistical Package for the Social Sciences software 16.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). A univariate Chi-square test was used to compare clinical parameters and biological markers for the tumor regression grade and clinical response. The relationship between the clinical and biological markers and the overall survival (OS) and time to metastasis rates were demonstrated using Kaplan–Meier curves, and the level of significance was determined using the log-rank test. Following the proportional hazard assumption testing of clinical and biological parameters found to significantly affect OS, a multivariate Cox regression analysis was performed (with a confidence interval of 95%) to test for the independent influence of potential prognostic factors on overall survival. In the course of the model estimation process, the “enter” method was used, meaning that all variables—excepting “tumor localization”—were used as possible covariants and included in the model, and their combined effect was analyzed. Probability (*p*) values < 0.05 were considered statistically significant, and the statistical tests were based on a two-sided significance level.

3. Results

3.1. Protein Expression in Pretreatment Biopsy Specimens, Clinical Parameters and Histopathological Response to Therapy

The immunohistochemical evaluation of the pretreatment biopsy samples showed high-intensity staining (++, +++) for SOUL, Hsp 16.2, Hsp90, GHRH-R and for p-Akt in 60, 54, 67, 67% and 76% of the cases, respectively (Table 2).

Table 2. Immunohistochemical expression of proteins in pretreatment tumor specimens.

Markers	Immunohistochemical Expression			
	Low Intensity		High Intensity	
	0	+	++	+++
SOUL	44 (40%)		65 (60%)	
Hsp 16.2	50 (46%)		59 (54%)	
Hsp 90	36 (33%)		73 (67%)	
p-Akt	26 (24%)		83 (76%)	
GHRH-R	36 (33%)		73 (67%)	

A good pathological response was found in 52 and a poor response to NRCT was found in 57 cases out of the studied 109 specimens.

High levels of GHRH-R expression in the pretreatment tumor specimens were significantly correlated with a poor histopathological response ($p = 0.049$), while no significant relationship could be detected between the expression of other proteins and the tumor regression grade (Table 3).

Table 3. Relationship between protein expression and the histopathological response to NRCT (n = 109).

	Markers	Case No (n = 109)	Good Response (n = 52)	Poor Response (n = 57)	p
SOUL	Low intensity	44 (40%)	20 (18%)	24 (22%)	0.699
	High intensity	65 (60%)	32 (30%)	33 (30%)	
Hsp 16.2	Low intensity	50 (46%)	28 (26%)	22 (20%)	0.111
	High intensity	59 (54%)	24 (22%)	35 (32%)	
HSP90	Low intensity	36 (33%)	20 (18%)	16 (15%)	0.249
	High intensity	73 (67%)	32 (30%)	41 (37%)	
P-AKT	Low intensity	26 (24%)	12 (11%)	14 (13%)	0.856
	High intensity	83 (76%)	40 (37%)	43 (39%)	
GHRH-R	Low intensity	36 (33%)	22 (20%)	14 (13%)	0.049
	High intensity	73 (67%)	30 (28%)	43 (39%)	

Patients whose time to surgery was more than 7 weeks had a significantly higher chance of having a good response to NRCT ($p = 0.003$) than those who underwent surgery within 7 weeks after NRCT. None of the other pretreatment clinical parameters was found to be significantly related statistically to the histopathological response (Table 4).

Table 4. Relationship between clinical parameters and the histopathological response to NRCT (n = 109).

	Clinical Factor	Case No (n = 109)	Good Response (n = 52)	Poor Response (n = 57)	p
Age (years)	≤60	60 (55%)	30 (27.5%)	30 (27.5%)	0.596
	>60	49 (45%)	22 (20%)	27 (25%)	
Sex	Male	55 (50%)	28 (26%)	27 (25%)	0.499
	Female	54 (50%)	24 (22%)	30 (27%)	
Clinical T stage *	cT2	4 (4%)	4 (4%)	0 (0%)	0.068
	cT3	93 (85%)	44 (40%)	49 (45%)	
	cT4	12 (11%)	4 (4%)	8 (7%)	
Clinical N stage	cN0	41 (%)	18 (17%)	23 (21%)	0.537
	cN1–2	68 (%)	34 (31%)	34 (31%)	
Distance from AV (cm)	<5	34 (31%)	14 (13%)	20 (18%)	0.384
	5–10	43 (39%)	24 (22%)	19 (17%)	
	>10	32 (30%)	14 (13%)	18 (17%)	
Time to surgery (weeks)	≤7	64 (59%)	23 (21%)	41 (38%)	0.003
	>7	45 (41%)	29 (27%)	16 (14%)	

Note: * 2 cells (33.3%) have expected counts less than 5. The statistical analysis was performed with a chi-square test, level of significance $p < 0.05$.

3.2. The Relationship between the Expression of Pretreatment Proteins and 10-Year Overall Survival (OS)

We examined the relationship between pretreatment protein expression and 10-year OS. By 120 months, patients with tumors containing high levels of GHRH-R had a survival rate below 30%, compared to patients with cancers expressing low GHRH-R, where almost

90% of the patients were still alive. High levels of p-Akt, GHRH-R and Hsp90 were associated with significantly decreased 10-year OS rates ($p = 0.001$, $p = 0.000$, $p = 0.004$, respectively) (Figure 1a–c). The intensity of the SOUL and Hsp16.2 staining did not affect the 10-year OS rate significantly (Figure 1d,e).

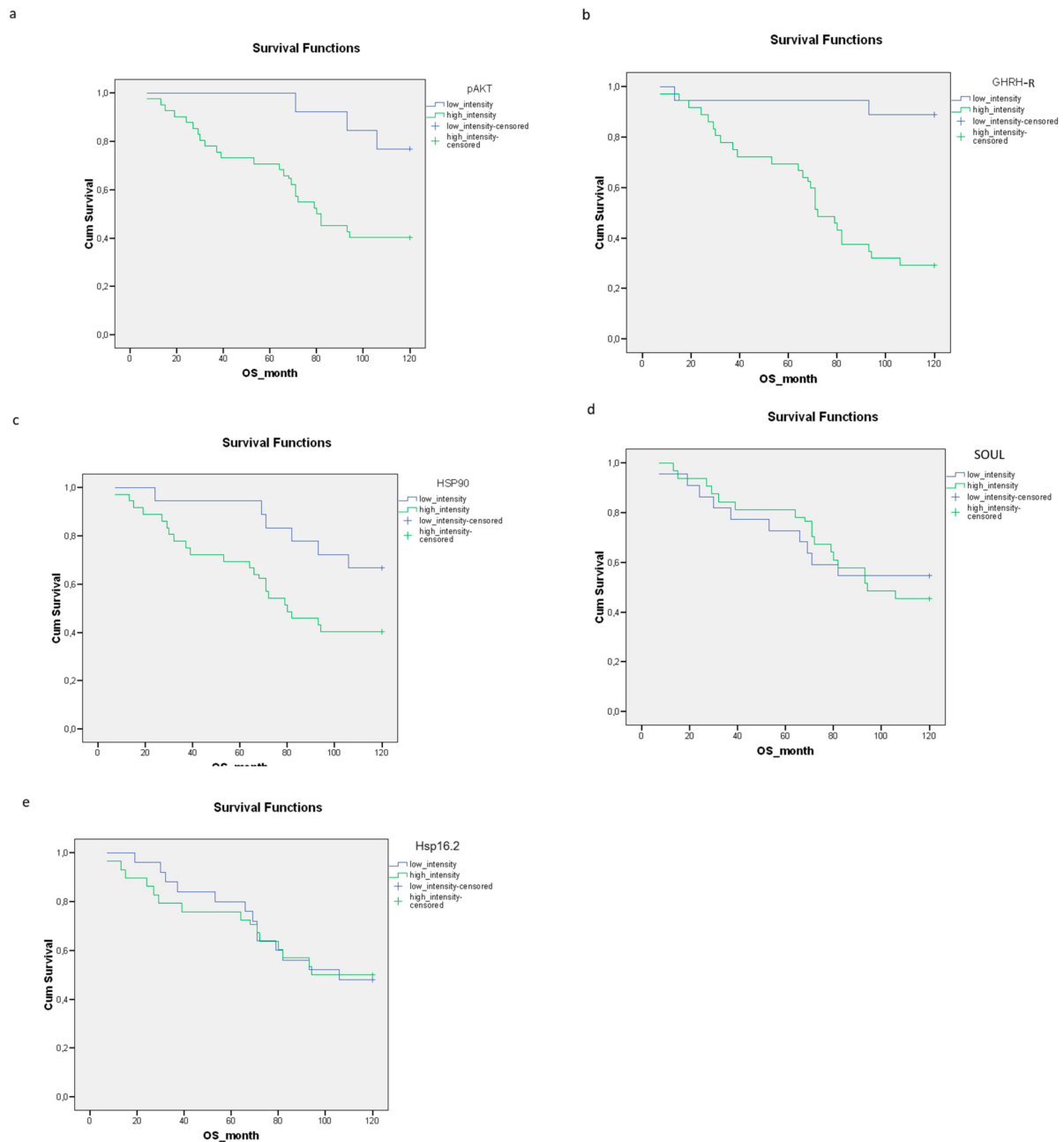


Figure 1. The relationship between the staining intensity of the pretreatment proteins (a) p-Akt ($p = 0.001$), (b) GHRH-R ($p = 0.000$), (c) Hsp90 ($p = 0.004$) (d) SOUL ($p = 0.661$) and (e) Hsp16.2 ($p = 0.975$) and the 10-year OS rate. The effects of biological markers on the overall survival were demonstrated using Kaplan–Meier curves and the level of significance was determined using the log-rank test. Probability (p) values < 0.05 were considered statistically significant.

3.3. The Relationship between Clinical Parameters (Histopathological Response, Tumor Localization, Gender) and 10-Year OS

We evaluated the effect of the individual clinical parameters on the 10-year OS rate. Good histopathological responses and lower-third tumor localization were associated with

significantly improved 10-year OS rates, compared to patients with a poor histopathological response or upper- or middle-third tumors ($p = 0.029$; $p = 0.015$, respectively) (Figure 2a,b). Although the association was not significant, female gender was linked with an improved 10-year OS rate (Figure 2c). The time to surgery did not significantly affect the 10-year OS rate (Figure 2d).

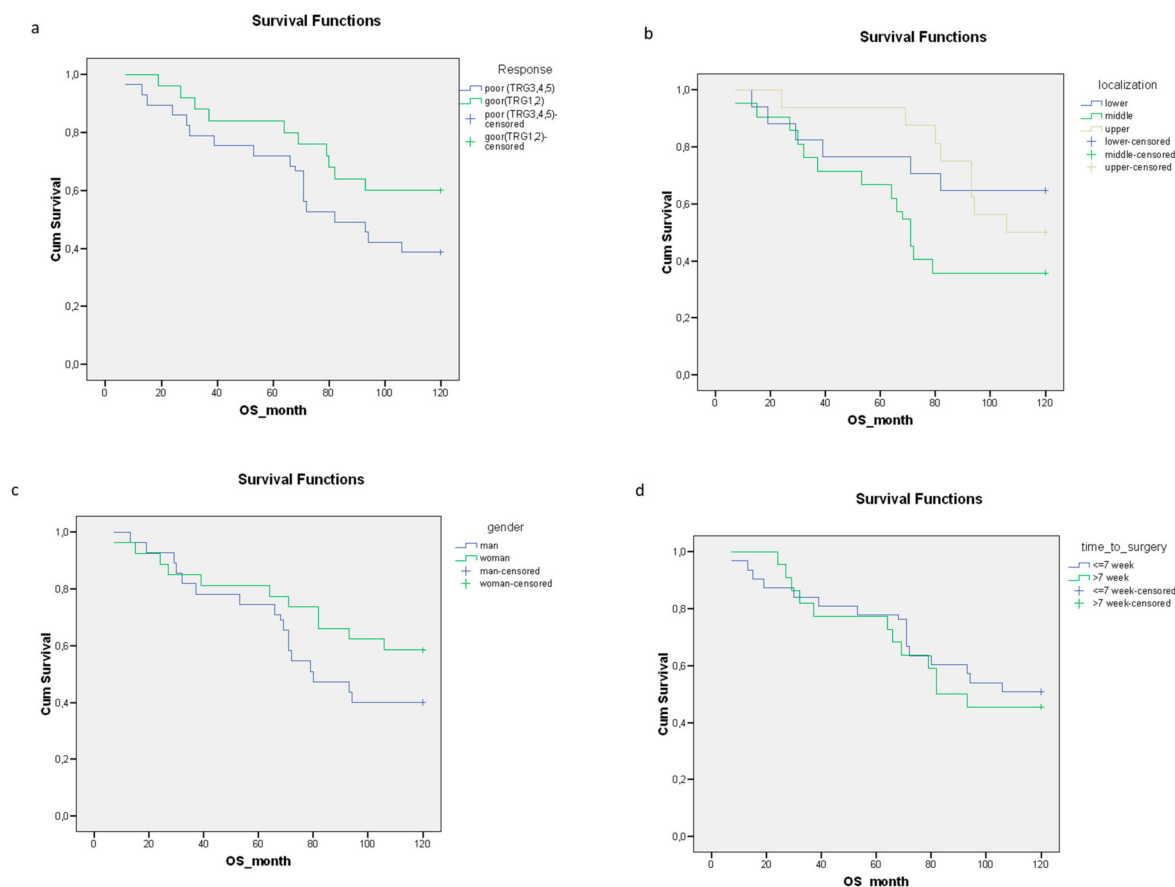


Figure 2. The relationships between clinical parameters including the (a) histopathological response ($p = 0.029$), (b) tumor localization ($p = 0.015$), (c) gender ($p = 0.057$) (d) time to surgery ($p = 0.568$) and 10-year OS rate. The effects of the clinical parameters on the overall survival were demonstrated using Kaplan–Meier curves and the level of significance was determined using the log-rank test. Probability (p) values < 0.05 were considered statistically significant.

The relationships between pretreatment proteins, clinical parameters and OS using the log-rank test are shown in Supplementary Table S1.

3.4. Analysis of the Expression of Pretreatment Proteins and Clinical Parameters as Potential Independent Prognostic Factors of Overall Survival

The biological and clinical markers found to have a significant association with 10-year OS were analyzed using a multivariate Cox regression analysis. Two biological markers, GHRH-R and Hsp90, were found to be significant independent prognostic factors of overall survival (GHRH-R: $p: 0.000$, EXP(B): -2.015 , 95.0% CI: $0.044-0.401$; Hsp90 $p: 0.005$, EXP(B): -0.928 , 95.0% CI: $0.206-0.757$) (Table 5).

Table 5. Markers showing significant results after the Cox regression analysis of the investigated biological and clinical parameters.

	B	SE	Sig.	Exp(B)	95.0% CI for Exp(B)	
					Lower	Upper
Hsp90	−0.928	0.332	0.005	0.395	0.206	0.757
GHRH-R	−2.015	0.562	0.000	0.133	0.044	0.401
p-Akt	−0.666	0.470	0.157	0.514	0.205	1.291
Response	0.321	0.284	0.259	1.378	0.789	2.406

A moderate correlation was found between p-Akt and GHRH-R, possibly explaining why p-Akt was not found to be a significant variable. However, when GHRH-R was excluded from the model, p-Akt remained significant ($p = 0.000$; $Exp(B) = 0.204$, 95.0% CI: 0.086–0.481), indicating that the prognostic role of p-Akt appears probable (data not shown).

3.5. Relationship between the Expression of Pretreatment Proteins, Clinical Parameters and the Time to Metastasis

High expression levels of p-Akt and GHRH-R were associated with a significantly shorter time to metastasis (Figure 3a,b). No significant relationship could be detected between the expression levels of Hsp90, SOUL and Hsp16.2 and the time to metastasis (Figure 3c–e).

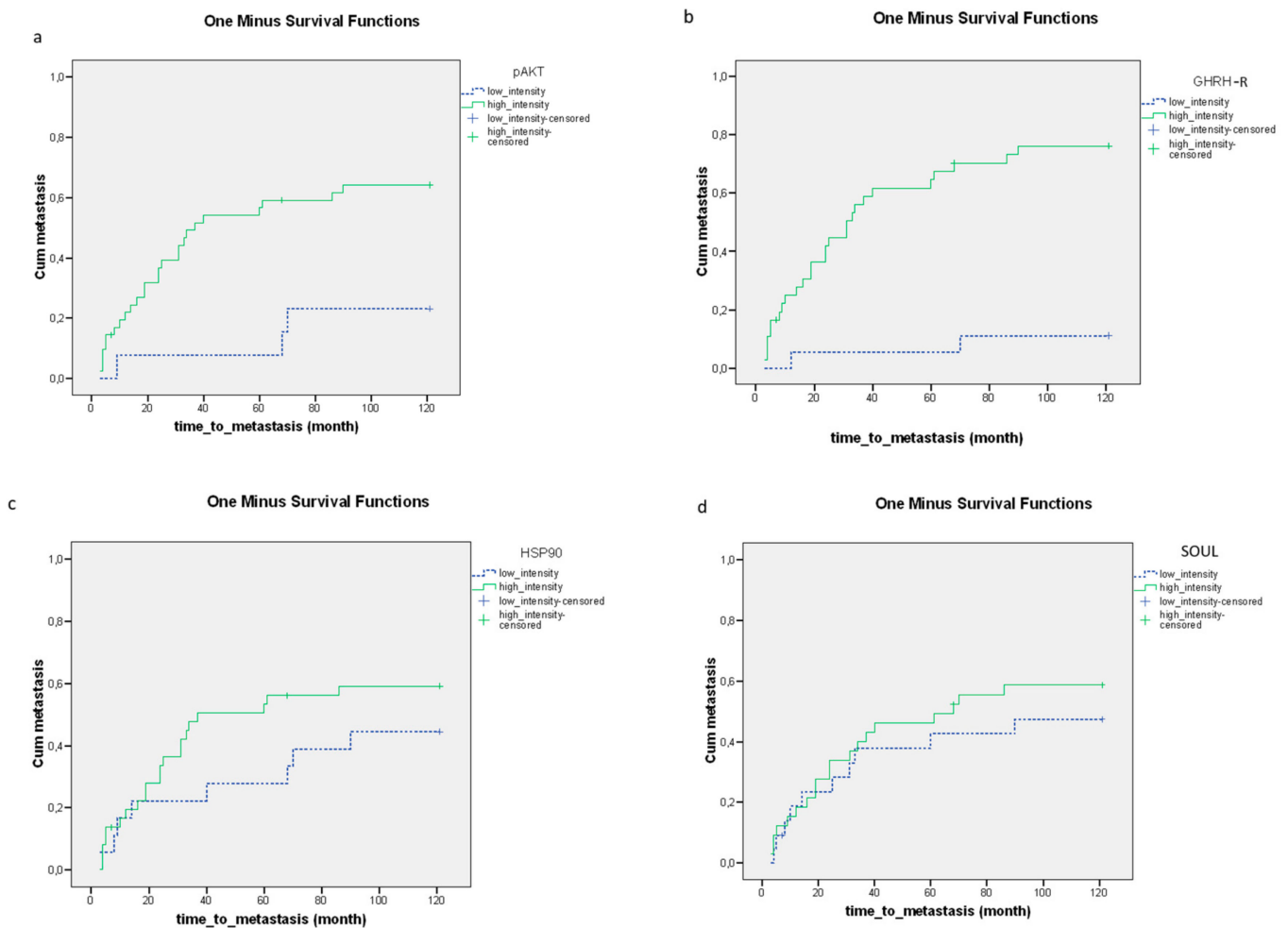


Figure 3. Cont.

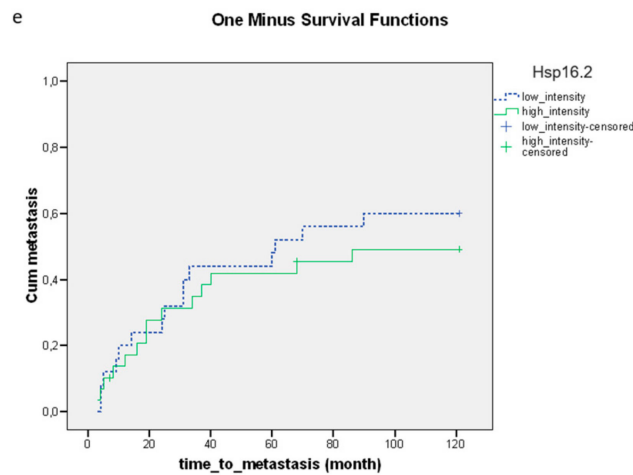


Figure 3. The relationship between the staining of the pretreatment proteins (a) p-Akt ($p = 0.000$), (b) GHRH-R ($p = 0.000$), (c) Hsp90 ($p = 0.115$), (d) SOUL ($p = 0.310$) and (e) Hsp16.2 ($p = 0.328$) and the time to metastasis. The effects of biological markers on the time to metastasis were demonstrated using Kaplan–Meier curves and the level of significance was determined using the log-rank test. Probability (p) values < 0.05 were considered statistically significant.

The tumors localized in the lower third of the rectum were associated with a significantly longer time to metastasis (Figure 4b). No significant relationship could be detected between the time to surgery, histopathological response, gender and time to metastasis (Figure 4a,c,d).

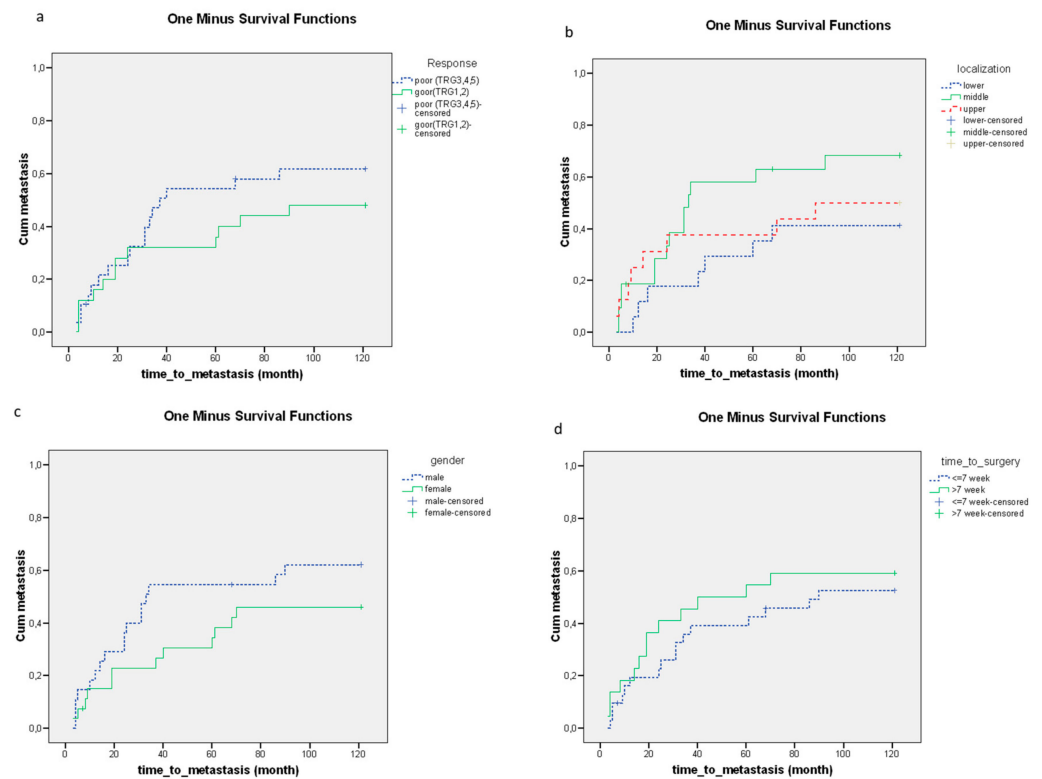


Figure 4. The relationships between clinical parameters including the (a) histopathological response ($p = 0.170$), (b) tumor localization ($p = 0.048$), (c) gender ($p = 0.064$), (d) time to surgery ($p = 0.319$) and time to metastasis. The effects of clinical parameters on the time to metastasis were demonstrated using Kaplan–Meier curves and the level of significance was determined using the log-rank test. Probability (p) values < 0.05 were considered statistically significant.

4. Discussion

In our study, we identified new molecular markers and analyzed previously investigated clinical markers as predictors of the time to metastasis and OS in patients with locally advanced rectal cancer.

Our previous study showed that the expression levels of GHRH-R and Hsp90 were independent predictive factors of histopathological response to NRCT [12]. In addition to the response to therapy, the appearance of the first metastasis and overall survival are both decisive outcomes for cancer patients. Supporting their possible role in locally advanced rectal cancer, we found that high levels of p-Akt, Hsp90 and GHRH-R were associated with significantly decreased 10-year OS, while increased staining intensities for p-Akt and GHRH-R were also linked to a significantly shorter time to metastasis. Malignant transformation and metastasis formation have been reported to be promoted by growth-hormone-stimulated insulin-like growth factor I (IGF-I) in different malignancies [42–44], and antagonists of GHRH have been shown to suppress the tumoral production of IGF-I and IGF-II by inhibiting the secretion of GH and blocking the binding of autocrine GHRH to receptors on cancer cells [45–47]. An earlier study reported that increased GHRH-R in tumor samples of gastric cancer correlated with poor overall survival and was an independent predictor of patient prognosis [48]. The overexpression of GHRH-R in colorectal malignancies has been detected previously [49]. Furthermore, the antagonization of GHRH has been shown to induce DNA damage in human colon cancer cells and subsequently to lead to p21-mediated cell cycle arrest and apoptosis [50]. Our findings indicate that GHRH-R, and consequently GHRH, may play an important part in both response to therapy and patient outcome measures. Although GHRH-antagonists have not yet been introduced into the clinical practice, the potential importance of GHRH-R both as a probable molecular target of therapy and—based on our present findings—as a predictor for survival in locally advanced rectal cancer is highly plausible.

Cell proliferation, migration and angiogenesis are processes that contribute to metastasis formation [49]. The levels of pAkt have been shown to be overexpressed in CRC compared to normal colorectal mucosa [51], while the angiogenesis of CRC was shown to be induced through the activation of the Akt/Erk signaling pathways [52]. Accordingly, in our tumor samples, intensive pAkt staining correlated with a shorter time to metastasis and decreased 10-year OS. The client proteins of Hsp 90 have also been known to be associated with the development and progression of cancer cells [53,54]. The four members of the Hsp90 family are encoded by genes that regulate tumor formation, adhesion, invasion, metastasis, angiogenesis and apoptosis [55]. Consequently, Hsp 90 may be overexpressed in tumors [56,57], as was shown in a number of reports [19], including a study that found a positive correlation between the overexpression of the mRNA for Hsp90 and metastasis and poor prognosis in CRC [58]. Hsp90 has been found to facilitate the progression of cancer cells by increasing the activity of oncogenic protein kinases, including MAPK, JAK2/STAT3 pathways and the previously mentioned PI3K/Akt signaling pathway, which is responsible for promoting cell proliferation and survival and is often overactivated in cancer cells [25]. In line with these reports, we found high levels of Hsp 90 in our rectal cancer specimens, and our results indicated that high levels of Hsp 90 levels in the pretreatment rectal cancer specimens were associated with a worse prognosis and decreased 10-year OS. Along with GHRH-R, Hsp90 was found to be an independent prognosticator of OS in our study. Based on our findings and previous evidence, it appears plausible that the elevated levels of Hsp90 in the cells of our rectal tumor samples may have promoted the PI3K/Akt signaling pathway and thereby increased the pAkt levels in the tumor tissue samples, which ultimately resulted in our finding that increased levels of both pAkt and Hsp90 were associated with tumor progression and subsequently significantly poorer 10-year survival.

Since Hsp-s have been detected in extracellular vesicles in various biological fluids of cancer patients, the recent research has turned to investigating them as potential sources of biomarkers [59]. The increase in Hsp70 in the serum, for example, has been reported to be associated with the stage of the colorectal cancer, while high levels of soluble Hsp70 were

reported to be associated with poor survival [60,61]. Hsp 90AA1/HSP90alpha expression was also shown to be significantly higher in the serum of CRC patients compared to healthy individuals [56]. On one hand, these results support our findings of the prognostic relevance of Hsp 90, while on the other hand, to our knowledge, our study is the first to report the significant association between the intracellular Hsp90 expression of rectal cancer samples and a poor 10-year prognosis. Since immunohistochemical testing remains a comparatively easy and cheap method and histopathological testing remains a standard part of tumor diagnostics, our study may have relevance from a practical point of view, whereby the intracellular testing of tumor tissues for Hsp90 and GHRH-R could potentially be used routinely and easily in clinical practice, if further validating research is conducted.

Although Hsp16.2 has been shown to inhibit cell death by binding to Hsp90, and through the activation of the PI-3kinase/Akt pathway [30] and was also been found to be overexpressed in esophageal cancer [62], the intensity of the Hsp 16.2 staining showed no significant relationship with either the time to metastasis or 10-year OS in our present study. Furthermore, both Hsp16.2 and SOUL were predictors of a negative response to NRCT in esophageal cancer according to a previous report [63], yet neither protein correlated with the survival rate in our patients. Thus, it is plausible that in contrast to esophageal cancer cells, the main manner of tumor development in rectal cancer cells does not occur through the Hsp16.2-mediated antiapoptotic or SOUL-mediated necrotic pathways; however, the exact molecular mechanisms require further investigation.

Among the studied clinical parameters, the time to surgery was significantly associated with the response to therapy but did not affect the time to metastasis or 10-year OS in our study. Our findings are supported by other recent studies on rectal cancer patients in which no significant differences in disease-free or overall survival were found between patients with different time intervals to surgery [64–66]. Furthermore, according to earlier reports, a longer than 6–8-week period between the completion of NRCT and surgery was associated with a significantly higher rate of response [67,68]. This may be explained by the phenomenon where biological changes induced by radiation need time to develop.

In recent years, several investigations have supported the prognostic role of TRG in locally advanced rectal cancer, where the degree of tumor regression following NRCT, indicating the histopathological response to NRCT, was found to correlate with the cumulative incidence rate of distant metastasis, disease-free survival and overall survival [4,7]. Corresponding to these reports, we also observed that a good histopathological response leads to a significantly improved 10-year OS.

There have been conflicting reports regarding the role of tumor localization in locally advanced rectal cancer patients. While an earlier study reported that a distance from the anal verge of more than 5 cm was associated with significantly lower downstaging rates [69], a more recent but smaller study discovered that a distance of more than 5 cm was related to a significantly higher complete pathological response rate and improved 5-year survival [70]. However, a very recent meta-analysis showed that cancers closer to the anal verge were significantly more likely to achieve a complete pathological response [71]. In accordance with this large analysis, we found that a distance of less than 5 cm from the anal verge, i.e., lower-third localization, was related to a longer time to metastasis and increased 10-year OS. These findings may be explained by the clinical behavior of lower rectal cancers. The tumors in the lower third of the rectum can be reached more easily by physical examination and signs of bleeding may also be apparent sooner to the patient than tumors in the middle or upper third of the rectum, thereby possibly leading to earlier detection of the tumor.

Another clinical parameter that has been investigated as a potential prognostic factor is the gender of the patient. Females have been found to have significantly better OS in CRC than males [71], a tendency that we also observed among our patients, although the advantage was not found to be significant among our patients.

Although the parameters investigated as potential clinical prognosticators mostly supported the results from previous studies, our results highlight the possible importance

of utilizing relatively easily accessible information, such as the localization of the tumor in everyday practice.

Our study had certain limitations. This was a comparatively small study, and further potentially relevant clinical information (e.g., BMI, smoking status), possibly influencing our results, was not collected about the patients. In addition, since this was a preliminary study, it lacked precision in and an individualized approach to patient enrollment, which are prerequisites of a clinical trial. Thus, further research with larger patient samples and more accurately designed and conducted clinical tests is required to validate our results.

5. Conclusions

To our knowledge, this is the first study to report that Hsp 90, pAkt and GHRH-R in pretreatment tumor samples are possible molecular predictive markers of decreased OS in locally advanced rectal cancer patients. Furthermore, GHRH-R and Hsp90 are independent prognostic factors of 10-year overall survival, and pAkt may have an independent predictive role as well.

We also showed that the intensity levels of pAkt and GHRH-R expression were prognosticators of the time to metastasis. This finding as well as our previous finding that the expression of GHRH-R was an independent prognostic factor for the response to therapy [12], implies that GHRH-R could play a particularly important role as a molecular biomarker.

A relevant point in our study is the particularly long follow-up period of 10 years, which shows the long-term influence of the investigated biomarkers on the patient outcome. In addition, our report may have novel implications for further research by complementing the existing data on potential biomarkers of rectal cancer and providing a basis for further research involving larger patient populations. Finally, our findings may be of potential practical clinical value. The preferred characteristics of biomarkers include their easy and noninvasive acquisition from the patients, as well as their availability and low expense. Detecting the expression of biomarker proteins using immunohistochemistry could be an easy, cost-effective way of determining prognosis and potentially even planning therapy, since the method is available in medical centers that routinely diagnose and treat patients with cancer, and no additional sampling is required of the patient, since a biopsy is automatically taken for histopathological testing.

Thus, GHRH-R and Hsp90 appear to be promising biomarkers in locally advanced rectal cancer. However, further research, including larger validated studies, is needed to confirm our results.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biomedicines11030719/s1>. Supplementary Table S1. The relationships between pretreatment proteins, clinical parameters and OS using the log-rank test.

Author Contributions: All authors were involved in delivery of the investigation. S.B., Á.B. and É.P. designed the study. É.G. carried out the immunohistochemistry. D.F., Z.L., É.S. and D.L. collected the patient data and performed the statistical analysis. É.P., L.R. and A.V.S. analyzed the data and the relevant literature. S.B. and Á.B. prepared the final figures and the tables. D.F. and É.P. prepared the manuscript. S.B. and A.V.S. reviewed the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the János Bolyai Research Scholarship of the Hungarian Academy of Sciences.

Institutional Review Board Statement: This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Ethics committee approval was obtained from the Regional Ethical Committee (Reference number: 7532-PTE2019).

Informed Consent Statement: Written informed consent was obtained from the patients—or in case of death from the close relative—for publication of this study.

Data Availability Statement: The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have neither financial nor non-financial competing nor conflicting interests.

Abbreviations

GHRH-R	Growth-hormone-releasing hormone receptor
Hsp	Heat shock protein
LMR	Lymphocyte-to-monocyte ratio
NRCT	Neoadjuvant radiochemotherapy
OS	Overall survival
SOUL	Heme-binding protein 2
TRG	Tumor regression grade

References

- Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* **2021**, *71*, 209–249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Massihnia, D.; Pizzutilo, E.G.; Amatu, A.; Tosi, F.; Ghezzi, S.; Bencardino, K.; Di Masi, P.; Righetti, E.; Patelli, G.; Scaglione, F.; et al. Liquid biopsy for rectal cancer: A systematic review. *Cancer Treat. Rev.* **2019**, *79*, 101893. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Derakhshani, A.; Hashemzadeh, S.; Asadzadeh, Z.; Shadbad, M.; Rasibonab, F.; Safarpour, H.; Jafarlou, V.; Solimando, A.; Racanelli, V.; Singh, P.; et al. Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 in Colorectal Cancer: Another Therapeutic Side of Capecitabine. *Cancers* **2021**, *13*, 2414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Huh, J.W.; Kim, H.C.; Kim, S.H.; Park, Y.A.; Cho, Y.B.; Yun, S.H.; Lee, W.Y.; Park, H.C.; Choi, D.H.; Park, J.O.; et al. Tumor regression grade as a clinically useful outcome predictor in patients with rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy. *Surgery* **2018**, *165*, 579–585. [[CrossRef](#)]
- Dhadda, A.; Dickinson, P.; Zaitoun, A.; Gandhi, N.; Bessell, E. Prognostic importance of Mandard tumour regression grade following pre-operative chemo/radiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Eur. J. Cancer* **2011**, *47*, 1138–1145. [[CrossRef](#)]
- Vecchio, F.M.; Valentini, V.; Minsky, B.D.; Padula, G.D.; Venkatraman, E.S.; Balducci, M.; Miccichè, F.; Ricci, R.; Morganti, A.G.; Gambacorta, M.A.; et al. The relationship of pathologic tumor regression grade (TRG) and outcomes after preoperative therapy in rectal cancer. *Int. J. Radiat. Oncol.* **2005**, *62*, 752–760. [[CrossRef](#)]
- Fokas, E.; Liersch, T.; Fietkau, R.; Hohenberger, W.; Beissbarth, T.; Hess, C.; Becker, H.; Ghadimi, M.; Mrak, K.; Merkel, S.; et al. Tumor Regression Grading After Preoperative Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Carcinoma Revisited: Updated Results of the CAO/ARO/AIO-94 Trial. *J. Clin. Oncol.* **2014**, *32*, 1554–1562. [[CrossRef](#)]
- Hu, Q.; Yan, C.; Xu, C.; Yan, H.; Qing, L.; Pu, Y.; He, Z.; Li, X. Matrilysin-2 expression in colorectal cancer is associated with overall survival of patients. *Tumor Biol.* **2013**, *35*, 3569–3574. [[CrossRef](#)]
- Jakubowska, K.; Koda, M.; Grudzińska, M.; Kańczuga-Koda, L.; Famulski, W. Monocyte-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor in peripheral whole blood samples of colorectal cancer patients. *World J. Gastroenterol.* **2020**, *26*, 4639–4655. [[CrossRef](#)]
- Hirahara, T.; Arigami, T.; Yanagita, S.; Matsushita, D.; Uchikado, Y.; Kita, Y.; Mori, S.; Sasaki, K.; Omoto, I.; Kurahara, H.; et al. Combined neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio predicts chemotherapy response and prognosis in patients with advanced gastric cancer. *BMC Cancer* **2019**, *19*, 1–7. [[CrossRef](#)]
- Chun, E.; Lavoie, S.; Michaud, M.; Gallini, C.A.; Kim, J.; Soucy, G.; Odze, R.; Glickman, J.N.; Garrett, W.S. CCL2 Promotes Colorectal Carcinogenesis by Enhancing Polymorphonuclear Myeloid-Derived Suppressor Cell Population and Function. *Cell Rep.* **2015**, *12*, 244–257. [[CrossRef](#)]
- Farkas, R.; Pozsgai, E.; Schally, A.; Szigeti, A.; Szigeti, E.; Laszlo, Z.; Papp, A.; Gomori, E.; Mangel, L.; Horvath, P.O.; et al. Possible predictors of histopathological response to neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2011**, *138*, 387–395. [[CrossRef](#)]
- Schally, A.V.; Comaru-Schally, A.M.; Nagy, A.; Kovacs, M.; Szepeshazi, K.; Plonowski, A.; Varga, J.L.; Halmos, G. Hypothalamic Hormones and Cancer. *Front. Neuroendocr.* **2001**, *22*, 248–291. [[CrossRef](#)]
- Busto, R.; Schally, A.V.; Varga, J.L.; Garcia-Fernandez, M.O.; Groot, K.; Armatis, P.; Szepeshazi, K. The expression of growth hormone-releasing hormone (GHRH) and splice variants of its receptor in human gastroenteropancreatic carcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 11866–11871. [[CrossRef](#)]
- Havt, A.; Schally, A.V.; Halmos, G.; Varga, J.L.; Toller, G.L.; Horvath, J.E.; Szepeshazi, K.; Köster, F.; Kovitz, K.; Groot, K.; et al. The expression of the pituitary growth hormone-releasing hormone receptor and its splice variants in normal and neoplastic human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 17424–17429. [[CrossRef](#)]
- Barabutis, N.; Schally, A.V. Knocking down gene expression for growth hormone-releasing hormone inhibits proliferation of human cancer cell lines. *Br. J. Cancer* **2008**, *98*, 1790–1796. [[CrossRef](#)]

17. Hermisson, M.; Strik, H.; Rieger, J.; Dichgans, J.; Meyermann, R.; Weller, M. Expression and functional activity of heat shock proteins in human glioblastoma multiforme. *Neurology* **2000**, *54*, 1357–1365. [[CrossRef](#)]
18. Costa, T.E.; Raghavendra, N.M.; Penido, C. Natural heat shock protein 90 inhibitors in cancer and inflammation. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *189*, 112063. [[CrossRef](#)]
19. Javid, H.; Hashemian, P.; Yazdani, S.; Mashhad, A.S.; Karimi-Shahri, M. The role of heat shock proteins in metastatic colorectal cancer: A review. *J. Cell. Biochem.* **2022**, *123*, 1704–1735. [[CrossRef](#)]
20. Li, Q.; Wang, Y.; Lai, Y.; Xu, P.; Yang, Z. HspB5 correlates with poor prognosis in colorectal cancer and prompts epithelial-mesenchymal transition through ERK signaling. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0182588. [[CrossRef](#)]
21. Ju, Y.-T.; Kwag, S.-J.; Park, H.J.; Jung, E.-J.; Jeong, C.-Y.; Jeong, S.-H.; Lee, Y.-J.; Choi, S.-K.; Kang, K.R.; Hah, Y.-S.; et al. Decreased Expression of Heat Shock Protein 20 in Colorectal Cancer and Its Implication in Tumorigenesis. *J. Cell. Biochem.* **2014**, *116*, 277–286. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Mao, Y.; Zhang, D.-W.; Lin, H.; Xiong, L.; Liu, Y.; Li, Q.-D.; Ma, J.; Cao, Q.; Chen, R.-J.; Zhu, J.; et al. Alpha B-crystallin is a new prognostic marker for laryngeal squamous cell carcinoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2012**, *31*, 1–7. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Tang, Q.; Liu, Y.F.; Zhu, X.J.; Li, Y.H.; Zhu, J.; Zhang, J.P.; Feng, Z.Q.; Guan, X.H. Expression and prognostic significance of the α B-crystallin gene in human hepatocellular carcinoma. *Hum. Pathol.* **2009**, *40*, 300–305. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Wiech, M.; Olszewski, M.B.; Tracz-Gaszewska, Z.; Wawrzynow, B.; Zylicz, M.; Zylicz, A. Molecular Mechanism of Mutant p53 Stabilization: The Role of HSP70 and MDM2. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e51426. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. He, N.; Zhang, L.; Cui, J.; Li, Z. Bone Marrow Vascular Niche: Home for Hematopoietic Stem Cells. *Bone Marrow Res.* **2014**, *2014*, 1–8. [[CrossRef](#)]
26. Tien, A.H.; Sadar, M.D. Keys to unlock androgen receptor translocation. *J. Biol. Chem.* **2019**, *294*, 8711–8712. [[CrossRef](#)]
27. SuqinHe, S.; Smith, D.L.; Sequeira, M.; Sang, J.; Bates, R.C.; Proia, D.A. The HSP90 inhibitor ganetespib has chemosensitizer and radiosensitizer activity in colorectal cancer. *Investig. New Drugs* **2014**, *32*, 577–586. [[CrossRef](#)]
28. Bellyei, S.; Szigeti, A.; Pozsgai, E.; Boronkai, A.; Gomori, E.; Hocsak, E.; Farkas, R.; Sumegi, B.; Gallyas, F. Preventing apoptotic cell death by a novel small heat shock protein. *Eur. J. Cell Biol.* **2007**, *86*, 161–171. [[CrossRef](#)]
29. Pozsgai, E.; Gomori, E.; Szigeti, A.; Boronkai, A.; Gallyas, F.; Sumegi, B.; Bellyei, S. Correlation between the progressive cytoplasmic expression of a novel small heat shock protein (Hsp16.2) and malignancy in brain tumors. *BMC Cancer* **2007**, *7*, 233. [[CrossRef](#)]
30. Bellyei, S.; Szigeti, A.; Boronkai, A.; Pozsgai, E.; Gomori, E.; Melegh, B.; Janaky, T.; Bogнар, Z.; Hocsak, E.; Sumegi, B.; et al. Inhibition of cell death by a novel 16.2 kD heat shock protein predominantly via Hsp90 mediated lipid rafts stabilization and Akt activation pathway. *Apoptosis* **2006**, *12*, 97–112. [[CrossRef](#)]
31. Iqbal, M.A.; Arora, S.; Prakasam, G.; Calin, G.A.; Syed, M.A. MicroRNA in lung cancer: Role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance. *Mol. Asp. Med.* **2018**, *70*, 3–20. [[CrossRef](#)]
32. Amaravadi, R.K.; Thompson, C.B. The Roles of Therapy-Induced Autophagy and Necrosis in Cancer Treatment. *Clin. Cancer Res.* **2007**, *13*, 7271–7279. [[CrossRef](#)]
33. Liu, H.; Wang, J.; Tao, Y.; Li, X.; Qin, J.; Bai, Z.; Chi, B.; Yan, W.; Chen, X. Curcumol inhibits colorectal cancer proliferation by targeting miR-21 and modulated PTEN/PI3K/Akt pathways. *Life Sci.* **2019**, *221*, 354–361. [[CrossRef](#)]
34. Pollheimer, M.J.; Kornprat, P.; Lindtner, R.A.; Harbaum, L.; Schlemmer, A.; Rehak, P.; Langner, C. Tumor necrosis is a new promising prognostic factor in colorectal cancer. *Hum. Pathol.* **2010**, *41*, 1749–1757. [[CrossRef](#)]
35. Szigeti, A.; Bellyei, S.; Gasz, B.; Boronkai, A.; Hocsak, E.; Minik, O.; Bogнар, Z.; Varbiro, G.; Sumegi, B.; Gallyas, F., Jr. Induction of necrotic cell death and mitochondrial permeabilization by heme binding protein 2/SOUL. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 6447–6454. [[CrossRef](#)]
36. Szigeti, A.; Hocsak, E.; Rapolti, E.; Racz, B.; Boronkai, A.; Pozsgai, E.; Debreceni, B.; Bogнар, Z.; Bellyei, S.; Sumegi, B.; et al. Facilitation of Mitochondrial Outer and Inner Membrane Permeabilization and Cell Death in Oxidative Stress by a Novel Bcl-2 Homology 3 Domain Protein. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 2140–2151. [[CrossRef](#)]
37. Mandard, A.M.; Dalibard, F.; Mandard, J.C.; Marnay, J.; Henry-Amar, M.; Petiot, J.F.; Roussel, A.; Jacob, J.H.; Segol, P.; Samama, G.; et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer* **1994**, *73*, 2680–2686. [[CrossRef](#)]
38. Gérard, J.-P.; Conroy, T.; Bonnetain, F.; Bouché, O.; Chapet, O.; Closon-Dejardin, M.-T.; Untereiner, M.; LeDuc, B.; Francois, É.; Maurel, J.; et al. Preoperative Radiotherapy With or Without Concurrent Fluorouracil and Leucovorin in T3-4 Rectal Cancers: Results of FFC09203. *J. Clin. Oncol.* **2006**, *24*, 4620–4625. [[CrossRef](#)]
39. Bosset, J.-F.; Collette, L.; Calais, G.; Mineur, L.; Maingon, P.; Radosevic-Jelic, L.; Daban, A.; Bardet, E.; Beny, A.; Ollier, J.-C. Chemotherapy with Preoperative Radiotherapy in Rectal Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 1114–1123. [[CrossRef](#)]
40. Bratthauer, G.L. Immunohistochemistry. antigen detection in tissue. In *Advanced Laboratory Methods in Histology and Pathology*; Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology: Washington, DC, USA, 1994.
41. Somji, S.; Sens, M.A.; Lamm, D.L.; Garrett, S.H.; Sens, D.A. Metallothionein isoform 1 and 2 gene expression in the human bladder: Evidence for upregulation of MT-1X mRNA in bladder cancer. *Cancer Detect. Prev.* **2001**, *25*, 62–75.
42. Schally, A.V.; Varga, J.L.; Engel, J.B. Antagonists of growth-hormone-releasing hormone: An emerging new therapy for cancer. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* **2008**, *4*, 33–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

43. Schally, A.V.; Wang, H.; He, J.; Cai, R.; Sha, W.; Popovics, P.; Perez, R.; Vidaurre, I.; Zhang, X. Agonists of growth hormone-releasing hormone (GHRH) inhibit human experimental cancers in vivo by down-regulating receptors for GHRH. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, 12028–12033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Schally, A.; Varga, J. Antagonists of Growth Hormone-Releasing Hormone in Oncology. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2006**, *9*, 163–170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Chatzistamou, I.; Schally, A.V.; Varga, J.L.; Groot, K.; Busto, R.; Armatis, P.; Halmos, G. Inhibition of growth and metastases of MDA-MB-435 human estrogen-independent breast cancers by an antagonist of growth hormone-releasing hormone. *Anti-Cancer Drugs* **2001**, *12*, 761–768. [[CrossRef](#)]
46. Brackowski, R.; Schally, A.V.; Plonowski, A.; Varga, J.L.; Groot, K.; Krupa, M.; Armatis, P. Inhibition of proliferation in human MNNG/HOS osteosarcoma and SK-ES-1 ewing sarcoma cell lines in vitro and in vivo by antagonists of growth hormone-releasing hormone: Effects on insulin-like growth factor II. *Cancer* **2002**, *95*, 1735–1745. [[CrossRef](#)]
47. Zeitler, P.; Siriwardana, G. Antagonism of Endogenous Growth Hormone-Releasing Hormone (GHRH) Leads to Reduced Proliferation and Apoptosis in MDA231 Breast Cancer Cells. *Endocrine* **2002**, *18*, 85–90. [[CrossRef](#)]
48. Gan, J.; Ke, X.; Jiang, J.; Dong, H.; Yao, Z.; Lin, Y.; Lin, W.; Wu, X.; Yan, S.; Zhuang, Y.; et al. Growth hormone-releasing hormone receptor antagonists inhibit human gastric cancer through downregulation of PAK1-STAT3/NF- κ B signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2016**, *113*, 14745–14750. [[CrossRef](#)]
49. Hohla, F.; Moder, A.; Mayrhauser, U.; Hauser-Kronberger, C.; Schally, A.V.; Varga, J.L.; Zarandi, M.; Buchholz, S.; Huber, R.; Aigner, E.; et al. Differential expression of GHRH receptor and its splice variant 1 in human normal and malignant mucosa of the oesophagus and colon. *Int. J. Oncol.* **2008**, *33*, 137–143. [[CrossRef](#)]
50. Hohla, F.; Buchholz, S.; Schally, A.V.; Seitz, S.; Rick, F.G.; Szalontay, L.; Varga, J.L.; Zarandi, M.; Halmos, G.; Vidaurre, I.; et al. GHRH antagonist causes DNA damage leading to p21 mediated cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *Cell Cycle* **2009**, *8*, 3149–3156. [[CrossRef](#)]
51. Henderson-Jackson, E.B.; Helm, J.; Ghayouri, M.; Hakam, A.; Nasir, A.; Leon, M.; Bui, M.; Yeatman, T.; Coppola, D. Correlation between Mcl-1 and pAKT protein expression in colorectal cancer. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2010**, *3*, 768–774.
52. Cao, F.; Wang, S.; Wang, H.; Tang, W. Fibroblast activation protein- α in tumor cells promotes colorectal cancer angiogenesis via the Akt and ERK signaling pathways. *Mol. Med. Rep.* **2017**, *17*, 2593–2599. [[CrossRef](#)]
53. Tsutsumi, S.; Neckers, L. Extracellular heat shock protein 90: A role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. *Cancer Sci.* **2007**, *98*, 1536–1539. [[CrossRef](#)]
54. Goetz, M.P.; Toft, D.O.; Ames, M.M.; Erlichman, C. The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy. *Ann. Oncol.* **2003**, *14*, 1169–1176. [[CrossRef](#)]
55. Yun, C.W.; Kim, H.J.; Lim, J.H.; Lee, S.H. Heat Shock Proteins: Agents of Cancer Development and Therapeutic Targets in Anti-Cancer Therapy. *Cells* **2019**, *9*, 60. [[CrossRef](#)]
56. Chen, J.S.; Hsu, Y.M.; Chen, C.C.; Chen, L.L.; Lee, C.C.; Huang, T.S. Secreted heat shock protein 90 α induces colorectal cancer cell invasion through CD91/LRP-1 and NF- κ B-mediated integrin α V expression. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 25458–25466. [[CrossRef](#)]
57. Wang, X.; Song, X.; Zhuo, W.; Fu, Y.; Shi, H.; Liang, Y.; Tong, M.; Chang, G.; Luo, Y. The regulatory mechanism of Hsp90 α secretion and its function in tumor malignancy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 21288–21293. [[CrossRef](#)]
58. Chen, W.-S.; Lee, C.-C.; Hsu, Y.-M.; Chen, C.-C.; Huang, T.-S. Identification of heat shock protein 90 α as an IMH-2 epitope-associated protein and correlation of its mRNA overexpression with colorectal cancer metastasis and poor prognosis. *Int. J. Color. Dis.* **2011**, *26*, 1009–1017. [[CrossRef](#)]
59. Albakova, Z.; Siam, M.K.S.; Sacitharan, P.K.; Ziganshin, R.H.; Ryazantsev, D.Y.; Sapozhnikov, A.M. Extracellular heat shock proteins and cancer: New perspectives. *Transl. Oncol.* **2020**, *14*, 100995. [[CrossRef](#)]
60. Kocsis, J.; Madaras, B.; Tóth, É.K.; Füst, G.; Prohászka, Z. Serum level of soluble 70-kD heat shock protein is associated with high mortality in patients with colorectal cancer without distant metastasis. *Cell Stress Chaperones* **2010**, *15*, 143–151. [[CrossRef](#)]
61. Gráf, L.; Barabás, L.; Madaras, B.; Garam, N.; Maláti, É.; Horváth, L.; Prohászka, Z.; Horváth, Z.; Kocsis, J. High serum Hsp70 level predicts poor survival in colorectal cancer: Results obtained in an independent validation cohort. *Cancer Biomark.* **2018**, *23*, 539–547. [[CrossRef](#)]
62. Zoltan, L.; Farkas, R.; Schally, A.V.; Pozsgai, E.; Papp, A.; Bognár, L.; Tornoczki, T.; Mangel, L.; Bellyei, S. Possible Predictive Markers of Response to Therapy in Esophageal Squamous Cell Cancer. *Pathol. Oncol. Res.* **2017**, *25*, 279–288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Du, D.; Su, Z.; Wang, D.; Liu, W.; Wei, Z. Optimal Interval to Surgery After Neoadjuvant Chemoradiotherapy in Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Color. Cancer* **2018**, *17*, 13–24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Curtis, N.J.; West, M.A.; Salib, E.; Ockrim, J.; Allison, A.S.; Dalton, R.; Francis, N.K. Time from colorectal cancer diagnosis to laparoscopic curative surgery—Is there a safe window for prehabilitation? *Int. J. Color. Dis.* **2018**, *33*, 979–983. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Mihmanlı, M.; Gürbulak, E.K.; Akgün, İ.E.; Celayir, M.F.; Yazıcı, P.; Tunçel, D.; Bek, T.T.; Öz, A.; Ömeroğlu, S. Delaying surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy improves prognosis of rectal cancer. *World J. Gastrointest. Oncol.* **2016**, *8*, 695. [[CrossRef](#)]
66. Kalady, M.F.; de Campos-Lobato, L.F.; Stocchi, L.; Geisler, D.P.; Dietz, D.; Lavery, I.C.; Fazio, V.W. Predictive Factors of Pathologic Complete Response After Neoadjuvant Chemoradiation for Rectal Cancer. *Ann. Surg.* **2009**, *250*, 582–589. [[CrossRef](#)]
67. Petrelli, F.; Sgroi, G.; Sarti, E.; Barni, S. Increasing the interval between neoadjuvant chemoradiotherapy and surgery in rectal cancer: A meta-analysis of published studies. *Ann. Surg.* **2016**, *263*, 458–464. [[CrossRef](#)]

68. Das, P.; Skibber, J.M.; Rodriguez-Bigas, M.A.; Feig, B.W.; Chang, G.J.; Wolff, R.A.; Eng, C.; Krishnan, S.; Janjan, N.A.; Crane, C.H. Predictors of tumor response and downstaging in patients who receive preoperative chemoradiation for rectal cancer. *Cancer* **2007**, *109*, 1750–1755. [[CrossRef](#)]
69. Restivo, A.; Zorcolo, L.; Cocco, I.M.F.; Manunza, R.; Margiani, C.; Marongiu, L.; Casula, G. Elevated CEA Levels and Low Distance of the Tumor from the Anal Verge are Predictors of Incomplete Response to Chemoradiation in Patients with Rectal Cancer. *Ann. Surg. Oncol.* **2012**, *20*, 864–871. [[CrossRef](#)]
70. Huang, Y.; Lee, D.; Young, C. Predictors for complete pathological response for stage II and III rectal cancer following neoadjuvant therapy—A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Surg.* **2020**, *220*, 300–308. [[CrossRef](#)]
71. Yang, Y.; Wang, G.; He, J.; Ren, S.; Wu, F.; Zhang, J.; Wang, F. Gender differences in colorectal cancer survival: A meta-analysis. *Int. J. Cancer* **2017**, *141*, 1942–1949. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

A colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának jellemzői egy Baranya megyei pilotvizsgálat keretében

Fodor Dávid dr.¹ ■ Busa Csilla² ■ Cservenák Nárcisz² ■ Kiss István dr.³
Bellyei Szabolcs dr.¹ ■ Csikós Ágnes dr.² ■ Pozsgai Éva dr.^{2, 3}

¹Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Központ, Onkoterápiás Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Alapellátási Intézet, Pécs

³Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Népegészségtani Intézet, Pécs

Bevezetés: Az európai országok közül Magyarország a colorectalis daganatos incidencia és mortalitás szempontjából az élen szerepel. Ennek hátterében a beteghez vagy az egészségügyi rendszerhez köthető tényezők is állhatnak.

Célkitűzés: Kutatásunk célja, hogy pilotvizsgálat keretében feltárjuk a colorectalis daganatos betegek kezeléshez jutásának körülményeit azáltal, hogy a betegek első tünetei, kivizsgálásuk jellemzői, betegségük stádiuma és a terápiáig eltelt időtartamok közötti összefüggéseket elemezzük.

Módszer: Retrospektív adatgyűjtés történt 26, Baranya megyei háziiorvosi praxis colorectalis daganatos betegeinek (n = 212) adataira vonatkozóan a praxisok, valamint a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központjának (PTE KK) adatbázisából. Meghatároztuk a terápiáig eltelt intervallumot (TEI), amely az első orvos-beteg találkozástól – amikor a beteg colorectalis daganatra utaló tünetekkel először jelentkezett orvosnál – a terápia megkezdésének első napjáig eltelt időt jelenti. A statisztikai elemzés során deskriptív analízist, valamint varianciaanalízist végeztünk.

Eredmények: A sürgősségire került betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbéltáji fájdalom volt, míg a háziorvos felkereső betegek a véres székletet említették a legtöbbször. A sürgősségi osztályon jelentkező betegek esetében lényegesen magasabb arányban (61%) diagnosztizáltak késői (III–IV.) stádiumú daganatot, mint a háziorvoshoz forduló betegek körében (42,7%). A TEI rövidebb volt, ha a betegek sürgősségi osztályra kerültek (TEI-medián: 15 nap késői, 34,5 nap korai [I–II.] stádiumú daganat esetén), mint amikor háziorvosnál jelentkeztek először (TEI-medián: 86 nap késői, 83 nap korai stádiumú daganat esetén).

Következtetés: A sürgősségi és a háziiorvosi kivizsgálás esetén észlelt TEI-k összemérhetők a nyugat-európai országokéival. A hazai magas mortalitási mutatók hátterében inkább a betegek késedelmes orvoshoz fordulása állhat, ami a primer és szekunder prevenció fontosságára hívja fel a figyelmet.

Orv Hetil. 2021; 162(4): 153–160.

Kulcsszavak: colorectalis daganat, terápiáig eltelt intervallum, tünetek, stádium, háziorvos, sürgősségi osztály

Characteristics related to the treatment of colorectal cancer patients based on a pilot study in Baranya county, Hungary

Introduction: Hungary has one of the leading colorectal cancer incidence and mortality rates in Europe. Patient-related and healthcare-related factors may all play a role.

Objective: Our objective was to investigate the characteristics related to the treatment of colorectal cancer patients by analysing their initial symptoms, disease stage, referral characteristics and total treatment intervals.

Method: A retrospective study was conducted based on data from colorectal patients (n = 212) from the databases of 26 general physician practices and the University of Pécs, Clinical Center. The total treatment interval was determined as the number of days from the first patient-physician consultation with symptoms until the first day of treatment. Descriptive analysis and analysis of variance were performed.

Results: Patients' most common symptom was abdominal/rectal pain when presenting at the emergency department while bloody stool was the most common among patients visiting their general physicians. The proportion of patients with advanced stage (III–IV) cancer was significantly higher at the emergency department than among patients visiting their general physicians (61% and 42.7%, respectively). The total treatment interval was shorter when patients presented at the emergency department (total treatment interval median: 15 days for advanced stage, 34.5 days for

early [I–II] stage cancer) than when they initially visited their general physicians (total treatment interval median: 83 days for early stage, 86 days for advanced stage cancers).

Conclusion: The total treatment intervals for patients visiting the emergency department or their general physicians were similar to those found in Western European countries. The high mortality rates in Hungary are more probably due to patient-related delays, which highlight the importance of primary and secondary prevention.

Keywords: colorectal cancer, total treatment interval, symptoms, stage, general physician, emergency department

Fodor D, Busa Cs, Cservenák N, Kiss I, Bellyei Sz, Csikós Á, Pozsgai É. [Characteristics related to the treatment of colorectal cancer patients based on a pilot study in Baranya county]. *Orv Hetil.* 2021; 162(4): 153–160.

(Beérkezett: 2020. július 5.; elfogadva: 2020. augusztus 5.)

Rövidítések

DEI = a diagnózisig eltelt intervallum; PTE KK = Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ; TEI = a terápiáig eltelt intervallum

Magyarországon az elmúlt két évtizedben a colorectalis daganatok incidenciájában növekvő tendencia volt megfigyelhető [1]. Az európai országok közül hazánk az incidencia szempontjából az első, míg az életkor szerinti standardizált mortalitás szerint a második helyen szerepel [2].

A hazai helyzet súlyossága még nyilvánvalóbbá válik, ha figyelembe vesszük, hogy a colorectalis daganatok okozta halálozás számottevő része megelőzhető lenne, mivel a vastag- és végbélrák fejlődésének biológiai sajátosságai lehetőséget adnak arra, hogy korai stádiumban felismerésre kerüljön a malignus elváltozás [3]. A colorectalis daganatok kialakulása hosszú, időigényes folyamat, kifejlődésük az adenoma–carcinoma láncon keresztül történik. Ennek lényege, hogy a kezdetben bizonyos fokú sejttípiát mutató polipból elsőként *in situ* elváltozás keletkezik, mely invazív daganattá progrediál [4].

Korábbi tanulmányok szerint a colorectalis szűrőprogramok bevezetése csökkentette a vizsgált országokban a colorectalis daganat mortalitását [5–7]. Hazánkban eddig pilotvizsgálatok történtek, és egy országos szűrőprogram kialakítása is elindult, de átfogó, rendszeres colorectalis szűrőprogram még nem került bevezetésre [8, 9].

A colorectalis daganat lokalizációja befolyásolja a tünetek jellegét, amelyek meghatározzák azt az időpontot, amikor a beteg az egészségügyi ellátórendszerhez fordul. A hosszú tünetmentes periódus, illetve az aspecifikus tünetek miatt az esetek jelentős részében későn indul a kivizsgálás [10–12]. A leggyakoribb tünet, amellyel a betegek először orvoshoz fordulnak, a vérzés, mely megnyilvánulhat haematochesia vagy melaena formájában is. A megváltozott székelési habitus, csökkent étvágy, görcsök, abdominális fájdalom, fogyás és a perisztensz alhasi diszkomfort gyakori tünetek, de ritkábban teltségérzet, perianalis fájdalom és diszkomfort, valamint nyákos székletürítés is felléphet [13]. Előrehaladott stádiumban

pedig akut has képében megjelenő bélobstrukció hívhatja fel a figyelmet a colorectalis daganat jelenlétére [10, 14, 15].

A diagnózis felállításának időpontja két tényezőtől függ: a beteghez köthető késlekedéstől, valamint az egészségügyi rendszerhez köthető késlekedéstől. Amennyiben a betegek nem ismerik fel, hogy tüneteik súlyos betegség jelenlétére utalnak, vagy elbagatellizálják a tüneteiket, és emiatt nem fordulnak időben orvoshoz, beteghez köthető késlekedésről beszélünk [11–13]. Az egészségügyi rendszerhez köthető késlekedés pedig a tünetek fellépésétől a diagnózisig, valamint a terápiáig eltelt várakozási időt jelenti [16–19], ami az adott egészségügyi rendszer minőségét jellemzi. Az egészségügyi rendszerhez köthető késlekedés minimalizálása, azaz az időben történő diagnózis felállítása és a terápia elkezdése fontos elem a betegek sikeres kezelése szempontjából. Számos országban vizsgálták a diagnózisig eltelt időt (diagnózisig eltelt intervallum: DEI), valamint a terápiáig eltelt időt (terápiáig eltelt intervallum: TEI). A legrövidebb DEI- és TEI-értékeket az Egyesült Államokban, Kanadában és Dániában regisztrálták, ahol 30–64 napnál rövidebb DEI-értékeket, valamint 28–76 nap hosszúságú TEI-értékeket találtak a kutatások [20–22].

Egy évvel korábban kutatócsoportunk beszámolt vizsgálatunkról, melyben a colorectalis daganatban szenvedő betegek diagnózisig és terápiáig eltelt idejét elemeztük Baranya megyében. Eredményeink alapján a diagnózisig és a terápiáig eltelt időtartamok hasonlóak voltak a nyugat-európai országokban mért időkhöz, viszont a diagnózis pillanatában a magyar betegeknek sokkal nagyobb arányban volt előrehaladott stádiumú daganatuk [20–23].

Tekintettel a colorectalis daganatok magas hazai morbiditási és mortalitási rátájára, akár a beteghez, akár az egészségügyhöz köthető késlekedés hátterében álló tényezők felderítése fontos kiindulópontja lehet a hazai helyzet javításának.

Kutatásunk célja, hogy pilotvizsgálat keretében elemezzük a colorectalis daganatos betegek első tüneteit, valamint a kivizsgálásuk jellemzői és a terápiáig eltelt időintervallumok közötti összefüggéseket.

Módszer

Vizsgálati terv

Kutatásunkban retrospektív adatgyűjtés történt Baranya megyei háziorvosok colorectalis daganatos betegeinek adataira vonatkozóan egy 5 éves intervallumon belül (2012. 01. 01.–2016. 12. 31.). Minden Baranya megyei háziorvosi praxis két alkalommal kapott értesítést a vizsgálatban történő részvétel lehetőségéről, végül 26 háziorvosi praxis jelentkezett önként a praxisukban megjelent colorectalis daganatos betegek adatainak kigyűjtésére. A részt vevő háziorvosi praxisok három dokumentumot kaptak az adatgyűjtés megkezdése előtt: egy, a vizsgálat céljait leíró ismertetőt, egy Microsoft Excel formátumú adatrögzítő táblázatot (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) a gyűjtendő adatokról, valamint egy beleegyező nyilatkozatot, amelyet kitöltés után visszajuttattak a vizsgálat vezetőjéhez.

Adatgyűjtés

Az adatok kigyűjtése elsősorban a háziorvosi praxisok adatbázisából, további, kiegészítő információk gyűjtése pedig a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központjának (PTE KK) eMedSol adatbázisából történt. Azon betegek adatai kerültek be a vizsgálatba, akiknek a megadott időintervallumon belül bármilyen stádiumú colorectalis daganatuk volt (az International Classification of Diseases csoportosítása alapján), és „C” kódú diagnózisukat a megadott intervallumon belül vagy az azt megelőző maximum 5 éven belül kapták. Összesen 390, colorectalis daganatos beteg adatait gyűjtöttük össze. A 18 év alatti betegek vagy azok, akiknek korábbi colorectalis daganatuk újult ki az időintervallumon belül, vagy a vizsgálandó adatok közül valamilyen okból hiányoztak az adataik, kizárásra kerültek a kutatásból. Emiatt végül 212 beteg adatait elemeztük a jelen tanulmányban.

A háziorvosi praxisok adatbázisából, valamint a PTE KK eMedSol adatbázisából a következő adatok kerültek kigyűjtésre: (1) demográfiai adatok, (2) a beteg tünete az első (kivizsgálást indító) orvosnál történő jelentkezéskor, (3) az első (kivizsgálást indító) orvos szakiránya, (4) a daganat stádiuma a diagnózis felállításakor, (5) a daganatellenes terápia indításának dátuma. Az első orvosnak azt az orvost tekintettük, aki először találkozott a beteggel, és elindította a kivizsgálást (például labor, hasi ultrahang stb.) és/vagy a kezelés első lépését, aki lehetett a háziorvos, sürgősségin dolgozó orvos vagy bármilyen más szakorvos. A daganat stádiumbeosztása a szövettan, a képalkotó vizsgálatok, valamint a hivatalos onkoteamvélemény alapján történt, az Európai Klinikai Onkológiai Társaságnak az alsó gastrointestinalis daganatokra vonatkozó irányelvei alapján (*European Society for Medical Oncology, Lower gastrointestinal cancers*). Kiinduló dátumnak az első orvos-beteg találkozást tekintettük, ami-

kor a beteg először jelentkezett az orvosnál colorectalis daganatra utaló tünetekkel. Amennyiben a beteg panaszmentes volt, azt a háziorvosi megjelenést tekintettük az első orvos-beteg találkozásnak, amikor a beteg először kapott olyan beutalót az orvostól (például labor, hasi ultrahang stb.), mely elindította a betegnél a kivizsgálást colorectalis daganat irányába, és a daganat diagnózisa, a vizsgálatok eredményeként, ezután be is igazolódott. A TEI a kiinduló dátumtól a terápia megkezdéséig eltelt időt jelenti (napok száma). A terápia megkezdésének pedig azt a dátumot tekintettük, amikor a daganatellenes terápia bármilyen formája (sebészi, onkológiai) elkezdődött. Az adatok rögzítését, majd ellenőrzését két független kutató végezte, az adatok pontosságának biztosítása érdekében.

Adatelemzés, statisztikai analízis

A statisztikai elemzés az IBM SPSS Statistics for Windows 24 verzióval (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) történt. Az elemzés során deskriptív analízist (frekvencia- és keresztábra-elemzést), valamint varianciaanalízist végeztünk. A statisztikai szignifikanciát Kruskal–Wallis- és Fisher-féle teszttel számítottuk ki. A tesztek eredményét $p < 0,05$ érték esetében tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

A betegek, a daganatok és a kivizsgálás jellemzői

212 beteg adatait értékeltük; 56,1%-uk férfi, 43,9%-uk pedig nő volt, s a betegek 53,3%-ának vastagbél-, 42,9%-ának végbéldaganata volt. A legtöbb beteg a 61–70 év közötti korosztályba tartozott. A colorectalis daganat a kutatásba bevont betegek kisebbik részének (36,8%) esetében korai (I–II.) stádiumban, nagyobbik részének (59,9%) esetében késői (III–IV.) stádiumban került diagnosztizálásra. A betegek több mint ötödének (22,6%) voltak távoli áttétei a diagnózis felállításakor. A betegek többsége (59,9%) a háziorvosát kereste fel először a tüneteivel, és a háziorvosa utalta be kivizsgálásra. A betegek majdnem negyede (23,1%) került rögtön sürgősségi osztályra a tünete miatt (*1/A táblázat*).

Vizsgáltuk a betegek colorectalis daganatra utaló tüneteiket, melyekkel orvoshoz fordultak. 30,7%-uknak volt hasi vagy végbélfájdalma, illetve több mint negyedük (26,9%) véres székletre panaszkodott. Majdnem minden ötödik beteg számolt be fáradtságról/gyengeségről (19,3%), fogyásról (18,4%) vagy hasmenésről (18,4%). A betegek kisebb hányada említette a székelési habitus változását (11,8%) vagy a hasi teltségérzetet (9,0%), és csak 4,2%-uk volt panaszmentes az első orvos-beteg találkozásakor (*1/B táblázat*).

1/A táblázat | A betegek, a daganatok, valamint a kivizsgálás jellemzői

A betegek száma (%)	
Nem	
Férfi	119 (56,1)
Nő	93 (43,9)
Kor (év)	
28–50	13 (6,1)
51–60	49 (23,1)
61–70	75 (35,4)
71–80	53 (25,0)
80+	22 (10,4)
A daganat lokalizációja	
Vastagbél	113 (53,3)
Végbél	91 (42,9)
Ismeretlen	8 (3,8)
A daganat stádiuma	
I.	15 (7,1)
II.	63 (29,7)
III.	79 (37,3)
IV.	48 (22,6)
Ismeretlen	7 (3,3)
A kivizsgálások/kezelések indítása	
Háziorvos	127 (59,9)
Sürgősségi szakorvos	49 (23,1)
Egyéb szakorvos	35 (16,5)
Ismeretlen	1 (0,5)

1/B táblázat | Colorectalis daganatra utaló első tünetek a beteg orvoshoz fordulásakor

Tünetek	Az említések száma (%)*
Hasi/végbéltáji fájdalom	65 (30,7)
Véres széklet	57 (26,9)
Gyengeség/fáradtság	41 (19,3)
Fogyás	39 (18,4)
Hasmenés	39 (18,4)
A székelési habitus változása	25 (11,8)
Hasi teltségérzet	19 (9,0)
Székrekedés	11 (5,2)
Tünetmentes	9 (4,2)
Áttétek jelenlétére utaló fájdalom (például hátfájdalom, fejfájás)	3 (1,4)
Hányinger, hányás	3 (1,4)
Egyéb tünetek	22 (10,4)

*A betegek több tünetet is említhettek, így az említések összege több, mint 100%.

A beutalást/kivizsgálást indító orvos szakirányának és a tünetek jellegének kapcsolata

Tekintettel arra, hogy a betegek többsége vagy háziorvoshoz fordult, vagy sürgősségi osztályra került a tüneteivel, megvizsgáltuk, hogy melyek azok a leggyakrabban előforduló tünetek, amelyekkel a betegek nagyobb arányban fordultak háziorvoshoz, mint sürgősségi orvoshoz. A sürgősségire került betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbéltáji fájdalom volt, míg a háziorvost felkereső betegek a véres székletet említették a legtöbbször. Azon betegek közül, akiknek a kivizsgálását sürgősségi szakorvos indította el, mindössze 16,3% jelentkezett véres széklet és 6,1% fogyás panaszával. Ezzel szemben a háziorvos által intézett betegek körében ezek az arányok 32,3%, illetve 22,8% voltak. A háziorvosnál jelentkező betegeknél tehát szignifikánsan nagyobb arányban fordult elő véres széklet és fogyás, mint azoknál a betegeknél, akik a sürgősségin jelentkeztek a panaszukkal. A többi tünet viszonylatában nem találtunk szignifikáns különbséget a kivizsgálást indító orvos szakirányával kapcsolatban (2. táblázat).

A daganat stádiumának és a tünetek gyakoriságának kapcsolata

A véres széklet mint tünet a korai (I–II.) stádiumú daganatos betegek harmadában (33,3%), míg a késői (III–IV.) stádiumba sorolt betegek mindössze 21,3%-ában jelentkezett. Ezzel szemben a fogyás előfordulása ellentétes tendenciát mutatott: a késői stádiumba sorolt betegek 25,2%-ánál jelentkezett fogyás, míg korai stádium esetén csak a betegek 6,4%-a említette ezt a tünetet. A különbségek mindkét tünet esetén szignifikánsnak bizonyultak (3/A táblázat).

Azoknak a betegeknél, akiknél a véres széklet mint tünet jelen volt, átlagosan 1,61 tünete volt, míg azoknak, akiknél a véres széklet nem volt jelen, átlagosan csak

2. táblázat | A beutalást/kivizsgálást indító orvos szakirányának és a tünetek jellegének kapcsolata

Tünetek	Esetszám (%)		Fisher-teszt (p)
	Háziorvos indította (127)	Sürgősségi szakorvos indította (49)	
Hasi/végbéltáji fájdalom	31 (24,4)	18 (36,7)	0,133
Véres széklet	41 (32,3)	8 (16,3)	0,039
Gyengeség/fáradtság	27 (21,3)	9 (18,4)	0,835
Fogyás	29 (22,8)	3 (6,1)	0,009
Hasmenés	28 (22,0)	7 (14,3)	0,197
A székelési habitus változása	18 (14,2)	2 (4,1)	0,066
Hasi teltségérzet	9 (7,1)	7 (14,3)	0,150
Székrekedés	8 (6,3)	2 (4,1)	0,728

1,28. Akik pedig említették a fogyást mint tünetet, átlagosan 2,20 tünetük volt, míg akiknél nem jelentkezett fogyás, átlagosan mindössze 1,18. Mind a véres széklet, mind a fogyás mellett szignifikánsan gyakrabban fordultak elő további, egyidejű tünetek, mint a vizsgált két tünet hiánya esetén (3/B táblázat).

A terápiaig eltelt intervallumnak, a kivizsgálást indító orvos szakirányának, valamint a daganat stádiumának összefüggése

Az elemzés során megvizsgáltuk, hogy van-e összefüggés aközött, hogy a beteg kihez fordult először a tüneteivel (beutaló/kivizsgáló orvos szakiránya), illetve a daganatos betegség stádiuma között. A sürgősségin jelentkező betegek esetében lényegesen magasabb arányban (61%) diagnosztizáltak késői stádiumú daganatot, mint a házi-orvoshoz forduló betegek körében (42,7%). A TEI medián és átlagértékei alacsonyabbak voltak, ha a betegek sürgősségre kerültek, mint amikor a házi-orvosnál jelentkeztek először. A TEI medián értéke stádiumtól függően 83–86 nap volt, ha a beteg a házi-orvosát kereste fel tüneteivel, míg 15–34,5 nap, ha a sürgősségre került a beteg. Amennyiben a házi-orvos volt a kivizsgálást indító orvos, a TEI medián értéke minimális mértékben, de szignifikánsan volt magasabb késői stádiumú daganat

3/A táblázat | A colorectalis daganat stádiumának, valamint a véres széklet és a fogyás előfordulásának kapcsolata

Tünetek		Stádium	
A tünet megnevezése	A tünet előfordulása	I–II. Esetszám (%)	III–IV. Esetszám (%)
Fogyás	Igen	5 (6,4)	32 (25,2)
	Nem	73 (93,6)	95 (74,8)
		<i>Fisher-teszt</i> $p < 0,001$	
Véres széklet	Igen	26 (33,3)	27 (21,3)
	Nem	52 (66,7)	100 (78,7)
		<i>Fisher-teszt</i> $p < 0,041$	

3/B táblázat | A véres széklet és a fogyás, valamint az egyéb tünetek együttes gyakoriságának kapcsolata

Tünetek		Az egyéb előforduló tünetek száma		
A tünet megnevezése	A tünet előfordulása	Átlag	Szórás	Esetszám
Fogyás	Igen	2,2051	0,86388	39
	Nem	1,1850	0,79270	173
		<i>ANOVA-teszt</i> $p < 0,001$		
Véres széklet	Igen	1,6140	0,75010	57
	Nem	1,2839	0,93110	155
		<i>ANOVA-teszt</i> $p < 0,017$		

ANOVA = varianciaanalízis

4. táblázat | A beutaló/kivizsgáló orvos szakiránya, a daganat stádiuma és a TEI közötti összefüggés

	A daganat stádiuma	Az esetek száma (%)	TEI-átlag (nap)	Szórás	TEI-medián (nap)
Háziorvos	I–II.	47 (42,7)	98,19	66,40	83,00
	III–IV.	63 (57,3)	100,06	66,37	86,00
Sürgősségi szakorvos	I–II.	16 (39,0)	40,81	38,75	34,50
	III–IV.	25 (61,0)	23,12	21,30	15,00

Kruskal-Wallis-teszt
 $p < 0,001$

TEI = a terápiaig eltelt intervallum

esetén. Ezzel szemben jelentősen (kétszer) magasabb volt a TEI medián értéke korai stádiumú daganat esetén, ha a beteg a sürgősségre került (34,5 vs. 15 nap) (4. táblázat).

Megbeszélés

Elemzésünk az első olyan hazai pilotvizsgálat, mely a colorectalis daganatos betegek jellemzőit, kivizsgálásuk körülményeit és a TEI-t összefüggéseiben vizsgálja.

Korábban beszámoltunk arról, hogy a vizsgálatunkban szereplő betegeknek magasabb arányban (59,9%) volt késői stádiumú CRC-daganatuk, mint a nyugat-európai vagy egyesült államokbeli betegeknek, mely országokban 17,2–49% között volt a III–IV. stádiumú betegek aránya [16–18, 23]. Bár baranyai betegeink többsége (59,9%) a házi-orvosát kereste fel panaszával, ez az arány alacsonyabb volt, mint Spanyolországban vagy Kanadában [17, 19], viszont a sürgősségin történő megjelenés aránya hasonló volt egyes nyugat-európai országokéhoz [16, 17, 23]. Továbbá, a külföldi beszámolókkal egybehangzóan, a baranyai betegek leggyakoribb, colorectalis daganatra utaló tünete is a hasi/végbéltáji fájdalom, valamint a véres széklet voltak [17, 19, 24].

Mivel a betegek többségének kivizsgálását a házi-orvos vagy sürgősségi orvos indította el, elemeztük, hogy volt-e összefüggés a kivizsgálást indító orvos és a tünetek típusa között. Azt találtuk, hogy szignifikánsan több beteg jelentkezett mind a véres széklet, mind a fogyás tüneteivel a házi-orvosnál, mint a sürgősségi osztályon. Továbbá a véres széklet a korai stádiumú daganatok esetében volt szignifikánsan gyakoribb, a fogyás viszont a daganatos betegség késői stádiumában. Eredményeink arra utalhatnak, hogy a betegek nagyobb jelentőséget tulajdonítanak és sürgetőbb problémának tekintették a véres székletet, mint az ismeretlen eredetű fogyást, bár kevésbé valószínű, hogy sürgősségi osztályra kerültek ilyen jellegű panaszaikkal. Az irodalomban a fogyás nem specifikus daganatos tünetként ismert. Bár korábban egyértelműen előrehaladott daganatos betegsége jellemzőnek tartották, a kutatások szerint nincs egyértelmű összefüggés a

fogyás és a daganatos betegség stádiuma között [25–27]. A vérszékelés sürgős ellátást indokoló tüneteket is okozhat, például a következményesen kialakuló anaemia miatt. E két tünet közül bármelyik jelenléte esetén javasolt a kivizsgálás a colorectalis daganat magas rizikója miatt [28]. Ennek ellenére számos szakirodalmi adat utal arra, hogy a betegek gyakran nem veszik komolyan a vérszékelést mint alarmírozó tünetet, és aranyeres panaszoknak tartva, sokáig nem fordulnak orvoshoz [11, 12]. A véres széklet gyakran már az első, korai tünete a végbéldaganatoknak, szemben a colon daganataival, ahol később jelentkezik vérzés, vagy csak okkult vérzés van jelen [29]. *Thompson és mtsai* kutatása szerint amennyiben a véres székleten kívül széklethabitus-változásról is beszámolt a beteg, kétszeresére nőtt annak valószínűsége, hogy a betegnek colorectalis daganata van [30]. Több, colorectalis daganatra utaló tünet együttes jelenléte megnöveli annak veszélyét, hogy tényleg daganat áll a tünetek hátterében [28, 30, 31].

Vizsgálatunkban, amennyiben a betegeknek fogyásra vagy véres székletre utaló tüneteik voltak, az egyéb tünetek jelenléte is gyakrabban fordult elő, mely eredmények arra utalnak, hogy ezek a tünetek együttesen valószínűleg komplexen hívják fel a beteg és a háziorvos figyelmét a kivizsgálás szükségességére. Feltételezhetően a már obstrukciót, fájdalmat okozó daganat miatt lehetett a hasi/végbélfájdalom a leggyakoribb tünet a sürgősségi osztályon jelentkező betegek között.

Baranya megyei betegeink esetében a TEI összemérhető volt számos nyugat-európai országban regisztrált időhosszal [20–23], és egy korábbi spanyol tanulmányhoz hasonlóan a TEI hosszabb volt abban az esetben, ha a beteg a háziorvosát kereste fel tüneteivel, mint ha a sürgősségre került [17]. A sürgősségin megjelenő betegek körében magasabb arányban diagnosztizáltak késői stádiumú daganatot, mint a háziorvoshoz forduló betegek esetében. Korai stádiumban a colorectalis daganatok még gyakran aszimptomatikusak vagy kevés tünetet okoznak [32]. Késői stádiumban viszont a betegek egy részénél bélobstrukciót vagy vérzésből adódó gravis anaemiát okozhat a daganat [28, 33]. A tünetek megnövekedett száma magyarázza a kutatásunk során észlelt, előrehaladott betegségben szenvedők nagyobb arányát a sürgősségi osztályon. Ez a betegcsoport szignifikánsan rövidebb idő alatt kezeléshez jutott a sürgősségin (a TEI-medián késői stádiumban 15 nap vs. korai stádiumban 34,5 nap), valószínűleg a tüneteik sürgős beavatkozást (például műtétet, transzfúziót) igénylő jellegéből adódóan. Amennyiben a beteg a háziorvosánál jelentkezett, a TEI medián értékében szintén szignifikáns, de jelentősen kisebb (3 nap) volt az eltérés a korai és a késői stádiumú daganatos betegek között, sőt a korai stádiumú betegek esetén a TEI rövidebb volt azoknál a betegeknél, akik a sürgősségi osztályra kerültek, mint akik háziorvosukhoz fordultak, a daganat stádiumától függetlenül. Mivel a daganatellenes terápiát többnyire a diagnózis

pontos felállítása előzi meg (mely alól a kivételt az akut kezelést, például ileust okozó esetek jelentik), kézenfekvő, hogy a jelenség hátterében a háziorvosi és sürgősségi ellátók eltérő kivizsgálási lehetőségei állhatnak. A sürgősségi osztályra súlyos tünetekkel érkező betegek rövid időn belül részletes kivizsgálásban részesülnek, de a kevésbé súlyos tünetekkel jelentkezők esetében is viszonylag hamarabb rendelkezésre áll labor vagy egyéb (például képalkotó) vizsgálat. Ezzel szemben a háziorvosoknak a sürgős eseteket leszámítva, amikor betegeiket a sürgősségi osztályra küldik, „gyorsított diagnosztikus betegutak” nem állnak rendelkezésükre.

A vizsgálatunk korlátai

Vizsgálatunk esetében három lényeges limitációt említünk. Tekintettel a vizsgálat pilotjellegére, a betegek száma viszonylag alacsony volt, és jellemzőik nem reprezentatívak Magyarország lakosságára nézve. Másrészt a háziorvosi dokumentációk jellegükből adódóan pontatlanabbak, mint a klinikai adatbázisok. Továbbá kutatásunk egyetlen megye betegeinek vizsgálatára terjedt ki, holott valószínűleg különbségek vannak az egészségügyi ellátásban a különböző megyék között, így az észlelt TEI-k is különbözhetnek.

Következtetések

Pilotvizsgálatunk egyrészt elemzi a colorectalis daganatok tüneteinek összefüggéseit, másrészt rávilágít a colorectalis daganatok magas morbiditási és mortalitási rátáinak lehetséges okaira.

A sürgősségi osztályra kerülő betegek leggyakoribb tünete a hasi/végbélfájdalom volt, ami a késői stádiumú daganatok nagyobb arányával (például obstrukciót okozó daganat) is kapcsolatba hozható. Háziorvoshoz fogyás és véres széklet tüneteivel gyakrabban fordultak a betegek, mint sürgősségi orvoshoz, és egyidejűleg több tünetet is említettek háziorvosuknak.

A sürgősségi osztályon jelentkező daganatos betegek lényegesen gyorsabban jutottak kezeléshez, ami a kétféle ellátórendszer jellegzetességeiből vagy a betegek betegségjellemzőinek különbségeiből egyaránt adódhat. Vizsgálatunk alapján a sürgősségi vagy háziorvosi kivizsgálás esetén észlelt TEI-k Baranya megyében hasonlóak voltak a nyugat-európai országokéihoz. A colorectalis daganatok esetében a diagnózis felállításakor a legfontosabb prognosztikai faktor a tumor stádiuma [34–36]. Ezek alapján arra következtetünk, hogy a hazai magas mortalitási mutatók hátterében meghatározó elem a betegek késedelmes orvoshoz fordulása.

Eredményeink a prevenció fontosságára hívják fel a figyelmet. A colorectalis daganat kifejlődése hosszú, akár 10–15 évig tartó folyamat, ezért ez a daganattípus kiválóan alkalmas szűrésre [37]. A beteghez köthető késlekedés csökkentésének lényeges eleme a colorectalis daganatra utaló tünetek időben történő felismerése. Emiatt a

daganat megelőzését elősegítő lakossági figyelemfelhívó kampányok bevezetésén kívül a tünetek időben történő felismerését elősegítő betegedukáció is elengedhetetlen. A prevenció egy másik formája, egy rendszeres hazai colorectalis szűrőprogram bevezetése is jelentős mértékben segíthetné a colorectalis daganatok korai stádiumban történő felfedezését.

Kéziratunk humán vizsgálatait az illetékes etikai bizottság jóváhagyásával történtek. A kutatás a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központja Regionális Tudományos és Kutatás-eti Bizottságának engedélyével történt (az etikai engedély száma: 2017/6744).

Anyagi támogatás: A közlemény megírását, illetve az alapját képező és kapcsolódó kutatómunka megvalósítását a Korszerű Családorvos Képzésért Alapítvány (2017/4), valamint a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Belső Pályázata (2017/5) támogatta.

Szerzői munkamegosztás: F. D.: Az irodalmi háttér feldolgozása, adatgyűjtés, adatfeldolgozás, a kézirat, ábrák, táblázatok elkészítése. B. Cs.: A közlemény alapötletének kidolgozása, statisztikai elemzés, a kézirat végső szövegének kialakítása. Cs. N.: Az irodalmi háttér feldolgozása, adatelemzés. K. I.: Szakirodalmi háttér, a kézirat szövegezésének kritikai olvasata, korrekciós javaslatok. B. Sz.: A közlemény alapötletének kidolgozása, a kézirat elkészítésének szakmai ellenőrzése. Cs. Á.: A közlemény alapötletének kidolgozása, a kézirat szövegezésének kritikai olvasata, korrekciós javaslatok. P. É.: A közlemény alapötlete, adatgyűjtés, az adatelemzés megtervezése, a kézirat végső szövegének kialakítása. A közlemény végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket fejezzük ki a kutatásban részt vevő 26, Baranya megyei háziorvosi praxis munkatársainak a kutatás megvalósításához nyújtott munkájukért.

Irodalom

- [1] Kásler M, Ottó S, Kenessey I. The current situation of cancer morbidity and mortality in the light of the National Cancer Registry. [A rákmorbiditás és -mortalitás jelenlegi helyzete a Nemzeti Rákregiszter tükrében.] *Orv Hetil.* 2017; 158: 84–89. [Hungarian]
- [2] ECIS – European Cancer Information System. Data explorer | ECIS. Estimates of cancer incidence and mortality in 2018, for all countries. 2018.
- [3] Döbrössy L, Kovács A, Budai A, et al. Controversial issues in colorectal screening in Hungary. Conflict of clinical and public health viewpoints. [A vastag- és végbéldaganatok szűrésének vitatott kérdései. Klinikai és népegészségügyi nézőpontok ütközése.] *Orv Hetil.* 2011; 152: 1223–1232. [Hungarian]
- [4] Morson BC. The evolution of colorectal carcinoma. *Clin Radiol.* 1984; 35: 425–431.
- [5] Hewitson P, Glasziou PP, Irwig L, et al. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 2007(1): CD001216.
- [6] Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 1624–1633.
- [7] Tørring ML, Frydenberg M, Hansen RP, et al. Time to diagnosis and mortality in colorectal cancer: a cohort study in primary care. *Br J Cancer* 2011; 104: 934–940.
- [8] Rutka WS, Molnár T, Bor R, et al. Efficacy of the population-based pilot colorectal screening program. Hungary, Csongrád county, 2015. [Populációalapú „pilot” colorectalis rákszűrés eredményessége. Csongrád megye, 2015.] *Orv Hetil.* 2017; 158: 1658–1667. [Hungarian]
- [9] Döbrössy L, Kovács A, Cornides Á, et al. Factors influencing the participation in colorectal screening. [Vastagbéliszűrés. A lakossági részvételt befolyásoló tényezők.] *Orv Hetil.* 2014; 155: 1051–1056. [Hungarian]
- [10] Bénard F, Barkun AN, Martel M, et al. Systematic review of colorectal cancer screening guidelines for average-risk adults: summarizing the current global recommendations. *World J Gastroenterol.* 2018; 24: 124–138.
- [11] Macleod U, Mitchell ED, Burgess C, et al. Risk factors for delayed presentation and referral of symptomatic cancer: evidence for common cancers. *Br J Cancer* 2009; 101(Suppl 2): S92–S101.
- [12] Hall N, Birt L, Banks J, et al. Symptom appraisal and healthcare-seeking for symptoms suggestive of colorectal cancer: a qualitative study. *BMJ Open* 2015; 5: e008448.
- [13] Walter FM, Emery JD, Mendonca S, et al. Symptoms and patient factors associated with longer time to diagnosis for colorectal cancer: results from a prospective cohort study. *Br J Cancer* 2016; 115: 533–541.
- [14] Hamilton W, Round A, Sharp D, et al. Clinical features of colorectal cancer before diagnosis: a population-based case-control study. *Br J Cancer* 2005; 93: 399–405.
- [15] Rasmussen S, Larsen PV, Søndergaard J, et al. Specific and non-specific symptoms of colorectal cancer and contact to general practice. *Fam Pract.* 2015; 32: 387–394.
- [16] Murchie P, Raja EA, Brewster DH, et al. Time from first presentation in primary care to treatment of symptomatic colorectal cancer: effect on disease stage and survival. *Br J Cancer* 2014; 111: 461–469.
- [17] Leiva A, Esteva M, Llobera J, et al. Time to diagnosis and stage of symptomatic colorectal cancer determined by three different sources of information: a population based retrospective study. *Cancer Epidemiol.* 2017; 47: 48–55.
- [18] Wattacheril J, Kramer JR, Richardson P, et al. Lagtimes in diagnosis and treatment of colorectal cancer: determinants and association with cancer stage and survival. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 28: 1166–1174.
- [19] Janssen RM, Takach O, Nap-Hill E, et al. Time to endoscopy in patients with colorectal cancer: analysis of wait-times. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2016; 2016: 8714587.
- [20] Singh H, De Coster C, Shu E, et al. Wait times from presentation to treatment for colorectal cancer: a population-based study. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2010; 24: 33–39.
- [21] Korsgaard M, Pedersen L, Laurberg S. Delay of diagnosis and treatment of colorectal cancer. A population-based Danish Study. *Cancer Detect Prev.* 2008; 32: 45–51.
- [22] Pruitt SL, Harzke AJ, Davidson NO, et al. Do diagnostic and treatment delays for colorectal cancer increase risk of death? *Cancer Causes Control* 2013; 24: 961–977.

- [23] Pozsgai E, Busa C, Fodor D, et al. Wait times to diagnosis and treatment in patients with colorectal cancer in Hungary. *Cancer Epidemiol.* 2019; 59: 244–248.
- [24] Pita-Fernández S, González-Sáez L, López-Calviño B, et al. Effect of diagnostic delay on survival in patients with colorectal cancer: a retrospective cohort study. *BMC Cancer* 2016; 16: 664.
- [25] Stapley S, Peters TJ, Sharp D, et al. The mortality of colorectal cancer in relation to the initial symptom at presentation to primary care and to the duration of symptoms: a cohort study using medical records. *Br J Cancer* 2006; 95: 1321–1325.
- [26] Ewing M, Naredi P, Zhang C, et al. Identification of patients with non-metastatic colorectal cancer in primary care: a case-control study. *Br J Gen Pract.* 2016; 66: e880–e886.
- [27] Nicholson BD, Hamilton W, O’Sullivan J, et al. Weight loss as a predictor of cancer in primary care: a systematic review and meta-analysis. *Br J Gen Pract.* 2018; 68: e311–e322.
- [28] Astin M, Griffin T, Neal RD, et al. The diagnostic value of symptoms for colorectal cancer in primary care: a systematic review. *Br J Gen Pract.* 2011; 61: e231–e243.
- [29] Alvarez JA, Baldonedo RF, Bear IG, et al. Presentation, treatment, and multivariate analysis of risk factors for obstructive and perforative colorectal carcinoma. *Am J Surg.* 2005; 190: 376–382.
- [30] Thompson MR, Perera R, Senapati A, et al. Predictive value of common symptom combinations in diagnosing colorectal cancer. *Br J Surg.* 2007; 94: 1260–1265.
- [31] Jellema P, van der Windt DA, Bruinvels DJ, et al. Value of symptoms and additional diagnostic tests for colorectal cancer in primary care: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2010; 340: c1269.
- [32] Lieberman D, Ladabaum U, Cruz-Correa M, et al. Screening for colorectal cancer and evolving issues for physicians and patients: a review. *JAMA* 2016; 316: 2135–2145.
- [33] Baer C, Menon R, Bastawrous S, et al. Emergency presentations of colorectal cancer. *Surg Clin North Am.* 2017; 97: 529–545.
- [34] Mulcahy HE, O’Donoghue DP. Duration of colorectal cancer symptoms and survival: the effect of confounding clinical and pathological variables. *Eur J Cancer* 1997; 33: 1461–1467.
- [35] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893–2917.
- [36] Tomlinson C, Wong C, Au HJ, et al. Factors associated with delays to medical assessment and diagnosis for patients with colorectal cancer. *Can Fam Physician* 2012; 58: e495–e501.
- [37] Döbrössy L, Kovács A, Budai A, et al. The state of the colorectal screening in Hungary. Lessons of the pilot programs. [A nép-egészségügyi vastag- és végbélszűrés helyzete Magyarországon. A mintaprogramok tanulságai.] *Orv Hetil.* 2007; 148: 1787–1793. [Hungarian]

(Pozsgai Éva dr.,
Pécs, Rákóczi út 2., 7624
e-mail: pozsgai83@gmail.com)

„*Omnes aequo animo parent ubi digni imperant.*”
(Méltó parancsnak mindenki szívesen engedelmeskedik.)

A cikk a Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) feltételei szerint publikált Open Access közlemény, melynek szellemében a cikk bármilyen médiumban szabadon felhasználható, megosztható és újraközölhető, feltéve, hogy az eredeti szerző és a közlés helye, illetve a CC License linkje és az esetlegesen végrehajtott módosítások feltüntetésre kerülnek. (SID_1)