

Szolid tumorok terápia szempontjából jelentős  
klinikai alcsoportokba való sorolása génexpressziós  
adatok alapján

Doktori tézisek

**Dr. Sztupinszki Zsófia**

Semmelweis Egyetem  
Patológia Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Gyórfy Balázs, Ph.D, D.Sc., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Rónai Zsolt, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Korcsmáros Tamás, Ph.D., csoportvezető

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Zalatnai Attila, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Szeltner Zoltán, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Dr. Ambrus Attila, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest  
2017

# 1. Bevezetés

Disszertációmban szolid tumorok, emlő és vastagbél daganat osztályozásával, magas kockázatú, illetve rossz prognózisú betegcsoportok azonosításával foglalkozom. A beteg adott terápiára való válaszána előreljzésével a terápia hatásossága, költséghatékonysága maximalizálható és a beteget érő gyógyszerterhelés, illetve mellékhatások csökkenthetőek. Ma már tudjuk, hogy az emlő- és a vastagbél daganatok nem tekinthetők homogén betegségnek, hanem a különböző daganat altípusok más-más biológiai és klinikai tulajdonságokkal bírnak. Ezért ezek azonosítása és jellemzése a tumorgenezis mélyebb megértését, új gyógyszer-célpontok azonosítását és megfelelőbb terápiák kiválasztását teszi lehetővé. A prediktív és prognosztikus biomarkerek a jelenlegi terápiás lehetőségek kontextusában a racionális terápia-tervezés fontos elemei és elterjedésük várhatóan sokat finomít a kezelési protokollokon.

Dolgozatomban négy vizsgálat eredményeit mutatom be: a vastagbél-daganatok transzkripciós mintázat alapú osztályozása, emlő-daganatban rossz prognózisú betegek azonosítása génexpresszió alapján, nyirokcsomók érintettségének előreljzése emlőrákban a primer tumor génexpressziója alapján, és géncsendesítéssel végzett kísérleteket reprodukálhatósága.

## 2. Célkitűzések

PhD munkám során elsősorban biomarkerek keresésével és validálásával foglalkoztam emlő és vastagbél-daganat magas kockázatú alcsoportjaiban.

Célkitűzéseim a következők az egyes témákkal kapcsolatban:

1. Vastagbél-daganatok osztályozóinak összehasonlítása és a legnagyobb prognosztikus értékkel bíró azonosítása.
2. Sejtmodellek összekapcsolása a vastagbél-daganatok altípusaival.
3. Emlődaganatok génexpresszió alapú osztályozása és összehasonlítása korábbi prognosztikus tesztekkel.
4. Emlődaganatok nyirokcsomó-érintettségének előrejelzésére új osztályozó készítése.
5. Experimentális módszerekkel azonosított biomarkerek reprodukálhatóságának összehasonlítása (siRNS).

## **3. Módszerek**

### **3.1. Vastagbélrák - rossz prognózisú betegek azonosítása**

A vizsgálatom célja a korábban publikált, vastagbél-daganatokban a prognózist előrejelző tesztek, transzkripciós mintázatok független validálása, összehasonlítása volt.

#### **3.1.1. Adatbázis létrehozása, adatok előkészítése**

A saját adatbázis létrehozásához a GEO adatbázisban olyan adathalmazokat, vizsgálatokat kerestem, melyekben vastag- vagy végbél-daganatokban végeztek Affymetrix expressziós génchipen méréseket. Mivel a vizsgálat egyik célja az osztályozók reprodukálása volt, ezért az adatok előkészítésénél is az eredeti közlemények részletes leírását követtem.

#### **3.1.2. Korábbi osztályozó módszerek irodalmi azonosítása**

A korábban publikált osztályozó algoritmusok azonosítása során a PubMed (<http://www.pubmed.com>) adatbázisban folytatott keresés alatt

PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) ajánlásokat követtem.

### **3.1.3. Osztályozók összehasonlítása**

Az osztályozók összehasonlításánál a legjobb és a legrosszabb prognózisú csoport között a „hazard ratio” értékeket Cox proportional hazards regresszióval határoztam meg, a p-értékeket logrank teszttel számoltam ki és az eredményeket Kaplan-Meier görbékkel ábrázoltam. A multivariáns elemzés során a következő prognosztikus paramétereket vettem figyelembe: MSI-státusz, nem, MKI67 és CDX2 expresszió. Az osztályozók eredményei közötti korrelációt a Cramer-féle asszociációs együttható segítségével határoztam meg.

### **3.1.4. Gének súlyának megállapítása**

Annak érdekében, hogy összehasonlítsam az osztályozóban szereplő gének jelentőségét, minden gén esetében meghatároztam egy pontszámot,  $\text{gén-pontszám} = [\text{osztályozók száma, amiben szerepel}] * \sum [\text{aránya az osztályozókban}]$ .

### **3.1.5. Sejtvonalak**

További célom volt a vizsgált osztályozókhoz tartozó sejtkultúra modellek azonosítása, mivel így az egyes altípusok tovább vizsgálhatók kísérletes körülmények között is. A GEO és az Array Express adatbázisban olyan vastagbél eredetű sejtvonalat kerestem, melyek génextpressziója Affymetrix HGU 133 plus 2.0 chipen került lemérésre.

## **3.2. Emlődaganat – rossz prognózisú betegek azonosítása**

A vizsgálat célja rossz prognózisú emlődaganatok génextpresszió alapú azonosítása volt.

### **3.2.1. Mintagyűjtés**

Eredményeim független validálása érdekében a Frankfurter és a Hamburgi Egyetemi Kórház nőgyógyászati osztályán 325 korai stádiumú emlődaganatban szenvedő beteg friss fagyasztott tumormintáit és klinikai adatait gyűjtöttük ki. A transzkripciók profil meghatározására Affymetrix HG-U133A gén-chipet alkalmaztunk. A klinikai és gén-chip adatok a GSE4611 (Frankfurt dataset) és a GSE46184 (Hamburg dataset) azonosítók alatt kerültek publikálásra.

### **3.2.2. Adatbázis létrehozása, adatok előkészítése**

Az adatbázis létrehozása az előző vizsgálathoz hasonlóan végeztem, Olyan publikációkat kerestem, ahol emlődaganattal kezelt betegek microarray adatait közölték. Feltétel volt, hogy legalább húsz beteg szerepeljen a vizsgálatban, legyenek elérhető a kezelési és túlélési adatok és a nyers microarray adatok. Az adatok normalizálását MAS5 algoritmussal végeztem. Az elemzés során csak azokat a próba szetteket vettem figyelembe, amelyek mind a 2 fajta vizsgált génchipen megtalálhatóak (n=22277). A redundáns próba szettek esetében a legjobb kiválasztására a JetSet módszert alkalmaztam. Így a továbbiakban használt gének száma: 9886.

### **3.2.3. Betegek osztályozása**

Vizsgálatomban az osztályozás két fő lépésből áll. A molekuláris osztályozás lényege hogy a vizsgált beteghez hasonló minták csoportjában minden génnek megvizsgáljuk a prognosztikus hatását. Az így azonosított prognosztikus gének közül kiválasztjuk a „legjobb” géneket, melyek expressziója alapján jó, illetve rossz prognózisú csoportba soroljuk a beteget. A klinikai osztályozás során a kiválasztott hasonló betegek prognózisát vetem össze az adatbázisban szereplő többi beteg prognózisával. A végső,

kombinált osztályozást a molekuláris és a klinikai osztályozás összevetésével érem el.

#### **3.2.4. Összehasonlítás más osztályozókkal**

Az általam fejlesztett módszert a klinikai gyakorlatban jelenleg is alkalmazott tesztekkel hasonlítottam össze. A három legelterjedtebb ilyen teszt a 97-génes Genomic Grade Index (GGI), a 70 gént használó Mammaprint, és a 21-génes Oncotype DX, melyeket a genefu R csomag segítségével, illetve korábbi publikációink alapján határoztam meg a mintáink esetében. Az összehasonlítás során a relapszusmentes túlélést vettem össze prognosztikus tesztenként az összes beteg, és alcsoportok esetében. Az 5 éves túlélési adatokat tekintve szenzitivitás, specificitás, pozitív- és negatív prediktív értékeket határoztam meg.

### **3.3. Emlődaganat - nyirokcsomó érintettség előrejelzése**

Az emlődaganatok esetében a hónalji nyirokcsomók érintettsége az egyik legfontosabb prognosztikai tényező. A nyirokcsomó-negatív esetekben azonban az őrszem nyirokcsomók eltávolítása nem jár terápiás előnnyel. Jelen vizsgálatban ezért az volt a célom, hogy az elsődleges tumor génexpressziós mintázata alapján előrejelezzem a hónalji nyirokcsomók érintettségét.

#### **3.3.1. Mintagyűjtés**

Nemzetközi együttműködés keretein belül a seattle-i (USA) Atossa cég biobankjából száz 2004 és 2010 között operált beteg paraffinba ágyazott, formalin fixált mintáit és a hozzájuk tartozó klinikai adatokat gyűjtöttük ki. A génexpresszió meghatározására Affymetrix HG-U133Plus 2.0 gén-chipet alkalmaztunk.

### **3.3.2. Adatbázis létrehozása, adatok előkészítése**

Az előbbi kísérletek során tárgyalt módon a GEO génextpressziós adatbázis alapján saját adatbázist építettem. Olyan vizsgálatokat kerestem, ahol HG-U133 Plus 2.0-n vagy HG-U133A gén-chipen mérték emlődaganat génextpresszóját, és elérhető klinikai információ a nyirokcsomók érintettségéről. Jelen vizsgálatból kizártam a primer szisztémás (neoadjuváns) terápiában részesült betegeket, mivel az a hónalj régió downstagingjéhez vezethet.

Az adatokat fRMA algoritmussal, alternatív annotációt alkalmazva normalizáltam. Az alternatív annotáció során a próba szettből csak azokat a próbákat vettem figyelembe, amelyek a transzkriptum 5' vége felé helyezkednek el, mivel a validálás során vizsgált FFPE mintákban jelentős RNS degradáció várható. További szűrőlépeseként követően génenként a legjobb próbák kiválasztására a JetSet módszert alkalmaztam. A további vizsgálatokat 9462 génnel végeztem.

### **3.3.3. Betegek osztályozása**

A betegeket három csoportba soroltam: ER-negatív, ER-pozitív és MKI67-pozitív, valamint ER-pozitív és MKI67-negatív betegeket különböztettem meg. Osztályozóm megfelelő tanítása és validálása érdekében a betegek véletlenszerűen kiválasztott fele a tanulóhalmazt, másik fele a belső validációs halmazt képezte. A nyirokcsomó pozitív és negatív betegek között a különbözően kifejeződő gének azonosítására RankProducts algoritmust használtam. Az osztályozást csoportonként, gyorsított döntési fákkal, a caret R csomaggal végeztem.

### **3.4. Biomarkerek reprodukálhatóságának összehasonlítása**

Az onkológiai kísérleteknek egyik fontos módja a biomarkerek, transzkripciós hatások sejtkultúráján történő validálása. A kis interferáló RNS-sel (siRNS-sel) történő géncsendesítés hatékonysága sejtvonalanként eltérhet, ezért emlőrák sejtvonalakban a csendesítés hatékonyságának vizsgálatát tűztem ki célul olyan kísérletekben, ahol a siRNS-sel történő géncsendesítést és génexpressziós microarray-t együttesen alkalmaztak.

Vizsgálatom első lépésében a GEOquery R csomaggal olyan kísérleteket azonosítottam, ahol daganat eredetű sejtvonalon végeztek siRNS-sel géncsendesítést, és Affymetrix HGU133A vagy HGU133Plus2.0 chip-en végeztek génexpresszió mérést. A találatok további szűrése kézi ellenőrzéssel történt. A génexpressziós adatokat MAS5 algoritmussal normalizáltam, a legmegfelelőbb próba szettek kiválasztásához JetSet módszert alkalmaztam. A géncsendesítés hatásosságának a megítélésé során t-tesztet használtam, és a génexpressziók hányadosát vizsgáltam ( $\text{Fold change} = \frac{\text{(célgén expressziója[csendesített])}}{\text{(célgén expressziója[kontroll])}}$ ).

## **4. Eredmények**

### **4.1. Vastagbélrák - rossz prognózisú betegek azonosítása**

#### **4.1.1. Adatbázis**

A végleges adatbázis 12 adathalmazból 2166 beteg klinikai és génexpressziós adatait tartalmazza, közülük 1405 beteghez volt elérhető relapszusmentes túlélési adat. A vizsgált betegek túlnyomó többsége, 74%-a 2-es vagy 3-as stádiumú. Ez azért kiemelkedően fontos mivel a



prognosztikus teszteknek ebben a betegcsoportban van a legnagyobb klinikai jelentőségük.

#### **4.1.2. Algoritmusok azonosítása**

Az irodalmi adatok keresése során 282 cikk áttekintését követően 22 osztályozót tudtam reprodukálni. A reprodukálhatóságot legtöbbször a hiányos dokumentáció, illetve a tanulóhalmazok és a klinikai adataik elérhetősége akadályozta.

#### **4.1.3. Osztályozók összehasonlítása**

A 2-es és 3-as stádiumú betegek esetében a Yuen és munkatársai által leírt, 3 gén expresszióján alapuló osztályozó bír a legnagyobb prognosztikai erővel (HR=2,9). A második legjobb Marisa osztályozója (HR=2,60), a harmadik leghatékonyabb módszer a Chang95 (HR=2,35). Fontos azonban azt is megjegyezni, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható tesztek egy része elég gyenge összefüggést mutat, Például az Oncotype DX és a ColoGuideEx között az asszociáció mértéke csupán 0,03

#### **4.1.4. Génlisták összehasonlítása**

Az osztályozók által alkalmazott géneket összehasonlítva azt találjuk, hogy a 22 osztályozó összesen 2001 gént használt. Csupán 5 olyan gén volt (REG4, ASCL2, VAV3, C10orf99 és CYPB1), ami 6 osztályozóban is előfordult. A „gén-pontszámuk” alapján a CTGF, GADD45B, FAP gének a legfontosabbak.

#### **4.1.5. Prekilinikai modellek**

A CCLE (Cancer Cell Line Encyclopedia), a Cancer Cell Line Project, a GSE8332, és a GSE32474 adathalmazokban összesen 61 sejtvonal 151 génextpressziós vizsgálatát azonosítottam. A sejtvonalakat

génexpressziójuk alapján a reprodukált osztályozókkal alcsoportokba soroltam. A daganatminták osztályozásával összevetve jól látszik, hogy vannak olyan osztályozók, melyek hasonló számban sorolják csoportokba a sejtvonalakat, míg mások nem képesek rá.

## **4.2. Emlőrák – rossz prognózisú betegek azonosítása**

### **4.2.1. Mintagyűjtés – Független validációs adat**

A független validálás céljából gyűjtött 325 emlődaganat minta esetében a betegek átlagos utánkövetési ideje 66 hónap volt. A betegek 81%-a ER-pozitív volt, 39%-ának volt nyirokcsomó érintettsége.

### **4.2.2. Adatbázis**

A GEO adatbázisban 22 adathalmazban 3534 olyan mintát azonosítottam, melyhez elérhető volt a nyers génexpressziós adat és a relapszusmentes túlélési idő..

### **4.2.3. Összehasonlítás**

A 3 korábbi multigénos teszttel összevetve minden beteget vizsgálva, a legrosszabb és a legjobb prognózisú csoportokat összevetve a Dinamikus osztályozónk volt a legjobb (HR=3,68), és a betegek csupán 40%-át soroltuk a rossz prognózisú betegek közé. Az ER-pozitív, HER2-negatív, nem kezelt illetve adjuváns kezelésben részesült betegek esetében is a Dinamikus osztályozónk bizonyolot a leghatékonyabbnak (HR=4,61 és HR=4,51). Az ER- és HER2-negatív, adjuváns kezelésben részesült betegek osztályozását a többi teszt nem tudta megoldani, míg a Dinamikus osztályozó ebben a betegcsoportban is el tudott különíteni jó és rossz prognózisú populációt (HR=3,0). Az 5 éves relapszusmentes túlélést végpontnak tekintve bár a 70 génes teszt a legérzékenyebb, specificitása nagyon alacsony. Specificitása, és

pozitív prediktív értéke a Dinamikus osztályozónak a legmagasabb, miközben a negatív prediktív érték, és a szenzitivitás elfogadható marad.

#### **4.2.4. Validálás**

A 325 független mintán elvégzett validálás esetében minden beteget vizsgálva a Dinamikus osztályozónk volt a legjobb (HR=3,02), ER-pozitív, nyirokcsomó negatív betegek esetében csak a Dinamikus (HR=3,94) és a 21 génes teszt (HR=2,21) volt képes osztályozásra, azonban csak a Dinamikus osztályozás eredménye volt szignifikáns

### **4.3. Emlőrák - nyirokcsomó érintettség előrejelzése**

#### **4.3.1. Mintagyűjtés és adatbázisunk**

A GEO adatbázisban 16 adathalmazban 2341 beteget azonosítottunk, a betegek 21%-volt nyirokcsomó-pozitív, 16 %- ER-negatív.

#### **4.3.2. Nyirokcsomó-státusz előrejelzése**

Az előrejelzés hatékonyságát a belső validációs halmazon, és a független validáció 100 betegén vizsgáltam. A belső validációs csoportban mind a hormonreceptor-negatív esetekben (NPV=0,85), mind az ER-pozitív és MKI67-pozitív esetekben (NPV=0,78), magas negatív prediktív értéket értünk el, míg a pontosság is 75% felett maradt. A formalin fixált, paraffinba ágyazott független validációs minták esetében a negatív prediktív érték 0,92 és 1,00 volt, azaz azoknak a betegeknek, akiknek nem jelzünk előre nyirokcsomó-érintettséget nagy valószínűséggel tényleg nincs nyirokcsomó-áttéte.

### **4.4. Biomarkerek reprodukálhatóságának összehasonlítása**

A GEO adatbázisban végzett keresést követően 8 sejtvonal esetében összesen 15 gén csendesítéséhez tartozó vizsgálatot azonosítottam, összesen

441 gén-chip (289 siRNS-sel kezelt, 152 kontroll) elemzését végeztem el. A MAS5 normalizálást követően összehasonlítottam a siRNS-sel kezelt, csendesített gén expresszióját a célgén kontroll mintákban mérhető expresszójával. Három esetben nem volt hatékony a csendesítés: HeLa sejtvonal CTNBB1 gén, MCF7 CTNBB1 gén, IMR32 vonal CHAF1A gén. Ez az eredmény is jól mutatja, hogy q-PCR, Western-blot mellett fontos a gén-chipeken is ellenőrizni a célgén expresszióját.

## 5. Következtetések

1. A vastagbél-daganatok osztályozóinak reprodukálása és összehasonlítása 2166 beteg adatai alapján megállapíthatjuk, hogy a 2-es és 3-as stádiumú betegek esetében a Yuen és munkatársai által leírt, 3 gén expresszióján alapuló osztályozó bír a legnagyobb prognosztikai erővel (HR=2,9). Ezt követi Marisa osztályozója (HR=2,60), mely ha minden stádiumú beteget vizsgálunk, a legjobban teljesített (HR=3,20). Fontos megfigyelés, hogy a szignifikáns osztályozók között is korlátozott volt az azonosított jó és rossz prognózisú betegek között az átfedés.

2. Az altípusonként a megfelelő preklinikai modell kiválasztásához 61 vastagbélrák eredetű sejtvonalat (151 génexpressziós vizsgálat alapján) a megfelelő altípusokba soroltam. Eredményeim alapján látszik, hogy vannak olyan osztályozók, melyek nem képesek a sejtvonalakat hatékonyan különböző csoportokra osztani. Eredményeim segíthetik a megfelelő sejtvonal kiválasztását a vastagbél-daganatok vizsgálata során.

3. Az emlődaganatok esetében 3524 beteg adatait felhasználva egy új, „Dinamikus osztályozót” hoztam létre, mely figyelembe veszi a vizsgált beteg génexpresszió alapú prognózisát, illetve a hozzá hasonló betegek prognózisát is. A Dinamikus osztályozónk három, korábban publikált,

klinikai gyakorlatban alkalmazott prognosztikus teszttel összehasonlítva minden beteget vizsgálva is a legjobb eredményt mutatta: Oncotype DX HR=1,4,  $p=4,3*10^{-39}$ , MammaPrint: HR=3,4,  $p=1,5*10^{-15}$ , Genomic Grade Index HR=2,2,  $p=2,2*10^{-38}$ , dinamikus osztályozónk: HR=3,2,  $p=7,0*10^{-54}$ ). A klinikai alcsoportokat tekintve a dinamikus osztályozó messze meghaladta a korábbi teszteket. Egyik korábbi teszt sem volt képes az ER- és HER2-negatív, gyógyszeres kezelésben részesült betegek osztályozására, míg a dinamikus osztályozó hatékonysága: HR=3,9,  $p=4,8*10^{-4}$ . A dinamikus osztályozónk a 325 fős független validációs kohortunk esetében is felülmúlta a korábbi többgénes tesztek hatékonyságát.

4. Az emlődaganatok nyirokcsomó-érintettségének előrejelzésére a primer daganat génextpressziós mintázata alapján 2341 beteg klinikai és microarray adatait felhasználva döntési fa alapú osztályozót hoztam létre, melyet 100 fős független betegcsoporton validáltam. A belső validációs csoportunk esetében a negatív nyirokcsomók előrejelzése ER-negatív betegek esetében 85%-os pontosság (ACC) mellett 88%-os negatív prediktív értéket (NPV) ért el, az ER-pozitív / MKI67-pozitív betegek esetében: az ACC=90% és NPV=77% volt. A validációs csoportunkban esetében is hatékonynak bizonyult az előrejelzés: az ER-negatív kohortban: az ACC=73%, a NPV=92% és az ER-pozitív / MKI67-pozitív esetekben pedig: a NPV=100%, az ACC=86% volt.

5. Az RNS-interferenciával végzett géncsendesítés értékelése során, a géncsendesítés előtti és utáni gén chipek összehasonlítása alapján megállapíthatjuk, hogy a microarray alapú vizsgálatok alkalmasak a géncsendesítés hatásának vizsgálatára.

## 6. Saját publikációk jegyzéke

### 6.1. Disszertációhoz kapcsolódó publikációk:

**Sztupinszki, Z.**, B. Gyorffy. (2016) Colon cancer subtypes: concordance, effect on survival and selection of the most representative preclinical models. Sci Rep, 6: 37169. IF=5,228

Munkacsy, G.\*, **Z. Sztupinszki\***, P. Herman, B. Ban, Z. Penzvalto, N. SzarvasB. Gyorffy. (2016) Validation of RNAi Silencing Efficiency Using Gene Array Data shows 18.5% Failure Rate across 429 Independent Experiments. Mol Ther Nucleic Acids, 5: e366 IF=5,048

Gyorffy, B., T. Karn, **Z. Sztupinszki**, B. Weltz, V. MullerL. Pusztai. (2015) Dynamic classification using case-specific training cohorts outperforms static gene expression signatures in breast cancer. Int J Cancer, 136: 2091-8. IF=5,53

### 6.2. Disszertációtól független publikációk jegyzéke

Beres, N.J., Z. Kiss, **Z. Sztupinszki**, G. Lendvai, A. Arato, E. Sziksz, A. Vannay, A.J. Szabo, K.E. Muller, A. Cseh, K. BorosG. Veres. (2016) Altered mucosal expression of microRNAs in pediatric patients with inflammatory bowel disease. Dig Liver Dis. IF=2,719

Lee, S., K. Vargova, I. Hizoh, Z. Horvath, P. Gulacsi-Bardos, **Z. Sztupinszki**, A. Apro, A. Kovacs, I. Preda, E. Toth-ZsambokiR.G. Kiss. (2014) High on clopidogrel treatment platelet reactivity is frequent in acute and rare in elective stenting and can be functionally overcome by switch of therapy. Thromb Res, 133: 257-64. IF=2,32

Mihály, Z., **Z. Sztupinszki**, A. Szendrői, M. Szűcs, P. Nyirády B. Györffy. (2013) A metasztatizáló világosejtes veserák prognózisának előrejelzése microarray vizsgálatok alapján. Uroonkológia, 10: 78-84.

Szasz, A.M., B. Acs, E. Agoston, **Z. Sztupinszki**, A.M. Tokes, L. Szittyá, B. Szekely, M. Szendroi, Q. Li, L. Harsanyi, J. Timar, Z. Szallasi, C. Swanton, B. GyörffyJ. Kulka. (2013) [Simplified, low-cost gene expression profiling for the prediction of outcome in breast cancer based on routine histologic specimens]. Orv Hetil, 154: 627-32. IF= 0,291

Szasz, A.M., Q. Li, A.C. Eklund, **Z. Sztupinszki**, A. Rowan, A.M. Tokes, B. Szekely, A. Kiss, M. Szendroi, B. Györffy, Z. Szallasi, C. SwantonJ. Kulka. (2013) The CIN4 chromosomal instability qPCR classifier defines tumor aneuploidy and stratifies outcome in grade 2 breast cancer. PLoS One, 8: e56707. IF=3,057

Penzvalto, Z., B. Tegze, A.M. Szasz, **Z. Sztupinszki**, I. Liko, A. Szendroi, R. SchaferB. Györffy. (2013) Identifying resistance mechanisms against five tyrosine kinase inhibitors targeting the ERBB/RAS pathway in 45 cancer cell lines. PLoS One, 8: e59503. IF=3,057

Mihaly, Z., **Z. Sztupinszki**, P. SurowiakB. Györffy. (2012) A comprehensive overview of targeted therapy in metastatic renal cell carcinoma. Curr Cancer Drug Targets, 12: 857-72. IF=3,707