

A prosztatatarák kemoterápia-rezisztenciájában szerepet játszó fehérjék és szérumbiomarkerek azonosítása

Keresztes Dávid

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Szarvas Tibor, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Dezső Katalin, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Fullár Alexandra, Ph.D., igazságügyi nyomszakértő

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Dank Magdolna, MTA doktora, igazgató

Tagok: Dr. Szász Attila Marcell, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Dr. Füle Tibor, Ph.D., szaktanácsadó

Budapest
2022

1. Bevezetés

A prosztatatarák (PC) a férfiak körében a világon a második leggyakrabban diagnosztizált *malignus* elváltozás. Hazánkban évente mintegy 4500 új PC esetet diagnosztizálnak, amely mellett kb. 1300 halálesetet okoz a betegség. A PC egy multifaktoriális betegség, tehát genetikai sajátosságokon felül a környezeti tényezők együttesen vezetnek a daganat kialakulásához. A daganat incidenciája és mortalitása a magasabb életkorral függ össze, így ezek a mutatók az idősebb (65 év feletti) férfiak körében a legmagasabbak.

A PC korai stádiumában többnyire tünetmentes, ezért is fontos a betegség korai stádiumban történő felismerése, amelyre a PSA-mérésből (prostatata specifikus antigén) és rektális digitális vizsgálatból álló szűrővizsgálat alkalmas.

Az előrehaladott állapotú PC esetén már szisztémás kezelés alkalmazása szükséges. A PC kezdetben jellemzően hormonfüggő betegség (HSPC), amelynek megfelelően az androgén szintézis gyógyszeres gátlásával (ADT – androgén deprivációs terápia) a páciensek döntő többsége évekig eredményesen kezelhető. Az ADT mellett az eredetileg csak a kasztráció-rezisztens stádiumban alkalmazott docetaxel (DOC) kemoterápia, valamint az abirateron (ABI) is alkalmazható metasztatikus hormonérzékeny (mHSPC) betegek esetén. A prosztatatumor hormonszenzitivitása azonban

jellemzően csupán 2-3 évig áll fenn, melyet követően a daganatok kasztráció-rezisztens (CRPC) stádiumúvá progrediálnak.

A kasztráció-rezisztens prosztata daganatokkal szemben ma már számos gyógyszer áll rendelkezésre, azonban az elsővonalbeli kezelés, illetve az egyes hatóanyagok szekvenciájának optimális megválasztására jelenleg nincsenek megfelelő biomarkereink. Az mCRPC betegek elsővonalbeli kezelésére rendelkezésre álló gyógyszerek; a DOC kemoterápia, valamint az AR támadáspontú enzalutamid (ENZA) és ABI, valamint a csontáttéteket célzó radium-233 izotóp kezelés. Másod- vagy többedik vonalban a fenti három szertől kívül adható a cabazitaxel (CABA), valamint a BRCA1/2 vagy más ún. homológ rekombináns javító gén eltéréseit hordozó betegek esetében különböző PARP inhibitor kezelések (Olaparib, Rucaparib). A DOC kemoterápiát 2004-ben engedélyezték az mCRPC-ben, amely máig is az egyik legjelentősebb elsővonalbeli kezelésnek számít. A citotoxikus taxánok hatásmechanizmusukat tekintve az intracelluláris mikrotubulusokhoz kötődnek, és az így stabilizált mikrotubulus rendszer apoptózisra kényszerítik az osztódó sejteket. A kezelés további következménye, hogy a mikrotubulusok mentén, a sejtmagba történő androgén receptor (AR) transzport is leáll, így a kemoterápiás kezelés az androgén jelútra is hatást gyakorol.

A terápia-rezisztencia jelenségéről abban az esetben beszélünk, amikor a daganat bizonyos sejten belüli vagy mikrokörnyezetével

kapcsolatos változásának köszönhetően képes ellenállni egy adott kezelés hatásának. Alapvonalai rezisztenciáról beszélünk, ha a tumor fenotípusának köszönhetően kezdetben is ellenáll a kezelésnek, míg szerzett rezisztencia esetén annak folyamán alakítja ezen tulajdonságát. A területen zajló aktív kutatásoknak köszönhetően a DOC-rezisztencia hátterében meghúzódó mechanizmusok egyre világosabbá válnak. Ennek ellenére máig a DOC-rezisztencia korai felismerésében és elkerülésében nem sikerült a mindennapi klinikai gyakorlatot megváltoztatni képes előrelépést elérni. A kutatómunkám célja, hogy a DOC-rezisztenciáról rendelkezésre álló információkat és az azt okozó molekuláris mechanizmusokat alaposabban megismerjük. Kutatási tervünket úgy építettük fel, hogy az mCRPC betegek kezelésének megtervezéséhez hasznos terápia prediktív biomarkereket legyünk képesek azonosítani, valamint új gyógyszercélpontokra hívjuk fel a figyelmet, amelyekkel reményeink szerint a DOC-rezisztencia elkerülhetővé, leküzdhetővé válhat.

2. Célkitűzés

A doktori dolgozatomban bemutatott kutatómunka célja a PC DOC kemoterápiával szembeni rezisztencia kialakulásának alaposabb megértése volt, melyhez az alábbi célokat tűztük ki:

- A DOC rezisztenciában szerepet játszó, eddig ismertté vált rezisztencia mechanizmusok irodalmi feldolgozása.
- DOC-érzékeny (DU145, PC3) és -rezisztens (DU145-DR, PC3-DR) prosztatarák sejtvonalpárok tömegspektrometriai módszerrel történő összehasonlító proteomikai vizsgálata.
- A proteomikai analízis eredményeinek bioinformatikai szűrése, különös tekintettel a szekretálódó fehérjék azonosítására.
- A MedSol betegdokumentációs rendszer alapján egy részletes, klinikopatológiai és túlélési adatbázis létrehozása, azon DOC-kezelésnek alávetett páciensek adataiból, akiknek vérmintái a Semmelweis Egyetem Urológiai Klinikán kutatási célra gyűjtésre kerültek.
- A kiválasztott fehérjék DOC-kezelésnek alávetett betegek szérum mintáiban történő kimutatása és az eredmények összevetése a kezelés hatékonyságával, melyet a biokémiai és radiológiai válasszal, valamint a betegek túlélésével határoztunk meg.

- A legígéretesebb fehérjék *in vitro* vizsgálata, az adott fehérje DOC-rezisztenciában betöltött esetleges funkcionális szerepének tisztázására.

3. Módszerek

Kutatásunk feltáró elemzésében DOC-érzékeny (PC3, DU145) és DOC-rezisztens (PC3-DR, DU145-DR) PC sejtvonalpárokat (*kollaboráció: Innsbrucki Egyetem Urológiai Klinika*) komparatív proteomikai analízisnek vetettük alá, melyhez folyadékromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriai módszert (LC-MS/MS) alkalmaztunk (*kollaboráció: Bochumi Ruhr Egyetem Orvosi Proteomikai Központ*), amely beazonosította a sejtvonalpárok között eltérő expressziót mutató fehérjéket. Az elemzés által detektált, nagy terjedelmű proteomikai adatsort előzetes szűrési beállításokkal, valamint bioinformatikai módszereinkkel szűkítettük le. Ezen hipotézismentes módszerekkel célunk az volt, hogy a fehérje találatok közül laboratóriumi körülmények között is vizsgálható számú kandidáns fehérjét válasszunk ki további vizsgálatokra.

A fő szűrési módszerünk alapján a proteomikai adathalmazból a szekretált fehérjéket azonosítottuk. Az ilyen módon azonosított fehérjékről feltételeztük, hogy szekréción útton a véráramba bejuthatnak, így betegek szérummintáiban vizsgálhatók lehetnek (*kollaboráció: Debreceni Egyetem Humángenetikai Tanszék*). Egy

másik megközelítést alkalmazva a tömegspektrometriai méréseink nyújtotta adathalmazt összevetettük más kutatócsoportok által publikált hasonló vizsgálatok eredményeivel. Azon fehérjékre összpontosítottunk, amelyek több vizsgálat szerint is konzisztens felülregulációt mutattak a DOC-rezisztens sejtekben. Harmadik szűrési módszerünk során egy általunk kidolgozott, összetett szempontrendszer szerint rangsoroltuk a fehérjéket. A fent említett 3 bioinformatikai módszerrel összesen 7 fehérjét választottunk ki szérumbizsgálatokra.

ELISA-alapú szérumbizsgálatainkat a fent említett szűrési módszerek alapján kiválasztott fehérjéken összesen két független, DOC-kezelésnek alávetett mCRPC betegcsoport szérumb mintáin végeztük. A betegek kezelés előtti mintái közvetlenül a DOC-terápiájuk megkezdését megelőzően kerültek levételre, míg a további mérendő mintáikat minden esetben a DOC ciklusok első napján gyűjtöttük.

Az első betegcsoportba tartozó szérumbminták a Bécsi Orvostudományi Egyetem Urológiai Klinikáján kerültek gyűjtésre, amelyet kooperáció keretében bocsátottak rendelkezésünkre (etikai engedély száma: ECS 1986/2017). Ezen betegcsoport 99 beteg kezelés előtti mintáit, illetve közülük 25 beteg további, kezelés alatt gyűjtött mintáit foglalta magába. A kiválasztott fehérjék közül a NAMPT szérumbkoncentrációit határoztuk meg ezen betegcsoporton. A második betegcsoport

mintáin a további 6 kandidáns fehérjénk (GAP43, MET, CD44, GSN, LNPEP, IL13RA2) szérumszintjeit mértük meg, a Semmelweis Egyetem Urológiai Klinikájának szérumgyűjteményéből származó mintákon (etikai engedély száma: TUKEB 55/2014). A fehérjék szérumkoncentrációjának meghatározását követően ezen értékeket összevetettük a betegek klinikopatológiai és túlélési adataival.

A szérumvizsgálatok által a betegek túlélésével összefüggést mutató NAMPT és CD44 fehérjék funkcionális vizsgálatait valósítottuk meg mindkét sejtvonalpáron. A kísérleteket továbbá a PC3-DR sejtvonalon a GAP43 fehérjét célozva is elvégeztük annak okán, hogy a proteomikai elemzés szerint ezen fehérje kiugróan magas expressziós emelkedést mutatott a rezisztens sejtekben.

A funkcionális vizsgálatok keretében a géncsendesítés DOC-rezisztenciára gyakorolt hatásait vizsgáltuk, melynek során az siRNS-transzfeccióval egyidejűleg különböző koncentrációjú DOC-kezelésnek alávetett sejtek DOC-rezisztenciájának változásait állapítottuk meg a (nem célzó siRNS-sel transzfecciót) kontroll sejtekhez képest. Ez utóbbit a sejtek életképességének mérésével tudtuk kivitelezni (MTT-teszt), valamint propidium-jodid és Annexin-V kettős festés mellett elvégeztük a sejtek apoptózis analízisét is áramlási citometriás módszer alkalmazásával. Kísérleteinktől azt vártuk, hogy a rezisztens sejtek

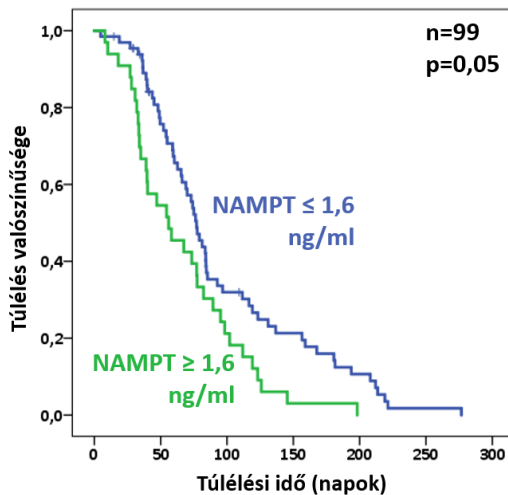
DOC-érzékenysége növekszik a célfehérjék expressziójának gátlása nyomán. A funkcionális vizsgálatokat megelőzően, a célfehérjék (NAMPT, CD44, GAP43) tömegspektrometriai elemzés által mutatott expressziós változását ugyanazon sejtvonalak mRNS és fehérje szintű vizsgálatával is visszaellenőriztük, amihez RT-qPCR és Western blot technikát használtunk.

4. Eredmények

A sejtvonalpárok összehasonlító proteomikai elemzése több ezer fehérje expressziós változását mutatta ki a DOC rezisztens sejtekben. Az ezen adatokon elvégzett bioinformatikai szűrési módszereink segítségével a CD44, IL13RA2, MET, LNPEP, GSN, NAMPT és GAP43 fehérjéket választottuk ki további szérumbizsgálatokra.

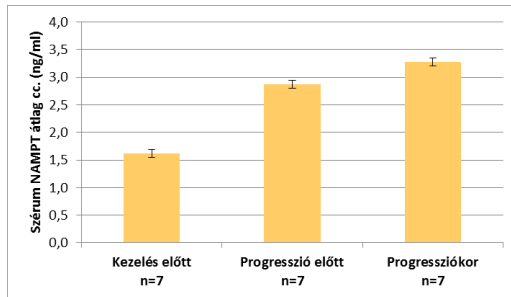
Az első betegcsoport ELISA-vizsgálatának deskriptív statisztikai elemzése során a kezelés előtti NAMPT szérumszintek nem mutattak összefüggést a betegek klinikai (életkor, PSA, lágyrész metasztázisok stb.) adataival. Az univariancia analízis keretében a betegek klinikopatológiai paramétereit és a NAMPT szérumszinteket vetettük össze a teljes, valamint a betegségfüggő túléléssel. A metasztázisok jelenléte, a magasabb kezelés előtti PSA (medián érték) és NAMPT (felső tercilis érték) szintek mutattak szignifikáns összefüggést a betegek rövidebb teljes és

betegségfüggő túlélésével (1. ábra). A multivariancia analízis rávilágított, hogy a metasztázisok jelenléte, a magas PSA és NAMPT szérumszintek a rövidebb túlélés független prognosztikus markerei, míg a korábbi radikális műtéti beavatkozás a kedvezőbb túléléssel mutatott szignifikáns összefüggést.



1. ábra - A NAMPT ELISA túlélés analízisnek eredménye Kaplan-Meier túlélési görbén szemléltetve. Vizsgálatunk szerint a DOC-kezelés előtti magasabb NAMPT szérumszintek ($\geq 1,6$ ng/ml) az mCPRC betegek rövidebb túlélését jelezte előre.

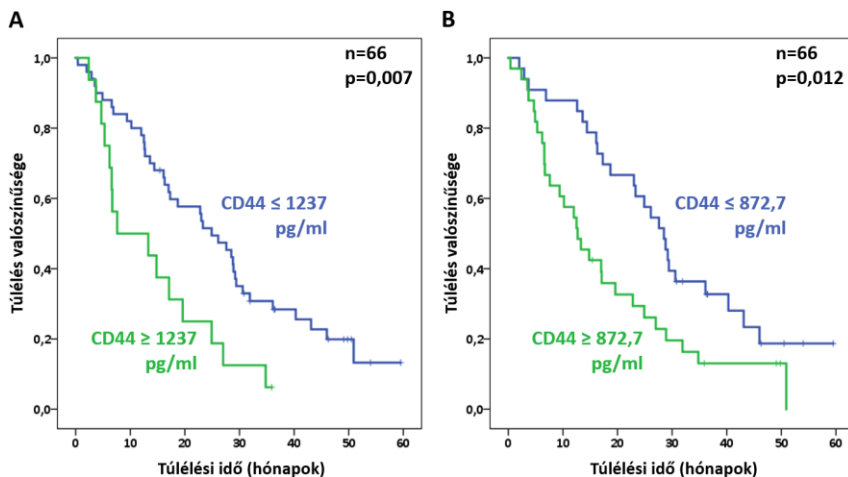
A DOC-kezelés alatt, a betegség progresszióját megelőzően, valamint a progressziókor gyűjtött szérumszintek kiértékelésével rávilágítottunk, hogy a NAMPT szérumszintje már a progresszió felfedezését megelőzően jelentős emelkedést mutat, majd ez a tendencia a tumor progressziójával tovább folytatódott (2. ábra).



2. ábra - A DOC-kezelt mCRPC betegek NAMPT fehérje szérumkoncentrációjának alakulása a DOC-kezelés előtt, a progresszió felfedezését megelőzően, valamint a progresszió felfedezésekor.

A második betegkohorton végzett CD44 szérumvizsgálat univariancia elemzése kimutatta, hogy a kezelés előtti emelkedett CD44 szérumkoncentráció (3. ábra), az ECOG státusz (>0) és a terápiára adott PSA válasz szignifikáns összefüggést mutattak a betegek teljes túlélésével. A további kiértékelés során két multivariancia modellt használva vizsgáltuk tovább az univariancia vizsgálat szerinti szignifikáns változókat. A „kezelés előtti” modellben a DOC-terápia megkezdését megelőzően elérhető változókat vizsgáltunk. Ez alapján a magas (felső tercilis érték feletti) CD44 szérumszint a teljes túlélés független rizikófaktorának bizonyult ($p=0,016$). A „kezelés alatti” modellbe olyan faktorokat vontunk be, amelyek olyan paramétereket is tartalmaztak (primer PSA válasz), melyek csak a DOC kemoterápia megkezdése után elérhetőek. A „kezelés előtti” modellben csak a magasabb szérum CD44 szint ($p=0,016$), míg a „kezelés alatti” modellben a magasabb CD44 szint ($p=0,001$)

mellett a kezelésre adott PSA válasz ($p < 0,001$) bizonyult független prognosztikus faktornak a DOC-kezelt mCRPC betegek túlélésének tekintetében.



3. ábra - A CD44 ELISA túlélés analízise Kaplan-Meier görbéken megjelenítve. A kemoterápiás kezelés megkezdése előtt mért magasabb CD44 értékek (A: felső tercilis érték ≥ 1237 pg/ml, B: medián érték $\geq 872,7$ pg/ml) az mCRPC páciensek kedvezőtlenebb túlélésével függtek össze.

A GAP43, MET és LNPEP szérumszintjei nem mutattak szignifikáns összefüggést a betegek klinikopatológiai és túlélési adataival, míg a GSN és IL13RA2 ELISA mérések nem eredményeztek a mérési tartományban detektálható jelet.

Funkcionális kísérleteinket megelőzően RNS és fehérje szinten saját laboratóriumi módszereinkkel (RT-qPCR, Western blot) sikeresen validálni tudtuk a célfehérjék (NAMPT, CD44, GAP43) proteomikai vizsgálat által meghatározott expressziós különbségét a DOC-rezisztens és érzékeny sejtvonalpárok között. Az siRNS-

transzfekció géncsendesítő hatását minden célfehérje (NAMPT, CD44, GAP43) esetében Western blot módszerrel igazolni tudtuk.

Az áramlási citometriás méréseink során összevetettük a géncsendesített DR sejtek apoptózisának mértékét a nem-célzó negatív kontroll siRNS-sel transzfectált, kontroll sejtekével 72 óras fenntartó (12,5nM) és -az MTT-tesztek által meghatározott-IC50 dózisú (PC3-DR: 200nM; DU145-DR: 100nM) DOC-kezelés mellett.

A DU145-DR sejteken végzett kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy fenntartó dózisú DOC-kezelés mellett a CD44 és NAMPT csendesített sejtekben az apoptotikus sejtek aránya szignifikáns mértékben megnőtt ($p < 0,001$) a kontroll sejtekhez képest. A sejteket 100nM (IC50 dózisú) docetaxellel kezelve a CD44 expressziót nem mutató sejtekben az apoptotikus sejtek aránya szignifikánsan magasabb volt a kontroll sejtekhez képest. Így elmondható, hogy a CD44 génexpressziójának gátlása jelentős mértékben megnövelte a sejtek DOC-érzékenységét. A mérés továbbá megállapította, hogy a NAMPT expresszió gátlás az IC50 DOC dózis mellett nem növelte a sejtek apoptózisát (4. ábra).

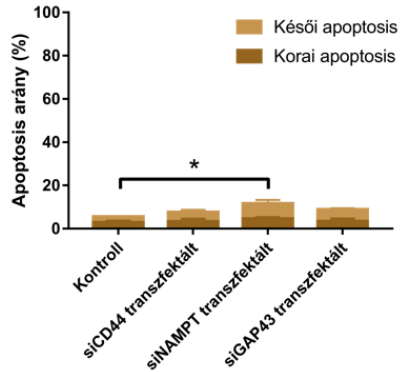
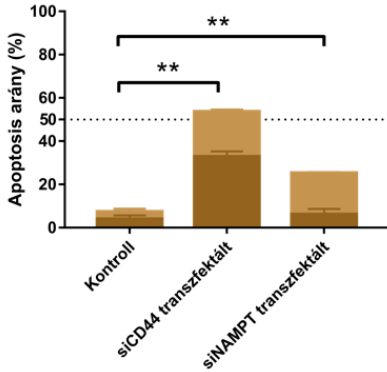
A PC3-DR sejtvonalon elvégzett kísérleteink a NAMPT csendesítéssel kapcsolatban adtak hasonló eredményt, mint a DU145-DR sejtvonalnál, míg a CD44 kiütött PC3-DR sejtek apoptózisának mértéke változatlan maradt. A 12,5nM DOC dózissal kezelt, NAMPT-csendesítésnek alávetett PC3-DR

sejtpopulációban szignifikánsan ($p < 0,010$) megnőtt az apoptotizáló sejtek aránya a kontroll sejtekhez képest, tehát a NAMPT-letörés növelte a sejtek fenntartó dózissal szembeni DOC-szenzitivitását. Ezzel szemben ugyanezen sejtvonal esetében az IC₅₀ dózisú DOC-kezelés mellett már nem volt tapasztalható DOC-rezisztencia különbség az siNAMPT molekulával és a nem-célzó siRNS-sel transzfektált sejtpopulációk között (4. ábra). Továbbá, a GAP43 fehérje expressziójának letörése a PC3-DR sejtek DOC-érzékenységére nem volt hatással (4. ábra).

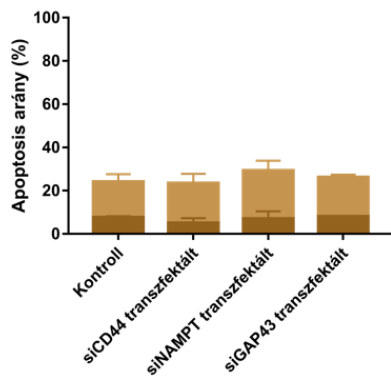
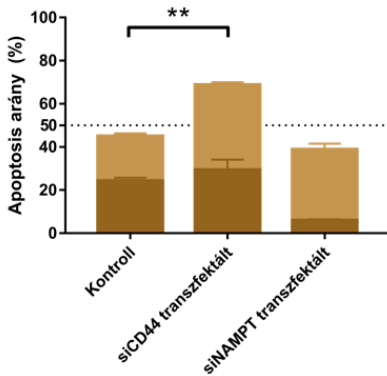
DU145-DR

PC3-DR

72 órás fenntartó dózisú (12,5nM) DOC kezelés



72 órás IC50 dózisú DOC kezelés



4. ábra - Az áramlási citometriás méréssel kivitelezett apoptózis vizsgálat eredményei. A DU145-DR sejteken a CD44 géncsökkentés hatására a 72 órás fenntartó (12,5 nM), valamint IC50 dózisú DOC-kezelés hatására jelentősen megnövekedett apoptózist tapasztaltunk a kontroll sejtek által mutatott értékekhez képest. A NAMPT fehérje kifejeződésének gátlása a DU145-DR és PC3-DR sejtekben is szignifikánsan növelte a sejthalálózást, azonban csak a fenntartó dózisú DOC-kezelés mellett.

5. Következtetések

A két DOC-érzékeny és -rezisztens prosztatarák sejtvonalpáron elvégzett tömegspektrometria alapú proteomikai vizsgálattal több száz olyan fehérjét sikerült azonosítanunk, amelyek potenciálisan részt vesznek a DOC-rezisztencia kialakításában. A hipotézismentes, objektív megközelítésű bioinformatikai módszereinkkel 7 fehérjét (NAMPT, CD44, GAP43, MET, LNPEP, IL13RA2, GSN) választottunk ki szérum vizsgálatokra.

Az ELISA-vizsgálatainkkal a vizsgált 7-ből 5 fehérjét tudtunk kimutatni a DOC-kezelésnek alávetett mCRPC betegek szérummintáiban, amelyek közül 2 fehérje (NAMPT, CD44) kezelés előtti szérumszintjei mutattak szignifikáns összefüggést a betegek rövidebb túlélésével. Továbbá a kezelés alatt gyűjtött minták NAMPT koncentrációjának meghatározásával kimutattuk, hogy e fehérje szérumszintje már a kezelés alatti tumorprogressziót megelőzően is emelkedést mutat és tovább emelkedik a progresszió felfedezésének idejében. Így eredményeink szerint a NAMPT és CD44 fehérjék kezelése megkezdése előtt mért szérumszintjének meghatározása hozzásegíthet a DOC-rezisztens betegek azonosításához, ezáltal segítheti a terápiás döntéshozatalt. Továbbá a NAMPT fehérjéről elmondható, hogy szérum szintjének monitorozása DOC-kezelés során segíthet a kezelés alatti progresszió korai előrejelzésében.

In vitro sejtkultúrás funkcionális kísérleteinket ezen két fehérjével, illetve a PC3-DR DOC-rezisztens sejtvonalban kimagaslóan magas expressziós változást mutató GAP43 fehérjével végeztük el. A megvizsgált célpontok közül a CD44 fehérje csendesítése mellett tapasztaltunk szignifikáns apoptózis növekedést a DU145-DR sejtekben. Az áramlási citometriával elvégzett apoptózis analízis szerint ezen sejtek CD44 fehérje hiányában érzékennyé váltak a DOC-kezelésre. Ezen kísérletek a CD44 DOC-rezisztenciában betöltött lehetséges szerepére utalnak.

Eredményeink fényében elmondható, hogy terápia-érzékeny és -rezisztens sejtvonalpárok proteomikai összehasonlítása, illetve annak hipotézismentes módon történő feldolgozása, új biomarkerek, valamint potenciális gyógyszer-célpontok azonosítására alkalmas módszerek tekinthető.

Kutatócsoportunk eltérő kutatási tervvel, de a jelen dolgozathoz kapcsolódó hasonló célú projektjei keretében azonosított olyan fehérjéket, melyek szérumszintjei az mCRPC betegek DOC-ra adott csökkent terápiás válaszával és a rövidebb túlélésével mutatnak összefüggést. A mátrix metalloproteináz-7 (MMP-7) fehérjével kapcsolatban kimutattuk, hogy annak DOC-kezelés megkezdése előtti emelkedett szérumszintje szignifikáns összefüggést mutat a DOC-rezisztenciával, valamint a rövidebb betegségfüggő túléléssel. Az MMP-7 fehérje részt vesz többek között a SDC1 (*syndecan-1*) transzmembrán proteoglikán

sejtfelszínről való lehasításában, ezáltal annak szérumszintje megnőhet. Sikertült összefüggést találunk az mCRPC betegek magas DOC kezelés előtti SDC1 szérumszintjei és rövidebb betegségfüggő túlélése között, valamint kimutattuk a fehérje jelentős szérumszint emelkedését a tumor progressziójával összefüggésben. Ezen eredmények alapján elmondható, hogy az mCRPC betegek kezelésének megkezdését megelőzően az említett fehérjék szérumkoncentrációinak meghatározása segíthet a megfelelő terápiás szer kiválasztásában.

Jelen dolgozatban bemutatott eredményeink, amelyeknek megalapozásában nagy szerepe volt több kollaborációs együttműködésünknek is, reményeink szerint hozzájárulnak a jövőben a PC kemoterápia-rezisztenciájának leküzdéséhez. A CD44 és NAMPT, valamint az MMP-7 és SDC1 fehérjéket célzó szérumvizsgálataink független betegcsoporton való prospektív validációja szükséges azok jövőbeli terápia prediktív biomarkerként való alkalmazásához. A NAMPT és CD44 molekulák sejtkulturás funkcionális kísérleteinkkel, valamint azok szakirodalmában fellelhető eredményeivel összhangban a fehérjék DOC-rezisztenciában betöltött lehetséges funkcionális szerepére utalnak. Ezen mechanizmus még pontosabb megismeréséhez további kísérletek elvégzése szükséges.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó saját közlemények:

- **Keresztes D**, Csizmarik A, Nagy N, Modos O, Fazekas T, Bracht T, Sitek B, Witzke K, Puhr M, Sevcenco S, Kramer G, Shariat S, Kuronya Z, Takacs L, Tornyi I, Lazar J, Hadaschik B, Laszik A, Szucs M, Nyirady P, Szarvas T. (2022) Comparative proteome analysis identified CD44 as a possible serum marker for docetaxel resistance in castration-resistant prostate cancer. *J Cell Mol Med*, 26: 1332-1337.
IF: 5,310
- Szarvas T, Csizmarik A, Nagy N, **Keresztes D**, Varadi M, Kuronya Z, Riesz P, Nyirady P. (2020) Az áttétes kasztrációrezisztens prosztatarák gyógyszer-rezisztenciájának molekuláris vonatkozásai [Molecular underpinnings of systemic treatment resistance in metastatic castration-resistant prostate cancer]. *Orv Hetil*, 161: 813-820.
IF: 0,540
- **Keresztes D**, Módos O, Szűcs M, Hüttl A, Csizmarik A, Nagy N, Kretz V, Bracht T, Sitek B, Witzke K, Puhr M, Sevcenko S, Kramer G, Shariat S, Nyirády P, Szarvas T. (2019) Comparative proteome analysis identified NAMPT as a potential serum marker for the prediction of docetaxel-resistance in prostate cancer. *European Urology Supplements*, 18: e482.
- Szarvas T, Sevcenco S, Modos O, **Keresztes D**, Nyirady P, Csizmarik A, Ristl R, Puhr M, Hoffmann MJ, Niedworok C, Hadaschik B, Maj-Hes A, Shariat SF, Kramer G. (2018) Matrix metalloproteinase 7, soluble Fas and Fas ligand serum levels for predicting docetaxel resistance and survival in castration-resistant prostate cancer. *BJU Int*, 122: 695-704.
IF: 4,524

- Szarvas T, Sevcenco S, Modos O, **Keresztes D**, Nyirady P, Kubik A, Romics M, Kovalszky I, Reis H, Hadaschik B, Shariat SF, Kramer G. (2018) Circulating syndecan-1 is associated with chemotherapy-resistance in castration-resistant prostate cancer. *Urol Oncol*, 36: 312 e9-312 e15.

IF: 2,863

A disszertációtól független saját közlemények:

- Nagy N, Reis H, Hadaschik B, Niedworok C, Modos O, Szendroi A, Biro K, Hager T, Herold T, Ablat J, Black PC, Okon K, Tolkach Y, Csizmarik A, Olah C, **Keresztes D**, Bremmer F, Gaisa NT, Kriegsmann J, Kovalszky I, Kiss A, Timar J, Szasz MA, Rink M, Fisch M, Nyirady P, Szarvas T. (2020) Prevalence of APC and PTEN Alterations in Urachal Cancer. *Pathol Oncol Res*, 26: 2773-2781.

IF: 3,201

- Reis H, van der Vos KE, Niedworok C, Herold T, Modos O, Szendroi A, Hager T, Ingenwerth M, Vis DJ, Behrendt MA, de Jong J, van der Heijden MS, Peyronnet B, Mathieu R, Wiesweg M, Ablat J, Okon K, Tolkach Y, **Keresztes D**, Nagy N, Bremmer F, Gaisa NT, Chlosta P, Kriegsmann J, Kovalszky I, Timar J, Kristiansen G, Radzun HJ, Knuchel R, Schuler M, Black PC, Rubben H, Hadaschik BA, Schmid KW, van Rhijn BWG, Nyirady P, Szarvas T. (2018) Pathogenic and targetable genetic alterations in 70 urachal adenocarcinomas. *Int J Cancer*, 143: 1764-1773.

IF: 4,982

- Kubik A, Szarvas T, Módos O, **Keresztes D**, Horváth A, Nyirády P. (2017) A felső húgyúti urothel sejtes tumorok kezelése - hasonlóságok és különbségek a húgyhólyag urotheliális tumoraival. *Magy Urol*, 29: 52-56.