

Fej-nyak tumoros megbetegedésekhez társuló trombocitózis vizsgálata

Doktori értekezés

**Dr. Szilasi Zsuzsanna**

Semmelweis Egyetem  
Rácz Károly Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:	Dr. habil Baranyai Zsolt Ph.D., klinikai főorvos
Hivatalos bírálók:	Dr. habil. Csanády Miklós Ph.D., egyetemi docens Dr. Dános Kornél, Ph.D., egyetemi tanársegéd
Szigorlati bizottság elnöke:	Dr. habil. Németh Zsolt Ph.D., tanszékvezető egyetemi docens
Szigorlati bizottság tagjai:	Dr. Dohán Erzsébet Orsolya, Ph.D., klinikai főorvos, főiskolai docens Dr. Sztanó Balázs, Ph.D., klinikai adjunktus

Budapest  
2021

## Tartalomjegyzék

<b>1</b>	<b>Bevezetés .....</b>	<b>7</b>
1.1	Fej-nyaki laphámrákok.....	7
1.1.1	<i>Incidencia</i> .....	7
1.1.2	<i>Rizikófaktorok</i> .....	7
1.1.3	<i>Tünetek és diagnosztika</i> .....	8
1.1.4	<i>Kezelés</i> .....	9
1.1.5	<i>Mortalitás és prognózis</i> .....	10
1.2	Neutrofil sejtek .....	12
1.2.1	<i>A neutrofil sejtek funkciói</i> .....	13
1.2.2	<i>A neutrofil sejtek és a daganatok</i> .....	15
1.3	Limfocita sejtek .....	17
1.3.1	<i>A limfocita sejtek funkciói</i> .....	19
1.3.2	<i>A limfocita sejtek és a daganatok</i> .....	22
1.4	Vérlemezkek.....	23
1.4.1	<i>A vérlemezkek funkciói</i> .....	23
1.4.2	<i>Trombocitózis</i> .....	25
1.4.3	<i>A vérlemezkek és a daganatok</i> .....	27
1.5	Neutrofil-limfocita arány.....	36
1.6	Vérlemezke-limfocita arány .....	37
<b>2</b>	<b>Célkitűzések .....</b>	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>Módszerek .....</b>	<b>39</b>
3.1	Statisztika .....	40
3.2	Etikai engedély .....	41
<b>4</b>	<b>Eredmények .....</b>	<b>42</b>
4.1	A vérlemezkeszám prognózist befolyásoló szerepének vizsgálata .....	42
4.2	NLR és PLR prognózist befolyásoló szerepének vizsgálata .....	47
<b>5</b>	<b>Megbeszélés.....</b>	<b>54</b>
5.1	A vérlemezkeszám prognózist befolyásoló szerepe .....	54
5.1.1	<i>A vérlemezkeszám küszöbértékének meghatározása</i> .....	54
5.1.2	<i>A trombocitózis, az anémia és a túlélés kapcsolata</i> .....	55

5.1.3	<i>A vérlemezkeszám, a lokalizáció és a túlélés kapcsolata</i> .....	60
5.1.4	<i>A nem túlélést befolyásoló szerepe</i> .....	61
5.2	<b>Az NLR és a PLR prognózist befolyásoló szerepe</b> .....	63
5.2.1	<i>Az NLR és PLR küszöbértékének meghatározása</i> .....	63
5.2.2	<i>Az NLR, a PLR és a túlélés kapcsolata</i> .....	64
5.2.3	<i>Az NLR, a PLR, a kezelés módja és a túlélés közötti összefüggés</i> .....	65
5.2.4	<i>Az NLR, a PLR, a lokalizáció és a túlélés kapcsolata</i> .....	65
<b>6</b>	<b>Következtetések</b> .....	<b>67</b>
<b>7</b>	<b>Összefoglalás</b> .....	<b>69</b>
<b>8</b>	<b>Summary</b> .....	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>Irodalomjegyzék</b> .....	<b>71</b>
<b>10</b>	<b>Saját publikációk jegyzéke</b> .....	<b>98</b>
10.1	Disszertációhoz kapcsolódó közlemények .....	98
10.2	Disszertációtól független közlemények .....	98
10.3	Előadások .....	98
<b>11</b>	<b>Köszönetnyilvánítás</b> .....	<b>100</b>

## Rövidítések jegyzéke

5-FU - 5-fluorouracil

AJCC - Amerikai Rákos Betegségeket Vizsgáló Albizottság (American Joint Committee on Cancer)

AKT - protein kináz B

Ang-1 - angiopoietin-1

Ang-2 - angiopoietin-2

APRIL - proliferáció serkentő ligand

AUROC - vevő működési karakterisztika görbe alatti terület (area under the receiver operating characteristic curve)

BAFF - B sejt aktiváló faktor

BM-MSC - csontvelő eredetű MSC

BMI - testtömeg index

BRT - cetuximabbal kombinált sugárkezelés

CCRT - konkurrens kemoradioterápia

CML - krónikus mieloid leukémia

COX - ciklooxygenáz

CRP - C-reaktív protein

CRT - ciszplatinnal kombinált sugárkezelés

CTLA-4 - citotoxikus T-limfocita asszociált antigén-4

cTNM - klinikai tumor stádium

DFS - betegségmentes túlélés (disease free survival)

ECGF - endotél sejt növekedési faktor

EGFR - epiteliális növekedési faktor receptor

EMT - epiteliális-mezenhimális átalakulás (epithelial-mesenchymal transition)

EPO - eritropoietin

ERK - extracelluláris-szignál-regulált kináz

ET - esszenciális trombocitózis

FDG - 18-fluoro-2-dezoxi-glükóz

FGF - fibroblaszt növekedési faktor

FOXP3 - villafej (forkhead box) P3

G-CSF - granulocita kolónia-stimuláló faktor

GM-CSF - granulocita-makrofág kolónia-stimuláló faktor

GP - glikoprotein  
HPV - humán papillómavírus  
HPV-OSCC - humán papillómavírus-asszociált orofaringeális laphámrák  
HSI - hiperspektrális képalkotás (hyperspectral imaging)  
ICT - indukciós kemoterápia  
IFN - interferon  
Ig - immunglobulin  
IgA - immunglobulin-A  
IgE - immunglobulin-E  
IgG - immunglobulin-G  
IgM - immunglobulin-M  
IL-1 - interleukin-1  
IL-6 - interleukin-6  
IL-8 - interleukin-8  
IUC - Union of International Cancer Control  
JAK - Janus kináz  
KLP - közös limfoid progenitor  
KMP - közös mieloid progenitor  
MAPK - mitogén aktivált protein kináz  
MDSC - mieloid eredetű szupresszor sejt (myeloid-derived suppressor cell)  
MHC - major hisztokompatibilitási komplex  
miRNS - mikroRNS  
MMP - mátrix metalloproteáz  
MPD - mieloproliferatív betegség  
MPL - trombopoietin receptor  
MR - mágneses rezonancia  
MSC - mezenhimális őssejt  
MT1-MMP - 1-es membrán-típusú mátrix metalloproteáz  
MV - mikrovezikulumok  
MVD - kapilláris sűrűség (microvessel density)  
NBI - szűkített spektrumú képalkotás (narrow band imaging)  
NET - neutrofil extracelluláris csapda  
NIR - közeli infravörös (near-infrared)  
NK sejt - természetes ölő (natural killer) sejt

NLR - neutrofil-limfocita arány  
NPC - nazofaringeális karcinóma  
OS - teljes túlélés (overall survival)  
OSCC - orofaringeális laphámrák  
PCR - polimeráz láncreakció  
PD-1 - programmed cell death-1  
PD-ECGF - trombocita eredetű ECGF  
PD-L1 - programozott sejthalál-ligand 1  
PDGF - vérlemezke eredetű növekedési faktor  
PDGFRB - PDGF receptor béta  
PET - pozitron emissziós tomográfia  
PG - prosztaglandin  
PI3K - foszfatidil-inozitol 3-kináz  
PLR - vérlemezke-limfocita arány  
PMV - vérlemezke eredetű mikrovezikulumok  
PPF - elő-vérlemezke formáció (proplatelet formation)  
pTNM - patológiai stádiumbeosztás  
RAG - rekombináció aktiváló gén  
ROC - vevő működési karakterisztika (receiver operating characteristic)  
STATs - transzkripciós fehérjék szignál transzducere és aktivátora (signal transducer and activator of transcription proteins)  
TF - transzkripciós faktor  
TILs - tumort infiltráló limfociták  
TNF $\alpha$  - tumor nekrozis faktor- $\alpha$   
TPF - taxán, ciszplatin, 5-fluorouracil  
TPO - trombopoietin  
VEGF - vaszkuláris endoteliális növekedési faktor  
VEGFA - vaszkuláris endoteliális növekedési faktor A  
VTE - vénás trombembólia

## 1 Bevezetés

### 1.1 Fej-nyaki laphámrákok

#### 1.1.1 Incidencia

Évente kb. 700 ezer beteget diagnosztizálnak világszerte fej-nyaki laphámrákkal (HNSCC). (1) Ez a kórkép a nyolcadik leggyakoribb daganatos halálok az évi 350 ezer körüli halálessel. (2, 3) 2020-ra a fej-nyaki daganatok incidenciáját körülbelül 833 000 esetre becsülték világszerte, és 151 000-re Európában. (4) A fej-nyaki tumorokat a TNM klasszifikáció legújabb, nyolcadik kiadása szerint ajak, szájüregi, garat (ezen belül szájgarat - HPV/p16 pozitív és negatív, orrgarat, algarat), gége (ezen belül szupraglottikus, glottikus és szubglottikus), orrüregi, orrmelléküregi, ismeretlen primer kiindulású, felső légző- és emésztőtraktus melanocitáiból kiinduló, pajzsmirigy és nyálmirigy daganatokra osztjuk. (5)

A fej-nyaki területen előforduló daganatok több, mint 90%-a a száj, szájgarat, algarat és gége nyálkahártyájáról kiinduló laphámrák. Magyarországon a fej-nyaki laphámrák a férfiak körében a harmadik leggyakrabban előforduló rosszindulatú daganat. (6) A Nemzeti Rákregiszter adatai alapján 2018-ban 870 ajak- és szájüregi, 1164 gége-, 749 szájgarati és 579 algarati rákot diagnosztizáltak hazánkban. A Globocan adatai szerint ugyanezen megbetegedések száma 2020-ban Magyarországon 1153 ajak- és szájüregi, 827 gége-, 526 szájgarati és 509 algarati tumor. (7)

#### 1.1.2 Rizikófaktorok

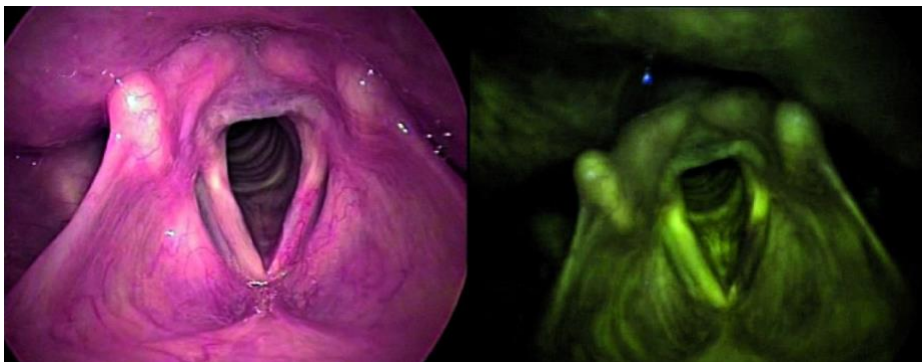
A fej-nyaki rákok rizikófaktorai a dohányzás és az alkoholfogyasztás, a dél-kelet-ázsiai országokban és az indiai szubkontinensen a bételdió rágása, illetve a humán papillómavírus fertőzés. Rosszabb szociális-gazdasági körülmények között élők között az incidencia magasabb, ennek egyik oka a rossz szájhigiéne. (8) Egy ritka, recesszív genetikai betegség, a Fanconi anémia mellett 800-szoros a fej-nyaki daganatok kialakulásának a valószínűsége. A Fanconi anémia talaján megjelenő daganatok kifejezetten agresszív módon viselkednek. (9)

### 1.1.3 Tünetek és diagnosztika

A fej-nyaki daganatok első tünetei a hang megváltozása, nem gyógyuló hámbhiány vagy duzzanat a nyálkahártyán, nyaki terime, fájdalom, irritáció, nyelési problémák és általános tünetek, mint a fáradékonyság és fogyás. A fej-nyaki tumorokon belül a glottikus és szupraglottikus daganatok tünete, a hang megváltozása, a rekedtség lehetővé teszi a korai diagnózist, bár ez a panasz a betegeknek sokszor nem annyira zavaró, hogy a vizsgálatra mielőbb jelentkezzenek. (10) A betegek többsége száj- és algarati daganat esetében tapintható nyaki terime miatt fordul először orvoshoz, ezt gyakoriságban a nyelési fájdalom és nehezítettség követi, illetve ritkábban a fülbe sugárzó fájdalom. A fülfájdalommal jelentkező betegeknél általában később diagnosztizálják a tumort és rosszabb túlélésre számíthatnak, mint akiknél nyaki terime észlelhető. Ennek az az oka, hogy az első vizsgálat alkalmával nem ismerik fel a daganatot, és tüneti vagy antimikrobiális kezelésben részesülnek. (11)

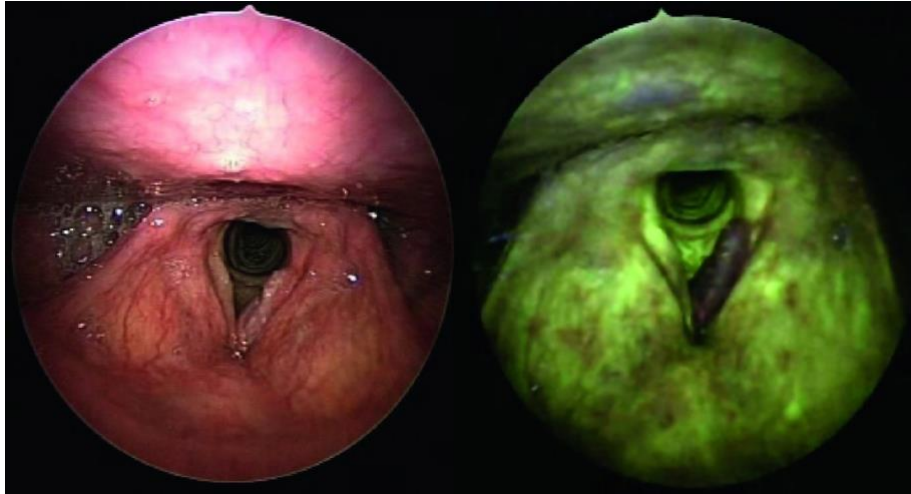
A diagnosztikus lépések a következők: fizikális vizsgálat; indirekt laringoszkópia; direkt laringoszkópia rigid teleszkóppal; amennyiben a beteg az előbbi két vizsgálatot nem tolerálja, vagy a gége és az algarat nem megfelelően hozható látótérbe, direkt laringoszkópia flexibilis eszközzel; direkt laringoszkópia mikroszkóp segítségével általános érzéstelenítésben és biopszia; képalkotó vizsgálatok.

Kiegészítő vizsgálatok lehetnek a szűkített spektrumú képalkotás (narrow band imaging - NBI) és az autofluoreszcencia endoszkópia (1-2. ábra). NBI-vel a nyálkahártya mikroerezettségének változásai detektálhatóak, amely alapján a malignus és benignus léziók egymástól elkülöníthetőek. A gégerák diagnózisában az NBI 93,2%-os szenzitivitással bír, míg a direkt endoscopia szenzitivitása 68,5%. (12) Az indirekt autofluoreszcens endoszkópia a szinkron vagy metakron második primer daganatok észlelésében nyújt segítséget. (13)



*1.ábra: Indirekt endoscopia 70°-os rigid teleszkóppal, a bal hangszalagon carcinoma in situ. Bal oldali képen fehér fényvel, jobb oldalon autofluoreszcenciával (13).*





2. ábra Indirekt endoszkópia 70°-os rigid teleszkóppal, a bal hangszalagon tumor. Bal oldali képen fehér fényvel, jobb oldalon autofluoreszcenciával. (13)

#### 1.1.4 Kezelés

A fej-nyaki rákok kezelése történhet műtéttel, sugár-, és kemoterápiával, illetve ezek kombinációjával. A prognózist és a választandó kezelési formát alapvetően a TNM stádium határozza meg. Kezdeti stádiumban elegendő lehet egyedüli sebészi vagy sugárkezelés. A gyakran kései diagnózis miatt a fej-nyaki laphámrákos betegek többségét már lokálisan előrehaladott vagy áttétes állapotban észleljük, így általában kombinált kezelést igényelnek műtéttel, posztoperatív radioterápiával vagy radio-kemoterápiával. (14) A korai diagnózissal javítható a túlélés, elkerülhető a kombinált kezelés szükségessége és ezáltal azok mellékhatásai.

A sebészi kezelés az utóbbi évtizedekben jelentős változáson ment keresztül a rekonstrukciós technikák folyamatos fejlődése mellett. A sebészi szélek intraoperatív meghatározása általában szabad szemmel való megtekintéssel és tapintással történik, ami pontatlan, nem specifikus és szubjektív, nagy mértékben függ az operáló orvostól. Az intraoperatív fagyasztásos szövettani vizsgálat széles körben elterjedt módszer a sebészi szélek megítélésére a fej-nyaki daganatok műtétei során. Számos optikai módszert vizsgálnak, amelyek alkalmasak lehetnek a fej-nyaki daganatok reszekciója során, mint az autofluoreszcenciát (13), az NBI-t (12) és a közeli infravörös spektroszkópiát (near-infrared spectroscopic imaging). (15) A fluoreszcens ágensekkel való intraoperatív jelöléssel minimalizálhatóak a normális szövet eltávolításával járó szövődmények, és az onkológiai eredmények is javíthatóak, mivel a daganat határai pontosabban vizualizálhatóak a műtét során. (16, 17) Az epiteliális növekedési faktor receptorhoz (EGFR) kötő cetuximab fluoreszcens

festékekkel konjugálva felhasználható a fej-nyaki daganatok reszekciója során a sebészi navigációra. (15) A panitumumab egy humán monoklonális immunglobulin G2 antitest, ami a cetuximabnál nyolcszor erősebben és specifikusabban köt az EGFR-hez. Mivel a panitumumab egy humán antitest, a cetuximab pedig humán-egér antitest, a panitumumab biztonságosabban alkalmazható, az anti-panitumumab antitestek kialakulásának esélye kisebb. A fluoreszcens festékekkel konjugált cetuximab és panitumumab felezési ideje hasonló, hozzávetőleg egy nap, így a műtét előtti napra érdemes időzíteni az infúziót. Az intraoperatív navigációhoz a terápiás dózis körülbelül 25%-a elegendő. Ezen célzott antitestek használata biztonságosabb, mint a nanopartikulumok, affibody-k (monoklonális antitestek imitálására létrehozott fehérjék) vagy a nem specifikus fluoreszcens festékek alkalmazása. (18) A hiperspektrális képalkotás (HSI) egy objektív és gyors intraoperatív diagnosztikus eszköz a tumor normál szövettől való elkülönítésére, ami pontosabbnak bizonyult a fagyasztott metszetek vizsgálatánál. Ezzel a módszerrel egy adatkockának nevezett háromdimenziós adathalmaz nyerhető, ami a szövet fiziológiájáról, morfológiájáról és összetételéről nyújt információt. (19)

Lokálisan és/vagy regionálisan előrehaladott fej-nyaki daganatok esetén szóba jön az immunterápia. Kiegészítő kezelésként használatos a cetuximab, ami egy humán/egér rekombináns monoklonális immunglobulin G1 antitest, ami specifikusan köt az EGFR extracelluláris doménjéhez. (18) A nivolumabbal, egy humán anti-programmed cell death (PD)-1 monoklonális antitesttel a teljes túlélés statisztikailag szignifikáns javulása érhető el metasztatikus vagy kiújult fej-nyak daganatos betegeknél. (20)

### 1.1.5 Mortalitás és prognózis

A fej-nyak daganatos betegek öt éves túlélése 50% körüli, és a daganat lokalizációja szerint eltérést mutat: a gégerákos betegeknek a legmagasabb az öt éves túlélése mintegy 70%-kal, míg az algarati rákoknál észlelték a legalacsonyabbat (30%). (21) A hazánkban tapasztalt magas mortalitás fő oka, hogy a betegek többsége csak előrehaladott stádiumban kerül felfedezésre. (22) A Globocan adatbázisa alapján 2020-ban 100 ezer magyarországi lakosból 564-en ajak- és szájüregi, 423-an gége-, 366-an algarati és 275-en szájgarati rákban hunytak el. (7)

A túlélést befolyásoló tényezők a tumorméret, a pozitív nyirokcsomók száma, az extrakapszuláris terjedés, a tumor lokalizációja és az életkor a diagnózis felállításakor, illetve az, hogy a tumor HPV-asszociált-e. (23) A HPV+ daganatok esetén a hagyományos prognosztikai faktorok, mint a magas N kategória vagy a tokáttörés, elvesztették prognosztikai

jelentőségüket; ezzel szemben a patológiás nyaki nyirokcsomók *száma* mutatja a legszorosabb összefüggést az alacsony betegség-specifikus túléléssel. A HPV+ daganatok kedvezőbb túlélésének egyik lehetséges oka a HPV+ tumor mikrokörnyezetében kialakult fokozott immunaktivitás. (24)

A mortalitást növeli az alkoholfogyasztás és a dohányzás, és kedvezően befolyásolja a fizikai aktivitás és az étrend (mediterrán diéta; sok gyümölcs, zöldség és hüvelyesek fogyasztása). (25) A túlzott alkoholfogyasztás nem csak kiváltó tényezőként, hanem prognosztikai faktorként is szerepel a fej-nyak rákos betegeknél. (21) Egy Ázsiában és Észak-Amerikában végzett, a túlzott alkoholfogyasztás és a túlélés kapcsolatát vizsgáló meta-analízis eredménye szerint az alkoholt túlzottan fogyasztó betegeknek szignifikánsan rosszabb a prognózisa az alkoholt nem fogyasztókhöz képest. (26) Fej-nyak daganatos betegeknél gyakori a depresszió előfordulása, ami szignifikánsan rontja a túlélést, aminek hátterében részben a kemoradioterápiára adott rosszabb terápiás választ találták, valamint azt, hogy a depresszióval küzdő betegek hajlamosabbak a kezelés félbeszakítására. (27)

Kedvezőtlen prognosztikai tényezők a rövid betegségmentes túlélés (DFS), a férfi nem, a mediasztinális vagy pulmonális nyirokcsomó áttét, és amennyiben a daganat laphámráknak bizonyul a szövettani vizsgálat során. (28)

A fej-nyaki tumorok kimenetele az utóbbi évtizedekben szignifikánsan javult, ami részben a diagnosztikus képalkotás (MR, PET-CT) és a sugárkezelés tervezésének (intenzitás modulált radioterápia) technikai fejlődésének köszönhető. (5) Azonban a túlélés javulása a különféle lokalizációkban eltérést mutat. A szájüregi, száj- és algarati rákok öt éves túlélése javult a legtöbb európai országban, míg a gégerákos betegeknél ez a tendencia nem figyelhető meg. Európában az öt éves túlélés 45% volt a szájüregi, 39% a szájgarati, 25% az algarati és 59% a gégeből kiinduló daganatok esetén az 1999-2007 közötti adatok elemzése szerint. (29) A fejlődő országokban ezen betegek túlélése továbbra is alacsonyabb, mint a fejlett országokban. (30) A fej-nyak daganatos betegeknél emellett nagy az esélye a recidívának és a második primer tumornak, különösképpen a fej-nyak, tüdő és nyelőcső területén. A második primer tumoros betegek túlélése rosszabb, bár a fej-nyaki területen kialakuló második primer tumor mellett alacsonyabb halálozás tapasztalható az ezen kívüli területen kialakult szekunder primer tumorokhoz képest. (31)

## 1.2 Neutrofil sejtek

A metamielocita a polimorfonukleáris leukociták prekursora, amiket szokásosan granulocitáknak (eozinofil, bazofil és neutrofil) hívunk. A neutrofil granulociták (vagy neutrofilok) a veleszületett immunrendszerhez tartozó sejtek. Életciklusuk egy csontvelői fázissal kezdődik, amit egy keringő fázis követ, majd egy szöveti fázissal ér véget. A csontvelőben a neutrofilok önmegújító képességgel bíró mieloid őssejtekből származnak; a mieloblaszt promieloblaszttá, majd mielocitává differenciálódik. Ezek a sejtek metamielocitákká és szegmentált neutrofilokká differenciálódnak, amelyek a stresszválasz során megjelennek a keringésben. A csontvelőben a neutrofil sejtek érése és differenciálódása hozzávetőlegesen 14 napot vesz igénybe. Az egy nap alatt termelt neutrofil sejtszám  $10^8$ - $10^{10}$  közé tehető. (32) Ezt különböző hemopoietikus növekedési faktorok irányítják, legfőképpen a granulocita kolónia-stimuláló faktor (G-CSF) és a granulocita-makrofág kolónia-stimuláló faktor (GM-CSF). (33)

A csontvelőből a neutrofilok a keringésbe kerülnek, ahol 6-9 órás féléletidővel bírnak. A keringő fehérvérsejtek több, mint 50%-a, és a keringő fagociták több, mint 90%-a neutrofilokból áll, amik reverzibilis módon kiléphetnek a véráramból. Ezen marginálódott neutrofilok bizonyos szövetek kapillárisaiban tárolódnak, legfőképpen a kapillárisokban igen gazdag tüdőben. Ezeknek a sejteknek száma sokkal nagyobb, mint a szabadon keringő sejtéké. (34) A marginálódott neutrofil raktár lehetővé teszi a fertőzésre vagy egyéb stresszre adott válasz során a sejtek gyors mobilizálását. A gyors sejtciklus ellenére a humán neutrofilszám aránylag stabil, átlagosan 3000-4000 neutrofil/mm<sup>3</sup>. (35)

A neutrofilok migrációja az intravaszkuláris térből az extravaszkuláris miliőbe (transzmigráció) a nagyvérkörben elsősorban a posztkapilláris venulákban történik, a kisvérkörben pedig a kapillárisokban. (36) A neutrofilok véráramból való kiáramlását mechanikai, kémiai és molekuláris folyamatok kombinációja közvetíti. Az első lépés a 'margináció', amely során a neutrofil a centrális áramból az ér perifériájára kerül. A posztkapilláris venulákban, ahol az ér átmérője 50%-kal nagyobb a fehérvérsejtékénél, a vörösvérsejtek gyorsabban mozognak a nagyobb leukocitáknál, és utóbbiakat az ér perifériájára tolják. (37) A vörösvérsejt-fehérvérsejt interakció során fellépő fizikai erők szabályozzák a leukociták ezen sugárirányú mozgását. A margináció teszi lehetővé a neutrofil és endotél sejtfelszín közötti molekuláris kapcsolat létrejöttét, aminek az eredménye a neutrofilok 'rolling'-ja (gördülése) az érfalon. A rolling fizikai és molekuláris faktoroktól is függ. A neutrofilok endotélhez történő adhéziójának mértéke fordítottan arányos az érben uralkodó

nyíróerőkkel (azaz a gyorsabban áramló vér csökkenti a neutrofilok adhéziós képességét). (38) A rolling sebessége egyenesen arányos a vörösvérsejtek intraluminális sebességével. Az endotélsejt mellé érve egy gyenge adhézió jön létre a sejtek között, és az elhaladó vörösvérsejtek által kifejtett nyíróerő hatására a neutrofil elkezd sodródni az ér endotéliumán. A következő lépés az adherencia, ami egy magas affinitású kapcsolat a neutrofilok és az endotélsejtek között. Ezt az interakciót javarészt az adhéziós molekulák egy külön csoportja, az integrinek és ligandjaik közvetítik. Az adherencia után a neutrofilnak át kell haladnia az endotél rétegen és a bazálmembránon, hogy belépjen az extravaszkuláris gyulladáshoz vezető térbe. Ez a folyamat a diapedézis, amelyhez endoteliális adhéziós molekulák szükségesek. (35) Ezen felül kemoattraktánsok, és az általuk létrehozott koncentrációs grádiens is szükségesek a transzmigráció folyamatához. A kemoattraktánsok szolubilis molekulák, amik a sejtek mozgásának az irányát határozzák meg; a sejtek az emelkedő kemoattraktáns koncentráció felé vándorolnak a kemotaxis során. A kemoattraktánsok a gyulladáshoz vezető környezetben több forrásból származnak. Ilyen források a bakteriális melléktermékek és sejtfal alkotóelemek, komplement faktorok és bizonyos sejtek által termelt kemokinek. A neutrofilok mellett monociták, simaizomsejtek, epiteliális sejtek, endotél sejtek és fibroblasztok is képesek egy hatóanyag kemoattraktáns, interleukin-8-at (IL-8) termelni, olyan proinflammatorikus agonisták hatására, mint az interleukin-1 (IL-1) és a tumor nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). (39)

### 1.2.1 A neutrofil sejtek funkciói

A neutrofil sejtek jól ismert funkciója a káros mikroorganizmusok elpusztítása. Ezt többféle módon teszik: (1) fagocitózissal, amely során a baktériumokat, gombákat és protozoonokat bekebelezik és megemésztik; (2) citotoxikus enzimek, proteázok és oxidánsok degranulációjával az extracelluláris térbe; és (3) neutrofil extracelluláris csapdák (neutrophil extracellular trap - NET) képzésével, ami a mikroorganizmusokat csapdába ejtő, az extracelluláris mátrixba juttatott citotoxikus enzimekkel és proteázokkal kapcsolódó kromatin szerkezet. (40)

A neutrofilok a legfontosabb falósejtek a gyulladás helyszínén; feladatuk, hogy elpusztítsák és bekebelezzék a patogéneket mind a keringésben, mind a véráramból kilépve, ami a nem specifikus immunitás fő komponense. A fagocitózis után közvetlenül jön létre a fagoszómából a fagolizoszóma, a citoszólikus és fagocitotikus vakuólumok egyesülésével. Végül a neutrofil sejt oxidáns ágensek és enzimek szinergista kombinációjának segítségével pusztítja el a bekebelezett mikroorganizmusokat. (41) Emellett a neutrofilokat aktiválhatják

szolubilis stimulusok is, amit a neutrofil membránban lévő citokin és kemokin receptorok, immunglobulin receptorok és adhéziós molekulák közvetítenek. A bekebelezés általi stimulussal szemben, a szolubilis stimulus a neutrofilek citotoxikus komponenseinek extracelluláris térbe történő kiürítését fogja eredményezni. (35) A kibocsátott citotoxikus és proteolitikus enzimek, citokinek és szuperoxidok a NET-ekbe kerülve, vagy a neutrofilok felszínére visszakötte számos hatással bírnak, beleértve a baktericid aktivitást, az extracelluláris mátrix fehérjéinek lebontását, a neutrofil transzmigráció serkentését és a vaszkuláris integritás szabályozását. (42)

Az infekciók elleni küzdelemben és akut gyulladásban betöltött funkciójuk mellett, a neutrofilok szövetsérüléseket és repair-t moduláló hatása egyelőre nem teljesen tisztázott. Toxikus mediátorok felszabadításával például szövetsérülést tudnak okozni, ami tovább fokozza a neutrofil aktivitást. (43) A mátrix metalloproteázok (MMP), különösképpen a MMP-9 egyik jelentős forrása a neutrofil sejtek, amik képesek az extracelluláris mátrix alkotóelemeit, az elasztánt és a kollagént, valamint immunreceptorokat lebontani. (44) Az extracelluláris mátrix kisebb fragmentumokra történő hasítása stimulálja az immunrendszert, ami pozitív visszacsatolással tovább fokozza a szövetek bontását és az immunsejtes beszűrődést. Az alapvető feltevés az, hogy a neutrofil sejtek által okozott szövetkárosodás egy krónikus gyulladást tart fent, ami megakadályozza a sérülés gyógyulását. (45) Másrészt viszont a neutrofilok központi szerepet játszanak a sebgyógyulásban. Neutrofilok hiányában nem figyelhető meg a megfelelő kollagén lerakódás, és a revaszkularizáció is késve indul meg. (45)

A neutrofilok az adaptív immunrendszert is befolyásolják, a B és T sejtek szabályozásával. Jelentős mértékben termelnek B sejt aktiváló faktort (BAFF) és proliferáció serkentő ligandot (APRIL), amelyek szükségesek a B sejtek túléléséhez és aktivációjához. (46) A T sejteket többféle módon szabályozzák. Immunszuppresszorként gátolják a T sejtek proliferációját és aktivációját, az azurofil granulumaikban jelentős mennyiségben található argináz 1, illetve szabad gyökök termelése által. (47) Másrészt a neutrofilok antigén prezentáló sejtekként is működhetnek. Interferon- $\gamma$  hatására egyéb kostimulációs molekulák mellett II-es típusú major hisztokompatibilitási komplexet termelnek. (48) Ennek eredményeképpen elősegítik a T<sub>H</sub>1 és T<sub>H</sub>17 differenciációt. A neutrofilok arra is képesek, hogy az antigéneket a nyirokcsomókba szállítsák és ott közvetlenül prezentálják azokat a T sejteknek, vagy eljuttassák az antigéneket a dendritikus sejtekhez. (49)

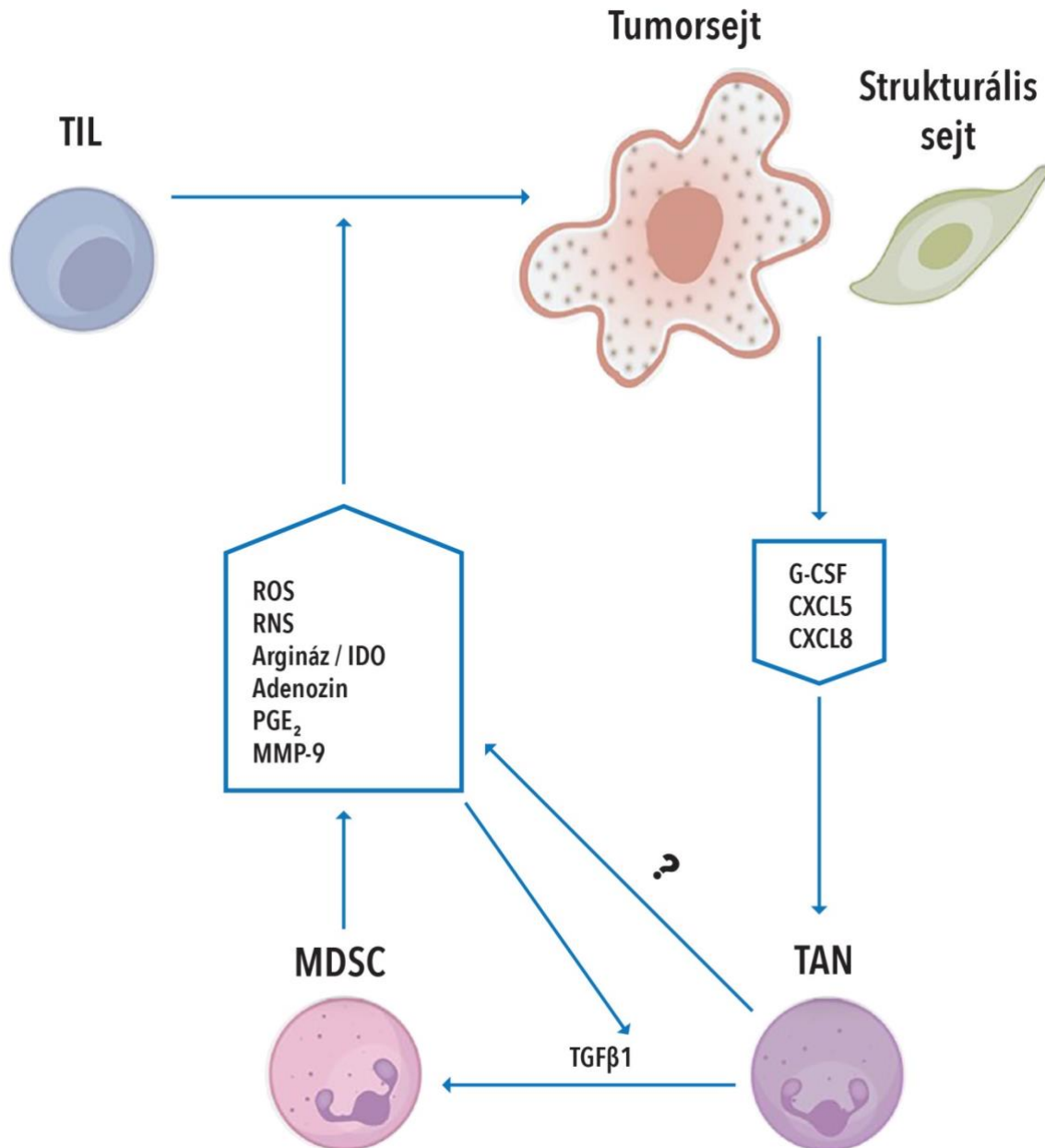
## 1.2.2 A neutrofil sejtek és a daganatok

Jól ismert jelenség, hogy a laphámrákok több típusa hajlamos akár fertőzéses, vagy más eredetű krónikus gyulladás talaján kifejlődni. (50) Ennek hátterében olyan sejtes és molekuláris folyamatok állnak, amelyek másodlagosan károsítják a környező szöveteket a hiperakut vagy krónikus gyulladással járó reakciók során. Ezen sejtes mechanizmusokban vesznek részt a természetes immunrendszer falósejtjei, legfőképpen a bőségesen rendelkezésre álló, igen mobilis, reaktív és destruktív neutrofilok. Ezek a sejtek, a monocita sejtekkel és makrofágokkal együtt, jelentős mennyiségű toxikus, reaktív oxigén gyököt termelnek, amik mellett, hogy mutagének, az oxidatív stressz által károsított DNS repair celluláris folyamatát gátolják, ezáltal karcinogén hatással bírnak. (51)

Arra is fény derült, hogy a neutrofilok nem csak a karcinogenezis beindítására képesek, hanem toxikus molekuláik révén a tumorsejtek proliferációját és terjedését is elősegítik. Emellett számos tumortípus neutrofilokat toborzó és azok fenotípusát befolyásoló kemokin és citokin termelésével arra használja ezeket a sejteket, hogy gátolják a gazdaszervezet tumorelles védekezését a daganat mikro környezetében. (51)

Többféle tumorsejt, illetve a daganat mikro környezetében található struktúrális sejt (pl. a fibroblasztok és mezenhimális őssejt) termel kemokineket, (52) amik odavonzzák a neutrofilokat, legfőképpen a mieloid eredetű szupresszor sejt (myeloid-derived suppressor cell - MDSC) fenotípussal bíró sejteket. Ilyen kemokint, illetve kemokin receptort expresszáló tumorok az emlő, kolorektum, húgyhólyag, máj, hasnyálmirigy, pajzsmirigy, nyelőcső, gyomor, méhnyak, petefészek, nyirokrendszer, vese és a fej-nyaki régió laphámsejtes daganatai. A daganatsejtek és a tumor mikro környezetében lévő struktúrális sejtek által termelt, neutrofil sejteket toborzó és aktiváló kemokinek közül a legjellegzetesebb a CXCL5 (azaz epiteliális neutrofil-aktiváló peptid-78, ENA-78) és CXCL 8 (IL-8). A CXCL5 a CXCR2 kemokin receptorttal lép kölcsönhatásba, amit a neutrofilok és számos tumorsejt is kifejez. Ez elindítja a MDSC fenotípusú neutrofilok helyszínre áramlását. Az IL-8 pedig szelektíven kapcsolódik a CXCR1 receptorhoz. Ezek a tumorhoz asszociált neutrofilok képesek gátolni az antitumorális aktivitással bíró CD4<sup>+</sup> Th1 és a citotoxikus CD8<sup>+</sup> fenotípusú tumort infiltráló limfocitákat (TILs), és részt vesznek az angiogenezis és az áttétképzés folyamatában is. (51) (3. ábra) Az MDSC-k hepatocita növekedési faktort és onkostatin M-et termelnek, amik serkentik a metasztatizálást azáltal, hogy elősegítik az invazív fenotípus kialakulását és a tumorsejtek leválását. (53) További MDSC eredetű citokinek és proteázok a vaszkuláris

endoteliális növekedési faktor (VEGF), az MMP-9 és az elasztáz, amik szintén hozzájárulnak az áttétképzéshez. (54)



(3. ábra) A tumorsejtek és strukturális sejtek citokinek (G-CSF) és kemokinek (CXCL5/CXCL8) termelésével elősegítik a neutrofilok migrációját a tumor mikro környezetébe, ahol tumor-asszociált neutrofiloknak nevezzük őket (TAN). A tumor mikro környezetében a TAN-ok mieloid-eredetű szuppresszor sejté (MDSC) alakulnak a proteolitikusan (MMP-9) aktivált transzformáló növekedési faktor béta1 (TGFβ1) hatására, amelyek immunszuppresszív mediátorokat szabadítanak fel (reaktív oxigén gyökök - ROS, reaktív nitrogén gyökök - RNS,



*argináz, indoleamin-2,3-dioxigenáz - IDO, adenzin, prosztaglandin-E2 - PGE2, MMP-9). Ezen mediátorok célpontjai a tumort infiltráló limfociták (TILs), amelyek tumorelles reaktivitását gátolják. (51)*

Az áttétképzéshez a tumorsejteknek létre kell hozniuk egy pre-metasztatikus környezetet a távoli szervekben. (55) Ilyen milió létrejöttét segíti elő a tumor eredetű G-CSF, ami mobilizálja az éretlen neutrofilokat a csontvelőből. (56) Ezek az újonnan felszabadult neutrofilok a tumorsejtek megjelenése előtt megérkeznek az áttét helyszínére, ahol a gyulladás elősegítésével, a tumorsejt invázió és proliferáció serkentésével, az extracelluláris mátrix átépítésével és a tumorelles immunválasz gátlásával támogatják az áttétképződést. (51)

Az előző alfejezetben említett NET-ek nem csupán fertőzések során jönnek létre, hanem daganatos betegségekben is, ami szignifikánsan hozzájárul a kórkép előrehaladásához. (57) A tumor mikrokönyezete igen kedvező a NET-ek kialakulásához, így intratumorális NET-ek jelennek meg, amik elősegítik a daganat növekedését. (58) Az intravaszkuláris NET-ek is hozzájárulnak az áttétképzéshez oly módon, hogy felveszik a keringő tumorsejteket, és azokat a távoli szervekhez szállítják. (59) A keringő tumorsejtek és a NET-ek közötti adhéziót a  $\beta$ 1-integrinek közvetítik, amiket a daganatsejtek és a NET-ek is kifejeznek. (60) Mindemellert az intravaszkuláris NET-ekkel asszociált MMP-9 és más neutrofil proteázok fokozzák az ér átteresztő-képességét és az extracelluláris mátrix lebontását, amivel elősegítik a tumorsejtek extravazációját és az áttétképzést. (61) Ezeken felül a NET-ek a tumor invazivitását és proliferációját is serkentik (58), míg az intratumorális NET-ek a gazdaszervezet tumorelles védekezését korlátozzák azáltal, hogy megakadályozzák a tumort infiltráló limfocitákat abban, hogy a tumorsejtekhez jussanak. (61)

### **1.3 Limfocita sejtek**

A limfocita sejtek (vagy limfociták) relatíve nagy sejtmagvú, 8-12  $\mu$ m átmérőjű sejtek, amelyek az adaptív immunrendszer részei. (62) Felnőttekben hozzávetőlegesen  $10 \times 10^{12}$  a fiziológias limfocitaszám, amelynek nagyjából 1%-a kering a véráramban. (63) A fehérvérsejtek mintegy 20-40%-át teszik ki. A legtöbb limfocita rövid életű, átlagosan egy héttől pár hónapig terjedő életidővel, de bizonyos sejtek évekig életben maradnak. Hosszabb életidejük van az immunológiai memóriáért felelős sejteknek, ami egy gyorsabb, hatékonyabb választ biztosít az ugyanazon antigénnel történő második találkozáskor. (64) A számos alcsoportba tartozó sejtek különböző funkciókkal bírnak. Két fő csoportot különböztetünk meg,

a B és T sejteket. Valamennyi limfocita a csontvelő őssejtjeiből származik, és különböző differenciálódási útvonalak során a nyirokszövetekbe (lépbe, nyirokcsomókba, mandulákba és Peyer plakkokba) kerülnek a magzati élet alatt. A T sejtek a csecsemőmirigyben, míg a B sejtek a csontvelőben differenciálódnak. (62)

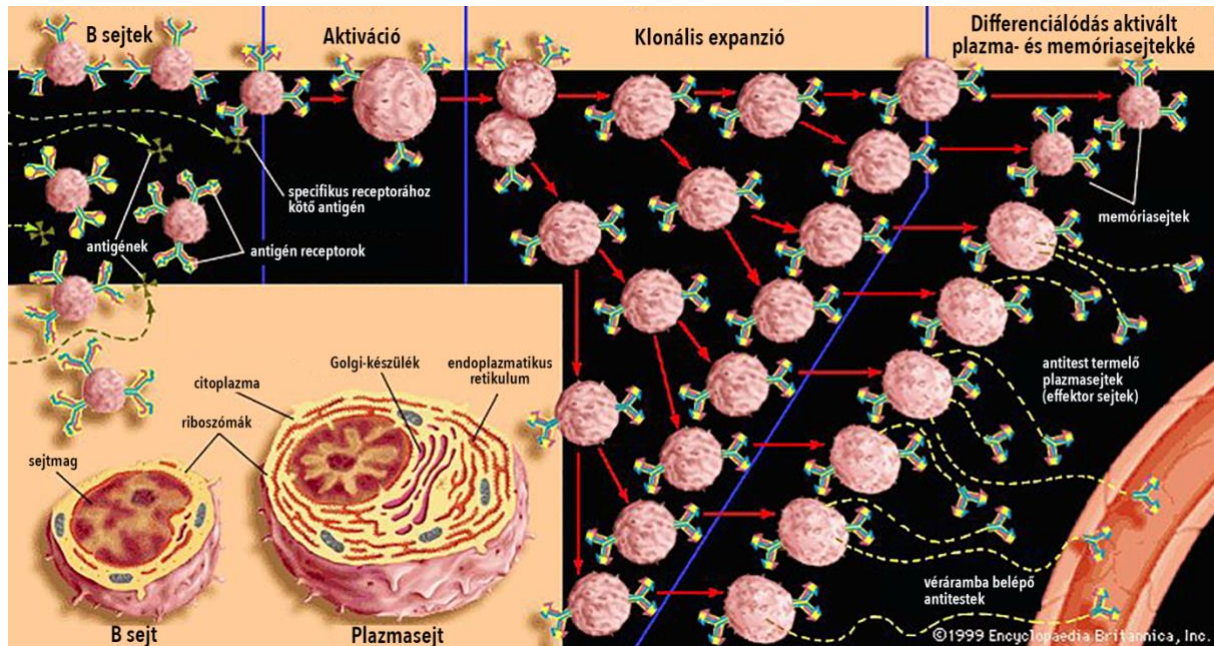
A hemopoietikus őssejtek fejlődését a szöveti mikroenvironmentből származó szignálok irányítják. A differenciálódás és érés során az első fő elágazás a közös mieloid progenitor (KMP) és közös limfoid progenitor (KLP) sejtvonalak szétválása. A vérlemezkék és vörösvérsejtek mellett a KMP sejtekből veleszületett immunsejtek alakulnak ki (masztociták, neutrofil, bazofil, eozinofil és dendritikus sejtek). A KLP sejtekből fejlődnek az adaptív immunrendszer B és T limfocitái, valamint a veleszületett limfoid sejtek közé tartozó természetes ölő (natural killer - NK) sejtek. (65) A fejlődő T és B sejtek szigorú differenciálódási folyamaton mennek keresztül, aminek háttérében az antigén receptor lókuszan történő génátrendeződések állnak. A folyamatot transzkripciós faktorok (TF) irányítják. A B sejt receptorok nehéz és könnyű láncú immunglobulin (Ig) párokból állnak, a T sejt receptorok pedig  $\alpha$  és  $\beta$ , vagy  $\gamma$  és  $\delta$  láncok dimerjei. A receptorok antigén specifikus variábilis doménjeit egy sor különféle gészegmentum kódolja - az úgynevezett variábilis (V), diverz (D) és kapcsolódó (J - joining) szegmentumok - amik véletlenszerűen rekombinálódnak. Mind a B, mind a T sejtekben a génátrendeződést a rekombináció aktiváló gén (RAG1/RAG2) fehérje irányítja. (66) A VDJ-rekombinációs folyamat lehetséges kombinációinak a száma akár  $10^{11}$ , vagy annál több is lehet. (67) A B sejtek esetében szomatikus hipermutációk is kialakulhatnak. Emiatt az emlősök gyakorlatilag bármely antigén ellen képesek B és T sejt receptort képezni. (68)

Fejlődésük, illetve aktivációjuk során az immunsejtekben a különféle környezeti hatások (pl. citokinek, metabolitok, sejt-sejt interakciók) szignál transzdukciós kaszkádokat indítanak el, ami a DNS-hez kötő TF-k expressziójának vagy aktivációjának megváltozását eredményezi. (69) Így irányítják és szabályozzák a TF-k a különféle sejtvonalak kialakulásához, vagy az érett immunsejtek specifikus effektor funkcióihoz szükséges transzkripciós változásokat. (70) Például a csecsemőmirigy epiteliális sejteinek a ligandok membrán-kötő Delta-családjának a progenitorok NOTCH receptoraival kapcsolódik. Ez a receptor specifikus proteolitikus hasítását eredményezi, amely során az intracelluláris domén felszabadul és a sejtben halmozódik fel, ahol TF-ként befolyásolja a T sejt génexpresszióját. (71) Az immunsejt funkció külső ingerekkel közvetített szabályozásának másik példája az intracelluláris Janus kinázok (JAK) és a transzkripciós fehérjék szignál transzducere és aktivátora (STATs - signal transducer and activator of transcription proteins) általi jelátvitel. Az aktivált T sejtek IL-2-t termelnek és

nagyobb számban fejeznek ki IL-2 receptort, ami a STAT5 JAK-mediált foszforilációját eredményezi. A foszforilált STAT5 diméreket képezve a sejtmagba kerül, ahol sejtproliferációt irányító génexpressziós programot aktivál. (72) A JAK/STAT jelátviteli utak autoimmun betegségek számos patológiás folyamatában is részt vesznek (73), amely miatt a reumatoid arthritisz, a mielofibromatózis és a policitémia kezelésében már JAK gátlókat is alkalmaznak. (74)

### 1.3.1 A limfocita sejtek funkciói

A limfociták egy főként nyugvó állapotban lévő sejtpopulációt alkotnak, amelyek a megfelelő inger hatására aktiválódnak. (63) Olyan specializált immunsejtekről van szó, amelyeknek fő funkciója a patogénekre vagy gyulladásozó ingerekre való gyors reagálás. Képesek a véráramban és az extracelluláris folyadékban is keringeni, ami igen fontos tényező a fertőzésekkel szembeni védekezés során. Különös jelentőségük abban rejlik, hogy kizárólag ezek a sejtek tudják felismerni, hogy egy antigén patogén/idegen, és nem a gazdaszövet része. (62) Antigének lehetnek a mikroorganizmusokon található molekulák, illetve idegen anyagok, mint például pollen, por vagy transzplantált szövet felszíni molekulái. (63) A limfociták felületi receptoraikkal megkötik és eltávolítják az antigéneket a szervezetből. Minden limfocita egy specifikus antigént kötő receptorral rendelkezik. A képesség, hogy gyakorlatilag bármilyen antigénre tudnak reagálni, abból adódik, hogy a szervezetben mérhetetlenül sokféle limfocita populáció található, amelyek mindegyike más-más antigént tud felismerni. Antigén stimulus hatására megindul a limfociták klonális proliferációja. A klonális B sejtek egy része plazmasejteké differenciálódik, amik antitesteket termelnek. Ezek a fehérjék, az immunglobulinok a prekursor B sejt receptoraihoz hasonlóak, és miután a vér- vagy nyirokáramba kerültek, hozzákötnek a cél antigénjükhöz, és megkezdik annak semlegesítését vagy elpusztítását. Az antitest termelés több napig vagy hónapig folytatódik, amíg az antigént le nem küzdötték. Más B sejtek, a memóriasejtek, szintén megsokszorozódnak a stimulus hatására, de nem differenciálódnak plazmasejteké; ezek biztosítják az immunrendszer hosszú távú memóriáját. (4. ábra) (64) Az antigénnel való első találkozáskor a legtöbb B sejt immunglobulint-M-et (IgM) termel. Bizonyos sejtpopulációk ennek termelését folytatják, mások később G-, A- vagy E-típusú immunglobulin (IgG, IgA, IgE) termelésre váltanak. A memória B sejtek az antigénnel történő ismételt találkozáskor egyből IgG-t vagy IgA-t termelnek. (63)



4. ábra A B sejtek klonális szelekciója. Az antigén megfelelő felszíni receptorhoz történő kötődésével a B sejt aktiválódik, és megindul a klonális osztódás. Bizonyos klonális sejtek plazmasejteké differenciálódnak, amik rövid életű sejtek és az antigén ellen ellenanyagot termelnek. Mások memóriasejteké alakulnak, amik hosszabb életűek, és gyors proliferációjuknak köszönhetően hatékony védelmet nyújtanak a második antigén expozíció során. (64)

A T limfociták az adaptív immunrendszer őrszemei, amelyek az antigén-specifikus jelekre proliferációval és effektor sejtekké történő differenciálódással válaszolnak. Utóbbi sejtek feladata a gazdaszervezetet érő fenyegetés azonosítása és felszámolása. (75) A T sejtek a csecsemőmirigyben osztódnak, és helper, szabályozó, citotoxikus és memória T sejtekké differenciálódnak. Ezután a perifériás szövetekbe kerülnek, vagy a véráramban, illetve a nyirokrendszerben keringenek. A megfelelő antigén általi stimulust követően a helper T sejtek citokineket kezdenek termelni, amik serkentik a B sejtek plazmasejteké történő differenciálódását, ezzel segítve elő az ellenanyag termelést. A szabályozó T sejtek az immunreakciók irányításában vesznek részt. A különféle citokinek által aktivált citotoxikus T sejtek feladata a fertőzött sejtek és a tumorsejtek elpusztítása. (64) A citotoxikus T sejtek vizsgálata során fedeztek fel egy 'természetes módon' citotoxikus limfocita populációt, az NK sejteket. (76) A citotoxikus T sejtekkel ellentétben az NK sejtek ölő funkciójához nem szükséges a korábbi antigén expozíció. (77)

A T sejtek az intracelluláris fertőző ágenseket ismerik fel, míg a B sejtek és antitestjeik az extracelluláris patogénekkal kerülnek interakcióba. Ezt a kétféle, szerzett immunitást nevezzük sejtmediálta, illetve humorális immunválasznak. A B sejtek az ellenanyagaikat a vérbe és más testfolyadékokba ürítik, míg a T sejtek nem képesek megkötni a keringő antigéneket. Ehelyett azokhoz az idegen fehérje fragmentumokhoz kötnek, amiket a sejtek a felszínükön fejeznek ki. Ennek során a bekebelezést vagy fertőzést követően a gazdasejt az idegen anyagot részben megemésztí, és annak egy fragmentuma a sejt felületére kerül, ahol a major hisztokompatibilitási komplex (MHC) fehérjéhez kötődik. A helper T sejtek a makrofágok vagy B sejtek felszínén a II-es osztályú MHC-vel (MHC-II) asszociált antigéneket ismerik fel. A citotoxikus és szabályozó T sejtek általában azokat a célsejteket ismerik fel, amiknek a felszínén I-es osztályú MHC-vel (MHC-I) asszociált antigének találhatóak. A T sejtek felszínén található egy koreceptor is, ami az MHC molekulához köt, és tovább erősíti a T sejt és a célsejt közötti kötődést. A helper T sejtek a CD4 koreceptorral rendelkeznek, ami az MHC II molekulához köt, és a citotoxikus T sejtek felszínén a CD8 koreceptor található, ami az MHC I molekulákat ismeri fel. A T sejt receptor a CD3 molekulával is kapcsolódik, ami szintén szükséges a T sejt aktivációhoz. Ezek a molekulák alakítják át az antigén extracelluláris kötődésének információját intracelluláris jelekké. (63) Az NK sejtek immunmoduláns hatásukat két fő effektor funkció útján fejtik ki. Egyrészt direkt módon képesek olyan sejtek lízisére, amik malignusan transzformálódtak, vagy intracelluláris patogénnel fertőződtek meg. (78) Másrészt gyulladásoos és immunszuppresszív citokineket termelnek. Bár az NK sejtek a gyulladásoos környezettől függően igen sokféle citokin termelésére képesek, a tumor ligandokra és intracelluláris kórokozókra adott válaszként elsősorban Th1 típusú citokineket termelnek. (79) Ilyenek az interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), tumor nekrozis faktor és GM-CSF, amik fokozzák a T sejtek, és más veleszületett immunsejtek (dendritikus sejtek, makrofágok, neutrofilok) aktivációját. (80) Az NK sejtek kemokineket is termelnek, mint pl. CCL3-at, CCL-4-et, CCL-5-öt, limfotoxint és IL-8-at, amik effektor limfocitákat és mieloid sejteket vonzanak a gyulladt szövetekhez. (81)

A pozitív és negatív szignálok egyensúlya kulcsfontosságú szerepet játszik abban, hogy az adaptív immunválasz hatékonyan megvédje a gazdaszervezetet, de fennmaradjon az immuntolerancia és ne alakuljon ki autoimmunitás. Ennek érdekében az immunválasz gátlása számos ellenőrző ponton történhet meg. A programozott sejthalál-1 fehérje (programmed cell death-1, PD-1) egy I-es típusú transzmembrán fehérje, és az aktivált B és T sejtek felszínén fejeződik ki transzkripciós faktorok hatására. (82) Ez a receptor az immunválasz gátlásában játszik szerepet, és hiánya a perifériás tolerancia károsodását okozza, ami autoimmun kórképek

kialakulásához vezethet. (83) A citotoxikus T-limfocita asszociált antigén-4 (CTLA-4) gátolja a T sejteket oly módon, hogy a CD28 kostimulációs molekula ligandjait képes megkötni, így versengés alakul ki ezen közös ligandokért. (84)

### 1.3.2 A limfocita sejtek és a daganatok

A rosszindulatú daganatos betegségek olyan immunológiai kórképeknek is tekinthetőek, amely során úgy fejlődik ki a daganat, hogy az immunrendszer a malignus sejteket nem ismeri fel. (85) Három lépésben történik a karcinogenezis: (1) a korai transzformált sejtek hatástalan eltávolítása; (2) a tumorsejtek és immunsejtek között egyensúlyi állapot kialakulása; (3) a tumorsejt megmenekülése az immunválasztól. (86)

Az immunsejtek által kialakított mikrokörnyezet befolyásolja a karcinogenezist, a tumorok növekedését és áttétképzését. (87) A tumorsejteket mind a veleszületett, mind az adaptív immunrendszer felismerheti. (88) Elsőként a veleszületett immunsejtek (granulociták, makrofágok, NK és dendritikus sejtek) aktiválódnak. Az adaptív válasz, amit a CD8+ és CD4+ T sejtek és az antitest termelő B sejtek közvetítenek, lassabban alakul ki, de hosszú távú memóriát hoz létre, és a tumor antigénekre specifikus limfociták szelekcióját és szaporodását eredményezi. (89) A szövettani vizsgálat során felmért TILs aránya fontos kiegészítő szereppel bír a halálozási kockázat becslésében. (90) Bizonyos szövettani jelek, mint a tumort beszűrő CD8+ citotoxikus limfociták jelenléte, jobb prognózist vetítenek előre. (91)

A CD4+ sejtek tumorelleses hatásukat részben úgy fejtik ki, hogy CD8+ sejteket és NK sejteket aktiválnak. (92) Amellett, hogy elősegítik a tumorelleses immunválaszt, a CD4+ sejtek citotoxikus funkcióval is bírnak. IFN- $\gamma$  és TNF kiválasztásával képesek elpusztítani az MHC-II-t kifejező tumorsejteket, vagy gátolni a növekedésüket. (93)

Az NK sejtek felismerik az autológ sejtek megváltozott MHC-I receptor kifejezését, ezáltal képesek azonosítani a malignus transzformáción átesett sejteket. (94) A malignus transzformáció folyamatával járó genomikus mutációk számos változást hoznak a sejt fenotípusában, amely során megváltozik a felszíni molekulák kifejeződése, így az NK sejteket gátló MHC-I molekuláé is. (95) A tumorsejtek stressz indukálta molekulákat is kifejeznek a felszínükön, amiket felismernek bizonyos NK receptorok, mint az NKG2D. (96) Ez megmagyarázza azt, hogy az NK sejtek miért nem pusztítanak el olyan normális sejteket, mint pl. a vörösvérsejtek, amik nem fejeznek ki MHC-I-et a felszínükön, de megtartják citotoxikus aktivitásukat az MHC-I-et kifejező tumorokkal szemben. (97)

A villafej (forkhead box) P3 (FOXP3) transzkripciós faktort kifejező szabályozó T sejtek képesek gátolni a gazdaszervezet immunválaszát a tumorellenes citotoxikus T sejtek szuppresszálsával. (98) Utóbbi sejtek természetes módon a csecsemőmirigyben fejlődnek, illetve nem gyulladáshoz antigén vagy TGF $\beta$  hatására keletkeznek a periférián. (99) A FOXP3+ T sejtek gátolják a makrofágok és tumor specifikus CD8+ T sejtek infiltrációját és ölfunkcióját, valamint korlátozzák az NK sejtek effektor funkcióját. (100)

A PD-1 és programozott sejthalál ligand-1 (PD-L1) fokozott kifejeződése akár a tumorsejteken, akár a tumort infiltráló limfocitákon, összefüggést mutat a rövidebb túléléssel. (89) A PD-1 immunrendszert gátló hatása által a daganatsejtek elkerülhetik a tumorellenes immunválaszt. (101)

A már említett JAK/STAT jelátviteli utak elengedhetetlenek az immunválasz működéséhez. Mind az I-es (pl. IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ), mind a II-es csoportba tartozó interferonok (pl. IFN- $\gamma$ ) képesek aktiválni a JAK/STAT jelátviteli utakat és fontos szerepet játszanak a gazdaszervezet tumorellenes védekezésében. (102) A JAK/STAT jelátvitel normál fiziológiás körülmények között gyorsan lecseng. (103) Gyulladásos és rosszindulatú betegségekben gyakran fordul elő JAK mutáció és aberráns vagy krónikus JAK/STAT jelátvitel. (104) A tartósan aktív JAK/STAT jelátvitel gyakran vezet krónikus gyulladáshoz, aminek talaján malignus betegség fejlődhet ki. (105)

## 1.4 Vérlemezkék

A vérlemezkék 2-3  $\mu$ m átmérőjű, maggal nem rendelkező sejtek, normál számuk 500 milliárd feletti a véráramban. A mieloid sejtvonalhoz tartozó, többmagvú megakariocitákból szabadulnak fel a csontvelőben. A csontvelő extracelluláris mátrixának különféle komponensei aktívan szabályozzák a megakariopoiezist. (106) A IV-es típusú kollagén tartja fenn a vérlemezke termelést, az I-es típusú kollagén pedig az egyik fontos negatív szabályozója a vérlemezke képzésnek. Mindezek mellett a foszfatidil-inozitol 3-kináz/protein kináz B és a mitogén aktivált protein kináz/extracelluláris-szignál-regulált kináz (MAPK/ERK) jelátviteli utak direkt módon vesznek részt a vérlemezke termelésben. (107)

### 1.4.1 A vérlemezkék funkciói

A vérlemezkék elsődleges funkciója az érsérüléskor fellépő vérzés megszüntetése, a hemosztázis fenntartása, ami a vérlemezkék aggregációjával és adhéziójával valósul meg. Az

adhéziót a  $\beta 1$  és  $\beta 3$  integrin családba tartozó heterodimer receptorok közvetítik, amelyek aktiváció során reverzibilis módon magas affinitású állapotba kerülnek és így hatékonyan kötődnek ligandjaikhoz, legfőképpen az extracelluláris mátrix komponenseihez és más receptorokhoz. (108) A keringő vérlemezkék az érsérüléshez történő adhéziót követően aktiválódnak, tároló granulumaikból vérlemezke agonistákat, prokoaguláns és proinflammatorikus faktorokat szekretálnak, mikropartikulumokat szabadítanak fel és integrineket (pl.  $\alpha IIb\beta 3$ -at) aktiválnak, amik serkentik a vérlemezke aggregációt és a trombusképzést. Az aktivált vérlemezke felszín a foszfatidil-szerin és más jelátviteli utakon keresztül indítja el trombin képzést. A trombin egy hatásos vérlemezke agonista, ami az 1-es és 4-es proteáz-aktivált receptorokon keresztül serkenti a fibrin képződést és a koagulációt. Kulcsfontosságú vérlemezke specifikus receptorok a glikoprotein (GP)  $Ib\alpha$  és a GPVI, amelyek szerepe kritikus a vérlemezke adhézióban és aktivációban, különösen a véráramban uralkodó erős nyíróerők miatt. (109)

A vérlemezkék a hemosztázis fenntartása mellett számos más feladatot is ellátnak, pl. részt vesznek a mikrobák elleni védekezésben, a gyulladási folyamatokban és az immunválaszban, és még a szervek kifejlődésében és regenerációjában is van szerepük. (110) A gyulladás során a vérlemezkék a neutrofil sejtekkel a  $GPIb\alpha/\alpha M\beta 2$  és P-szelektin/P-szelektin glikoprotein ligand-1 közvetítésével kapcsolódnak, és a GPVI,  $\alpha IIb\beta 3$  és C-típusú lektin-szerű receptor-2 segítségével szabályozzák az angiogenezist és a vaszkuláris integritást. (111) A vérlemezkék baktériumokkal és más patogénekkel is interakcióba lépnek a  $GPIb\alpha$ , GPVI,  $\alpha IIb\beta 3$  receptorok segítségével és egyéb mechanizmusok által. (112)

A vérlemezkék a hemosztázisban, immunválaszban és gyulladási folyamatokban betöltött funkcióik révén arra is képesek, hogy elősegítsék a rosszindulatú daganatok növekedését és az áttétképzést. Az angiogenezis serkentésével hozzájárulnak a tumor erezettségének kialakításához. (113) A vérlemezkék képesek tumorsejtekkel, és a távoli áttét helyszínén található sejtekkel is adhézió révén kapcsolódni. Ezáltal megvédik a keringő tumorsejteket az immunválasztól, és elősegítik adhéziójukat a metasztázis helyszínén. Már több, mint száz éve leírták a szolid tumorok mellett kialakuló trombocitózis jelenségét. (114) Amennyiben nem igazolódik vashiányos vagy gyulladási állapot, úgy a mellékleletként talált trombocitózis hátterében 40%-ban okkult malignus tumor igazolható. (115) Emiatt az emelkedett vérlemezkeszám kiemelt klinikai jelentőséggel bír, és patomechanizmusának megértése kulcsfontosságú.



#### 1.4.2 Trombocitózis

400 G/l feletti szérumszámot tekintünk trombocitózisnak.

A trombocitózis lehet elsődleges/klonális/autonóm, mieloproliferatív betegségek (MPD) mellett. Ezek a kórképek az esszenciális trombocitózis (ET), a krónikus mieloid leukémia (CML), a primer mielofibrózis és a policitémia vera. Ezekben az esetekben a vérlemezkeszám általában 1000 G/l feletti. (116)

A CML specifikus citogenetikai rendellenességgel jár, nevezetesen a BCR/ABL gén átrendeződésével (Philadelphia kromoszóma).

A JAK2, egy, a normális vérvérvételhez szükséges tirozin-kináz, és egy proto-onkogén, a trombopoietin receptor (MPL) gének mutációi állnak a másik három betegség (ET, primer mielofibrózis és policitémia vera) háttérében. Az esszenciális trombocitózis és primer mielofibrózis JAK2- és MPL-negatív eseteiben a kalretikulint kódoló gén szomatikus mutációját azonosították. (117)

Az ET lehet familiáris vagy sporadikus. A familiáris esetekben a trombopoietin (TPO) és egyéb fehérjék aktiváló mutációi a felelősek a TPO-mediált trombocitózisért, a betegség öröklődése autoszómális domináns. (118)

A primer mielofibrózis egy mieloproliferatív rosszindulatú betegség, jellemzői a csontvelő fibrózis, extramedulláris hematopoiesis, leukoeritroblasztózis és citopéniák a perifériás vérben. (119)

A másodlagos trombocitózis reaktív válasz bizonyos állapotokra és kórképekre, úgymint akut bakteriális vagy virális fertőzésre, krónikus gyulladásra, nutricionális (pl. vashiányos) vagy hemolitikus anémiára, vérvesztésre például trauma vagy sebészi beavatkozás következtében, szövetkárosodásra, tengerszint feletti magasságra, autoimmun betegségre, kollagén érrendszeri betegségre, gyógyszerre (pl. kortikoszteroid, antifungális kezelés), sebészi lépellátolításra vagy funkcionális léphiányra, rosszindulatú hematológiai betegségre vagy szolid tumorra. (120) A reaktív trombocitózis definíció szerint a következő: (1) nem áll fenn krónikus mieloproliferatív betegség; (2) igazolható egy, a másodlagos trombocitózissal összefüggő állapot; (3) a kiváltó ok megszűntével a vérlemezkeszám normalizálódik. (121) Rövid távú vérlemezkeszám emelkedés látható akut vérzés, trauma, sebészi beavatkozás vagy megerőltető fizikai aktivitás után. A trombocitózis tartósan fennállhat malignitás, vashiány, krónikus gyulladás vagy fertőzés mellett. (122)

A másodlagos trombocitózis nagyobb mennyiségű akut vérlemezke-vesztés utáni rebound hatásként is megjelenhet, mint például lépellátolítás vagy immunmediált trombocitopénia

esetén. Léveltávolítást követően a reaktív trombocitózis incidenciája 75-82%, és a beavatkozás után hetekig fennállhat. (123) Felléphet reaktív trombocitózis koszorúér bypass és nagyobb megterhelést jelentő hasüregi műtétek után is. (124, 125) A posztoperatív trombocitózis legfőképpen a fokozott vérlemezke képződés eredménye, de emellett a vérlemezkek lépből keringésbe történő redisztribúciója is fontos szerepet játszik. (126) A heveny vérlemezke vesztés mellett, a vörösvérsejt vesztés vagy destrukció utáni anémia regenerációja során is kialakulhat másodlagos trombocitózis. Ezt a kereszt-reaktivitást az eritropoietin és a TPO aminosav szekvenciái közti homológiának tulajdonítják, bár az összefüggés még nem teljes egészében tisztázott. (127)

A gyulladással járó betegségek különböző mechanizmusokkal eredményeznek trombocitózist. Az akut fázis válaszban részt vevő egyik citokin, az interleukin-6 (IL-6), a TPO termelődését serkenti. A TPO egy máj és vese által termelt glikoprotein hormon, amit megakariocita növekedési és fejlődési faktornak is neveznek a csontvelőre gyakorolt, megakariocita proliferációt és vérlemezke termelődést stimuláló hatása miatt. (128)

A különböző fertőzések talaján kialakuló trombocitózis igen gyakori, és leginkább légúti infekciókhoz társul. (129) Ez különösen igaz a gyermekkorban észlelt trombocitózis eseteiben. Wolach és mtsai a gyermekkori tüdőgyulladások és empiémák 92,5%-ában figyeltek meg emelkedett vérlemezkeszámot. (130) Aktív pulmonális tuberkulózis mellett is gyakori a reaktív trombocitózis, és mértéke szignifikánsan korrelál a gyulladás súlyosságával. (131)

Extrém magas (1000 G/l feletti) vérlemezkeszámmal járhatnak bizonyos reumatoid és kollagén vaszkuláris betegségek, mint a reumatoid arthritis. (132) Emellett krónikus gyulladással járó betegségek mellett is kialakulhat trombocitózis. (122)

A reaktív trombocitózist általában emelkedett C-reaktív protein (CRP) szint és gyorsult vörösvérsejt süllyedés kíséri, a vérlemezkek mérete jellemzően kicsi és az átlagos vérlemezke térfogat normális. (133) Az emelkedett fibrinogén-, esetleg IL-6-szint is hasznos információ lehet a diagnózis során. Csontvelő aspiráció általában nem szükséges a diagnózishoz; amennyiben mégis elvégzik a diagnózis pontosítása céljából, akkor a vizsgálat megakariocita hiperpláziát igazol normális, érett, balra tolt megakariocita morfológiával. A megakariociták normál intersticiális eloszlást mutatnak csoportba rendeződés nélkül, és a retikulin szint nem emelkedett. (134)

A trombocitózis emeli a vérzéses és trombembóliás szövődmények rizikóját, és bizonyos betegségek prognosztikai faktoraként használatos. A megnövekedett vérlemezke tömeg növeli az erekben uralkodó nyíró erőt, ami a trombociták hiperszenzitivitásához vezet. Ezek a vérlemezkek könnyen aktiválódnak, aggregációjuk mikrotrombusokat vagy a von Willebrand

faktor multimerek felhasználását eredményezi, ezáltal megnő a vérzés vagy a trombózis kockázata. (135) Azonban egyéb rizikófaktorok hiányában a trombotikus szövödmények nem gyakoribbak. A ritkábban előforduló primer trombocitózis mellett viszont mind a vénás, mind az artériás trombózis kialakulásának veszélye szignifikánsan emelkedett, különösen esszenciális trombocitóriában. (129)

Bizonyos laborparaméterek alapján elkülöníthető az elsődleges és másodlagos trombocitózis. Ezek az értékek az IL-6, a CRP, a trombocita megoszlási szélesség, a laktát-dehidrogenáz, a fibrinogén és a süllyedés. (136, 121) Ezek mellett a fehérvérsejtszám, a vérlemezkeszám, a hematokrit és a szérum kálium szint szignifikánsan különbözik primer és szekunder trombocitózisban. (129) A primer trombocitózissal gyakran társul pszeudohiperkalémia. A kálium szérumszintje magasabb a plazmához viszonyítva, mivel a véralvadás során az ion felszabadul az alakos elemekből. A vérplazma kálium koncentrációja és a vérlemezkeszám között az összefüggés szignifikáns. (137) Mindezek mellett az elsődleges és másodlagos trombocitózis elkülönítése gyakran bonyolult differenciáldiagnosztikai probléma. A gyorsult süllyedés és az emelkedett CRP szekunder trombocitózissal utalnak. Ha nem találunk egyértelmű kiváltó okot, akkor egyéb vizsgálatok, például a csontvelő biopszia, vagy a vérlemezkeszám hosszabb távú monitorozása segíthet a diagnózis felállításában. (129)

A vérlemezkegátló kezelés a trombocitózis számos formájában javasolt. Policitémia vera esetén az acetyl-salicilsav kezeléssel megelőzhetőek a trombembóliás szövödmények. A primer trombocitózis többi formájánál és a másodlagos trombocitózis eseteiben a kezelést egyénileg szükséges megszabni a beteg vérzéses és trombembóliás rizikójától függően, a trombocitózist okozó mechanizmus figyelembe vételével. Az esszenciális trombocitória mellett a többi primer trombocitózisok esetén és a krónikus gyulladás, malignitás és tengerszint feletti magasság okozta trombocitózisban is javasolható az alacsony dózisu vérlemezkegátló kezelés. (138)

A trombocitózis bizonyos állapotok nem specifikus markereként használható, például súlyos piogén gyulladások (különösképpen az empiéma, tályogok és lágy szövet gyulladások), gyulladós reumatikus betegségek, anémia és malignitások esetében. (139)

#### 1.4.3 A vérlemezkek és a daganatok

A vérlemezkek és a rosszindulatú folyamatok közötti összefüggésről első alkalommal Leopold Riess és Theodor Billroth írtak a 19-ik században. (114) A malignus tumorok a vérlemezkek számát és funkcióját is befolyásolják. A vérlemezkek rosszindulatú

betegségekben betöltött szerepe három folyamaton alapszik: a vérlemezkék fokozzák az áttétképződést, elősegítik az angiogenezist, és a tumor trombocitózist generál. (140)

A trombocitózis és a rossz túlélés kapcsolatát számos szolid tumornál (kolorektum, gyomor, méhnyak, ovárium, hasnyálmirigy, tüdő, emlő) leírták már. (141) (142) Történtek ilyen irányú vizsgálatok fej-nyaki rákok esetében is. (143, 144) A vérlemezkészám a korai diagnózisban is fontos szerepet játszik. Ez az összefüggés tüdő és kolorektális tumorok esetében bizonyult a legerősebbnek. Ez alapján az emelkedett vérlemezkészám bizonyos szolid tumorok korai markere lehet, ami akár a primer ellátás során, a háziorvosi praxisban is alkalmazható. (145)

Trombocitózisban gyakoribb az áttétképződés, rövidebb a túlélés, de ennek patomechanizmusa jelenleg csak részben ismert. A proinflammatorikus citokinek mellett az aktivált vérlemezkékből növekedési faktorok (VEGF, PDGF, angiopoietin, trombocita eredetű endotheliális sejt növekedési faktor - PD-ECGF, inzulin szerű növekedési faktor - ILGF, FGF) is felszabadulnak, amik fontos szerepet játszhatnak a daganatos betegség patomechanizmusában (146):

1. A VEGF egy erős endotheliális mitogén, ami aktiválja az angiogenezist *in vivo* és fokozza az éráteresztő-képességet. Magasabb VEGF koncentráció mérhető a vérszérumban, mint a plazmában. Ennek oka a vérlemezkék VEGF tartalma, illetve annak a vérlemezkékből való felszabadulása a véralvadás során történő aktivációjuk során. A VEGF a vérlemezke-endothél interakció során a sebgyógyulás mellett az áttétképződésben is szerepet kap, amikor a vérlemezke-tumorsejt kapcsolódáskor a vérlemezkékből felszabadulva fokozza az ér áteresztő képességét, az érújdonképződést és az áttétképződést. (147) A vérlemezkék pro-limfangiogén faktorokat, VEGF-C-t és PDGF-receptor bétát (PDGFRB) is termelnek, amelyek aktivációjuk során szabadulnak fel, és a limfatikus endothél sejtek proliferációját segítik elő, új nyirokerek képződését serkentve. A következményes limfatikus érinvázio pedig nyirokáttek keletkezéséhez vezet. A tumor sztrómájában lévő vérlemezkék elősegítik a tumorsejtek nyirokérrendszerbe történő migrációját is. (148)

A malignus daganatok között a fej-nyaki rákok is nagy mértékben fejeznek ki VEGF-t, és ez összefüggést mutat a betegség prognózisával (149), és fordítottan arányos a tumorsejtek apoptózisával. (150) A VEGF és PD-ECGF egyidejű jelenléte korrelál a tumor erezettségével (microvessel density - MVD). A magas MVD pedig korrelál a nyaki nyirokcsomó metasztázis rizikójával szájüregi rákoknál. (151) Emellett a magas tumor MVD pozitív összefüggést mutat a regionális recidíva rizikójával sebészileg kezelt, klinikailag N0 szájüregi rákok esetében.

(152) Antiangiogenetikus ágensek képesek modulálni a tumor mikrokörnyezetét és fokozni a radio- és kemoszenzitivitást. (149) Az angiogenezis mértéke és a radio- és kemoszenzitivitás nem egyenes arányban áll egymással, hanem azon betegeknél találták a legjobb terápiás választ, akiknek a tumora közepes mértékű erezettséget mutatott, mivel a vaszkularizáció a kemoterápiás szer célba jutását is befolyásolja. (153)

2. A PDGF a tirozin kináz  $\alpha$  és  $\beta$  receptorokon keresztül fejti ki celluláris hatásait, jelátviteli utak aktiválása révén, amik a sejtek proliferációját, migrációját és túlélését segítik elő. (154) Genetikai eltérések következtében a PDGF konstitutív módon aktiválódhat. Ilyen eltéréseket találtak high-grade gliomák, krónikus mielomonocitás leukémia, gasztrointesztinális sztrómális tumor, fibroszarkóma protuberansz és lágyszöveti szarkómák mellett. (155, 156)

3. Az angiopoietin célsejtjei az endotél sejtek, a Tie2 receptor kifejeződése révén. Az angiopoietin-1 (Ang-1) a pericita-endotél interakciók fenntartásáért felelős, míg az angiopoietin-2 (Ang-2) az Ang-1 funkcionális antagonistája, és VEGF hiányában csökkenti a tumorok erezettségét. (157)

4. Az PD-ECGF az endothel sejtek kemotaxisát serkenti, és a timidin foszforiláz aktiválásán keresztül angiogenezist indukál. A PD-ECGF és a sejtproliferáció egy indikátora, a Ki67 index, valamint az MVD és a vaszkuláris invázió között pozitív korrelációt mutattak ki. A szolid tumorok közül malignus gliomákban, pajzsmirigy, emlő, nyelöcső, gyomor, vastagbél, hasnyálmirigy, epehólyag, húgyhólyag, tüdő, méhnyak, endometrium és petefészek tumorokban is kifejeződik. (158)

5. Az IGF sejtproliferációt serkentő növekedési faktor. A tumorsejtek IGF1-receptorain keresztüli jelátviteli utak aktiválásával megakadályozza a DNS károsodását, így szerepet játszik a sejt túlélésében. Az IGF1-receptort kifejező tumorok emiatt ellenállóbbak a kemo- és radioterápiával szemben. (159)

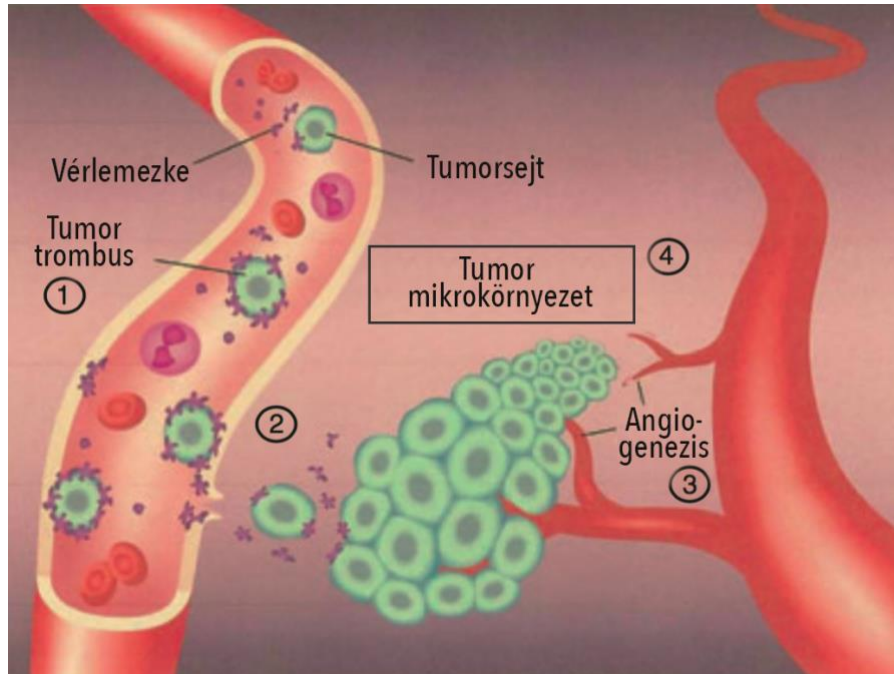
6. Az FGF egy angiogén faktor, ami szerepet játszik a tumor erezettségének kialakításában. Emellett hozzájárul a peritumorális immunszuppresszív mikrokörnyezet fenntartásához. Az FGF hatására képződött erek kevésbé fenesztráltak, ami hatékonyabb anyagcserét, és jobb oxigén- és tápanyagellátást biztosít a daganatoknak, következésképpen a tumor folyamatos növekedésre lesz képes magas növekedési rátával. (160)

Az aktivált vérlemezkékből mikrovezikulumok (MV) is felszabadulnak. A vérlemezke eredetű mikrovezikulumok (PMV) membránját receptorok, adhéziós és jelátvivő molekulák és enzimek, mint például MMP-k alkotják. (161) Az MMP-k proteolitikus enzimek, amelyek

szerepet játszanak a tumor progresszióban, az érújdonképződésben és az áttétképzésben. Oly módon segítik a malignus folyamatot, hogy képesek lebontani az extracelluláris mátrix komponenseit, ami szükséges a tumorsejt invázióhoz. Emellett más, nem a mátrixhoz tartozó elemeket is képesek bontani, pl. citokineket, kemokineket, növekedési faktor receptorokat és adhéziós molekulákat. Az 1-es membrán-típusú MMP (MT1-MMP) egy ilyen, multifunkcionális adhéziós molekula, a CD44 bontására képes, aminek hasítása elősegíti a sejt migrációt. (162) Az MT1-MMP sejt felszíni transzglutaminázt, egy integrin-kötő adhéziós ko-receptort is bont, ami gátolná a migrációt. Tehát az MT1-MMP-k speciális sejt felszíni elhelyezkedésük és szubsztrát profiljuk alapján képesek modulálni a tumorsejtek migrációs és invazív fenotípusát kontrolláló molekuláris folyamatokat. Többféle daganat mellett igazoltak emelkedett MMP szintet, és pozitív korrelációt is kimutattak az MMP szint és a tumor progressziója és metasztatizáló képessége között. (163) A PMV-k ezek mellett elősegítik a tumorsejtek endotélhez és fibrinogénhez történő adhézióját vérlemezke eredetű integrinek, mint pl. a CD41 felszíni expressziója révén. Ezzel fokozódik a sejtek transzendoteliális migrációja a szövetek felé. A tumor progresszió egy másik fontos része a vaszkularizáció. A PMV-k számos tumor vaszkularizációban részt vevő gén expresszióját fokozzák, nevezetesen a VEGF, IL-8 és hepatocita növekedési faktor génekét. (161) A PMV-vel való interakció ezen felül proliferatív válaszokban részt vevő jelátviteli utakat is aktivál, mint a MAPK p42/44 és AKT utak. Ezek során a PMV-k képesek direkt módon kapcsolatba kerülni a célsejtekkel, és jelátvivő molekulaként viselkedni. Mindezek mellett a PMV-k fokozzák a ciklin D2 kifejeződést is. A fokozott ciklin D2 kifejeződés mellett többféle tumor kifejezettebb invazivitását és progresszióját írták le *in vivo*, pl. humán laphám karcinóma sejtekben, a here csírasejtes tumoraiban, emlő és tüdő karcinóma sejtekben. (161, 164)

A vérlemezkek, a tumorsejtek és az endotél sejtek közötti interakciók elősegítik a metasztázis képződést és rontják a betegek prognózisát. A vérlemezkek képesek lehetnek megvédeni a tumorsejteket az immunrendszerrel és hozzájárulhatnak a tumorsejtek extravazációjához. (165) A vérlemezkek receptor mediált adhézió vagy szolubilis faktorok felszabadítása révén interakcióba kerülnek a véráramba bejutó metasztatikus tumorsejtekkel, ami hozzájárul a tumorsejtek elleni immunválasz szuppressziójához, így elősegítik a tumorsejtek haladását a véráramban és növelik túlélésüket. Az NK sejtek hatékony antitumorális aktivitással bírnak a véráramban, ezzel csökkentve a metasztázis képződést. Viszont a tumorsejtek vérlemezke aggregációt indukáló képessége korrelál a fokozott metasztatizáló potenciáljukkal. A vérlemezkek direkt módon védik meg a tumorsejteket az NK

sejtek által végzett lízistől oly módon, hogy a tumorsejtek köré, azok felszínén aggregálódnak. (165) A vérlemezkék a véráramban egy fizikai pajzsot képeznek a tumorsejtek körül, így azokat megvédik a nyíró erőktől is, és elősegítik adhéziójukat az endothel sejtekhez. (166) (5. ábra)

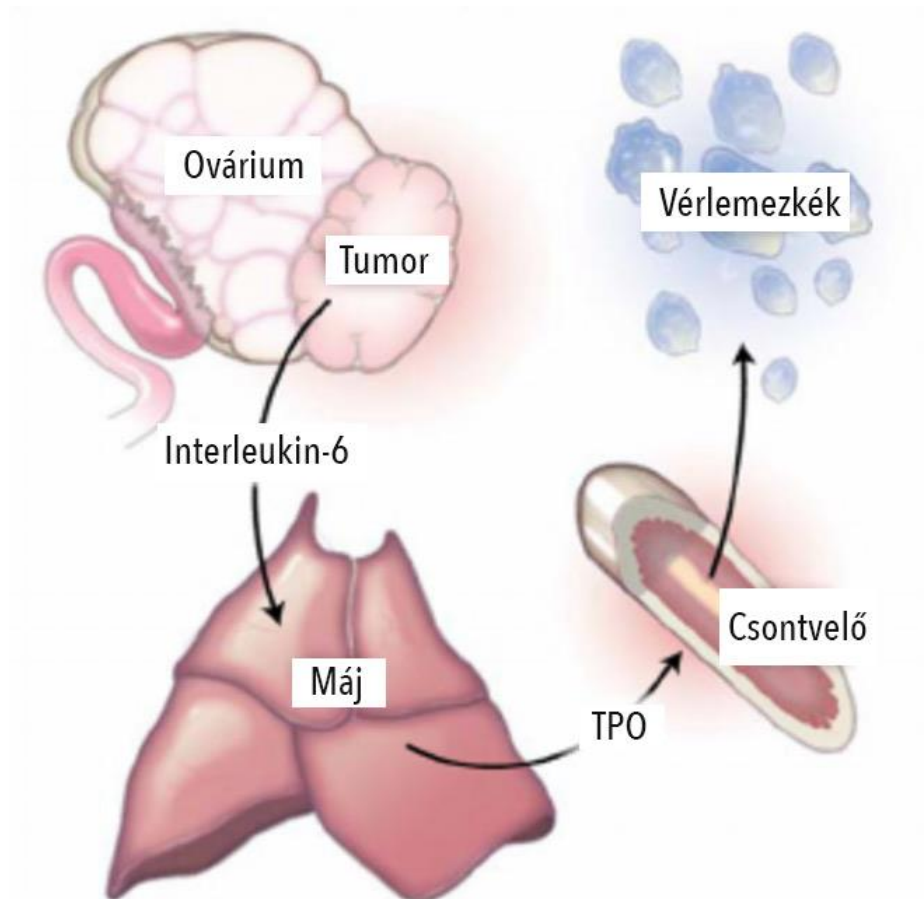


5. ábra A vérlemezkék szerepe a daganatok progressziójában. 1. A tumorsejtek véráramba kerülése után a vérlemezkék a tumorsejtek felszínén aggregálódnak, megvédve őket a nyíró erőktől és az immunrendszertől. 2. A vérlemezkék elősegítik a tumorsejtek endothelhez kötődését és a következményes szöveti inváziót. 3. A vérlemezkék serkentik az endothel-sejt proliferációt és az érújdonképződést, amik nélkülözhetetlenek a tumor növekedéséhez. 4. A tumor mikro környezetében a vérlemezkék, tumorsejtek és sztrómális sejtek közötti interakciók részben a vérlemezkék aktivációjától és az azokból felszabaduló fehérjéktől függő folyamatok, és hozzájárulnak a gyulladásos válaszhoz. Mindemellet a vérlemezke eredetű fehérjék és metabolitok, amik fokozzák a proteolízist és a szöveti átépülést, elősegítik a tumor növekedését és az áttétképzést. (167)

Vannak olyan kísérleti megfigyelések, amelyek szerint a trombocitózist tumor eredetű növekedési faktorok irányítják. A tumorsejtek egy potenciális trombocita aktivátort, trombint termelnek, ami akár direkt kapcsolat révén a vérlemezkékkel, vagy indirekt módon, a koagulációs rendszer szöveti faktor által modulált stimulációja révén történik. (167) Egan és mtsai kimutatták, hogy az ovárium carcinomás betegekben meglévő vérlemezke aktiváció a tumorsejtekből felszabaduló adenzin 5'-difoszfát által mediált, és blokkolható adenzin 5'-

difoszfát receptor (P2Y<sub>12</sub> és P2Y<sub>1</sub>) antagonistákkal. (168) A tumorok általi vérlemezke aktiváció a vérlemezkek granulumaiban tárolt faktorok szekréciójához vezet, ami azután a vérlemezkek gyulladásos, proliferatív és proangiogén aktivitását mediálja, elősegítve a tumor növekedését, a szöveti inváziót és a metasztázálást. (169) Egy 619 ovárium karcinómás beteget vizsgáló tanulmányban szignifikáns összefüggést találtak a betegség előrehaladott volta, az emelkedett vérlemezkeszám és a megrövidült túlélés között. A trombopoietin és IL-6 plazmaszintje szignifikánsan emelkedett volt azon betegeknél, akiknél trombocitózis is fennállt. Tumor eredetű IL-6 és fokozott hepatikus trombopoietin szintézist találtak a paraneoplasztikus trombocitózis patomechanizmusának hátterében. Anti-IL-6 antitest kezelés szignifikánsan csökkentette a vérlemezke számot egerekben és ovárium karcinómás páciensek esetében is. Az IL-6 semlegesítése egér modellben szignifikánsan javította a paclitaxel terápiás hatását. A vérlemezke ellenes antitest használata, a vérlemezkeszám felezése által, egerekben szignifikánsan csökkentette a tumor növekedését és az angiogenezist. (170) Ezen eredmények egy parakrin jelátviteli út létezését támasztják alá, amely során a tumorban és a gazdaszervezetben kialakult fokozott trombopoietikus citokintermelés paraneoplasztikus trombocitózishoz vezet, ami elősegíti a tumor növekedését (6. ábra). Ezek alapján felmerül, hogy a paraneoplasztikus trombocitózis visszaszorítása ezen citokinek direkt vagy indirekt gátlása útján, terápiás konzekvenciával bírhat. (170)





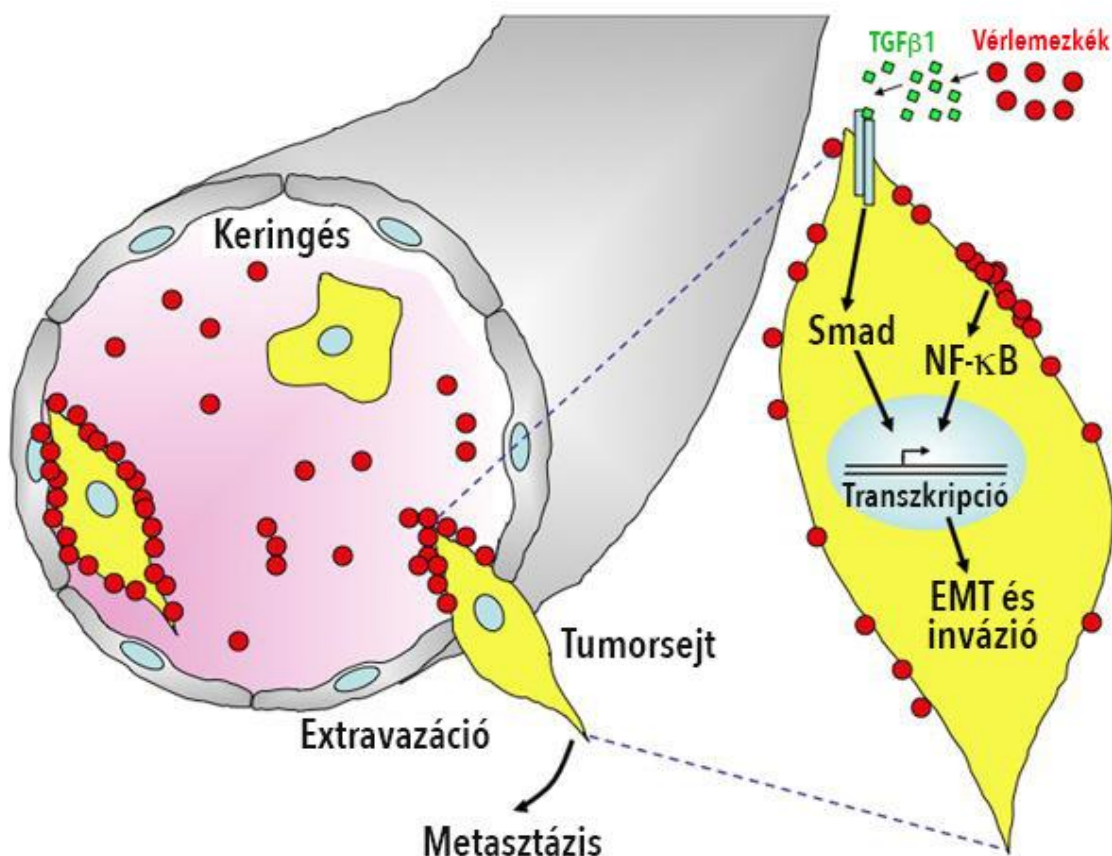
6. ábra Parakrin jelátviteli út által mediált paraneoplasztikus trombocitózis. (170)

A vérlemezkék tumorsejtek általi aktivációja során fokozódik a P-szelektin és a glikoprotein IIb/IIIa kifejeződése. Az ezen molekulák által mediált adhézió a tumorsejtek és a vérlemezkék között pedig elősegíti a tumor progressziót, az áttétképzést és az immunválasz elkerülését. (171) A tumorsejtek túlélését és metasztatizáló képességét *in vitro* és *in vivo* is képesek fokozni a vérlemezkék, a toll-like receptor-4 és a tumorsejtekből származó high-mobility group box1 protein közötti interakció révén, amely által képesek megvédeni a tumorsejteket az immunválasztól, és anoikisz rezisztenciát indukálnak. (171)

A primer tumorokban a sztrómális sejtek közreműködésével növekedési faktorok és citokinek szekretálódnak, amelyek kulcsfontosságúak az epitheliális-mezenchimális átalakulás (epithelial-mesenchymal transition - EMT) folyamatában. Ez egy átmeneti és reverzibilis folyamat, amely elősegíti a tumorsejtek motilitását, az inváziót és a tumor mikro környezetéből történő disszeminációt. A vérlemezkék immunrendszert moduláló, a tumorsejtek adhézióját és védelmét elősegítő szerepe mellett a vérlemezke-tumorsejt interakció képes olyan prometasztikus génexpresszió beindítására, amelynek EMT a következménye. Figyelembe

véve azt, hogy a tumorsejtek a vérlemezkékkel a véráramban találkoznak, arra következtethetünk, hogy a keringő tumorsejtek egy mindinkább mezenhimális fenotípusra tesznek szert azután is, hogy elhagyták a primer tumor mikro környezetét, és ez a fenotípus fokozott metasztatizáló képességgel bír. Ez arra utal, hogy azok a tumorsejtek, amelyek epiteliális jellegük elvesztése nélkül kerültek a véráramba, szintén képesek mezenhimális fenotípusra szert tenni az érrendszerben tartó útjuk során. (172) Mindazonáltal a keringő tumorsejtek epiteliális markereket is kifejeznek, ami arra utal, hogy az EMT nem feltétlenül szükséges a véráramba jutáshoz. Így a vérlemezkékkel való interakció különösen fontos a keringő epiteliális tumorsejtek extravazációjához, és a keringő mezenhimális tumorsejtek extravazációs képességének fenntartásához, illetve további fokozásához. A vérlemezkék áttétképzést elősegítő hatása elsősorban a TGF $\beta$ /Smad jelátviteli út aktiválásán keresztül történik. Mind ezen jelátviteli út gátlása a tumorsejtekben, mind a vérlemezkék TGF $\beta$  expressziójának gátlása elegendő az áttétképzés és az EMT visszaszorításához. A vérlemezkék fontos TGF $\beta$  forrást jelentenek a tumorsejteknek a véráramban és az extravazáció helyszínén. Ezt alátámasztja az a megfigyelés, hogy a vérlemezkékben jelentősen nagyobb koncentrációban található TGF $\beta$ , mint más sejttípusokban. (173)

A tumorsejtek és vérlemezkék közötti direkt kontaktus a TGF $\beta$  jelátviteli út mellett az NF- $\kappa$ B utat is aktiválja. Az NF- $\kappa$ B proinflammatorikus gének expresszióját szabályozza, és fokozott áttétképzéssel és EMT indukcióval hozták összefüggésbe. Például fokozza az oszteolítikus csontáttét képződést a GM-CSF proinflammatorikus citokin termelődésének serkentésével. (174) Emellett az NF- $\kappa$ B aktiváció ahhoz a folyamathoz is hozzájárul, amely során a TGF $\beta$  jelátvitel citosztatikus szignál helyett prometasztatikus jelátvitellé alakul át. Labelle és mtsai azt figyelték meg, hogy az NF- $\kappa$ B aktiváció fokozza a TGF $\beta$  által indukált prometasztatikus génextpressziót, és hogy az NF- $\kappa$ B jelátviteli út szükséges az EMT folyamatának beindításához (7. ábra). (172)



7. ábra EMT elősegítése a vérlemezkék által. A vérlemezkék  $TGF\beta 1$ -et szekretálnak, ami aktiválja a  $TGF\beta$ /Smad jelátviteli utat a tumorsejtekben. Direkt vérlemezke-tumorsejt kontaktus által az  $NF-\kappa B$  út is aktiválódik a tumorsejtekben, és szinergista módon a két út EMT-t indukál, fokozva az invazivitást és áttétképzést. A  $TGF\beta$ /Smad vagy az  $NF-\kappa B$  út egyedüli aktiválása nem elegendő az áttétképzés elősegítéséhez. Tehát a vérlemezke-tumorsejt kapcsolat egy szinergista kölcsönhatást vált ki a  $TGF\beta$ /Smad és az  $NF-\kappa B$  utak között, ami szükséges a hatékony áttétképzéshez. Így a tumorsejtek metasztatizáló képessége a primer tumoron kívül is tovább fejlődik a vérlemezke-tumorsejt interakció következtében. (172)

A vérlemezkék képesek interakcióba lépni mezenhimális őssejtekkel (MSC). A csontvelő eredetű MSC-k (BM-MSC) elősegítik a tumor növekedését és az áttétképződést, és a vérlemezkék ennek fokozására képesek. Egyrészt a vérlemezkék serkentik a BM-MSC-k migrációját, azaz elősegítik ezen sejtek vándorlását a tumorsejtekhez. A tumor mikrokörnyezetében a BM-MSC-k tumor asszociált fibroblasztokká alakulnak át, amik fokozzák az EMT-t, és ez az áttétképzést segíti elő. Másrészt a vérlemezkék által aktivált BM-MSC-k fokozzák az angiogenezist *in vitro* és *in vivo*. Harmadrészt a Ki67 expresziójának fokozásával is elősegítik a vérlemezkék a BM-MSC-k tumorsejt proliferációra gyakorolt

hatását. Emellett a BM-MSK-k képesek vérlemezke aktivációra, azok aggregációjának, illetve a tumorsejtek és BM-MSK-k felé történő migrációjának serkentésével. (171)

A paraneoplastikus trombocitózis többféle szolid tumor mellett megjelenhet és gyakran alacsonyabb túléléssel jár. Egy 20 vizsgálatot összehasonlító meta-analízis megerősítette a trombocitózis prognosztikai faktorként felmerült jelentőségét, ugyanis az emelkedett vérlemezkeszám alacsonyabb 5 éves teljes túléléssel és előrehaladott TNM stádiummal függött össze. (175)

## 1.5 Neutrofil-limfocita arány

Az emelkedett neutrofil sejtszám és a relatív limfocitopénia egy szisztémás gyulladásos válasz eredménye. A krónikus gyulladás a laphám eredetű rosszindulatú daganatok egyik rizikófaktora. A gyulladás hozzájárulhat bizonyos szolid tumorok kialakulásához és progressziójához, mint például a tüdő, emlő, gasztrointesztinum, prosztatata és a petefészek rosszindulatú daganatainak esetében. (176, 177) A tumorsejtek elleni gyulladásos válasz irreverzibilis DNS károsodást okozhat, a tumorsejtek apoptózisának gátlását és angiogenezist eredményezve. Ez a folyamat lehetővé teszi a tumor folyamatos növekedését, a környező szövetek invázióját és az áttétképződést. (50) Mindezek mellett az előző alfejezetben részletezett, vérlemezkékből felszabaduló növekedési faktorok, mint a PDGF, TGF $\beta$  és a VEGF szintén hozzájárulhatnak a tumor növekedéséhez és terjedéséhez. (178) Ezen felül citokinek és kemokinek szabadulnak fel a vérlemezkékből, amik immunsejteket, például neutrofilokat aktiválnak. Ezek a sejtek infiltrálják a tumoros területet és fokozzák a gyulladásos folyamatot. (179) Mindemellett a tumorsejtek képesek lehetnek felgyorsítani a mielopoiesis folyamatát, ami a csontvelőben, vérben és lépben éretlen mieloid sejtek megjelenésével leukocitózist eredményez. A felgyorsult mielopoiesis a tumorsejtek csontvelőt stimuláló növekedési faktor termelésének az eredménye, különösképpen a G-CSF és GM-CSF citokinek következményeként. (51)

A neutrofilek ténylegesen elősegítik a daganatnövekedést és a metasztázis képződést, illetve gátolhatják a limfocita aktivitást, és ezzel csökkenthetik a daganatellenes immunválaszt. (179) Ezen megfigyelések alapján felmerül, hogy a daganatos betegek perifériás vérében lévő neutrofil-limfocita arány (NLR) összefügg a daganat növekedésével. Az emelkedett NLR érték és a rosszabb prognózis közötti összefüggést a nyelőcső, colorectum, hasnyálmirigy, prosztatata, máj, epeutak, emlő, gyomor, bőr festéksejtjeinek, pajzsmirigy medulláris sejtjeinek

és a tüdő rosszindulatú daganataiban szenvedő betegeknél is igazolták. (180, 181) Azonban fontos megjegyezni, hogy az NLR számos jóindulatú állapotban is emelkedett lehet. (182, 183)

Az NLR a szubklinikus gyulladás egyszerűen, nem invazívan, ismételt módon és olcsón meghatározható markere. Értékéből a különböző stressz ingerekre adott általános immunválaszra lehet következtetni. Prognosztikai markerként haszna abban rejlik, hogy az adott betegben zajló gyulladás mértékét tükrözi. Az emelkedett NLR a szisztémás gyulladásához társuló renyhe tumorelleses sejtes immunitásra utal. (184)

## **1.6 Vérlemezke-limfocita arány**

Számos gyulladáskeltő mediátorról (különösen az IL-1, IL-3, és IL-6) ismert, hogy serkenti a megakariocita proliferációt. (185) Emellett a szisztémás gyulladás gátló immunológiai mediátorok felszabadulásával is jár, amik csökkentik a limfocita funkciót. (173, 178) Ezért merült fel annak a lehetősége, hogy a vérlemezke-limfocita arány (PLR) jó prognosztikai indexe lesz a tumoroknak. A PLR mellett, hogy tükrözi a tumorelleses immunaktivitás mértékét, a paraneoplasztikus trombembóliás események kockázatának becslésére is alkalmas. (186) Magas PLR mellett rosszabb túlélést találtak számos szolid tumor (pl. epeúti, tüdő, prosztata) esetében. (187-189) A PLR értéke - az NLR-hez hasonlóan - szintén emelkedett lehet jóindulatú betegségekben, mint pl. gyulladásos reumatikus kórképekben. (190)

HNSCC mellett is megfigyelték már az emelkedett PLR-hez és NLR-hez társuló kedvezőtlenebb prognózist. (191)

## 2 Célkitűzések

Az egyik nagy kihívás az onkológiai kutatások során, hogy olyan stabil biomarkereket találjunk, amik rutinszerűen, olcsón, ismételhető módon mérhetőek könnyen hozzáférhető mintákban.

Tanulmányunk során az volt a célunk, hogy hosszú utánkövetéssel, különféle stádiumú szájüregi, garat- és gégedaganatban szenvedő betegek kezelés előtti vérlemezkeszámának, NLR és PLR értékének prognosztikai jelentőségét vizsgáljuk meg. Preoperatív laborértékeket, terápiás eljárásokat és utánkövetési adatokat dolgoztunk fel. Szerettünk volna választ kapni arra, hogy a vérlemezkeszám, az NLR és PLR értékek milyen módon befolyásolják a túlélést.

Retrospektív vizsgálatok keretében a következő konkrét kérdésekre kerestük a választ:

- A kezelés előtti vérlemezkeszám hasznos prognosztikai faktor-e különböző stádiumú fejnyaki daganatokban?
- Az NLR és a PLR milyen összefüggésben van a fejnyak daganatos betegségben szenvedő páciensek teljes, betegségmentes és betegségspecifikus túlélésével?
- Befolyásolja-e a vérlemezkeszámot, az NLR-t és a PLR-t, illetve azok prognosztikus értékét a nem, a tumor mérete, a stádium, a kiindulási lokalizáció és az alkalmazott kezelési modalitás?

### 3 Módszerek

Vizsgálatunkban retrospektív módon az Uzsoki utcai Kórház és a Magyar Honvédség Egészségügyi Központ 2000 és 2014 között kezelt, különféle stádiumú primer szájüregi, garat- és gégetumoros kórképben szenvedő betegeknek a klinikai adatait elemeztük, amiket a számítógépes egészségügyi adatbázisból gyűjtöttünk. Szövettanilag igazolt planocelluláris karcinóma miatt kezelt betegeket válogattunk be. A kezelés előtt legfeljebb egy hónappal készült laboratóriumi eredményeket elemeztük. A kizárás kritériumai a következők voltak: távoli áttét megléte, szinkron egyéb tumor, műtét utáni reziduális tumor, gyulladásszerű állapotok (faringokután sipoly, pneumónia, sebgyulladás, tályog, epehólyag gyulladás, branül gyulladás, endokarditisz, húgyúti fertőzés, Crohn-betegség, colitis ulcerosa stb.), trombembóliás szövődmények (mélyvénás trombózis, tüdőembólia, szívinfarktus) és szteroid terápia.

Áttekintettük a betegek családi anamnézisének, egyéni kórtörténetét és gyógyszerelését.

Meghatároztuk a tumorok pontos anatómiai lokalizációját, amelyet szájüregi, szájgarati, algarati és gége csoportokra osztottunk fel. A vizsgált adatok közé tartozott a planocelluláris karcinómák differenciáltságán alapuló klasszifikációja (G1 - jól differenciált, G2 - közepesen differenciált, G3 - rosszul differenciált, G4 - anaplasztikus).

A stádium meghatározást az American Joint Committee on Cancer 7-ik TNM beosztása alapján végeztük. A tumor méreteit a patológiai lelet alapján rögzítettük. Szintén a patológiai lelet alapján vizsgáltuk a lokális áttétek méretét, számát, oldalosságát és a tok épségét. Rögzítettük az ép reszekciós szél meglétét.

Az alkalmazott primer kezelés alapján három csoportba osztottuk a betegeket (műtét, radioterápia, radiokemoterápia), és kigyűjtöttük a neoadjuváns és adjuváns kezeléseknél adatait is.

Az utánkövetés a vizsgálat végéig tartott. A szükséges adatokat a fül-orr-gégészeti és onkológiai gondozás leleteiből nyertük. Kigyűjtöttük a helyi daganat kiújulásokat, és a később kialakuló lokális és távoli áttétek adatait.

A teljes túlélés (overall survival - OS) a kezelés időpontjától a halálozásig, illetve az utolsó észlelés dátumáig terjedt. A betegségmentes túlélést (disease free survival - DFS) pedig a kezelés időpontjától a recidíva észlelésének időpontjáig számoltuk. A tumorspecifikus halálozás elemzése során azon betegek halálozását cenzoráltuk, akiknél nem a tumoros betegséget jelölte meg a kezelőorvos a halál okaként. Mindhárom esetben az értékeket hónapokban határoztuk meg. A túlélési adatokat a Belügyminisztérium népességnyelvántartó adatbázisából lekérdezett információk alapján pontosítottuk.

A laborvizsgálati lelet alapján a vérlemezke-, neutrofil- és limfocitaszámok mellett kigyűjtöttük a fehérvérsejt- és vörösvérsejtszámokat, a hemoglobint, hematokrit, májfunkciós, albumin, CRP és az átlagos vérlemezke térfogat (MPV) értékeket is.

Kutatásunk első felében a trombocitózis prognosztikai szerepét vizsgáltuk. A kezelés előtt rutinszerűen vett, a kezelés időpontjához legközelebb eső vérmintákból származó eredményeket vizsgáltuk. 300 G/l szint feletti értékeket tekintettünk emelkedett vérlemezkeszámnak. A betegeket két csoportba osztottuk: az elsőben a páciensek vérlemezkeszáma 300 G/l felett, a másodikban ez alatt volt.

Kutatásunk második felében arra kerestük a választ, hogy az NLR és a PLR szintek milyen prognosztikus értékkel bírnak. Ugyanazokat a kizárási kritériumokat (műtét utáni reziduális tumor, szinkron egyéb tumor, gyulladáscsökkentő és trombolitikus szövődmények, szteroid terápia) alkalmaztuk, mint a kutatás első felében. Az adatokat szintén a rutin laboratóriumi vérvételek alapján gyűjtöttük ki.

### 3.1 Statisztika

A populáció jellemzőit leíró módszerekkel elemeztük, a normál eloszlású adatokat átlaggal és szórással, a nem normál eloszlású adatokat a mediánnal és interkvartilis tartománnyal jellemeztük. A betegek alcsoportjai közötti összefüggést keresztábrák módszerrel és nemparametrikus tesztekkel (Wilcoxon rank-sum teszt, Kruskal-Wallis próba) vizsgáltuk. A folytonos PLR és NLR változók és a betegek alcsoportjai közötti összefüggést a nem normál eloszlásra való tekintettel a nemparametrikus Mann-Whitney U, illetve Kruskal-Wallis próbával vizsgáltuk. A vérlemezkeszám, a PLR és az NLR küszöbértéke alatti és feletti betegek túlélését a log-rank teszt segítségével elemeztük, és Kaplan-Meier túlélési függvényekkel ábráztuk. A következő folyamat során határoztuk meg az optimális vérlemezke cut-off értéket: logisztikus regresszió modelleket alkalmaztunk, függő változóként 3 éves túlélési státusszal, és cut-off értékekkel a teljes vérlemezke tartományból 10-re kerekítve. Kiszámítottuk minden cut-off értékre a vevő működési karakterisztika (receiver operating characteristic (ROC)) görbe alatti területet (area under the ROC - AUROC), és a legnagyobb ROC alatti terület alapján választottuk ki az optimális cut-off-ot. A PLR és NLR küszöb meghatározása hasonló módszerrel történt: ebben az esetben az 5 éves túlélés meghatározására a PLR és NLR értékeket 1-re és 0.1-re kerekítve számoltuk ki a ROC görbe alatti területet.



Az 5 éves teljes túlélést, betegség-specifikus és betegségmentes túlélést többváltozós Cox-arányos kockázat-regresszió modellekkel elemeztük, a vélemezskéket, PLR-t és NLR-t folytonos és kategóriás diszkrét változókként kezelve. A többkategóriás diszkrét változók együttes hatását a Wald teszttel vizsgáltuk. A Cox modellek érvényességének feltételeit: az arányos kockázat (proportional hazard) a Grambsch & Terau score teszttel (192), a modellek illeszkedését (goodness of fit) 4 rizikó-kvartilis tartományban a May & Hosmer teszttel ellenőriztük. Minden számítást Stata 14.2 statisztikai programmal végeztünk. (193)

### **3.2 Etikai engedély**

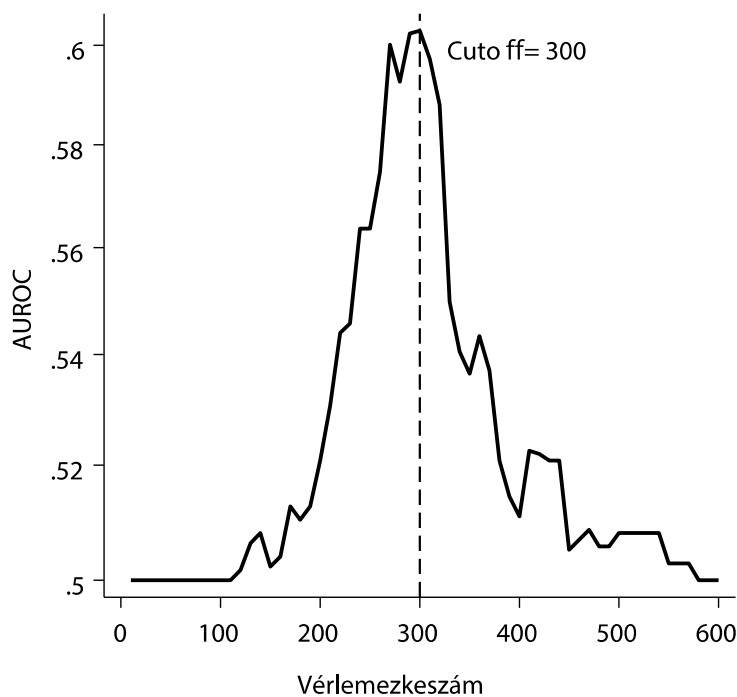
A vizsgálatokat az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (ETT-TUKEB) engedélyezte 2015. december 14-én (8951-3/2015/EKU (0444/15)).

## 4 Eredmények

### 4.1 A vérlemezkeszám prognózist befolyásoló szerepének vizsgálata

A vérlemezkeszám és a teljes túlélés adatai 312, míg a betegségmentes túlélés számolásához szükséges információ 299 betegnél volt ismert (95,8%). Az átlag életkor ( $\pm$ SD) 57 év volt (8,6); a betegek 21,8%-a (N=68) volt nő. A medián utánkövetési idő 42,9 hónap volt (4,9-161,0), és 134-en hunytak el az utánkövetés során (42,9%). 31 esetben (23,3%) nem a tumor volt a közvetlen halálok. 132 (42,3%) betegnél alakult ki recidíva. A medián túlélés 88,6 hónap (95% CI: 71,8-124,2), és a medián betegségmentes túlélés 67,6 hónap (95% CI: 37,8-87,0) volt.

300 G/l-t választottunk optimális cut-off értéknek (8. ábra).



8. ábra Vérlemezkeszám küszöbérték

Az alábbi táblázatban lokalizáció szerinti csoportokra osztva láthatóak a betegek demográfiai adatai és a daganat jellemzői (1. táblázat).

1. táblázat: *Betegek jellemzői a tumor lokalizáció alapján*

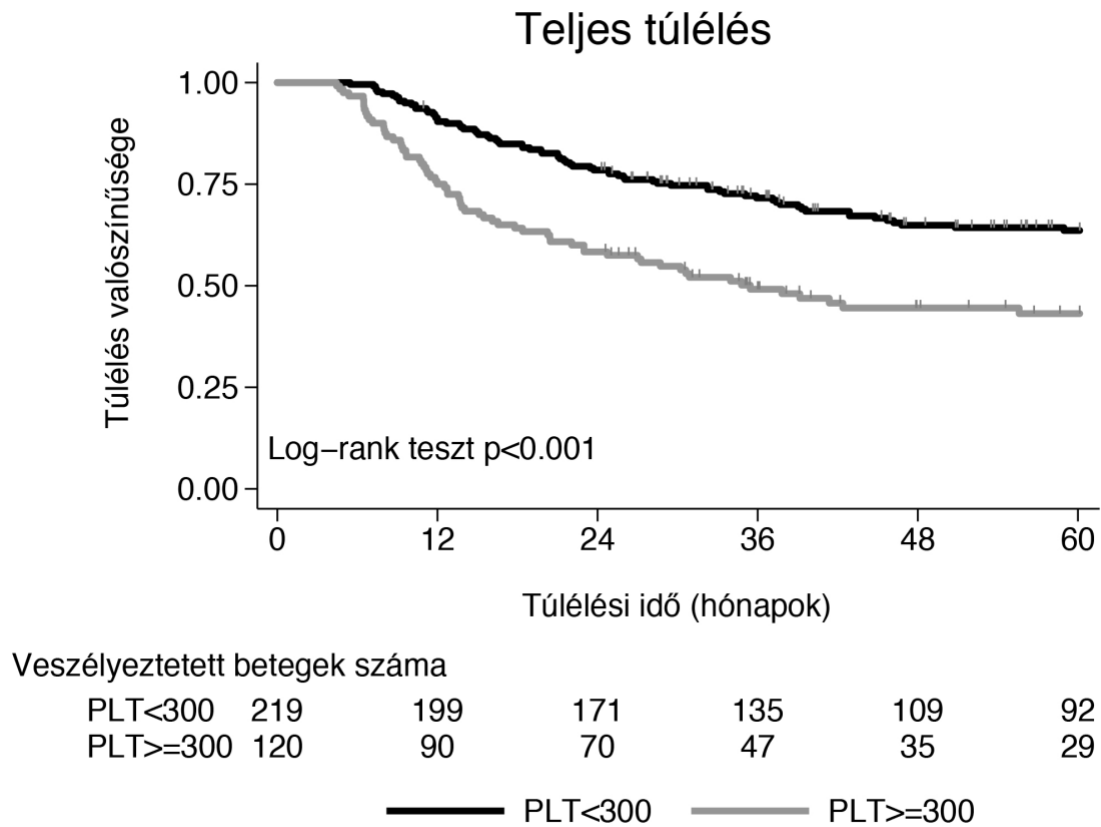
		Algarat	Szájgarat	Szájúreg	Szub- /Szupra- glottisz	Multiplex	Hangszalag	Teljes	p
		No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	
Teljes		110	42	14	67	8	71	312	
Nem	Nő	19 (17,3)	13 (31)	4 (28,6)	20 (29,9)	2 (25)	10 (14,1)	68 (21,8)	0,116
	Férfi	91 (82,7)	29 (69)	10 (71,4)	47 (70,1)	6 (75)	61 (85,9)	244 (78,2)	
Életkor	<65 év	102 (92,7)	34 (81)	11 (78,6)	52 (77,6)	7 (87,5)	46 (64,8)	252 (80,8)	<0,001
	>=65 év	8 (7,3)	8 (19)	3 (21,4)	15 (22,4)	1 (12,5)	25 (35,2)	60 (19,2)	
Primer tumor (T)	1	11 (10)	11 (26,2)	7 (50)	8 (11,9)	1 (12,5)	26 (36,6)	64 (20,5)	<0,001
	2	24 (21,8)	17 (40,5)	5 (35,7)	32 (47,8)	0 (0)	18 (25,4)	96 (30,8)	
	3	57 (51,8)	14 (33,3)	1 (7,1)	15 (22,4)	4 (50)	13 (18,3)	104 (33,3)	
	4	18 (16,4)	0 (0)	1 (7,1)	12 (17,9)	3 (37,5)	14 (19,7)	48 (15,4)	
Nyirokcsomó (N)	0	32 (29,1)	10 (23,8)	11 (78,6)	33 (49,3)	3 (37,5)	66 (93)	155 (49,7)	<0,001
	1	30 (27,3)	15 (35,7)	1 (7,1)	15 (22,4)	3 (37,5)	1 (1,4)	65 (20,8)	
	2	43 (39,1)	16 (38,1)	2 (14,3)	19 (28,4)	1 (12,5)	4 (5,6)	85 (27,2)	
	3	5 (4,5)	1 (2,4)	0 (0)	0 (0)	1 (12,5)	0 (0)	7 (2,2)	
Metasztázis (M)	0	110 (100)	42 (100)	14 (100)	67 (100)	8 (100)	71 (100)	312 (100)	NA
	1	0 (0,00)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Stádium	1	3 (2,7)	4 (9,5)	5 (35,7)	6 (9)	0 (0)	27 (38)	45 (14,4)	<0,001
	2	10 (9,1)	5 (11,9)	4 (28,6)	15 (22,4)	0 (0)	18 (25,4)	52 (16,7)	
	3	41 (37,3)	16 (38,1)	2 (14,3)	19 (28,4)	3 (37,5)	12 (16,9)	93 (29,8)	
	4	56 (50,9)	17 (40,5)	3 (21,4)	27 (40,3)	5 (62,5)	14 (19,7)	122 (39,1)	
Grade	1	6 (5,5)	1 (2,4)	2 (14,3)	5 (7,5)	0 (0)	12 (16,9)	26 (8,3)	0,443
	2	35 (31,8)	10 (23,8)	6 (42,9)	24 (35,8)	3 (37,5)	24 (33,8)	102 (32,7)	
	3	33 (30)	11 (26,2)	2 (14,3)	17 (25,4)	2 (25)	17 (23,9)	82 (26,3)	
	4	0 (0)	1 (2,4)	0 (0)	1 (1,5)	0 (0)	1 (1,4)	3 (1)	
	Ismeretlen	36 (32,7)	19 (45,2)	4 (28,6)	20 (29,9)	3 (37,5)	17 (23,9)	99 (31,7)	
Vérlemezkeszám	Nem	62 (56,4)	34 (81)	9 (64,3)	43 (64,2)	4 (50)	55 (77,5)	207 (66,3)	0,016
	>300	Igen	48 (43,6)	8 (19)	5 (35,7)	24 (35,8)	4 (50)	16 (22,5)	
5 éves halálózás	Elhunyt	48 (43,6)	16 (38,1)	3 (21,4)	30 (44,8)	4 (50)	14 (19,7)	115 (36,9)	0,019*

\* log-rank teszt  $\chi^2$  (df=1) = 13,47, p=0,0193

226 páciensnél (72,4%) műtét volt a primer kezelés, sugárkezelés és kemoterápia 46 betegnél (14,7%), és sugárkezelés 40 esetben (12,8%). Összesen 266 (85,3%), 125 (40,1%) és 111 (35,6%) beteg kapott műtétet, kemoterápiát és sugárkezelést.

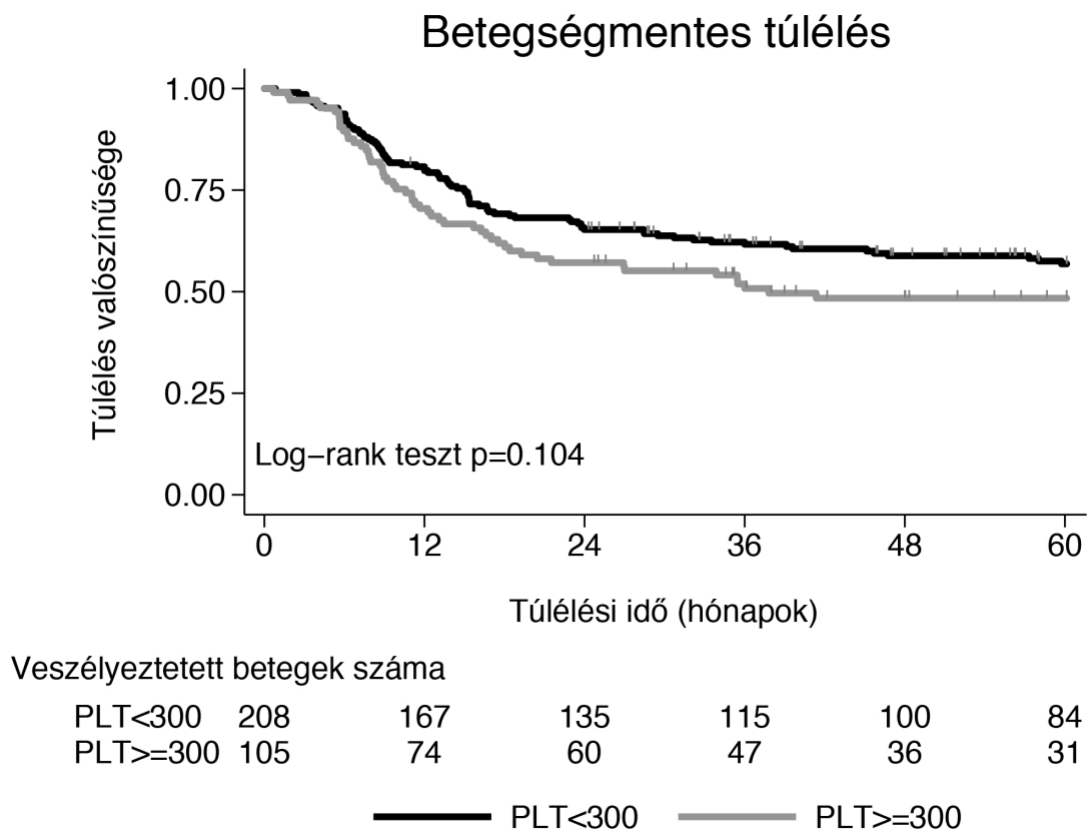
A vérlemezkeszám jobbra ferde eloszlást mutatott (ferdeség: 0,652, p<0,001). A medián vérlemezkeszám 265 G/l volt, az interkvartilis terjedelem 116 volt (25-75<sup>th</sup> percentilek: 206,5-322,5). A vérlemezkeszám eltért a T és N státustól, a TNM stádiumtól és a primer tumor lokalizációjától függően (p=0,015, p<0,001, p=0,031, p=0,025).

A betegek medián túlélése <300 G/l vagy  $\geq 300$  G/l vérlemezkeszámmal 98,7 hónap (95%CI: 80,7-124,4), és 35,4 hónap (95%CI: 30,9- $\infty$ ) volt. A különbség szignifikáns volt (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=7,20$ ,  $p=0,007$ ) (9. ábra). (194)



9. ábra: A vérlemezkeszám és a teljes túlélés kapcsolata (Kaplan-Meier becslés)

A medián betegségmentes túlélés 78,5 (46,8-94,4) és 35,5 (17,5- $\infty$ ) hónap volt a <300 G/l vagy  $\geq 300$  G/l vérlemezkeszámmal. A különbség nem volt szignifikáns (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=1,70$ ,  $p=0,192$ ) (10. ábra). (194)



10. ábra: A vérlemezkeszám és a betegségmentes túlélés kapcsolata (Kaplan-Meier becslés)

A vérlemezkeszám az 5 éves teljes túlélés szignifikáns előrejelzője volt a Cox-arányos kockázat-regresszió analízissel, miután korra, nemre, tumor stádiumra és grade-re, valamint fehér- és vörösvérsejtszámra igazítottuk a modellt (2. táblázat). (194) A kockázat arány (HR) 1,003 (95%CI: 1,000-1,005,  $p=0,027$ ) volt. A kontroll változók közül a férfi nem és az előrehaladott tumor státusz (3-4-es stádium) függött össze szignifikáns halálozási kockázat emelkedéssel. A tumor elhelyezkedése nem befolyásolta az 5 éves túlélést (Wald teszt  $\chi_{(5)}^2=3,63$ ,  $p=0,603$ ). A teljes modell valószínűséghányados próbája szignifikánsnak bizonyult ( $\chi_{(17)}^2=49,40$ ,  $p<0,0001$ ). Az arányos házard feltételezés teljesült, és a modell illeszkedése megfelelő volt.

2. táblázat: A betegektől többváltozós elemzésének eredményei (Cox regressziós analízis)

Változó	Kategória	Halálzási kockázat					
		Vérlemezkeszám bináris változóként ≥300 G/l cut-off esetén			Vérlemezkeszám folytonos változóként		
		Kockázat arány	(95% CI)	p	Kockázat arány	(95% CI)	p
Vérlemezkeszám					1,003*	(1,000-1,005)	0,027
Vérlemezkeszám ≥ 300 G/l <sup>a</sup>		1,933**	(1,262-2,960)	0,002			
Életkor <sup>b</sup>	>=65 év	0,876	(0,497-1,544)	0,648	0,862	(0,488-1,523)	0,609
Nem <sup>c</sup>	Férfi	1,965*	(1,156-3,342)	0,013	1,923*	(1,134-3,261)	0,015
Stádium <sup>d</sup>	2	2,057	(0,722-5,866)	0,177	1,998	(0,702-5,685)	0,195
	3	2,820*	(1,046-7,605)	0,041	2,834*	(1,053-7,628)	0,039
	4	4,241**	(1,591-11,30)	0,004	4,139**	(1,551-11,04)	0,005
Grade <sup>e</sup>	2	1,753	(0,670-4,590)	0,253	1,540	(0,592-4,006)	0,376
	3	2,229	(0,846-5,872)	0,105	1,864	(0,716-4,853)	0,202
	4	2,334	(0,257-21,16)	0,451	1,941	(0,217-17,35)	0,553
Lokalizáció <sup>f</sup>	Ismeretlen	2,290	(0,881-5,949)	0,089	2,042	(0,791-5,272)	0,140
	Szájgarat	1,050	(0,582-1,896)	0,871	0,991	(0,551-1,783)	0,976
	Szájúreg	0,891	(0,266-2,987)	0,852	0,829	(0,247-2,777)	0,761
	Sub-/Supraglottis	1,444	(0,894-2,332)	0,133	1,392	(0,862-2,248)	0,176
	Multiplax	1,307	(0,456-3,745)	0,619	1,309	(0,456-3,756)	0,617
	Hangszalag	0,851	(0,440-1,644)	0,630	0,799	(0,413-1,547)	0,506
Fehérvérsejtszám		0,931	(0,861-1,007)	0,076	0,937	(0,864-1,015)	0,112
Vörösvérsejtszám		0,664*	(0,443-0,995)	0,047	0,689	(0,465-1,022)	0,064
Esetszám		311			311		
Arányos kockázat teszt - teljes (p)		0,125			0,125		
Arányos kockázat teszt – vérlemezkeszám (p)					0,962		
Arányos kockázat teszt – vérlemezkeszám ≥300 G/l (p)		0,813					
Illeszkedés teszt (May&Hosmer; p)		0,340			0,650		
Exponenciált koefficiensek							
<sup>a</sup> bázis: Vérlemezkeszám < 300G/L; <sup>b</sup> bázis <65 y old; <sup>c</sup> bázis: Nő; <sup>d</sup> bázis: Stádium 1; <sup>e</sup> bázis: Grade 1; <sup>f</sup> bázis: Algarat							
* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001							

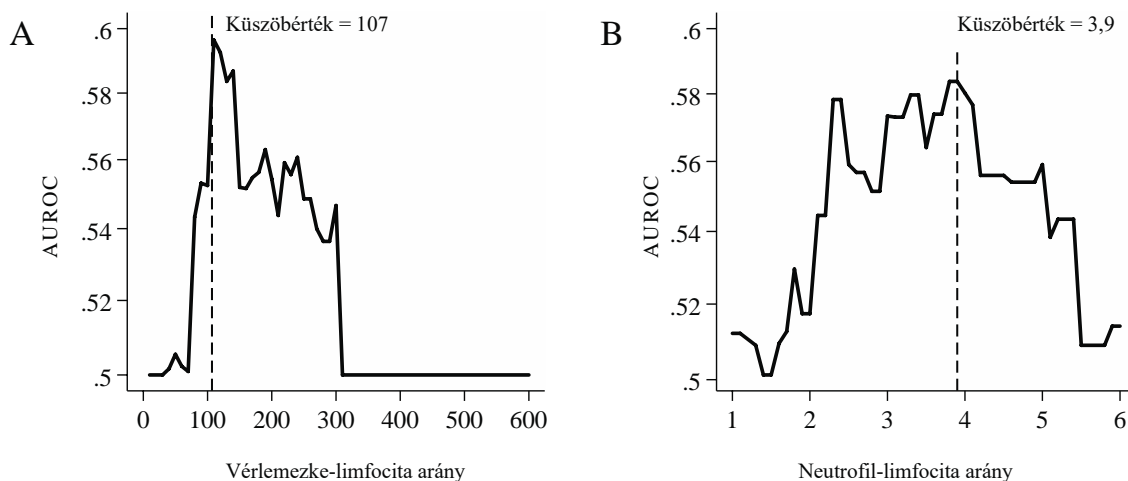
300 G/l-es vérlemezkeszám cut-off értéket használva az eredmények hasonlóak voltak, mint a vérlemezkeszámot folytonos változóként használó elemzésekben. Az emelkedett vérlemezkeszám közel kétszeres 5 éves halálzási kockázattal járt. A férfi nem és az előrehaladott tumor stádium emelkedett, míg a magasabb vörösvérsejtszám csökkent 5 éves mortalitási rizikóval járt. (194) A tumor elhelyezkedése ebben a modellben sem befolyásolta az 5 éves túlélést (Wald teszt  $\chi_{(5)}^2=3,61$ ,  $p=0,607$ ). A 300 G/l fölötti vérlemezkeszám nem

befolyásolta szignifikánsan a tumor recidívát. A többváltozós Cox regresszió nem mutatott összefüggést a betegségmentes túlélés és a modellben folytonos változóként szereplő vérlemezkeszám között ( $p=0,373$ ). Az arányos kockázat feltételezés teljesült, míg a szignifikáns illeszkedési teszt gyenge modell illeszkedésre utalt a betegségmentes túlélés bináris és folytonos Cox-regresszió analizisét illetően.

#### 4.2 NLR és PLR prognózist befolyásoló szerepének vizsgálata

Teljes, betegség-specifikus és betegségmentes túlélést elemeztünk 156, 150 és 149 beteg adatai alapján. Az átlag életkor 58,1 év volt ( $\pm$ SD: 8,7); a betegek 19,9%-a volt nő. A medián utánkövetési idő 36 hónap volt, a legrövidebb 4,9 és a leghosszabb 161 hónap volt. 63 beteg halt meg a vizsgálat során, közülük 43-an a malignus betegségben. 72 betegnél lépett fel recidíva. A medián túlélés 124,4 hónap volt (95% CI 71,6- $\infty$ ), míg a medián betegségmentes túlélés 78,5 hónap (95% CI 33,5- $\infty$ ).

Az optimális küszöbértékek, amik a leghatékonyabban különítik el a betegeket az 5 éves halálozás alapján, az AUROC csúcsok szerint meghatározva 107 volt a PLR, és 3,9 az NLR esetében. (11. ábra)

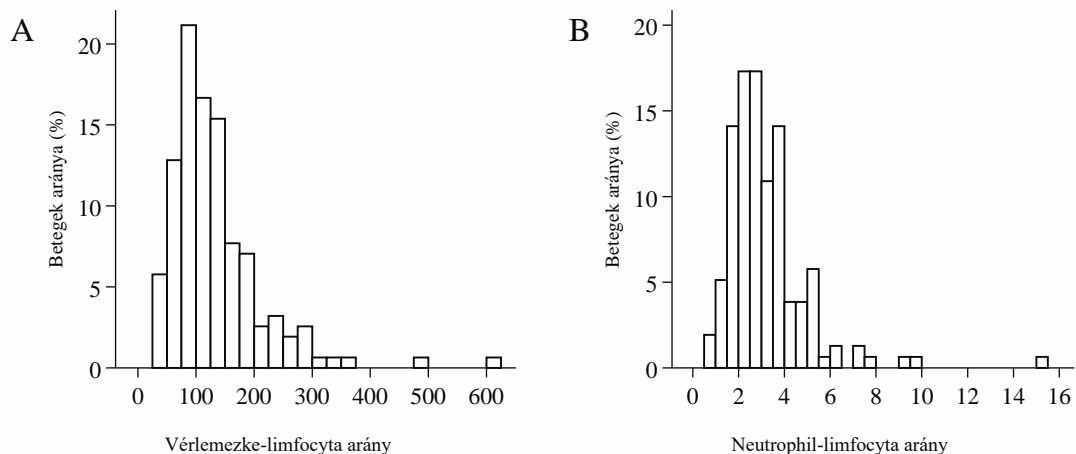


AUROC: ROC görbe alatti terület

11. ábra: PLR (A) és NLR (B) küszöbértékek

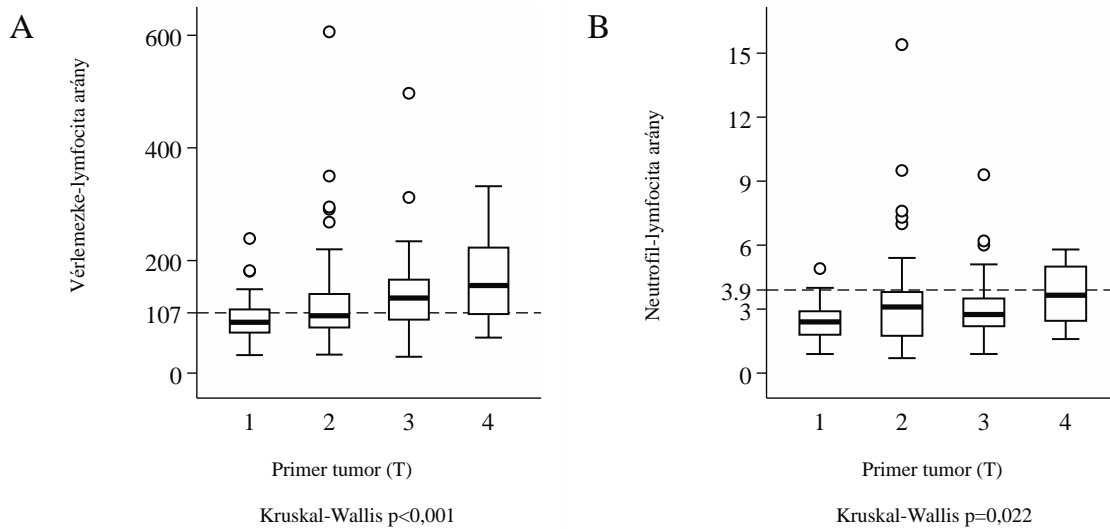
Az NLR és a PLR is jobbra ferde eloszlást mutatott. (12. ábra) A medián PLR 113 volt (IQR: 84,5 to 160), és értéke a betegek 53,9%-ánál érte el vagy haladta meg a 107-es küszöböt.

A medián NLR 2,8 volt (IQR: 2,1 to 3,8), a betegek 20,5%-ának volt a 3,9-es küszöbvel megegyező vagy azt meghaladó NLR értéke - utóbbi csak küszöb feletti PLR értékkel együtt volt csak megfigyelhető. A PLR a betegek 33,3%-ában volt emelkedett, és 46,2%-ban sem az NLR, sem a PLR nem volt emelkedett. A demográfiai paramétereket és a betegség jellemzőit figyelembe véve, csak a tumor stádiummal (Kruskal-Wallis test  $p < 0,001$ , and  $p = 0,004$ ) és a primer tumor kiterjedésével mutatott a PLR és az NLR érték szignifikáns összefüggést (13. ábra). A vörösvérsejtszám (medián: 4,57; IQR: 4,31 to 4,93) nem korrelált sem a PLR-rel ( $r = -0,019$ ,  $p = 0,811$ ), sem az NLR-rel ( $r = -0,023$ ,  $p = 0,770$ ). A vérlemezkesszám (medián: 270 G/L; IQR: 220,5 to 333) mérsékelt korrelációt mutatott a PLR ( $r = 0,680$ ,  $p < 0,001$ ), és gyenge korrelációt az NLR értékekkel ( $r = 0,227$ ,  $p = 0,004$ ). A betegeket három részre osztottuk a primer kezelési modalitás alapján, azaz elsődlegesen sebészi kezelésben, radiokemoterápiában és radioterápiában részesült betegek csoportjait hoztuk létre. Az elsődleges és másodlagos kezeléseket együttesen figyelembe véve, 136 beteg esett át műtéten, 65 beteget kezeltek kemoterápiával, és 49-et sugárkezeléssel.



12. ábra: A vérlemezke-limfocytarány (A) és a neutrofil-limfocytarány (B) megoszlása.





13. ábra: Vérlemezke-lymfocita arány (A), és neutrofil-lymfocita arány (B) a primer tumor stádium (T) függvényében. (Vastag vonalak: mediánok, doboz határok: interkvartilis terjedelmek, bajuszok: felső és alsó végpontok, pontok: kiugró adatok)

A betegeket a tumor kiindulási helye alapján végzett csoportosítás után is vizsgáltuk (3. táblázat). A koreloszlás, a tumor stádium, a küszöb feletti PLR értékkel bíró betegek megoszlása és az 5 éves túlélés szignifikánsan különbözött a különféle tumor lokalizációkban. A küszöb feletti PLR értékkel rendelkező betegek aránya az algarati tumorban szenvedőknél volt a legmagasabb (71,7%), a legkisebb pedig szájgarati tumorok esetén (25,0%). (195)

3. táblázat: A betegek fő jellemzői a tumor lokalizáció szerint.

		Összes beteg	Algarat	Szájgarat	Szájúreg	Szub-/ szupraglottisz	Hangszalag	Multi- plex régio	$\chi^2$
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
Nem	Nő	31 (19,9)	8 (15,1)	7 (43,8)	1 (20,0)	7 (20,6)	7 (15,6)	1 (33,3)	p=0,195
	Férfi	125 (80,1)	45 (84,9)	9 (56,2)	4 (80,0)	27 (79,4)	38 (84,4)	2 (66,7)	
Kor	<65 év	116 (74,4)	49 (92,5)	13 (81,2)	4 (80,0)	23 (67,6)	25 (55,6)	2 (66,7)	p=0,002
	≥ 65 év	40 (25,6)	4 (7,5)	3 (18,8)	1 (20,0)	11 (32,4)	20 (44,4)	1 (33,3)	
T stádium	1	38 (24,4)	6 (11,3)	8 (50,0)	0 (0,0)	5 (14,7)	18 (40)	1 (33,3)	p<0,001
	2	40 (25,6)	9 (17)	4 (25,0)	3 (60,0)	16 (47,1)	8 (17,8)	0 (0,0)	
	3	50 (32,1)	31 (58,5)	4 (25,0)	1 (20,0)	6 (17,6)	7 (15,6)	1 (33,3)	
	4	28 (17,9)	7 (13,2)	0 (0,0)	1 (20,0)	7 (20,6)	12 (26,7)	1 (33,3)	
N stádium	0	82 (52,6)	14 (26,4)	5 (31,2)	4 (80,0)	18 (52,9)	40 (88,9)	1 (33,3)	p<0,001
	1	30 (19,2)	15 (28,3)	7 (43,8)	0 (0,0)	6 (17,6)	1 (2,2)	1 (33,3)	
	2	40 (25,6)	21 (39,6)	3 (18,8)	1 (20,0)	10 (29,4)	4 (8,9)	1 (33,3)	
	3	4 (2,6)	3 (5,7)	1 (6,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
TNM stádium	1	26 (16,7)	2 (3,8)	3 (18,8)	0 (0,0)	3 (8,8)	18 (40)	0 (0,0)	p<0,001
	2	24 (15,4)	4 (7,5)	1 (6,2)	2 (40,0)	9 (26,5)	8 (17,8)	0 (0,0)	
	3	44 (28,2)	20 (37,7)	8 (50)	1 (20,0)	7 (20,6)	7 (15,6)	1 (33,3)	
	4	62 (39,7)	27 (50,9)	4 (25)	2 (40,0)	15 (44,1)	12 (26,7)	2 (66,7)	
Grade	1	20 (12,8)	4 (7,5)	0 (0,0)	2 (40,0)	3 (8,8)	11 (24,4)	0 (0,0)	p=0,270
	2	54 (34,6)	17 (32,1)	6 (37,5)	1 (20,0)	15 (44,1)	14 (31,1)	1 (33,3)	
	3	37 (23,7)	11 (20,8)	4 (25)	1 (20,0)	9 (26,5)	11 (24,4)	1 (33,3)	
	4	2 (1,3)	0 (0,0)	1 (6,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,2)	0 (0,0)	
	Ismeretlen	43 (27,6)	21 (39,6)	5 (31,2)	1 (20,0)	7 (20,6)	8 (17,8)	1 (33,3)	
PLR	<107	72 (46,2)	15 (28,3)	12 (75,0)	2 (40,0)	16 (47,1)	26 (57,8)	1 (33,3)	p=0,011
	≥107	84 (53,8)	38 (71,7)	4 (25,0)	3 (60,0)	18 (52,9)	19 (42,4)	2 (66,7)	
NLR	<3,9	125 (80,1)	39 (73,6)	15 (93,8)	4 (80,0)	26 (76,5)	38 (84,4)	3 (100,0)	p=0,435
	≥3,9	31 (19,9)	14 (26,4)	1 (6,2)	1 (20,0)	8 (23,5)	7 (15,6)	0 (0,0)	
5 éves mortalitás	Deceased	58 (37,2)	28 (52,8)	4 (25,0)	1 (20,0)	16 (47,1)	8 (17,8)	1 (33,3)	p=0,01*
Összes		156	53	16	5	34	45	3	

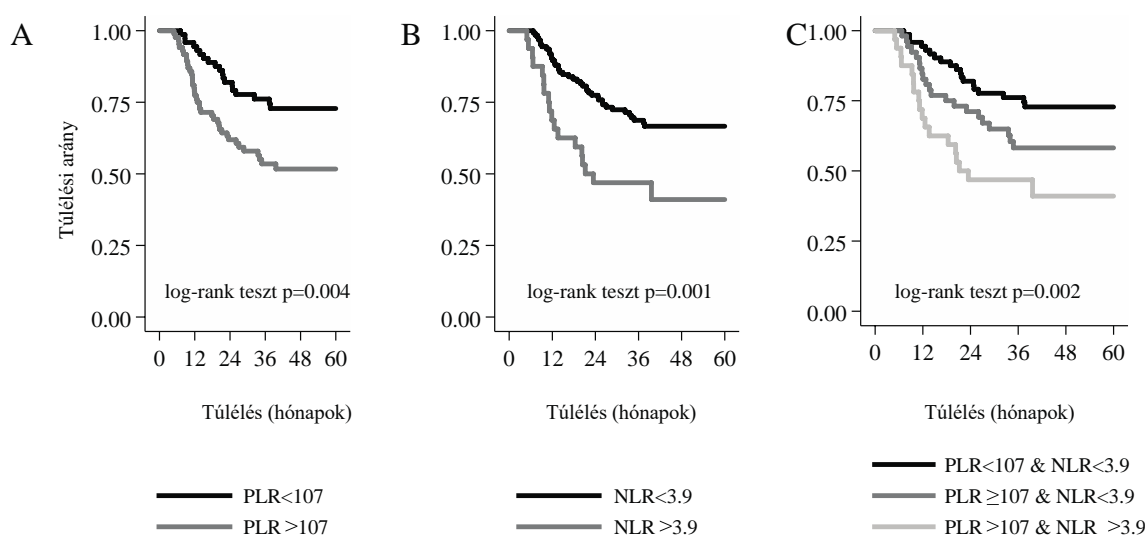
\* log-rank teszt

5 éves periódus alatt, a 107-es küszöb alatti PLR mellett a betegek 24,6%-a halt meg, míg a PLR ≥107 értékkel bíró betegek között a halálozási arány 46,4% volt - e között a két csoport között a különbség szignifikáns volt (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=8,14$ , p=0,004). 5 év alatt, a tumor recidíva 37,1%-ban fordult elő küszöb alatti PLR-rel rendelkező betegeknél, és 52,2%-ban

küszöb feletti PLR értéknél. A különbség a két csoport között szignifikáns volt a betegségmentes túlélést (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=4,03$ ,  $p=0,045$ ), és a tumorspecifikus túlélést (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=6,89$ ,  $p=0,009$ ) illetően is. (195)

A 3.9-es küszöb alatti NLR értékkel bíró betegek halálozási aránya 32,3% volt, míg NLR  $\geq 3,9$  esetében a betegek 56,5%-a halt meg. Az 5 éves recidíva ráta 43,0% volt az előbbi, és 55,2% az utóbbi csoportban; a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=2,21$ ,  $p=0,138$ ). Ezzel ellentétben a tumorspecifikus túlélésben statisztikailag szignifikáns különbség volt megfigyelhető a két csoport között (log-rank test  $\chi^2_{(df=1)}=7,43$ ,  $p=0,006$ ). (195)

A PLR és NLR értékek kombinációja és az 5 éves mortalitás közti összefüggést is tanulmányoztuk. A betegeket a következő három csoportba osztottuk be: 1) Mind az NLR, mind a PLR magasabb, mint a küszöb, 2) csak a PLR magasabb a küszöbnél, és 3) mind az NLR, mind a PLR alacsonyabb a küszöbnél. Szignifikáns különbséget találtunk a három csoport között a teljes túlélésben (log-rank test  $\chi^2_{(df=2)}=12,78$ ,  $p=0,002$ ), és a tumorspecifikus túlélésben (log-rank test  $\chi^2_{(df=2)}=9,92$ ,  $p=0,007$ ). Az 5 éves túlélés esélye azon pácienseknél volt a legmagasabb, ahol mind az NLR és mind a PLR érték a küszöb alatt volt, és ott volt a legalacsonyabb, ahol mindkét arány emelkedett volt (14. ábra). Azonban a betegségmentes túlélés nem különbözött szignifikánsan a három csoport között (log-rank test  $\chi^2_{(df=2)}=4,45$ ,  $p=0,108$ ). (195)



Kaplan-Meier túlélési görbék

14. ábra: 5 éves túlélés a vérlemezke-limfocita arány (A), a neutrofil-limfocita arány (B), és mindkét marker (C) függvényében.

Az 5 éves mortalitást, tumorspecifikus mortalitást és betegségmentes túlélést multivariáns Cox-regresszióval elemeztük, a PLR és NLR hatását külön és együttesen is független változóként alkalmazva. A kor, nem, tumor stádium, differenciáltsági fok, kiindulási régió, vörösvérsejtszám és trombocitózis voltak a kontroll változók. A kohortban küszöb feletti NLR érték csak emelkedett PLR értékkel együtt fordult elő, ezért az izoláltan emelkedett NLR vizsgálata nem volt lehetséges. A tumorspecifikus mortalításra tervezett modellekben az arányos kockázat feltételezés nem teljesült, emiatt ezek koefficiensei korlátozottan érvényesek. A kontroll változók közül a férfi nem és az előrehaladott tumorstádium mutattak összefüggést a fokozott halálozási rizikóval. Mindemellett a tumor recidíva valószínűsége szignifikánsan korrelált a férfinnemmel és a tumor differenciáltsági fokával. Fordított volt az összefüggés a vörösvérsejtszám és a mortalitási rizikó és recidíva között - azaz a magasabb vörösvérsejtszám alacsonyabb halálozási és tumor recidíva kockázattal járt. (4. táblázat) (195) A T stádium kiterjedtségére kontrollált modellekben - a TNM stádium helyett vagy azzal kombináltan elemezve - a teljes túlélést illetően az eredmények nem változtak. A vérlemezkeszámot folytonos kontroll változóként használó modellek szintén nem befolyásolták az NLR teljes túlélésre gyakorolt negatív prognosztikai hatását. Azonban a tumorspecifikus mortalitás modelljének koefficiensei nem bizonyultak stabilnak a kontroll változókra történt igazítást követően, és az NLR érték elvesztette szignifikanciáját, miután a T stádiumot kontroll változóként alkalmaztuk.

4. táblázat: Az 5 éves és tumorspecifikus halálozás, és a tumor recidíva multivariáns Cox-regressziós elemzése.

		Teljes mortalitás			Tumor-specifikus mortalitás			Tumor recidíva		
PLR	≥107	1,499			1,499			1,651		
NLR	≥3,9		2,122*			2,122*			1,800	
PLR és NLR együtt	PLR≥107 & NLR <3,9			1,153			1,153			1,435
	PLR≥107 & NLR≥3,9			2,291*			2,291*			2,180*
Kor <sup>a</sup>	≥65 év	0,906	1,045	1,018	0,906	1,045	1,018	0,825	0,876	0,860
Nem <sup>b</sup>	Férfi	2,460	2,730*	2,732*	2,460	2,730*	2,732*	3,530**	3,809**	3,840**
Stádium <sup>c</sup>	2	6,690 <sup>§</sup>	6,802 <sup>§</sup>	6,616	6,690 <sup>§</sup>	6,802 <sup>§</sup>	6,616	2,198	2,269	2,175
	3	7,315 <sup>§</sup>	7,698 <sup>§</sup>	7,439	7,315 <sup>§</sup>	7,698 <sup>§</sup>	7,439	1,293	1,443	1,306
	4	14,44 <sup>*§</sup>	13,40 <sup>*§</sup>	12,87*	14,44 <sup>*§</sup>	13,40 <sup>*§</sup>	12,87*	2,591	2,733*	2,447
Grade <sup>d</sup>	2	1,778	1,911	1,941	1,778	1,911	1,941	4,274*	4,518*	4,741*
	3	1,341	1,534	1,540	1,341	1,534	1,540	2,539	2,762	2,854
	4	-	-	-	-	-	-	4,159	4,020	4,845
	Ismeretlen	1,954	2,210	2,237	1,954	2,210	2,237	2,977	3,272	3,393
Lokalizáció <sup>e</sup>	Szájgarat	0,817	0,796	0,833	0,817	0,796	0,833	1,285	1,196	1,331
	Szájúreg	0,546	0,549	0,559	0,546	0,549	0,559	12,29**	13,21**	13,30**
	Szub-/szupraglottisz	1,221	1,152	1,189	1,221	1,152	1,189	1,330	1,160	1,264
	Glottis	0,631	0,560	0,577	0,631	0,560	0,577	1,100	0,991	1,064
	Multiplax lokalizáció	0,475	0,595	0,593	0,475	0,595	0,593	0,633	0,618	0,676
Vörösvérsejt-szám		0,503*	0,508**	0,509**	0,503*	0,508**	0,509**	0,508**	0,512**	0,510**
Vérlemezke-szám <sup>f</sup>	≥400 G/l	0,906	1,045	1,018	0,906	1,045	1,018	0,825	0,876	0,860
Betegszám		156	156	156	156	156	156	148	148	148

A táblázat hazard arányokat mutat; 1 fölötti értékek fokozott kockázatot jelentenek.

<sup>a</sup>Bázis: <65 év, <sup>b</sup>Bázis: Nő, <sup>c</sup>Bázis: 1. stádium, <sup>d</sup>Bázis: Grade 1, <sup>e</sup>Bázis: Algarat, <sup>f</sup>Bázis: <400G/l § Wald-teszt p<0,05, \* p <0,05, \*\* p <0,01, \*\*\* p <0,001

## 5 Megbeszélés

### 5.1 A vérlemezkeszám prognózist befolyásoló szerepe

Az emelkedett trombocitaszám és a rosszabb túlélés közötti kapcsolat háttérben álló pontos pathomechanizmus jelenleg még csak részben ismert. Különböző megfigyelésekről számoltak be:

1) Azon daganatos betegeknél, akik magas trombocitaszámmal bírnak, a vérlemezkek fokozzák a tumor növekedését és az angiogenezist oly módon, hogy túlnyomórészt proangiogenetikus citokineket szekretálnak a tumor protrombotikus mikrokerületén belül. (140) A tumorok általi vérlemezke aktiváció a vérlemezkek granulumaiban tárolt faktorok szekréciójához vezet, ami azután a vérlemezkek gyulladásszerű, proliferatív és proangiogén aktivitását mediálja, elősegítve a tumor növekedését, a szöveti inváziót és a metasztatizálást. (169)

2) A vérlemezkek elősegítik az áttétképződést azáltal, hogy a keringő tumorsejtek felszínéhez kötődve megvédik őket a fizikai tényezőktől, például a vérkeringésben fellépő nyíró erőktől, és a gazdaszervezet immunrendszerétől. (140) A daganatsejtekhez adherált trombociták a felszínükön kifejeződő immunszabályozó fehérjékkel megvédik a daganatsejteket a természetes ölüsejtektől. (196) Ilyen fehérje a glükokortikoid által indukált tumor nekrosis faktor fehérje. (197) Ezen kívül a vérlemezkek nagy számban fejeznek ki I-es osztályú MHC-t. Azaz, a daganatsejtekhez tapadó trombociták hamis fenotípust mutatnak, és ezzel megzavarják a daganatosan átalakult sejt immunrendszer általi felismerését. (197)

3) A vérlemezkeszám emelkedése a tumornövekedés kísérőjelensége lehet, mivel a daganat trombopoietikus citokineket termel. (140) A folyamat paraneoplastikus útvonalon alapszik, amelynek kiindulópontja, hogy a daganat a szérumban interleukin-6 szintjének emelkedését okozza, amely a máj trombopoietin elválasztásának fokozásával növeli a megakariocitózist. Az eredmény trombocitózis. (170)

#### 5.1.1 A vérlemezkeszám küszöbértékének meghatározása

A trombocitózisra alkalmazott cut-off érték 250-400 G/l között változik a különböző közleményekben (143, 198-203), ami megnehezíti az irodalmi adatok összehasonlítását. Saját adataink alapján a már előzőleg részletezett módszerrel választott 300 G/l-es küszöbérték bírt a legnagyobb specificitással és szenzitivitással. A medián vérlemezkeszám 265 G/l volt, ami

magyarázhatja a trombocitózisra általánosan jellemzőnek tartott 400 G/L-nél alacsonyabb cut-off értéket. Mindemellett megjegyzendő, hogy a vérlemezkeszám laboratóriumi normál tartománya 100-300 G/l között van, így a statisztikai számításunkkal kapott küszöbérték nem mondható alacsonynak. Rachidi és mtsai vizsgálatukban öt csoportra osztották a betegeket a kezelés előtti vérlemezkeszám alapján (alacsony: <150 G/l, alacsony-normális: 150-229 G/l, normális: 230-314 G/l, magas-normális: 315-399 G/l, magas: >400 G/l). A normális kategóriához képest már a magas-normális csoportban is kétszeres volt a halálozási arány, ami felhívja a figyelmet a 315 és 400 G/l közötti trombocitaszámmal rendelkező betegek rosszabb onkológiai kilátásaira. Sőt, ha a normál tartományban folytonos változóként kezelték a vérlemezkeszámot, 100 G/l-es trombocita szintemelkedés 30%-kal magasabb halálozási kockázattal járt. (144)

### 5.1.2 A trombocitózis, az anémia és a túlélés kapcsolata

Egy több, mint 18 000 vérvételi minta eredményeit feldolgozó vizsgálat szerint az esetek 9 százalékában találtak trombocitózist. Ezen belül a betegek 32 százalékánál akut vagy krónikus gyulladással járó folyamatot fedeztek fel, 9 százalékuknak volt rosszindulatú daganata, és 9 százalékuknak anémiája. 6 százalékuk alkoholizmusban, és 6 százalékuk mieloproliferatív szindrómában szenvedett. Krónikus gasztrointesztinális betegséget 4, posztoperatív trombocitózist az esetek 3 százalékában találtak. A többi esetet a trombocitózis hátterében álló lehetséges okok egyik csoportjába sem tudták besorolni. Tehát az emelkedett vérlemezkeszám mögött durván minden tizedik esetben valamilyen rosszindulatú betegség áll. Az elsődleges trombocitózis gyakran klinikai tünetekkel járt, míg a másodlagos trombocitózis szinte mindig tünetmentes volt. (204) A reaktív trombocitózis hátterében emelkedett TPO, IL-6 szint vagy egyéb citokin, gyulladással járó katekolaminok, tumor vagy stressz állhat. (205) A paraneoplastikus trombocitózist a tumor okozta vérszegénységgel, és következményes vashiánnyal hozták összefüggésbe. (206)

Sokan az emelkedett vérlemezkeszám és a rövidebb túlélés hátterében az ún. másodlagos trombocitózis lehetőségét vélik, ami reaktív válasz bizonyos állapotokra és kórképekre, pl. gyulladásra és anémiára. Ennek elkerülésére zártuk ki azon pácienseket a vizsgálatból, akiknek gyulladással járó szövődménye vagy betegsége volt.

A paraneoplastikus trombocitózis a malignus betegségek ismert trombembóliás kockázati tényezője. Khorana és munkatársai 3003 daganatos beteg adatait feldolgozó prospektív vizsgálatukban arra az eredményre jutottak, hogy a 350 G/l feletti vérlemezkeszám

a vénás trombembólia független rizikófaktora. (207) Emiatt szerepelt a kizárási kritériumok között a trombembólia, így az emelkedett vérlemezkeszám túlélésre gyakorolt hatását ettől a jelenségtől függetlenül tudtuk értékelni.

Kutatásunkban összefüggést találtunk a csökkent vörösvérsejtszám és a túlélés között. Általában a daganatos betegek 30-50%-ánál már a kezelés megkezdése előtt jelentkezik valamilyen mértékű vérszegénység, amely arány a daganatellenes kezelés hatására 50-70 százalékra is nőhet. Számos faktoral hozták összefüggésbe a rosszindulatú betegségekben megjelenő anémiát és annak mértékét. Ezek a tumor típusa, a betegség stádiuma, a beteg kora, a kezelés időtartama, intenzitása és típusa, a hiperszplénia, a vérveszteség és az alultápláltság. Ezek a faktorok közvetlenül a daganattal vagy annak kezelésével kapcsolatosak, mégis a tumoros páciensek egy jelentős részénél a rosszindulatú betegség meglétén kívül semmilyen más ok nem azonosítható. (208) A daganatos betegeknél tapasztalt anémia kialakulásának hátterében az eritropoietin (EPO) képződés rendellenességét valószínűsítik. Annak a gyanúja is felmerült, hogy a nem megfelelő EPO elválasztás a tumor megnövekedett citokin termelésével függ össze. In vitro vizsgálatok szerint bizonyos citokinek, mint a TNF és az IL-1 gátolják az EPO mRNS szintézist. (209)

A vérszegénység fáradtságot, nehézlégzést, szédülést okoz a páciensnek. Azonban az anémia nem csak a betegek életminőségét rontja, hanem a kezelés hatékonyságát is csökkenti, ezáltal kedvezőtlen hatást gyakorolhat a gyógyulási és túlélési esélyekre. (210, 211) Prognózist befolyásoló szerepének hátterében számos tényező áll. Az egyik ilyen tényező a tumor hipoxia, ami akkor lép fel amikor a daganat növekedése meghaladja a környező mikrovaszkulátúra képességét, hogy oxigénnel lássa el a tumorsejteket. A hipoxiás daganattal bíró betegek rosszabb terápiás válaszra számíthatnak, mint azok a betegek, akiknek a tumora ugyanolyan méretű és stádiumú, de jobban oxigenizált. (209) Ezt fej-nyaki daganatoknál is igazolták. (212) Három magyarázat létezik a tumor hipoxia túlélésre gyakorolt kedvezőtlen hatására. 1) Az anémia miatt fellépő celluláris hipoxia következtében szelektálódhatnak a magasabb mutációs aránnyal bíró tumorsejtek, ami végül fokozott áttétképződést, sejtnövekedést, terápia rezisztenciát és csökkent apoptotikus képességet eredményezhet. 2) Az anémia serkenti az angiogenezist azáltal, hogy elősegíti a VEGF termelést. (213) 3) Az ionizáló sugárzás szabad gyökök képződését eredményezi a sejten belül. Oxigén jelenlétében a szabad gyökök kölcsönhatásba lépnek a DNS-sel és a sejtmembránnal, és sejthalált okoznak. Amikor a sejtek hipoxiásak, a szabad gyökök nem tudnak kötődni, és nem következik be az apoptózis. (214) Egy retrospektív vizsgálatban 889 radioterápiával kezelt fej-nyak daganatos beteg túlélésének hosszú távú eredményeit értékelték. Férfiaknál 13 g/dl, nőknél 12 g/dl feletti hemoglobin



értéknél az 5 éves túlélés 58,2 % volt, míg ezen hemoglobinszintek alatt csak 28,4 %. Azt is megfigyelték, hogy a túlélés szempontjából az a hemoglobinszint volt kritikus, amit a sugárkezelés ideje alatt tartottak fenn, és nem a kezelés előtti szint. (215) Az anémia a tumorsejtek kemoterápiára adott válaszát is kedvezőtlenül befolyásolja. A hipoxiás sejtek 2-6-szoros mértékben rezisztensebbek a citotoxikus szerekre, mint a normoxiás tumorsejtek. (216)

A daganatos betegek vérszegénységének általános elfogadott kezelési módja a vértranszfúzió volt. Sajnálatos módon a vértranszfúziók jelentős kockázatot rejtenek magukban, mint a transzfúziós reakciók, vastúlterhelés, és az idegen fehérjék által kiváltott csökkent immunkompetencia. Másik kezelési lehetőség a rekombináns humán EPO (epoetin) adása. Az epoetin mind a kemoterápiában, mind a sugárkezelésben, mind a kombinált radiokemoterápiában részesülő betegeknél emeli a hemoglobinszintet és javítja az életminőséget. (217) Az epoetin kedvező hatásairól számoltak be fej-nyaki daganatban szenvedő betegek kemoradioterápiája során. A hemoglobinszint emelkedését, csökkent transzfúziós igényt, és szignifikánsan jobb terápiás választ, lokális kontrollt és hosszabb túlélést igazoltak. (218) Mindazonáltal Henke és munkatársai 351 sugárkezelésben részesülő fej-nyak daganatos beteg adatait elemezték, akik epoetint vagy placebót kaptak. A teljes túlélés rövidebb volt az epoetinnel kezelték között, ahol gyakoribb volt a magas vérnyomás és a vérzéses és tromboembóliás események előfordulása is, valamint több páciens halt meg kardiovaszkuláris betegségben, és a lokoregionális tumor progresszió szintén fokozottabb volt a placebót kapó csoporthoz képest. (219) Ennek a kedvezőtlen eredménynek a hátterében felmerült a fej-nyaki tumorsejtek EPO-receptor pozitivitása. Henke és munkatársai következő vizsgálatukban azt találták, hogy a betegségmentes túlélés lényegesen rosszabb, ha epoetint adnak az EPO-receptor pozitív tumorral bíró betegeknél, a placebóban részesülőkhöz képest. Ezzel ellentétben az epoetin nem rontotta a kimenetelt a receptor-negatív esetekben. (220) Az EPO hatással van a vérlemezke termelésre. Az epoetin okozta fokozott eritropoiesis megváltoztatja a vas anyagcseréjét. A csontvelő megnövekedett vas igénye és a vasraktárakból történő utánpótlás közötti egyensúly felborulása, azaz a funkcionális vashiány akkor is kialakulhat, amikor nem elég gyors a vas mobilizációja az egyébként megfelelően feltöltött raktárakból. A vashiányt pedig összefüggésbe hozták a reaktív trombocitózissal. (221) Vizsgálatunkban egyik beteg sem részesült vértranszfúzióban, vagy EPO kezelésben, így ezeknek vérlemezkeszámra gyakorolt hatása nem torzította a trombocitaszám és a túlélés kapcsolatát elemző számításainkat.

Vitatott az a kérdés, hogy az anémia állhat-e a megemelkedett trombocitaszám és a daganatos betegek rosszabb túlélése hátterében. Shoultz-Henley és mtsai szájgarat daganatban

szenvedő betegek adatait elemezve azt találták, hogy az anémia valóban rontja a páciensek túlélési esélyeit, viszont az emelkedett vérlemezkeszám és az anémia együttes jelenléte szignifikánsan rövidebb betegségmentes és teljes túléléssel jár, mint az anémia vagy a magas trombocitaszám önmagában, illetve akkor, ha egyik érték sem emelkedett. (202) Chen és mtsai 270 fej-nyak tumoros beteg adatainak retrospektív elemzése alapján az anémia, a monocitózis és a trombocitózis egymástól független rizikófaktorok, és a prognózis rosszabb, ha ezek együttesen állnak fenn. (143) Az anémia és az emelkedett vérlemezkeszám saját vizsgálatunkban is független kockázati tényezőnek bizonyult. Az emelkedett vörösvérsejtszám csökkent 5 éves halálozási kockázattal függött össze. Emellett a betegek vörösvérsejtszámára igazított többváltozós Cox-arányos kockázat regresszió modell azt mutatta, hogy a vérlemezkeszám szignifikáns előrejelzője az 5 éves túlélésnek.

A túlélés előrejelzése mellett a vérlemezkek terápiás célpontként is fontos szerepet játszhatnak. Az acetyl-szalicilsav egy irreverzibilis ciklooxygenáz (COX) gátló. A COX-1 konstitutívan termelődik a vérlemezkekben és a gyomor epithelialis sejteiben. A vérlemezkekben a tranexámsav-2 (TXA2) képződéséért, a gyomor mukózában pedig a citoprotektív prosztaglandinok (PG) képződéséért felelős. A COX-2 élettani körülmények között a legtöbb sejtben nem termelődik (kivéve pl. az endotéliumban); azonban többféle tumorsejtben nagy mennyiségben képződik, beleértve a kolorektális, gyomor, emlő, tüdő és hasnyálmirigy daganatsejteket, valamint a melanóma sejteket. A tumorképződés és metasztázálás kritikus pontja a COX általi fokozott PGE-2 szintézis, ami serkenti a tumor proliferációt, az angiogenezist, a gyulladást, és elősegíti, hogy a tumorsejtek kikerüljenek az immunrendszer ellenőrzése alól. A COX-gátló, és ezáltal a PG termelést csökkentő hatását tartják az aszpirin legfontosabb tumorelles aktivitásának. Azonban az továbbra is kérdéses, hogy ennek a hatásnak mekkora része köszönhető a vérlemezkek gátlásának, és mekkora rész tulajdonítható a COX direkt gátlásának más sejtekben, mint például a tumor sejtekben. (222) A kevés szisztémás hatással bíró, főként csak a vérlemezkéket gátló kis dózisu, lassan felszívódó formulájú acetyl-szalicilsav is hasonlóan preventívnek bizonyult. (223) Emellett, az aszpirin féléletideje rövid (20 perc) a keringésben. A naponta adagolt alacsony dózisu aszpirin képes irreverzibilisen és teljes mértékben gátolni a vérlemezkek COX-1 aktivitását és TXA-2 termelését; ennek következményeként a vérlemezkek aszpirin okozta funkciókiesése a két bevett dózis között eltelt időben is fennáll. Viszont ezzel az adagolással nem lehet fenntartani a maggal bíró sejtek COX-2 gátlását, mivel a magvas sejtek pár órán belül képesek a COX izozimek de novo szintézisére, míg a vérlemezkek nem. Magasabb dózisu aszpirin (pl. 3x650 mg/nap) szükséges a COX-2 gátlás fenntartásához. (222) Mindemellett, a vérlemezkek COX-1

aktivitásának blokkolása a szomszédos tumorsejtek COX-2 képzését és funkcióját is gátolhatja. A trombociták serkentik a COX-2 termelődést a vastagbél tumorsejtjeiben direkt vérlemezke-tumorsejt interakciók és parakrin lipid és fehérje mediátorok közvetítésével. Az aszpirin pedig képes meggátolni a vérlemezkek által mediált COX-2 képződést a trombocita aktivitás gátlásával. (224) Az aszpirin daganatokra kifejtett hatásának hátterében felmerültek a COX enzimtől független mechanizmusok is, mint az NF- $\kappa$ B út módosítása, a tumorsejtek apoptózisának serkentése, a tumorsuppresszor gének hipermetilációjának és a mutációt okozó DNS károsodás gátlása, valamint az intracelluláris RNS acetilációja. Azonban ezeket a hatásokat in vitro körülmények között írták le, a terápiás dózisonál magasabb aszpirin koncentrációknál, és alacsony dózisu aszpirin adagolása mellett a fenti folyamatok létezésére in vivo jelenleg még nincs bizonyíték. (224) A vérlemezkéket gátló acetil-szalicilsav az egyik legígéretesebb gyógyszernek bizonyult a rosszindulatú daganatok kialakulásának és áttétképzésének megelőzésében, különösképpen a kolorektális tumorok esetében. (225) Epeúti, emlő, prosztatata, tüdő, endometrium, hasnyálmirigy és petefészek daganatoknál is felmerült, hogy az acetil-szalicilsav szedése csökkenti azok incidenciáját. (226-231) Fej-nyaki daganatok esetében az eddigi eredmények ellentmondásosak. Wilson és munkatársai eredményei szerint a rendszeres aszpirin szedés szignifikánsan csökkenti a HNSCC rizikóját, de ibuprofénnel kapcsolatban nem találtak ilyen összefüggést. (232) Egy másik vizsgálat ennek ellenkezőjét igazolta, miszerint nem az aszpirin, hanem az ibuprofén rendszeres szedése csökkenti a fej-nyaki daganat előfordulásának kockázatát. (233) Egy 11 vizsgálatot elemző metaanalízis szerint a non-szteroid gyulladásgátlók nem csökkentik szignifikánsan a HNSCC rizikóját, de az ibuprofén és a hosszú távú aszpirin szedéssel kapcsolatban megfigyeltek kis mértékű kockázat csökkenést. (234) Az acetil-szalicilsav, illetve az egyéb non-szteroid gyulladáscsökkentők és vérlemezke gátló szerek feltételezett antitumorális és trombocita aggregációt gátló hatása miatt vizsgálatunkból kizártuk azon betegeket, akik ilyen gyógyszert szedtek, így az emelkedett vérlemezkeszám túlélésre gyakorolt hatását ettől a tényezőtől függetlenül tudtuk elemezni.

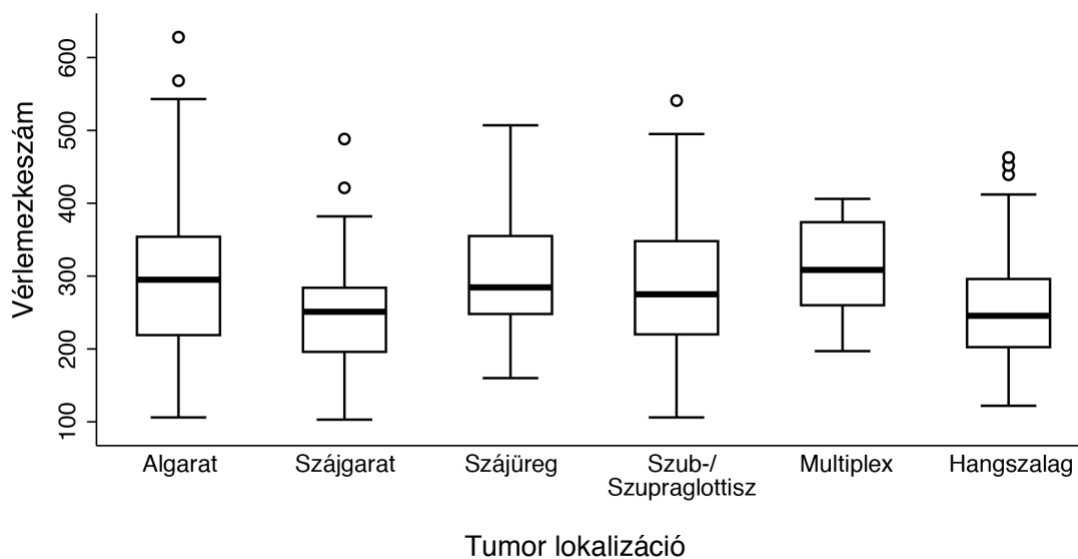
Az összefüggés a trombocitaszám és a túlélés között a különféle közlemények alapján nem egyértelmű, és arra egyelőre nincs válasz, hogy milyen tényezők állnak az eltérő eredmények hátterében. Egy 8 elemzést összehasonlító metaanalízis szerint a trombocitózis összefüggésbe hozható a rövidebb teljes túléléssel HNSCC-ben. (203) Pardo és munkacsoportja szignifikáns összefüggést talált az emelkedett vérlemezkeszám és a túlélés között, viszont multivariáns analízisben a trombocitózis már elvesztette prognosztikai értékét. (200) Érdekes kérdést vet fel, hogy Rachidi és mtsai HNSCC mellett mind alacsonyabb és mind magasabb

vérlemezkeszámoknál is összefüggést találtak a rosszabb túléléssel, bár trombocitopénia esetén az eredmény nem volt szignifikáns. (201) Chen munkacsoportja orrgarati tumoroknál észlelt 150 G/l alatti és 300 G/l feletti szinteknél szignifikánsan rosszabb túlélést. (235) Saját vizsgálatunkban is - mind univariáns, mind multivariáns elemzéssel-, szignifikáns összefüggést találtunk a rosszabb túlélés és a kezelés előtti emelkedett vérlemezkeszám között. Már a klinikai trombocitózisnál alacsonyabb értéknél, 315 G/l-es vérlemezkeszám fölött is kétszeres halálozási arányt figyeltünk meg.

### 5.1.3 A vérlemezkeszám, a lokalizáció és a túlélés kapcsolata

A különféle lokalizációkból kiinduló tumoroknak eltérő a prognózisa. A gégerákos betegek halálozási aránya a legalacsonyabb, ezt követik a szájüregi, majd a szájgarati kiindulású daganatok, végül a legmagasabb mortalitás az algarati tumoroknál tapasztalható. (29) Az áttétek jelenléte jelentős mértékben rontja az életkilátásokat. A nyirokcsomó metasztázis az agresszívabb tumorok jellemzője, amelyeknél nagyobb arányban fordul elő terápia rezisztencia és távoli áttét. A helyi áttétek megléte, a távoli metasztázisoktól függetlenül a túlélés esélyét 50%-kal csökkenti. (236) Ebből a szempontból azonban különbséget kell tennünk a HPV+ és HPV- daganatok között, mivel annak ellenére, hogy a HPV+ tumorok magas lokális metasztatizáló képességgel bírnak, mégis jobb prognózisúak a HPV-negatívakhoz képest. (5) Az áttétes nyirokcsomók megjelenése a szájüregi és gége eredetű daganatoknál a legritkébb, míg a száj- és algarati tumorok mellett nagyobb eséllyel találunk pozitív nyirokcsomókat. (236)

Pardo és mtsai algarati daganatoknál találtak szignifikáns összefüggést a vérlemezkeszám és a betegség-specifikus túlélés között. (200) Mások szájüregi tumorokban (199) és az orrgaratban (198) láttak rövidebb túlélést. Vizsgálatunk során eltérő vérlemezkeszámokat találtunk a különféle anatómiai lokalizációkban (15. ábra). Legmagasabb arányban az algarati lokalizációjú daganatoknál észleltünk küszöbérték feletti trombocita szintet, ami korrelál az irodalmi adatokkal, de a tumor elhelyezkedése nem befolyásolta szignifikánsan az 5 éves túlélést. Emellett a multivariáns Cox regresszió elemzés a lokalizáció és a túlélés között szintén nem mutatott szignifikáns összefüggést. Erre az adhat magyarázatot, hogy a betegeket további alcsoportokra osztva, egy-egy csoport létszáma a statisztikai elemzéshez túlságosan alacsony volt.



15. ábra: Doboz ábrák a tumor lokalizáció szerinti vérlemezeszámról (Vastag vonalak: mediánok, doboz határok: interkvartilis terjedelmek, bajuszok: felső és alsó végpontok, pontok: kiugró adatok)

#### 5.1.4 A nem túlélést befolyásoló szerepe

Bizonyos rosszindulatú daganatok incidenciája és halálozási aránya még a foglalkozással és a dohányzási és alkohol fogyasztási szokásokkal kapcsolatos tényezők statisztikai korrekciója után is eltérést mutat a nemek között. Ez a betegség kialakulásának sejtes és molekuláris különbségeire utal a két nem között. Férfiaknál körülbelül háromszor nagyobb eséllyel jelentkezik HNSCC. Az Egyesült Államokban férfiak esetében a 7-ik leggyakoribb rosszindulatú daganat, míg nőknél csak a 13-ik. (237) A 2020-as adatok szerint a betegség előfordulása az Egyesült Államokban férfiaknál 14,8, nőknél 4,6 100.000 lakosra számítva. Európában ezek a számok férfiaknál 18,8, nőknél 3,9. Magyarországon 2020-ban a fej-nyak daganatok incidenciája 100.000 lakosból 29,7 volt férfiak esetében, míg nőknél ez a szám 8,0. (7) Erre a jelentős eltérésre nem adnak kielégítő magyarázatot a nemek különböző dohányzási és alkohol fogyasztási szokásai. Emellett nőknél alacsonyabb a HPV fertőzöttség, annak ellenére, hogy az orális szexuális partnereik száma arányaiban nem kevesebb, mint a férfiaknak. A nemi eltérések valószínűleg a nemi kromoszómák és hormonok által mediált alapvető biológiai különbségeket tükrözik, amiknek fej-nyaki tumorokkal kapcsolatos szerepe jelenleg csak részben ismert. (238)

A mérsékelt vashiány serkenti a vérlemezke termelést. A nőknél tapasztalható magasabb vérlemezkeszám háttérben a menstruáció okozta vérvesztéséget tartották felelősnek, de ez a jelenség idősebb korban is fennáll, ami inkább arra enged következtetni, hogy mindennek hormonális oka lehet. (239) A megakariocita differenciáció utolsó állomásaként az érett, poliploid megakariociták citoplazmája drasztikus morfológiai változáson megy át. Ezt a folyamatot nevezik elő-vérlemezke formációnak (proplatelet formation - PPF), ami több ezer vérlemezke felszabadulását eredményezi. Állatkísérletben bizonyították, hogy a PPF nem TPO függő folyamat, hanem a megakariociták által szintetizált ösztadiol indítja be. Emellett a sejtkultúrához adott extracelluláris  $17\beta$ -ösztadiol is serkenti a PPF-et. Ezzel ellentétben a tesztoszteron, a progeszteron és a dexametazon nincs hatással a PPF-re. (240) Ez magyarázza azt a tényt, hogy az ösztrogén tartalmú orális fogamzásgátlók szedése és a hormonpótló kezelések 2-6-szorosára emelik a vénás trombembólia kockázatát nőknél. (241)

A nők és a férfiak különböző autoimmun és fertőző betegségekre való fogékonysága jelentősen különbözik egymástól, ami azt jelenti, hogy a nem az immunrendszer szempontjából egy igen fontos biológiai változó, és bizonyos daganatok immunológiai háttere is eltérő lehet a két nemnél. (242) Lin és mtsai azt az összefüggést találták, hogy az emelkedett vérlemezkeszám rövidebb teljes túléléssel jár férfiaknál, de nőknél nem. Nők esetében nem a vérlemezkeszám, hanem a keringő limfocitaszám korrelált a teljes túléléssel. A tumort infiltráló magas T limfocita szám mindkét nemnél szignifikánsan hosszabb túléléssel járt. Azonban a túlélésbeni különbség a női magas és alacsony limfocita számmal bíró csoportok között több, mint kétszerese volt a férfiak magas és alacsony sejtszámú csoportjaihoz képest. Gén expressziós analízissel nőknél fokozottabb immunsejtes beszűrődést láttak a tumor mikro környezetében, ami magyarázhatja a trombocitózis prognózisra kifejtett eltérő hatását a nemek között. (243) A jelenség háttérben a vérlemezke aktivitás, immunitás és hemosztázis nemi különbségei merültek fel. Férfiaknál a vérlemezkék jelátvivő és aktiváló fehérjéinek magasabb szintjét találták, ami rosszabb daganatos túléléshez vezethet. A vérlemezke eredetű TGF- $\beta$  nem csak a tumor növekedését és az áttétképzést segíti elő, hanem szerepet játszik a perifériás naív T sejtek szabályozó T sejtekké történő átalakításában, ami gyengítheti a tumorelles immunfunkciót. (244-246) Emellett magasabb perifériás limfocita, és IL-2 termelő limfocita szinteket találtak nőknél, mint férfiaknál. (247) A nők magasabb perifériás T sejtszáma hozzájárulhat a hatékonyabb immunfunkcióhoz és magyarázhatja a tumort infiltráló limfociták magasabb számát. Utóbbi összefüggésbe hozták több rosszindulatú daganat kedvezőbb prognózisával, mint pl. a melanoma és a kolorektális daganatok esetében, amelyek incidenciája és túlélése eltérést mutat a nemek között. (248, 249) Saját vizsgálatunk szerint a magasabb

vérlemezkeszám mellett a férfi nem emelkedett 5 éves mortalitással függött össze, ami megfelel más munkacsoportok eredményeinek, bár az összefüggés nem volt szignifikáns.

## 5.2 Az NLR és a PLR prognózist befolyásoló szerepe

A krónikus gyulladás prognózist befolyásoló szerepét fej-nyaki daganatoknál is leírták már. (250) A neutrofil sejtek tulajdonképpen elősegítik a tumor növekedését és az áttétképződést - ezek a sejtek képesek gátolni a limfocita aktivitást, és ezáltal csökkentik a tumor ellenes immunválaszt. (179) A neutrofilok többféleképpen képesek hozzájárulni a karcinogenezishez és a tumor progressziójához: 1) Ezekből a sejtekből genotoxikus anyagok szabadulnak fel, amik károsítják a laphámsejtek DNS-ét. 2) Szolubilis faktorok és proteázok, mint a prosztaglandin E2 és neutrofil elasztáz felszabadítása révén elősegíthetik a tumor növekedését. 3) A neutrofil sejtek az extracelluláris mátrix lebontásával is elősegítik a tumorsejtek migrációs képességét és invazív terjedését. 4) Proangiogén faktorok, mint a mátrix metalloproteináz-9 és VEGF termelésével hozzájárulnak új erek képződéséhez. 5) A neutrofilok immunszuppresszív tevékenységet is kifejtnek az effektor T-sejtek és az NK-sejtek proliferációjának és funkciójának gátlásával, illetve a makrofág aktivitás modulációjával is fokozzák a tumor növekedést és áttétképződést. (251)

### 5.2.1 Az NLR és PLR küszöbértékének meghatározása

A normál NLR értékek 0,78-3,53 között mozognak (252), míg a PLR esetén ez a tartomány 36,63-172,68 közé tehető. (253) Az NLR és PLR cut-off értéke a különböző közleményekben széles skálán mozog (NLR: 2,0-4,2, PLR: 105,3-170). (254, 191, 255) Yang és mtsai metaanalízisükben az elemzett vizsgálatokat két csoportra osztották az NLR választott cut-off szintje szerint ( $NLR \geq 2$  és  $NLR < 2$ ). Az emelkedett NLR és rövidebb OS közti kapcsolat mindkét csoportban szignifikáns volt, bár az utóbbi csoportban az összefüggés mérsékeltebbnek bizonyult ( $NLR \geq 2$  esetén  $p < 0,001$ , és  $NLR < 2$  esetén  $p = 0,041$ ). (256) (257) Cho és mtsai összehasonlító elemzésükben az optimális NLR cut-off értéket kívánták meghatározni. Azt találták, hogy az 1,9 és 6 közötti bármely cut-off érték alkalmas az alacsony és magas rizikójú csoportok elkülönítésére. (258) Bardash és csapatának metaanalízisében a medián (146,2) PLR felett láttak alacsony heterogenitást a túlélésben, és szignifikáns összefüggést a PLR és az OS között. (257) Saját vizsgálatunkban a már részletezett statisztikai módszerrel meghatározott optimális küszöbérték 107 volt a PLR, és 3,9 volt az NLR esetében.

### 5.2.2 Az NLR, a PLR és a túlélés kapcsolata

Több munkacsoport (259, 254, 260) is magasabb NLR és/vagy PLR mellett rosszabb túlélést talált, bár ezen vizsgálatokban vagy csak egy bizonyos módszerrel kezelt, vagy csak bizonyos primer lokalizációjú vagy stádiumú pácienseket vizsgáltak. Cho és mtsai szignifikánsan rövidebb DFS-t és OS-t igazoltak emelkedett NLR mellett. Magas PLR szintén rövidebb DFS-sel járt, az OS esetén viszont az összefüggés csak a szignifikancia határán volt ( $p=0,096$ ). (252) Rachidi és kutatócsoportja az NLR és OS adatok elemzése során szintén azt az összefüggést találta, hogy a magas NLR rövidebb teljes túléléssel társul, és az összefüggés multivariáns analízissel is szignifikáns. (261) Egy már előzőleg is említett, a trombocitózis és a PLR túlélésre gyakorolt hatásával foglalkozó metaanalízis 9 vizsgálat elemzése alapján arra az eredményre jutott, hogy az emelkedett PLR rövidebb OS-sel jár. (203) Bardash és mtsai egy 13 vizsgálatot bevonó metaanalízisben 4541 beteg adatait elemezték, amely során azt találták, hogy a magas PLR mind az OS, mind a DFS és mind a betegség-specifikus túlélés független prognosztikai tényezője. (257) Yang és mtsai metaanalízisükben 25 közleményben szereplő 29 kohorsz eredményeit értékelve arra jutottak, hogy az emelkedett NLR szignifikánsan rosszabb OS-sel, DFS-sel és tumorspecifikus túléléssel jár. Emellett a PLR szintje és az OS és DFS között nem igazoltak szignifikáns összefüggést. (256) További metaanalízisek is megerősítették az NLR szerepét az OS és a DFS vonatkozásában. (262) (258) Seetohul és mtsai HNSCC-ben szenvedő és egészséges egyének NLR és PLR értékeit is összevetették. Azt találták, hogy mindkét érték szignifikánsan magasabb a daganatos csoportban, emellett a magas PLR és NLR a T és N stádiummal is statisztikailag szignifikáns összefüggést mutatott. (263) Eredményeink szerint az emelkedett PLR szignifikánsan rosszabb 5 éves teljes és betegségmentes túléléssel és tumorspecifikus mortalitással járt. Ezzel ellentétben az NLR esetében csak a tumorspecifikus mortalitás emelkedése volt szignifikáns. Yang és mtsai ázsiai és nem ázsiai csoportokra bontva is végeztek elemzést, amely során azt találták, hogy ázsiaiak közt a DFS szignifikánsan rövidebb magas NLR esetén, viszont a másik csoportban ez az összefüggés a DFS-sel nem állt fenn. (256) Ugyan csak két vizsgálatban szerepeltek nem ázsiai páciensek adatai, de ez az eredmény korrelál azzal, hogy a saját, európai betegcsoportunkban szintén nem találtunk összefüggést az NLR és a DFS között.

Rassouli és mtsai eredményei szerint a PLR a mortalitás, az NLR pedig a kiújulás független kockázati tényezője, így ezek segítségével gyorsan és gazdaságosan lehet azonosítani az előrehaladott betegségben szenvedő pácienseket. Emellett azt találták, hogy az NLR és a PLR együttes figyelembe vétele legalább annyira megbízható prognosztikai markere a



túlélésnek, mint a TNM stádium beosztás. (191) Ennek megfelel az az eredmény, amit a PLR és NLR értékek kombinációját vizsgálva láttunk. Az 5 éves túlélés akkor volt a legmagasabb, amikor sem a PLR, sem az NLR nem haladta meg a küszöbértéket. Ezzel szemben a túlélési arány akkor volt a legalacsonyabb, ha mind az NLR és PLR emelkedett volt.

### 5.2.3 Az NLR, a PLR, a kezelés módja és a túlélés közötti összefüggés

Különböző munkacsoportok azt is vizsgálták, hogy a kezelés módja és az azt megelőző PLR és NLR értékek között van-e összefüggés. A fent említett, Cho és mtsai által végzett vizsgálatban a terápia típusától függetlenül rosszabb volt mind a DFS, mind az OS, bár ők csak sugárkezeléssel, CCRT-vel, illetve indukciós kemoterápia és CCRT kombinációjával kezelt betegek adatait elemezték. Mindazonáltal emelkedett NLR előrehaladottabb klinikai stádiummal társult, ezért ezek a betegek gyakrabban részesültek CCRT-ben, magasabb volt a besugárzás összdózisa és hosszabb a radioterápia időtartama. Az agresszívebb kezelés ellenére nagyobb volt a valószínűsége a kedvezőtlen onkológiai kimenetelnek magas NLR esetén, ami a betegség stádiumától függetlenül bizonyult. (252) Abelardo és mtsainak vizsgálata azt igazolta, hogy akár sebészi úton, akár radiokemoterápiával kezelték a betegeket, az emelkedett PLR háromszoros, az emelkedett NLR pedig két és félszeres halálozási kockázattal járt a normál PLR-rel, illetve NLR-rel rendelkező betegcsoportokhoz képest. (264) Karpathiou és mtsai azt vizsgálták, hogy milyen faktorok alkalmasak az indukciós kemoterápiára adott kedvező válasz megjósolására. Eredményeik szerint ezek a gazdag limfocita sejtes beszűrődés, a nem orofaringeális kiindulású daganat, és az alacsony kezelés előtti PLR szint. (260) Saját eredmények szerint - az imént említett első két vizsgálattal összhangban - az elsődleges kezelési modalitás nem befolyásolta szignifikánsan a PLR-t és NLR-t, hanem mindkét érték a kezelési stratégiát leginkább befolyásoló két tényezővel, a tumor stádiummal és a primer tumor méretével mutatott szignifikáns összefüggést.

### 5.2.4 Az NLR, a PLR, a lokalizáció és a túlélés kapcsolata

Az NLR prognosztikai jelentőségét primer lokalizáció szerint is vizsgálták nazo-, oro-, hipofaringeális és gége daganatoknál. Az összefüggés szignifikánsnak bizonyult az orr- és algarati, valamint a gége tumorainál, a szájgarati lokalizációban ezt nem sikerült igazolni. (252) Ezzel ellentétben a fent említett, Yang és mtsai által végzett metaanalízis eredménye szerint a magas NLR valamennyi lokalizációban rosszabb onkológiai kilátásokat vetít előre. (256)

Mascarella és mtsai 24 közleményt elemző metaanalízisében szintén szignifikáns összefüggést mutattak ki szájüregi, orrgarati, gége és algarati tumorok halálozási aránya és az emelkedett NLR között. A legmagasabb kockázatot algarati tumoroknál látták, a legalacsonyabbat pedig gége és szájüregi daganatok esetében. (265) Vizsgálatunkban nem találtam semmilyen szignifikáns különbséget az NLR és a tumor különböző kiindulási helyei között. Viszont a küszöb feletti PLR értékkel bíró betegek aránya szignifikánsan különbözött primer területek szerint: a legmagasabb az algarati, és legalacsonyabb a szájgarati tumoroknál volt. A HPV státusz nem volt hozzáférhető az elemzésünkhöz, de a szájgaratban gyakran előforduló HPV-pozitív tumorok magyarázatot adhatnak a magas PLR érték fent említett alacsonyabb incidenciájára ebben a tumor lokalizációban. A HPV-fertőzés befolyásolhatja a gyulladással választ a fehérvérséj eloszlás megváltoztatásával, ezáltal változik az NLR és PLR érték. (261) A HPV+ és HPV- fej-nyaki laphámrákok mellett kialakuló immunaktiváció eltéréseinek vizsgálata során HPV+ laphámrákoknál azon gének fokozott expresszióját találták, amelyek immunológiai folyamatokban vesznek részt. A HPV+ tumorok mikrokörnyezetében magasabb az infiltráló T- és B-sejtek száma, és alacsonyabb a neutrofil sejteké, a HPV-negatívakhoz viszonyítva. A T-sejtek további analízisével arra is fény derült, hogy a HPV+ rákoknál a citotoxikus T-sejtek dominálnak. Ezen felül az M1/M2 makrofág arány is magasabbnak bizonyult. Ezen immunsejtek infiltrációja korrelált bizonyos citokin-asszociált gének megváltozott expressziójával. A fokozott B-sejt és CD8+ T-sejt infiltráció független protektív faktornak tekinthető, míg a magas neutrofil infiltráció rizikófaktornak minősül a HPV+ fej-nyaki laphámrákos betegek számára. (24) Rosculet és mtsai vizsgálatuk során hasonló eredményekre jutottak. Azt találták, hogy az NLR jó indikátora a betegségmentes és teljes túlélésnek is, de nincs független prognosztikai jelentősége, amikor a HPV státuszt beillesztik a multivariáns elemzésbe. (266)

## 6 Következtetések

Saját vizsgálatunkkal is igazoltuk, hogy a fej-nyaki daganatok esetében hasznos prognosztikai faktornak tűnik a tumorhoz társult vérlemezkeszám. Az egyes lokalizációkban eltér a trombocitaszám, de eredményeink szerint ez a túlélést nem befolyásolja. A vérlemezkeszám olcsón, egyszerűen mérhető, a mérés könnyen ismételhető, emellett daganatos betegeknél rutinszerűen vizsgált paraméter. Tumoros páciensek esetében érdemes nagyobb figyelmet fordítani az emelkedett vérlemezkeszáma.

A betegek adatai alapján meghatározott 3,9-es küszöb feletti NLR érték az 5 éves túlélés független rizikófaktorának tekinthető a fej-nyaki régió rosszindulatú daganatainál. Az NLR szorosan korrelált mind a primer tumor méretével, mind a malignus betegség stádiumával. Továbbá a küszöb feletti NLR érték a primer tumor kiterjedésére, a rosszindulatú betegség stádiumára, demográfiai paraméterekre és a betegség egyéb jellemzőire kontrollált modellekben is fokozott kockázatot jelent a teljes túlélés illetőleg. A jövőben emiatt javasoljuk az NLR-t, mint az 5 éves teljes túlélés rizikófaktorát használni a rutin klinikai gyakorlatban, amelynek segítségével a magasabb kockázatú betegek azonosíthatóak, és esetükben megfontolandó adjuváns kezelés alkalmazása. Azonban nem találtunk szignifikáns összefüggést az NLR és a betegségmentes túlélés között, illetve ez a korreláció nem volt konzisztens a tumorspecifikus túlélés tekintetében sem. Mindemellett kívánatos lenne egy átfogó tanulmány elvégzése a témában egyéb lokalizációjú fej-nyaki laphámrákok (pl. pajzsmirigy vagy nyálmirigyek) vizsgálatával.

Főbb megállapításaink:

1. A vérlemezkeszám az 5 éves teljes túlélés független, szignifikáns előrejelzője.
2. Az emelkedett vörösvérsejtszám csökkent 5 éves halálozási kockázattal jár, de a vérlemezkeszám ettől független prognosztikai faktor.
3. A különféle anatómiai lokalizációkban eltérnek a vérlemezkeszámok, de ez nem befolyásolja a túlélést.
4. A magasabb vérlemezkeszám mellett a férfi nem emelkedett 5 éves mortalitással függ össze, bár az összefüggés nem szignifikáns.
5. Az emelkedett PLR szignifikánsan rosszabb 5 éves teljes és betegségmentes túléléssel és tumorspecifikus mortalitással jár.
6. 3,9-es küszöb feletti NLR esetében a tumorspecifikus mortalitás emelkedése szignifikáns.

7. Többváltozós elemzésünk szerint a küszöb feletti NLR érték az 5 éves túlélés független rizikófaktorának tekinthető.

8. Az 5 éves túlélés akkor a legmagasabb, amikor sem a PLR, sem az NLR nem haladja meg a küszöbértéket.

9. A túlélési arány akkor a legalacsonyabb, ha mind az NLR és PLR emelkedett.

10. Nincs szignifikáns kapcsolat az elsődleges kezelési modalitás és a terápiát megelőző NLR és PLR értékek között.

11. Nincs szignifikáns különbség az NLR és a tumor különböző kiindulási helyei között.

12. A küszöb feletti PLR értékkel bíró betegek aránya szignifikánsan különbözik a primer területek szerint: a legmagasabb az algarati, és legalacsonyabb a szájgarati tumoroknál.

## 7 Összefoglalás

Régóta ismert, hogy a daganatokhoz társuló emelkedett vérlemezkeszám rosszabb túléléssel társul, ezért felmerült, hogy alkalmas lehet a prognózis előrejelzésére. Emellett a neutrofil-limfocita és vérlemezke-limfocita arány (NLR és PLR) is hasznosnak bizonyult szolid rosszindulatú daganatok prognózisának becslésénél. Fej-nyak tumoros betegek esetében kevés információ áll rendelkezésünkre ezzel az összefüggéssel kapcsolatban.

Vizsgálatunk célja a fej-nyak tumoros betegek prognózisa és az emelkedett vérlemezkeszám, NLR és PLR közötti összefüggés tanulmányozása volt.

Különböző stádiumú és lokalizációjú fej-nyak tumoros betegek retrospektív adatait elemeztük. A műtét előtti vérlemezkeszámokat, NLR-t és PLR-t vizsgáltunk, 300 G/l értéket tekintettük emelkedett trombocita számnak, az NLR esetében 3,9, PLR esetében 107 volt a küszöbérték.

A vérlemezke, NLR és PLR hatását a túlélésre Kaplan-Meier módszerrel és multivariáns Cox-regresszióval elemeztük.

Emelkedett trombocitaszám mellett szignifikánsan rosszabb túlélést észleltünk ( $p=0,007$ ). Ez az összefüggés még akkor is fennállt, amikor multivariáns analízissel a nemre, korra, stádiumra, differenciáltsági fokra, lokalizációra, valamint fehér- és vörösvérsejtszámra korrigáltuk az elemzést ( $p=0,027$ ). A különböző anatómiai lokalizációkban eltérő mértékben észleltünk 300 G/l feletti vérlemezkeszámot (algarat: 43,6%, szub-/szupraglottisz: 35,8%, szájüreg: 35,7%, hangszalag: 22,5%, szájgarat: 19%, multiplex: 50%), azonban ez nem befolyásolta szignifikánsan a túlélést ( $p=0,603$ ).

Az 5 éves túlélés tekintetében a küszöb alatti és feletti PLR értékkel rendelkező csoport között a különbség statisztikailag szignifikáns volt ( $p=0,004$ ), és ugyanezt találtuk a betegségmentes ( $p=0,045$ ) és tumorspecifikus túlélésnél is ( $p=0,009$ ). Az NLR-t illetően a különbség a tumorspecifikus túlélést illetően szignifikáns volt ( $p=0,06$ ). A multivariáns elemzés szerint a küszöb feletti NLR érték a teljes ( $p=0,002$ ) és tumorspecifikus mortalitás fokozott rizikójával jár ( $p=0,007$ ).

A daganathoz társuló magas vérlemezkeszám összefüggésbe hozható a fej-nyak tumoros betegek rosszabb túlélésével. Az egyes lokalizációkban talált különböző vérlemezkeszámok nem befolyásolják eltérő mértékben a túlélést. Emellett megfontolandó az emelkedett NLR 5 éves teljes túlélés független rizikófaktoraként való használata fej-nyak tumoros betegeknél.

## 8 Summary

The correlation between cancer-related thrombocytosis and worse survival has been described with a variety of solid neoplasms. Besides this, the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), and the platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) are also useful for drawing conclusions about the survival of patients with certain malignant tumors. However, only limited data are available on the prognostic significance of these values in head and neck tumours.

We studied the relationships between the survival of HNSCC patients, elevated platelet count and PLR as well as NLR.

Clinical data of patients managed for HNSCC of various stages and locations were analysed retrospectively. Preoperative platelet counts, NLR and PLR were analysed; elevated thrombocyte count was defined as 300 G/l or higher, for NLR 3.9, and for PLR 107 was the threshold.

The influence of platelet count, NLR and PLR on survival was calculated with the Kaplan–Meier method, as well as with multivariate Cox regression.

In patients with excessive thrombocyte count, overall survival was significantly worse ( $p=0.007$ ). This association remained significant even after adjusting the multivariate analysis for age, gender, as well as tumour stage, grade, location, red and white blood cell count ( $p=0.027$ ). The magnitude of elevated platelet count differed among tumours of different anatomical location (hypopharynx: 43.6%, sub-/supraglottis: 35.8%, oral cavity: 35.7%, vocal cord: 22.5%, oropharynx: 19%, multiple: 50%), but this did not affect survival significantly ( $p=0.603$ ).

With regard to 5-year survival, the difference between the two groups with PLR values lower or higher than the threshold was statistically significant ( $p=0.004$ ), and we found the same for disease-free survival ( $p=0.045$ ) and tumour-specific mortality ( $p=0.009$ ). Concerning NLR, the difference in tumour-specific survival was statistically significant ( $p=0.06$ ). According to the multivariate analysis, NLR values higher than the threshold indicated enhanced risk for overall ( $p=0.002$ ) as well as for tumor-specific mortality ( $p=0.007$ ).

Elevated platelet count may be related to a worse prognosis in head and neck squamous cell carcinoma patients. The impact of higher thrombocyte count does not vary with the anatomical location of the tumour. In HNSCC patients, a high NLR may be considered as an independent risk factor for 5-year overall survival.

## 9 Irodalomjegyzék

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. (2019) Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*, 144: 1941-1953.
2. Bosetti C, Carioli G, Santucci C, Bertuccio P, Gallus S, Garavello W, Negri E, La Vecchia C. (2020) Global trends in oral and pharyngeal cancer incidence and mortality. *Int J Cancer*, 147: 1040-1049.
3. Miranda-Filho A, Bray F. (2020) Global patterns and trends in cancers of the lip, tongue and mouth. *Oral Oncol*, 102: 104551.
4. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, Forman D, Bray F. (2013) Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer*, 49: 1374-1403.
5. Huang SH, O'Sullivan B. (2017) Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Curr. Treat. Options Oncol.*, 18: 40.
6. Remenár É. (2009) Citogenetikai és hormonális változások fej-nyaki laphámrákos betegekben: Potenciális biomarkerek a funkciómegtartó onkológiai sebészet számára. *Magy. Onkol.*, 53: 157-164.
7. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. (2021) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*.
8. Cole L, Polfus L, Peters ES. (2012) Examining the incidence of human papillomavirus-associated head and neck cancers by race and ethnicity in the U.S., 1995-2005. *PLoS One*, 7: e32657.
9. Wu J, Mu Q, Thiviyanathan V, Annapragada A, Vigneswaran N. (2014) Cancer stem cells are enriched in Fanconi anemia head and neck squamous cell carcinomas. *Int. J. Oncol.*, 45: 2365-2372.
10. Tromp DM, Brouha XD, Hordijk GJ, Winnubst JA, de Leeuw JR. (2005) Patient factors associated with delay in primary care among patients with head and neck carcinoma: a case-series analysis. *Fam Pract*, 22: 554-559.

11. Ho T, Zahurak M, Koch WM. (2004) Prognostic significance of presentation-to-diagnosis interval in patients with oropharyngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 130: 45-51.
12. Hawkshaw MJ, Sataloff JB, Sataloff RT. (2013) New concepts in vocal fold imaging: a review. *J. Voice*, 27: 738-743.
13. Crosetti E, Pilolli F, Succo G. (2012) A new strategy for endoscopic staging of laryngeal carcinoma: multistep endoscopy. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.*, 32: 175-181.
14. Pignon J-P, le Maître A, Maillard E, Bourhis J, Group M-NC. (2009) Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother. Oncol.*, 92: 4-14.
15. Rosenthal EL, Warram JM, de Boer E, Chung TK, Korb ML, Brandwein-Gensler M, Strong TV, Schmalbach CE, Morlandt AB, Agarwal G, Hartman YE, Carroll WR, Richman JS, Clemons LK, Nabell LM, Zinn KR. (2015) Safety and Tumor Specificity of Cetuximab-IRDye800 for Surgical Navigation in Head and Neck Cancer. *Clin. Cancer Res.*, 21: 3658-3666.
16. Pleijhuis RG, Langhout GC, Helfrich W, Themelis G, Sarantopoulos A, Crane LMA, Harlaar NJ, de Jong JS, Ntziachristos V, van Dam GM. (2011) Near-infrared fluorescence (NIRF) imaging in breast-conserving surgery: assessing intraoperative techniques in tissue-simulating breast phantoms. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 37: 32-39.
17. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen H-J, Group AL-GS. (2006) Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol.*, 7: 392-401.
18. Gao RW, Teraphongphom N, de Boer E, van den Berg NS, Divi V, Kaplan MJ, Oberhelman NJ, Hong SS, Capes E, Colevas AD, Warram JM, Rosenthal EL. (2018) Safety of panitumumab-IRDye800CW and cetuximab-IRDye800CW for fluorescence-guided surgical navigation in head and neck cancers. *Theranostics*, 8: 2488-2495.



19. Lu G, Little JV, Wang X, Zhang H, Patel MR, Griffith CC, El-Deiry MW, Chen AY, Fei B. (2017) Detection of Head and Neck Cancer in Surgical Specimens Using Quantitative Hyperspectral Imaging. *Clin. Cancer Res.*, 23: 5426-5436.
20. Ferris RL, Blumenschein G, Jr., Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, Harrington K, Kasper S, Vokes EE, Even C, Worden F, Saba NF, Iglesias Docampo LC, Haddad R, Rordorf T, Kiyota N, Tahara M, Monga M, Lynch M, Geese WJ, Kopit J, Shaw JW, Gillison ML. (2016) Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N. Engl. J. Med.*, 375: 1856-1867.
21. Leoncini E, Vukovic V, Cadoni G, Pastorino R, Arzani D, Bosetti C, Canova C, Garavello W, La Vecchia C, Maule M, Petrelli L, Pira E, Polesel J, Richiardi L, Serraino D, Simonato L, Ricciardi W, Boccia S. (2015) Clinical features and prognostic factors in patients with head and neck cancer: Results from a multicentric study. *Cancer Epidemiol.*, 39: 367-374.
22. Mária G. (2013) A multimodális képalkotói diagnosztika szerepe és felelőssége fej-nyaki daganatoknál. *Magy. Onkol.*, 57: 182-202.
23. Emerick KS, Leavitt ER, Michaelson JS, Diephuis B, Clark JR, Deschler DG. (2013) Initial clinical findings of a mathematical model to predict survival of head and neck cancer. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 149: 572-578.
24. Chen X, Yan B, Lou H, Shen Z, Tong F, Zhai A, Wei L, Zhang F. (2018) Immunological network analysis in HPV associated head and neck squamous cancer and implications for disease prognosis. *Mol. Immunol.*, 96: 28-36.
25. Hashibe M, Brennan P, Benhamou S, Castellsague X, Chen C, Curado MP, Maso LD, Daudt AW, Fabianova E, Wunsch-Filho V, Others. (2007) Alcohol drinking in never users of tobacco, cigarette smoking in never drinkers, and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *J. Natl. Cancer Inst.*, 99: 777-789.
26. Li Y, Mao Y, Zhang Y, Cai S, Chen G, Ding Y, Guo J, Chen K, Jin M. (2014) Alcohol drinking and upper aerodigestive tract cancer mortality: a systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol.*, 50: 269-275.
27. Zimmaro LA, Sephton SE, Siwik CJ, Phillips KM, Rebholz WN, Kraemer HC, Giese-Davis J, Wilson L, Bumpous JM, Cash ED. (2018) Depressive symptoms

- predict head and neck cancer survival: Examining plausible behavioral and biological pathways. *Cancer*, 124: 1053-1060.
28. Nakajima Y, Iijima Y, Kinoshita H, Akiyama H, Beppu T, Uramoto H, Hirata T. (2017) Surgical Treatment for Pulmonary Metastasis of Head and Neck Cancer: Study of 58 Cases. *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 23: 169-174.
  29. Gatta G, Botta L, Sánchez MJ, Anderson LA, Pierannunzio D, Licitra L, Group EW. (2015) Prognoses and improvement for head and neck cancers diagnosed in Europe in early 2000s: The EUROCARE-5 population-based study. *Eur. J. Cancer*, 51: 2130-2143.
  30. Wong YF, Yusof MM, Wan Ishak WZ, Alip A, Phua VCE. (2015) Treatment outcome for head and neck squamous cell carcinoma in a developing country: University Malaya Medical Centre, Malaysia from 2003-2010. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 16: 2903-2908.
  31. Atienza JAS, Dasanu CA. (2012) Incidence of second primary malignancies in patients with treated head and neck cancer: a comprehensive review of literature. *Curr. Med. Res. Opin.*, 28: 1899-1909.
  32. Cannistra SA, Griffin JD. (1988) Regulation of the production and function of granulocytes and monocytes. *Semin Hematol*, 25: 173-188.
  33. Lieschke GJ, Burgess AW. (1992) Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (1). *N Engl J Med*, 327: 28-35.
  34. Boggs DR. (1967) The kinetics of neutrophilic leukocytes in health and in disease. *Semin Hematol*, 4: 359-386.
  35. Seely AJ, Pascual JL, Christou NV. (2003) Science review: Cell membrane expression (connectivity) regulates neutrophil delivery, function and clearance. *Crit Care*, 7: 291-307.
  36. Downey GP, Worthen GS, Henson PM, Hyde DM. (1993) Neutrophil sequestration and migration in localized pulmonary inflammation. Capillary localization and migration across the interalveolar septum. *Am Rev Respir Dis*, 147: 168-176.

37. Schmid-Schönbein GW, Usami S, Skalak R, Chien S. (1980) The interaction of leukocytes and erythrocytes in capillary and postcapillary vessels. *Microvasc Res*, 19: 45-70.
38. Firrell JC, Lipowsky HH. (1989) Leukocyte margination and deformation in mesenteric venules of rat. *Am J Physiol*, 256: H1667-1674.
39. Kunkel SL, Lukacs NW, Strieter RM. (1994) The role of interleukin-8 in the infectious process. *Ann N Y Acad Sci*, 730: 134-143.
40. Jorch SK, Kubes P. (2017) An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*, 23: 279-287.
41. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. (1998) Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, 92: 3007-3017.
42. Kuckleburg CJ, Newman PJ. (2013) Neutrophil proteinase 3 acts on protease-activated receptor-2 to enhance vascular endothelial cell barrier function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33: 275-284.
43. Lacy P. (2006) Mechanisms of degranulation in neutrophils. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2: 98-108.
44. Christoffersson G, Vågesjö E, Vandooren J, Lidén M, Massena S, Reinert RB, Brissova M, Powers AC, Opdenakker G, Phillipson M. (2012) VEGF-A recruits a proangiogenic MMP-9-delivering neutrophil subset that induces angiogenesis in transplanted hypoxic tissue. *Blood*, 120: 4653-4662.
45. Liew PX, Kubes P. (2019) The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiol Rev*, 99: 1223-1248.
46. Scapini P, Bazzoni F, Cassatella MA. (2008) Regulation of B-cell-activating factor (BAFF)/B lymphocyte stimulator (BLyS) expression in human neutrophils. *Immunol Lett*, 116: 1-6.
47. Pillay J, Kamp VM, van Hoffen E, Visser T, Tak T, Lammers JW, Ulfman LH, Leenen LP, Pickkers P, Koenderman L. (2012) A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1. *J Clin Invest*, 122: 327-336.

48. Abi Abdallah DS, Egan CE, Butcher BA, Denkers EY. (2011) Mouse neutrophils are professional antigen-presenting cells programmed to instruct Th1 and Th17 T-cell differentiation. *Int Immunol*, 23: 317-326.
49. Beauvillain C, Delneste Y, Scotet M, Peres A, Gascan H, Guermontprez P, Barnaba V, Jeannin P. (2007) Neutrophils efficiently cross-prime naive T cells in vivo. *Blood*, 110: 2965-2973.
50. Balkwill F, Mantovani A. (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*, 357: 539-545.
51. Rapoport BL, Steel HC, Theron AJ, Smit T, Anderson R. (2020) Role of the Neutrophil in the Pathogenesis of Advanced Cancer and Impaired Responsiveness to Therapy. *Molecules*, 25.
52. Zhao Y, Zhang X, Zhao H, Wang J, Zhang Q. (2018) CXCL5 secreted from adipose tissue-derived stem cells promotes cancer cell proliferation. *Oncol Lett*, 15: 1403-1410.
53. Tecchio C, Scapini P, Pizzolo G, Cassatella MA. (2013) On the cytokines produced by human neutrophils in tumors. *Semin Cancer Biol*, 23: 159-170.
54. Ostrand-Rosenberg S, Fenselau C. (2018) Myeloid-Derived Suppressor Cells: Immune-Suppressive Cells That Impair Antitumor Immunity and Are Sculpted by Their Environment. *J Immunol*, 200: 422-431.
55. Jablonska J, Lang S, Sionov RV, Granot Z. (2017) The regulation of pre-metastatic niche formation by neutrophils. *Oncotarget*, 8: 112132-112144.
56. Mouchemore KA, Anderson RL, Hamilton JA. (2018) Neutrophils, G-CSF and their contribution to breast cancer metastasis. *Febs j*, 285: 665-679.
57. Raftery MJ, Lalwani P, Krautkrämer E, Peters T, Scharffetter-Kochanek K, Krüger R, Hofmann J, Seeger K, Krüger DH, Schönrich G. (2014)  $\beta$ 2 integrin mediates hantavirus-induced release of neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*, 211: 1485-1497.
58. Demers M, Wong SL, Martinod K, Gallant M, Cabral JE, Wang Y, Wagner DD. (2016) Priming of neutrophils toward NETosis promotes tumor growth. *Oncoimmunology*, 5: e1134073.

59. Cools-Lartigue J, Spicer J, McDonald B, Gowing S, Chow S, Giannias B, Bourdeau F, Kubes P, Ferri L. (2013) Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest*, 123: 3446-3458.
60. Demers M, Wagner DD. (2014) NETosis: a new factor in tumor progression and cancer-associated thrombosis. *Semin Thromb Hemost*, 40: 277-283.
61. Cedervall J, Hamidi A, Olsson AK. (2018) Platelets, NETs and cancer. *Thromb Res*, 164 Suppl 1: S148-s152.
62. Wilson JD, Simpson SI. Lymphocyte Function Tests. In: (szerk.), *Diagnostic Immunology and Serology: A Clinicians' Guide*. Springer Netherlands, Dordrecht, 1980: 108-116.
63. Perdue SS, Humphrey JH. (2020) Immune system. *Encyclopedia Britannica*.
64. Britannica TEOE. (2020) Lymphocyte. *Encyclopedia Britannica*.
65. Laurenti E, Göttgens B. (2018) From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes. *Nature*, 553: 418-426.
66. Schatz DG, Ji Y. (2011) Recombination centres and the orchestration of V(D)J recombination. *Nat Rev Immunol*, 11: 251-263.
67. Murugan A, Mora T, Walczak AM, Callan CG, Jr. (2012) Statistical inference of the generation probability of T-cell receptors from sequence repertoires. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109: 16161-16166.
68. van Schoonhoven A, Huylebroeck D, Hendriks RW, Stadhouders R. (2020) 3D genome organization during lymphocyte development and activation. *Brief Funct Genomics*, 19: 71-82.
69. Lambert SA, Jolma A, Campitelli LF, Das PK, Yin Y, Albu M, Chen X, Taipale J, Hughes TR, Weirauch MT. (2018) The Human Transcription Factors. *Cell*, 172: 650-665.
70. Robinette ML, Colonna M. (2016) Immune modules shared by innate lymphoid cells and T cells. *J Allergy Clin Immunol*, 138: 1243-1251.
71. Radtke F, MacDonald HR, Tacchini-Cottier F. (2013) Regulation of innate and adaptive immunity by Notch. *Nat Rev Immunol*, 13: 427-437.
72. Ross SH, Cantrell DA. (2018) Signaling and Function of Interleukin-2 in T Lymphocytes. *Annu Rev Immunol*, 36: 411-433.

73. O'Shea JJ, Kontzias A, Yamaoka K, Tanaka Y, Laurence A. (2013) Janus kinase inhibitors in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*, 72 Suppl 2: ii111-115.
74. Tanaka Y. (2019) The JAK inhibitors: do they bring a paradigm shift for the management of rheumatic diseases? *Rheumatology (Oxford)*, 58: i1-i3.
75. Pearce EL, Poffenberger MC, Chang CH, Jones RG. (2013) Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science*, 342: 1242454.
76. Rosenau W, Moon HD. (1961) Lysis of homologous cells by sensitized lymphocytes in tissue culture. *J Natl Cancer Inst*, 27: 471-483.
77. Kiessling R, Klein E, Pross H, Wigzell H. (1975) "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol*, 5: 117-121.
78. Zhang Y, Huang B. (2017) The Development and Diversity of ILCs, NK Cells and Their Relevance in Health and Diseases. *Adv Exp Med Biol*, 1024: 225-244.
79. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL, Yokoyama WM, Ugolini S. (2011) Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*, 331: 44-49.
80. Blanchard DK, Michelini-Norris MB, Djeu JY. (1991) Production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by large granular lymphocytes stimulated with *Candida albicans*: role in activation of human neutrophil function. *Blood*, 77: 2259-2265.
81. Walzer T, Dalod M, Robbins SH, Zitvogel L, Vivier E. (2005) Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force". *Blood*, 106: 2252-2258.
82. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. (1992) Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *Embo j*, 11: 3887-3895.
83. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, Fitz LJ, Malenkovich N, Okazaki T, Byrne MC, Horton HF, Fouser L, Carter L, Ling V, Bowman MR, Carreno BM, Collins M, Wood CR, Honjo T. (2000) Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*, 192: 1027-1034.

84. Wu X, Gu Z, Chen Y, Chen B, Chen W, Weng L, Liu X. (2019) Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy. *Comput Struct Biotechnol J*, 17: 661-674.
85. Burnet M. (1957) Cancer; a biological approach. I. The processes of control. *Br Med J*, 1: 779-786.
86. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. (2004) The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*, 21: 137-148.
87. Souza P, Rizzardi F, Noleto G, Atanazio M, Bianchi O, Parra ER, Teodoro WR, Carrasco S, Velosa AP, Fernezlian S, Ab'saber AM, Antonângelo L, Takagaki T, Schainberg CG, Yoshinari NH, Capelozzi VL. (2010) Refractory remodeling of the microenvironment by abnormal type V collagen, apoptosis, and immune response in non-small cell lung cancer. *Hum Pathol*, 41: 239-248.
88. Dranoff G. (2004) Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 4: 11-22.
89. Hodi FS, Dranoff G. (2010) The biologic importance of tumor-infiltrating lymphocytes. *J Cutan Pathol*, 37 Suppl 1: 48-53.
90. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, Zinzindohoué F, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Pagès F. (2006) Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*, 313: 1960-1964.
91. Ruiz-Bañobre J, Goel A. (2019) DNA Mismatch Repair Deficiency and Immune Checkpoint Inhibitors in Gastrointestinal Cancers. *Gastroenterology*, 156: 890-903.
92. van der Leun AM, Thommen DS, Schumacher TN. (2020) CD8(+) T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis. *Nat Rev Cancer*, 20: 218-232.
93. Braumüller H, Wieder T, Brenner E, Aßmann S, Hahn M, Alkhaled M, Schilbach K, Essmann F, Kneilling M, Griessinger C, Ranta F, Ullrich S, Mocikat R, Braungart K, Mehra T, Fehrenbacher B, Berdel J, Niessner H, Meier F, van den Broek M, Häring HU, Handgretinger R, Quintanilla-Martinez L, Fend F, Pesic M, Bauer J, Zender L, Schaller M, Schulze-Osthoff K, Röcken M.

- (2013) T-helper-1-cell cytokines drive cancer into senescence. *Nature*, 494: 361-365.
94. Ljunggren HG, Kärre K. (1990) In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today*, 11: 237-244.
  95. Khanna R. (1998) Tumour surveillance: missing peptides and MHC molecules. *Immunol Cell Biol*, 76: 20-26.
  96. Samarakoon A, Chu H, Malarkannan S. (2009) Murine NKG2D ligands: "double, double toil and trouble". *Mol Immunol*, 46: 1011-1019.
  97. Waldhauer I, Steinle A. (2008) NK cells and cancer immunosurveillance. *Oncogene*, 27: 5932-5943.
  98. Ou D, Adam J, Garberis I, Blanchard P, Nguyen F, Levy A, Casiraghi O, Gorphe P, Breuskin I, Janot F, Temam S, Scoazec JY, Deutsch E, Tao Y. (2017) Clinical relevance of tumor infiltrating lymphocytes, PD-L1 expression and correlation with HPV/p16 in head and neck cancer treated with bio- or chemo-radiotherapy. *Oncoimmunology*, 6: e1341030.
  99. Shevach EM. (2002) CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol*, 2: 389-400.
  100. Chen ML, Pittet MJ, Gorelik L, Flavell RA, Weissleder R, von Boehmer H, Khazaie K. (2005) Regulatory T cells suppress tumor-specific CD8 T cell cytotoxicity through TGF-beta signals in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102: 419-424.
  101. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, Roche PC, Lu J, Zhu G, Tamada K, Lennon VA, Celis E, Chen L. (2002) Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*, 8: 793-800.
  102. Zitvogel L, Galluzzi L, Kepp O, Smyth MJ, Kroemer G. (2015) Type I interferons in anticancer immunity. *Nat Rev Immunol*, 15: 405-414.
  103. Andraos R, Qian Z, Bonenfant D, Rubert J, Vangrevelinghe E, Scheufler C, Marque F, Régnier CH, De Pover A, Ryckelynck H, Bhagwat N, Koppikar P, Goel A, Wyder L, Tavares G, Baffert F, Pissot-Soldermann C, Manley PW, Gaul C, Voshol H, Levine RL, Sellers WR, Hofmann F, Radimerski T. (2012)



- Modulation of activation-loop phosphorylation by JAK inhibitors is binding mode dependent. *Cancer Discov*, 2: 512-523.
104. Villarino AV, Kanno Y, Ferdinand JR, O'Shea JJ. (2015) Mechanisms of Jak/STAT signaling in immunity and disease. *J Immunol*, 194: 21-27.
  105. Hanada T, Kobayashi T, Chinen T, Saeki K, Takaki H, Koga K, Minoda Y, Sanada T, Yoshioka T, Mimata H, Kato S, Yoshimura A. (2006) IFN $\gamma$ -dependent, spontaneous development of colorectal carcinomas in SOCS1-deficient mice. *J Exp Med*, 203: 1391-1397.
  106. Hynes RO. (2009) The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science*, 326: 1216-1219.
  107. Bluteau D, Balduini A, Balayn N, Currao M, Nurden P, Deswarte C, Leverger G, Noris P, Perrotta S, Solary E, Vainchenker W, Debili N, Favier R, Raslova H. (2014) Thrombocytopenia-associated mutations in the ANKRD26 regulatory region induce MAPK hyperactivation. *J. Clin. Invest.*, 124: 580-591.
  108. Nieswandt B, Moser M, Pleines I, Varga-Szabo D, Monkley S, Critchley D, Fässler R. (2007) Loss of talin1 in platelets abrogates integrin activation, platelet aggregation, and thrombus formation in vitro and in vivo. *J. Exp. Med.*, 204: 3113-3118.
  109. Andrews RK, Gardiner EE. (2017) Basic mechanisms of platelet receptor shedding. *Platelets*, 28: 319-324.
  110. Leslie M. (2010) Cell biology. Beyond clotting: the powers of platelets. *Science*, 328: 562-564.
  111. Walsh TG, Metharom P, Berndt MC. (2015) The functional role of platelets in the regulation of angiogenesis. *Platelets*, 26: 199-211.
  112. Cox D, Kerrigan SW, Watson SP. (2011) Platelets and the innate immune system: mechanisms of bacterial-induced platelet activation. *J. Thromb. Haemost.*, 9: 1097-1107.
  113. Borsig L. (2008) The role of platelet activation in tumor metastasis. *Expert Rev Anticancer Ther*, 8: 1247-1255.

114. Marx S, Xiao Y, Baschin M, Splittstohser M, Altmann R, Moritz E, Jedlitschky G, Bien-Moller S, Schroeder HWS, Rauch BH. (2019) The Role of Platelets in Cancer Pathophysiology: Focus on Malignant Glioma. *Cancers*, 11.
115. Levin J, Conley CL. (1964) THROMBOCYTOSIS ASSOCIATED WITH MALIGNANT DISEASE. *Arch Intern Med*, 114: 497-500.
116. Chiarello P, Magnolia M, Rubino M, Liguori SA, Miniero R. (2011) Thrombocytosis in children. *Minerva Pediatr.*, 63: 507-513.
117. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, Avezov E, Li J, Kollmann K, Kent DG, Aziz A, Godfrey AL, Hinton J, Martincorena I, Van Loo P, Jones AV, Guglielmelli P, Tarpey P, Harding HP, Fitzpatrick JD, Goudie CT, Ortman CA, Loughran SJ, Raine K, Jones DR, Butler AP, Teague JW, O'Meara S, McLaren S, Bianchi M, Silber Y, Dimitropoulou D, Bloxham D, Mudie L, Maddison M, Robinson B, Keohane C, Maclean C, Hill K, Orchard K, Tauro S, Du MQ, Greaves M, Bowen D, Huntly BJP, Harrison CN, Cross NCP, Ron D, Vannucchi AM, Papaemmanuil E, Campbell PJ, Green AR. (2013) Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N. Engl. J. Med.*, 369: 2391-2405.
118. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, Barosi G, Verstovsek S, Birgegard G, Mesa R, Others. (2007) Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood*, 110: 1092-1097.
119. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Finazzi G, Vannucchi AM, Tefferi A. (2016) The 2016 revision of WHO classification of myeloproliferative neoplasms: Clinical and molecular advances. *Blood Rev.*, 30: 453-459.
120. Sarangi R, Pradhan S, Dhanawat A, Patanayak R, Benia G. (2018) Thrombocytosis in children: Clinico-hematological profile from a single centre in Eastern India. *J. Lab. Physicians*, 10: 34-37.
121. Tefferi A, Ho TC, Ahmann GJ, Katzmann JA, Greipp PR. (1994) Plasma interleukin-6 and C-reactive protein levels in reactive versus clonal thrombocytosis. *Am. J. Med.*, 97: 374-378.

122. Davis WM, Ross AO. (1973) Thrombocytosis and thrombocythemia: the laboratory and clinical significance of an elevated platelet count. *Am. J. Clin. Pathol.*, 59: 243-247.
123. Khan PN, Nair RJ, Olivares J, Tingle LE, Li Z. (2009) Postsplenectomy reactive thrombocytosis. *Proc.*, 22: 9-12.
124. Christenson JT, Gras PA, Grosclaude A, Simonet F, Schmuziger M. (1996) Reactive thrombocytosis following coronary artery bypass surgery: a possible link to a lipid dysfunction. *J. Cardiovasc. Surg.*, 37: 491-498.
125. Hirsh J, Dacie JV. (1966) Persistent post-splenectomy thrombocytosis and thrombo-embolism: a consequence of continuing anaemia. *Br. J. Haematol.*, 12: 44-53.
126. Wadenvik H, Ortenwall P, Kutti J, Risberg B. (1988) Splenic platelet kinetics and platelet production after major reconstructive vascular surgery. *Acta Med. Scand.*, 223: 147-152.
127. Bilic E, Bilic E. (2003) Amino acid sequence homology of thrombopoietin and erythropoietin may explain thrombocytosis in children with iron deficiency anemia. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 25: 675-676.
128. Kuter DJ. (1996) The physiology of platelet production. *Stem Cells*, 14 Suppl 1: 88-101.
129. Griesshammer M, Bangerter M, Sauer T, Wennauer R, Bergmann L, Heimpel H. (1999) Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count. *J. Intern. Med.*, 245: 295-300.
130. Wolach B, Morag H, Drucker M, Sadan N. (1990) Thrombocytosis after pneumonia with empyema and other bacterial infections in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 9: 718-721.
131. Baynes RD, Bothwell TH, Flax H, McDonald TP, Atkinson P, Chetty N, Bezwoda WR, Mendelow BV. (1987) Reactive thrombocytosis in pulmonary tuberculosis. *J. Clin. Pathol.*, 40: 676-679.
132. Farr M, Scott DL, Constable TJ, Hawker RJ, Hawkins CF, Stuart J. (1983) Thrombocytosis of active rheumatoid disease. *Ann. Rheum. Dis.*, 42: 545-549.

133. Harrison CN, Bareford D, Butt N, Campbell P, Conneally E, Drummond M, Erber W, Everington T, Green AR, Hall GW, Hunt BJ, Ludlam CA, Murrin R, Nelson-Piercy C, Radia DH, Reilly JT, Van der Walt J, Wilkins B, McMullin MF, British Committee for Standards in H. (2010) Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br. J. Haematol.*, 149: 352-375.
134. Cecinati V, Brescia L, Esposito S. (2012) Thrombocytosis and infections in childhood. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 31: 80-81.
135. Michiels JJ, Berneman Z, Schroyens W, Finazzi G, Budde U, van Vliet HHDM. (2006) The paradox of platelet activation and impaired function: platelet-von Willebrand factor interactions, and the etiology of thrombotic and hemorrhagic manifestations in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Semin. Thromb. Hemost.*, 32: 589-604.
136. Majer RV, Dawe A, Weir P, Jones-Lecointe A, Green PJ. (1991) Which tests are most useful in distinguishing between reactive thrombocytosis and the thrombocytosis of myeloproliferative disease? *Clin. Lab. Haematol.*, 13: 9-15.
137. Wulkan RW, Michiels JJ. (1990) Pseudohyperkalaemia in thrombocythaemia. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 28: 489-491.
138. Alberio L. (2016) Do we need antiplatelet therapy in thrombocytosis? Pro. Diagnostic and pathophysiologic considerations for a treatment choice. *Hamostaseologie*, 36: 227-240.
139. Tchebiner JZ, Nutman A, Boursi B, Shlomai A, Sella T, Wasserman A, Guzner-Gur H. (2011) Diagnostic and prognostic value of thrombocytosis in admitted medical patients. *Am. J. Med. Sci.*, 342: 395-401.
140. Buergy D, Wenz F, Groden C, Brockmann MA. (2012) Tumor--platelet interaction in solid tumors. *International journal of cancer*, 130: 2747-2760.
141. Gu D, Szallasi A. (2017) Thrombocytosis Portends Adverse Prognosis in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis of 5,619 Patients in 16 Individual Studies. *Anticancer Res.*, 37: 4717-4726.
142. Cheng J, Zeng Z, Ye Q, Zhang Y, Yan R, Liang C, Wang J, Li M, Yi M. (2017) The association of pretreatment thrombocytosis with prognosis and

- clinicopathological significance in cervical cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, 8: 24327-24336.
143. Chen M-H, Chang PM-H, Chen P-M, Tzeng C-H, Chu P-Y, Chang S-Y, Yang M-H. (2009) Prognostic significance of a pretreatment hematologic profile in patients with head and neck cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 135: 1783-1790.
  144. Rachidi S, Wallace K, Day TA, Alberg AJ, Li Z. (2014) Lower circulating platelet counts and antiplatelet therapy independently predict better outcomes in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J. Hematol. Oncol.*, 7: 65.
  145. Bailey SER, Ukoumunne OC, Shephard E, Hamilton W. (2017) How useful is thrombocytosis in predicting an underlying cancer in primary care? a systematic review. *Fam. Pract.*, 34: 4-10.
  146. Elaskalani O, Berndt MC, Falasca M, Metharom P. (2017) Targeting Platelets for the Treatment of Cancer. *Cancers*, 9.
  147. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Stanley A, Ingham E, Walters C, Selby PJ. (1998) Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *British Journal of Cancer*, 77: 956-964.
  148. Schoppmann SF, Alidzanovic L, Schultheis A, Perkmann T, Brostjan C, Birner P. (2013) Thrombocytes Correlate with Lymphangiogenesis in Human Esophageal Cancer and Mediate Growth of Lymphatic Endothelial Cells In Vitro. *Plos One*, 8.
  149. Vassilakopoulou M, Psyrris A, Argiris A. (2015) Targeting angiogenesis in head and neck cancer. *Oral Oncol.*, 51: 409-415.
  150. Riedel F, Götte K, Bergler W, Hörmann K. (2001) Inverse correlation of apoptotic and angiogenic markers in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oncol. Rep.*, 8: 471-476.
  151. Artese L, Rubini C, Ferrero G, Fioroni M, Santinelli A, Piattelli A. (2001) Microvessel density (MVD) and vascular endothelial growth factor expression (VEGF) in human oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.*, 21: 689-695.

152. Williams JK, Carlson GW, Cohen C, Derose PB, Hunter S, Jurkiewicz MJ. (1994) Tumor angiogenesis as a prognostic factor in oral cavity tumors. *Am. J. Surg.*, 168: 373-380.
153. Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Georgoulas V, Gatter KC, Harris AL, Fountzilas G. (1999) Angiogenesis vs. response after combined chemoradiotherapy of squamous cell head and neck cancer. *Int. J. Cancer*, 80: 810-817.
154. Heldin CH, Eriksson U, Ostman A. (2002) New members of the platelet-derived growth factor family of mitogens. *Arch Biochem Biophys*, 398: 284-290.
155. Farooqi AA, Siddik ZH. (2015) Platelet-derived growth factor (PDGF) signalling in cancer: rapidly emerging signalling landscape. *Cell Biochem Funct*, 33: 257-265.
156. Pietras K, Sjoblom T, Rubin K, Heldin CH, Ostman A. (2003) PDGF receptors as cancer drug targets. *Cancer Cell*, 3: 439-443.
157. Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, Boland P, Alexander CR, Zagzag D, Yancopoulos GD, Wiegand SJ. (1999) Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science*, 284: 1994-1998.
158. Fujimoto J, Sakaguchi H, Hirose R, Ichigo S, Tamaya T. (1999) Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) and its mRNA in uterine cervical cancers. *British Journal of Cancer*, 79: 1249-1254.
159. Wu HY, Sun T, Bi R. (2019) Inhibition of insulin-like growth factor 1 signaling synergistically enhances the tumor suppressive role of triptolide in triple-negative breast cancer cells. *Oncology Letters*, 18: 822-829.
160. Incio J, Ligibel JA, McManus DT, Suboj P, Jung K, Kawaguchi K, Pinter M, Babykutty S, Chin SM, Vardam TD, Huang YH, Rahbari NN, Roberge S, Wang DN, Gomes-Santos IL, Puchner SB, Schlett CL, Hoffmman U, Ancukiewicz M, Tolaney SM, Krop IE, Duda DG, Boucher Y, Fukumura D, Jain RK. (2018) Obesity promotes resistance to anti-VEGF therapy in breast cancer by up-regulating IL-6 and potentially FGF-2. *Science Translational Medicine*, 10.
161. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, Ratajczak MZ. (2005) Microvesicles derived from

- activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int. J. Cancer*, 113: 752-760.
162. Kajita M, Itoh Y, Chiba T, Mori H, Okada A, Kinoh H, Seiki M. (2001) Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration. *J Cell Biol*, 153: 893-904.
  163. Tokuraku M, Sato H, Murakami S, Okada Y, Watanabe Y, Seiki M. (1995) Activation of the precursor of gelatinase A/72 kDa type IV collagenase/MMP-2 in lung carcinomas correlates with the expression of membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP) and with lymph node metastasis. *Int J Cancer*, 64: 355-359.
  164. Liu SC, Bassi DE, Zhang SY, Holoran D, Conti CJ, Klein-Szanto AJ. (2002) Overexpression of cyclin D2 is associated with increased in vivo invasiveness of human squamous carcinoma cells. *Mol Carcinog*, 34: 131-139.
  165. Nieswandt B, Hafner M, Echtenacher B, Männel DN. (1999) Lysis of tumor cells by natural killer cells in mice is impeded by platelets. *Cancer Res.*, 59: 1295-1300.
  166. Erpenbeck L, Schön MP. (2010) Deadly allies: the fatal interplay between platelets and metastasizing cancer cells. *Blood*, 115: 3427-3436.
  167. Bambace NM, Holmes CE. (2011) The platelet contribution to cancer progression. *J. Thromb. Haemost.*, 9: 237-249.
  168. Egan K, Crowley D, Smyth P, O'Toole S, Spillane C, Martin C, Gallagher M, Canney A, Norris L, Conlon N, McEvoy L, Ffrench B, Stordal B, Keegan H, Finn S, McEneaney V, Laios A, Ducrée J, Dunne E, Smith L, Berndt M, Sheils O, Kenny D, O'Leary J. (2011) Platelet adhesion and degranulation induce pro-survival and pro-angiogenic signalling in ovarian cancer cells. *PLoS One*, 6: e26125.
  169. Gay LJ, Felding-Habermann B. (2011) Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat. Rev. Cancer*, 11: 123-134.
  170. Stone RL, Nick AM, McNeish IA, Balkwill F, Han HD, Bottsford-Miller J, Rupairmoole R, Armaiz-Pena GN, Pecot CV, Coward J, Deavers MT, Vasquez HG, Urbauer D, Landen CN, Hu W, Gershenson H, Matsuo K, Shahzad MMK, King ER, Tekedereli I, Ozpolat B, Ahn EH, Bond VK, Wang R, Drew AF,

- Gushiken F, Lamkin D, Collins K, DeGeest K, Lutgendorf SK, Chiu W, Lopez-Berestein G, Afshar-Kharghan V, Sood AK. (2012) Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.*, 366: 610-618.
171. Wang QQ, Li ZQ, Sun L, Chen B, Zhao YY, Shen B, Zhu ML, Zhao XD, Xu CG, Wang M, Xu WR, Zhu W. (2018) Platelets enhance the ability of bone-marrow mesenchymal stem cells to promote cancer metastasis. *Oncotargets and Therapy*, 11: 8251-8263.
172. Labelle M, Begum S, Hynes RO. (2011) Direct Signaling between Platelets and Cancer Cells Induces an Epithelial-Mesenchymal-Like Transition and Promotes Metastasis. *Cancer Cell*, 20: 576-590.
173. Assoian RK, Sporn MB. (1986) Type beta transforming growth factor in human platelets: release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells. *J Cell Biol*, 102: 1217-1223.
174. Park BK, Zhang H, Zeng Q, Dai J, Keller ET, Giordano T, Gu K, Shah V, Pei L, Zarbo RJ, McCauley L, Shi S, Chen S, Wang CY. (2007) NF-kappaB in breast cancer cells promotes osteolytic bone metastasis by inducing osteoclastogenesis via GM-CSF. *Nat Med*, 13: 62-69.
175. Zhang X, Lv Z, Yu H, Zhu J. (2017) The clinicopathological and prognostic role of thrombocytosis in patients with cancer: A meta-analysis. *Oncol. Lett.*, 13: 5002-5008.
176. Muller-Hubenthal B, Azemar M, Lorenzen D, Huber M, Freudenberg MA, Galanos C, Unger C, Hildenbrand B. (2009) Tumour Biology: tumour-associated inflammation versus antitumor immunity. *Anticancer Res*, 29: 4795-4805.
177. Roxburgh CS, McMillan DC. (2014) Cancer and systemic inflammation: treat the tumour and treat the host. *Br J Cancer*, 110: 1409-1412.
178. Dubernard V, Arbeille BB, Lemesle MB, Legrand C. (1997) Evidence for an alpha-granular pool of the cytoskeletal protein alpha-actinin in human platelets that redistributes with the adhesive glycoprotein thrombospondin-1 during the exocytotic process. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17: 2293-2305.
179. Jenne CN, Urrutia R, Kubes P. (2013) Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. *Int. J. Lab. Hematol.*, 35: 254-261.



180. Guthrie GJ, Charles KA, Roxburgh CS, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. (2013) The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 88: 218-230.
181. Mellor KL, Powell A, Lewis WG. (2018) Systematic Review and Meta-Analysis of the Prognostic Significance of Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) After R0 Gastrectomy for Cancer. *J Gastrointest Cancer*, 49: 237-244.
182. Shah N, Parikh V, Patel N, Patel N, Badheka A, Deshmukh A, Rathod A, Lafferty J. (2014) Neutrophil lymphocyte ratio significantly improves the Framingham risk score in prediction of coronary heart disease mortality: insights from the National Health and Nutrition Examination Survey-III. *Int J Cardiol*, 171: 390-397.
183. Turkmen K, Erdur FM, Ozcicek F, Ozcicek A, Akbas EM, Ozbicer A, Demirtas L, Turk S, Tonbul HZ. (2013) Platelet-to-lymphocyte ratio better predicts inflammation than neutrophil-to-lymphocyte ratio in end-stage renal disease patients. *Hemodial Int*, 17: 391-396.
184. Faria SS, Fernandes PC, Jr., Silva MJ, Lima VC, Fontes W, Freitas-Junior R, Eterovic AK, Forget P. (2016) The neutrophil-to-lymphocyte ratio: a narrative review. *Ecancermedicalsecience*, 10: 702.
185. Klinger MHF, Jelkmann W. (2002) Role of blood platelets in infection and inflammation. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 22: 913-922.
186. Seretis C, Seretis F, Lagoudianakis E, Politou M, Gemenetzis G, Salemis NS. (2012) Enhancing the accuracy of platelet to lymphocyte ratio after adjustment for large platelet count: a pilot study in breast cancer patients. *Int J Surg Oncol*, 2012: 653608.
187. Cho K-M, Park H, Oh D-Y, Kim T-Y, Lee K-H, Han S-W, Im S-A, Kim T-Y, Bang Y-J. (2017) Neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and their dynamic changes during chemotherapy is useful to predict a more accurate prognosis of advanced biliary tract cancer. *Oncotarget*, 8: 2329-2341.
188. Han Y, Wang J, Hong L, Sun L, Zhuang H, Sun B, Wang H, Zhang X, Ren X. (2017) Platelet-lymphocyte ratio is an independent prognostic factor in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer. *Future Oncol.*, 13: 51-61.

189. Wang Y, Xu F, Pan J, Zhu Y, Shao X, Sha J, Wang Z, Cai Y, Liu Q, Dong B, Xue W, Huang Y. (2016) Platelet to lymphocyte ratio as an independent prognostic indicator for prostate cancer patients receiving androgen deprivation therapy. *BMC Cancer*, 16: 329.
190. Gasparian AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. (2019) The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. *Ann Lab Med*, 39: 345-357.
191. Rassouli A, Saliba J, Castano R, Hier M, Zeitouni AG. (2014) Systemic inflammatory markers as independent prognosticators of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 37: 103-110.
192. Grambsch PM, Therneau TM. (1994) Proportional hazards tests and diagnostics based on weighted residuals. *Biometrika*, 81: 515-526.
- 193.
194. Szilasi Z, Jóna V, Zrubka Z, Mezei T, Merkel K, Helfferich F, Baranyai Z. (2021) [Elevated platelet count as a possible prognostic marker of survival in patients with head and neck tumours]. *Orv Hetil*, 162: 676-682.
195. Szilasi Z, Jóna V, Zrubka Z, Mezei T, Vass T, Merkel K, Helfferich F, Baranyai Z. (2020) Neutrophil-To-Lymphocyte and Platelet-To-Lymphocyte Ratios as Prognostic Markers of Survival in Patients with Head and Neck Tumours- Results of a Retrospective Multicentric Study. *Int J Environ Res Public Health*, 17.
196. Erpenbeck L, Schon MP. (2010) Deadly allies: the fatal interplay between platelets and metastasizing cancer cells. *Blood*, 115: 3427-3436.
197. Placke T, Kopp HG, Salih HR. (2011) Modulation of natural killer cell anti-tumor reactivity by platelets. *J Innate Immun*, 3: 374-382.
198. Gao J, Zhang HY, Xia YF. (2013) Increased platelet count is an indicator of metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Tumour Biol*, 34: 39-45.
199. Lu CC, Chang KW, Chou FC, Cheng CY, Liu CJ. (2007) Association of pretreatment thrombocytosis with disease progression and survival in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 43: 283-288.

200. Pardo L, Valero C, López M, García J, Camacho M, Quer M, León X. (2017) The prognostic value of pretreatment platelet count in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Auris Nasus Larynx*, 44: 313-318.
201. Rachidi S, Wallace K, Day TA, Alberg AJ, Li Z. (2014) Lower circulating platelet counts and antiplatelet therapy independently predict better outcomes in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Hematol Oncol*, 7: 65.
202. Shoultz-Henley S, Garden AS, Mohamed ASR, Sheu T, Kroll MH, Rosenthal DI, Gunn GB, Hayes AJ, French C, Eichelberger H, Others. (2016) Prognostic value of pretherapy platelet elevation in oropharyngeal cancer patients treated with chemoradiation. *International journal of cancer*, 138: 1290-1297.
203. Takenaka Y, Oya R, Kitamiura T, Ashida N, Shimizu K, Takemura K, Yamamoto Y, Uno A. (2018) Platelet count and platelet-lymphocyte ratio as prognostic markers for head and neck squamous cell carcinoma: Meta-analysis. *Head and Neck-Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*, 40: 2714-2723.
204. Gonzenbach R, Grimm J, Trachsler M, Rhyner K. (1982) [Occurrence and clinical relevance of thrombocytosis]. *Schweiz Med Wochenschr*, 112: 38-41.
205. Schafer AI. (2004) Thrombocytosis. *N Engl J Med*, 350: 1211-1219.
206. Evstatiev R, Bukaty A, Jimenez K, Kulnigg-Dabsch S, Surman L, Schmid W, Eferl R, Lippert K, Scheiber-Mojdehkar B, Kvasnicka HM, Khare V, Gasche C. (2014) Iron deficiency alters megakaryopoiesis and platelet phenotype independent of thrombopoietin. *Am J Hematol*, 89: 524-529.
207. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Lyman GH. (2005) Risk factors for chemotherapy-associated venous thromboembolism in a prospective observational study. *Cancer*, 104: 2822-2829.
208. Cartwright GE. (1966) The anemia of chronic disorders. *Semin Hematol*, 3: 351-375.
209. Khan FA, Shukla AN, Joshi SC. (2008) Anaemia and cancer treatment: a conceptual change. *Singapore Med J*, 49: 759-764.
210. Birgegard G, Aapro MS, Bokemeyer C, Dicato M, Drings P, Hornedo J, Krzakowski M, Ludwig H, Pecorelli S, Schmoll H, Schneider M, Schrijvers D,

- Shasha D, Van Belle S. (2005) Cancer-related anemia: pathogenesis, prevalence and treatment. *Oncology*, 68 Suppl 1: 3-11.
211. Ludwig H, Van Belle S, Barrett-Lee P, Birgegard G, Bokemeyer C, Gascon P, Kosmidis P, Krzakowski M, Nortier J, Olmi P, Schneider M, Schrijvers D. (2004) The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): a large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. *Eur J Cancer*, 40: 2293-2306.
212. Brizel DM, Sibley GS, Prosnitz LR, Scher RL, Dewhirst MW. (1997) Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 38: 285-289.
213. Van Belle SJ, Cocquyt V. (2003) Impact of haemoglobin levels on the outcome of cancers treated with chemotherapy. *Crit Rev Oncol Hematol*, 47: 1-11.
214. Hockel M, Schlenger K, Aral B, Mitze M, Schaffer U, Vaupel P. (1996) Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res*, 56: 4509-4515.
215. Frommhold H, Guttenberger R, Henke M. (1998) The impact of blood hemoglobin content on the outcome of radiotherapy. The Freiburg experience. *Strahlenther Onkol*, 174 Suppl 4: 31-34.
216. Teicher BA, Holden SA, al-Achi A, Herman TS. (1990) Classification of antineoplastic treatments by their differential toxicity toward putative oxygenated and hypoxic tumor subpopulations in vivo in the FSaIIc murine fibrosarcoma. *Cancer Res*, 50: 3339-3344.
217. Abels RI. (1992) Recombinant human erythropoietin in the treatment of the anaemia of cancer. *Acta Haematol*, 87 Suppl 1: 4-11.
218. Glaser CM, Millesi W, Kornek GV, Lang S, Schüll B, Watzinger F, Selzer E, Lavey RS. (2001) Impact of hemoglobin level and use of recombinant erythropoietin on efficacy of preoperative chemoradiation therapy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 50: 705-715.
219. Henke M, Laszig R, Rube C, Schäfer U, Haase KD, Schilcher B, Mose S, Beer KT, Burger U, Dougherty C, Frommhold H. (2003) Erythropoietin to treat head

- and neck cancer patients with anaemia undergoing radiotherapy: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 362: 1255-1260.
220. Henke M, Mattern D, Pepe M, Bézay C, Weissenberger C, Werner M, Pajonk F. (2006) Do erythropoietin receptors on cancer cells explain unexpected clinical findings? *J Clin Oncol*, 24: 4708-4713.
221. Loo M, Beguin Y. (1999) The effect of recombinant human erythropoietin on platelet counts is strongly modulated by the adequacy of iron supply. *Blood*, 93: 3286-3293.
222. Xu XR, Yousef GM, Ni H. (2018) Cancer and platelet crosstalk: opportunities and challenges for aspirin and other antiplatelet agents. *Blood*, 131: 1777-1789.
223. Rothwell PM, Wilson M, Price JF, Belch JF, Meade TW, Mehta Z. (2012) Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *Lancet*, 379: 1591-1601.
224. Thun MJ, Jacobs EJ, Patrono C. (2012) The role of aspirin in cancer prevention. *Nat Rev Clin Oncol*, 9: 259-267.
225. Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, Meade TW. (2010) Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet*, 376: 1741-1750.
226. Bosetti C, Rosato V, Gallus S, La Vecchia C. (2012) Aspirin and urologic cancer risk: an update. *Nat Rev Urol*, 9: 102-110.
227. Choi J, Ghos HM, Peeraphatdit T, Baichoo E, Addissie BD, Harmsen WS, Therneau TM, Olson JE, Chaiteerakij R, Roberts LR. (2016) Aspirin use and the risk of cholangiocarcinoma. *Hepatology*, 64: 785-796.
228. Jiang MJ, Dai JJ, Gu DN, Huang Q, Tian L. (2016) Aspirin in pancreatic cancer: chemopreventive effects and therapeutic potentials. *Biochim Biophys Acta*, 1866: 163-176.
229. Verdoodt F, Friis S, Dehlendorff C, Albieri V, Kjaer SK. (2016) Non-steroidal anti-inflammatory drug use and risk of endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Gynecol Oncol*, 140: 352-358.
230. Zhang D, Bai B, Xi Y, Wang T, Zhao Y. (2016) Is aspirin use associated with a decreased risk of ovarian cancer? A systematic review and meta-analysis of

- observational studies with dose-response analysis. *Gynecol Oncol*, 142: 368-377.
231. Zhong S, Chen L, Zhang X, Yu D, Tang J, Zhao J. (2015) Aspirin use and risk of breast cancer: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 24: 1645-1655.
232. Wilson JC, Murray LJ, Hughes CM, Black A, Anderson LA. (2013) Non-steroidal anti-inflammatory drug and aspirin use and the risk of head and neck cancer. *Br J Cancer*, 108: 1178-1181.
233. Becker C, Wilson JC, Jick SS, Meier CR. (2015) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of head and neck cancer: A case-control analysis. *Int J Cancer*, 137: 2424-2431.
234. Tang L, Hu H, Liu H, Jian C, Wang H, Huang J. (2016) Association of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and aspirin use and the risk of head and neck cancers: a meta-analysis of observational studies. *Oncotarget*, 7: 65196-65207.
235. Chen YP, Chen C, Mai ZY, Gao J, Shen LJ, Zhao BC, Chen MK, Chen G, Yan F, Huang TY, Xia YF. (2015) Pretreatment platelet count as a predictor for survival and distant metastasis in nasopharyngeal carcinoma patients. *Oncol Lett*, 9: 1458-1466.
236. Goldson TM, Han Y, Knight KB, Weiss HL, Resto VA. (2010) Clinicopathological predictors of lymphatic metastasis in HNSCC: implications for molecular mechanisms of metastatic disease. *J Exp Ther Oncol*, 8: 211-221.
237. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. (2018) Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*, 68: 7-30.
238. Langevin SM, Grandis JR, Taioli E. (2011) Female hormonal and reproductive factors and head and neck squamous cell carcinoma risk. *Cancer Lett*, 310: 216-221.
239. Kadikoylu G, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. (2006) Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. *J Natl Med Assoc*, 98: 398-402.
240. Nagata Y, Yoshikawa J, Hashimoto A, Yamamoto M, Payne AH, Todokoro K. (2003) Proplatelet formation of megakaryocytes is triggered by autocrine-synthesized estradiol. *Genes Dev*, 17: 2864-2869.

241. Gomes MP, Deitcher SR. (2004) Risk of venous thromboembolic disease associated with hormonal contraceptives and hormone replacement therapy: a clinical review. *Arch Intern Med*, 164: 1965-1976.
242. Klein SL, Flanagan KL. (2016) Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*, 16: 626-638.
243. Lin CY, Kwon H, Rivera GOR, Li X, Chung DJ, Li ZH. (2018) Sex differences in using systemic inflammatory markers to prognosticate patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 27: 1176-1185.
244. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM. (2003) Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*, 198: 1875-1886.
245. Drabsch Y, ten Dijke P. (2012) TGF-beta signalling and its role in cancer progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 31: 553-568.
246. Eidelman O, Jozwik C, Huang W, Srivastava M, Rothwell SW, Jacobowitz DM, Ji X, Zhang X, Guggino W, Wright J, Kiefer J, Olsen C, Adimi N, Mueller GP, Pollard HB. (2010) Gender dependence for a subset of the low-abundance signaling proteome in human platelets. *Hum Genomics Proteomics*, 2010: 164906.
247. Bouman A, Schipper M, Heineman MJ, Faas MM. (2004) Gender difference in the non-specific and specific immune response in humans. *Am J Reprod Immunol*, 52: 19-26.
248. Azimi F, Scolyer RA, Rumcheva P, Moncrieff M, Murali R, McCarthy SW, Saw RP, Thompson JF. (2012) Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*, 30: 2678-2683.
249. Pagès F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molidor R, Mlecnik B, Kirilovsky A, Nilsson M, Damotte D, Meatchi T, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Galon J. (2005) Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *N Engl J Med*, 353: 2654-2666.

250. Ambatipudi S, Langdon R, Richmond RC, Suderman M, Koestler DC, Kelsey KT, Kazmi N, Penfold C, Ho KM, McArdle W, Ring SM, Pring M, Waterboer T, Pawlita M, Gaunt TR, Smith GD, Thomas S, Ness AR, Relton CL. (2018) DNA methylation derived systemic inflammation indices are associated with head and neck cancer development and survival. *Oral Oncology*, 85: 87-94.
251. Zhang X, Zhang W, Yuan X, Fu M, Qian H, Xu WR. (2016) Neutrophils in cancer development and progression: Roles, mechanisms, and implications (Review). *International Journal of Oncology*, 49: 857-867.
252. Cho Y, Kim JW, Yoon HI, Lee CG, Keum KC, Lee IJ. (2018) The Prognostic Significance of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Head and Neck Cancer Patients Treated with Radiotherapy. *Journal of Clinical Medicine*, 7.
253. Wu L, Zou S, Wang C, Tan X, Yu M. (2019) Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio in Chinese Han population from Chaoshan region in South China. *BMC Cardiovasc Disord*, 19: 125.
254. Hyder J, Molitoris J, Engelman A, Hanlon A, D'Emic N, Suntharalingam M, Chuong MD. (2015) Changes in Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) During Chemoradiation for Head and Neck Cancer Are Significant Predictor for Overall Survival. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 93: S174-S174.
255. Turri-Zanoni M, Salzano G, Lambertoni A, Giovannardi M, Karligkiotis A, Battaglia P, Castelnuovo P. (2016) Prognostic value of pretreatment peripheral blood markers in paranasal sinus cancer: Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio. *Head Neck*.
256. Yang L, Huang Y, Zhou L, Dai Y, Hu G. (2019) High pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictor of poor survival prognosis in head and neck squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck*, 41: 1525-1535.
257. Bardash Y, Olson C, Herman W, Khaymovich J, Costantino P, Tham T. (2019) Platelet-Lymphocyte Ratio as a Predictor of Prognosis in Head and Neck Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oncol Res Treat*, 42: 665-677.



258. Cho JK, Kim MW, Choi IS, Moon UY, Kim MJ, Sohn I, Kim S, Jeong HS. (2018) Optimal cutoff of pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer patients: a meta-analysis and validation study. *BMC Cancer*, 18: 969.
259. Foster CC, Kochanny S, Khattri A, Acharya R, Dekker A, Tan YHC. (2018) Association of a baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) with progressionfree and overall survival in head and neck cancer patients receiving anti-PD-1 therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 36.
260. Karpathiou G, Giroult JB, Forest F, Fournel P, Monaya A, Froudarakis M, Dumollard JM, Prades JM, Gavid M, Peoc'h M. (2016) Clinical and Histologic Predictive Factors of Response to Induction Chemotherapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 146: 546-553.
261. Rachidi S, Wallace K, Wrangle JM, Day TA, Alberg AJ, Li Z. (2016) Neutrophil-to-lymphocyte ratio and overall survival in all sites of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 38 Suppl 1: E1068-1074.
262. Tham T, Bardash Y, Herman SW, Costantino PD. (2018) Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic indicator in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*, 40: 2546-2557.
263. Seetohul YB, Singh V, Jain RK, Chaudhary AK. (2020) Prognostic Value of Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Platelet-Lymphocyte Ratio in Head and Neck Malignancies. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 72: 128-132.
264. Abelardo E, Davies G, Kamhieh Y, Prabhu V. (2020) Are Inflammatory Markers Significant Prognostic Factors for Head and Neck Cancer Patients? *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 82: 235-244.
265. Mascarella MA, Mannard E, Silva SD, Zeitouni A. (2018) Neutrophil-to-lymphocyte ratio in head and neck cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Head Neck*, 40: 1091-1100.
266. Rosculet N, Zhou XC, Ha P, Tang M, Levine MA, Neuner G, Califano J. (2017) Neutrophil-to-lymphocyte ratio: Prognostic indicator for head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 39: 662-667.

## 10 Saját publikációk jegyzéke

### 10.1 Disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Szilasi Zs, Jósa V, Zrubka Zs, Mezei T, Vass T, Merkel K, Helfferich F, Baranyai Zs. (2020) Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as prognostic markers of survival in patients with head and neck tumours—Results of a retrospective multicentric study. *Int J Environ Res Public Health*, 17(5): 1742. IF: 3,39

Szilasi Zs, Jósa V, Zrubka Zs, Mezei T, Merkel K, Helfferich F, Baranyai Zs. (2021) A magasabb vérelemzkeszám mint a fej-nyak tumoros betegek túléléssel kapcsolatos esetleges prognosztikai faktora. *Orv Hetil.* 162(17): 676-682. IF: 0,54

### 10.2 Disszertációtól független közlemények

Helfferich F, Szilasi Zs. (2013) A kardiovaszkuláris állapot és az arterioszklerózis hatása a hallórendszerre. *Honvédorvos.* (65) 3-4. IF: 0,0

Scharek P, Jekkel Cs, Budai J, Szilasi Zs, Helfferich F, Árva I, Váradi A, Létai E, Katona K, Rókus L. (2014) Pneumococcus meningitis várandósság során. *Ideggyógyászati szemle.* (1-2): 56-8. IF: 0,386

Baranyai Zs, Jósa V, Tóth A, Tihanyi B, Szilasi Zs, Zaránd A, Harsányi L, Szállási Z. (2016) Paraneoplastic thrombocytosis in gastrointestinal cancer. *Platelets.* (4): 269-75. IF: 2,465

Jósa V, Brodszky V, Zrubka Zs, Zaránd A, Mezei T, Szilasi Zs, Fehér A, Igaz I, Somlai K, Keresztély M, Baranyai Zs. (2019) The relationship between IL-6 and nutritional status in patients with gastrointestinal tumors. *Journal of Oncology Research and Treatments*, 2019. (4) IF: 0,53

Jósa V, Brodszky V, Zaránd A, Mezei T, Szilasi Zs, Fehér A, Merkel K, Baranyai Zs. (2020) The relationship of IL-6 and thrombocytosis accompanying gastrointestinal tumors. *Prz Gastroenterol.* 15(3): 215-219. IF: 0,0

### 10.3 Előadások

Struma mediastinalis (Mediastinal Goitre)

ÁEK Tudományos Nap 2007, Budapest

Fiatal Onkológusok, fiatal sebészek Fóruma 2007, Kecskemét

Fiatal Sebészek Angol Nyelvű Kazuisztikai Fóruma, 2007, Pécs

Hematogén úton kialakult koponyaalapi tályogok

MFOE Nemzeti Kongresszus 2010, Budapest

Meningitis és labyrinthitis heveny gennyes középfülgyulladás szövődményeként  
terhességben

MFOE Nemzeti Kongresszus 2012, Pécs

Fej-nyak daganatos megbetegedésekhez társuló trombocitózis vizsgálata

MFOE Nemzeti Kongresszus 2018, Szeged

A PLR és NLR, mint a fej-nyak daganatos betegek túlélésének prognosztikai markere

MFOE Nemzeti Kongresszus 2021, Sopron

## **11 Köszönetnyilvánítás**

Köszönetemet szeretném kifejezni doktori munkám elkészítésével kapcsolatban dr. Jósa Valériának, dr. Jakab Ferencnek, dr. Helfferich Frigyesnek és dr. Brodszky Valentinnak.

Köszönöm dr. Zrubka Zsombornak, hogy végtelen türelemmel és lelkesedéssel segített a statisztikai analízis megtervezésében, és az eredmények értelmezésében.

Külön köszönettel tartozom témavezetőmnek, aki iránymutatásával, ötleteivel és kritikáival ösztönzött. Bátorító szavaival és bírálataival rengeteg nehézségen segített át.

Végül köszönöm férjemnek, Csik-Kovács Zoltánnak, hogy végig mellettem állt. A lelki támogatás mellett számtalan alkalommal volt segítségemre házi informatikusomként, vagy teremtett munkámhoz nyugodt légkört azzal, hogy kisfiunkkal törődött.