

Perifériás vér biomarker-kombinációk
prognosztikai szerepe
előrehaladott rosszindulatú daganatos
betegségekben

Doktori tézisek

Dr. Deme Dániel

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Telekes András, címzetes egyetemi tanár

Budapest
2022

Rövidítések

CAR = C-reaktív protein (CRP) – albumin arány

CI = konfidencia intervallum

CRP = C-reaktív protein

D-dimer = keresztkötött fibrin degradációs termékek

ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group

HR = kockázati hányados

KM = Kaplan-Meier

LDH = laktát-dehidrogenáz

LMR = lymphocyta – monocyta arány

NLR = neutrophil – lymphocyta arány

NPV = negatív prediktív érték

ORV = out of range value

OS = teljes túlélés

PPV = pozitív prediktív érték

SEER = Surveillance, Epidemiology, and End Results

Bevezetés

Számos perifériás vér összetevő értékének változásáról közölték, hogy a rosszindulatú daganatos betegségek független prognosztikus biomarkereként alkalmazhatók pl. C-reaktív protein (CRP), az albumin, a laktát-dehidrogenáz (LDH), a keresztkötött fibrin degradációs termékek (D-dimer), neutrophil-lymphocyta arány (NLR) és a lymphocyta-monocyta arány (LMR). Az alacsonyabb szérumszintű CRP alapérték jobb prognózist vetít előre. Az emelkedett szérumszintű albumin alapérték jobb prognózissal korrelál. Az alacsonyabb D-dimer alapérték jobb prognózissal társul. Az alacsonyabb LDH alapérték rossz prognózissal korrelál. Az emelkedett CRP-albumin arány (CAR) rossz prognosztikai szerepét több tanulmány igazolta. Számos vizsgálat igazolta, hogy az emelkedett NLR rosszabb prognózissal társul. Több tanulmány alapján az alacsony LMR alapértékek rossz prognózissal korrelálnak. A kiindulási emelkedett PLR és a rövidebb túlélés közötti összefüggést számos daganattípusban leírták.

Célkitűzés

Előrehaladott rosszindulatú daganatos betegek körében a biomarkerek és azok kombinációinak alapértékei és a teljes túléléssel (OS) való összefüggés retrospektív vizsgálata. A hipotézis az volt, hogy a kóros tartományban lévő biomarkerek számának növekedése egyre rövidebb túléléssel korrelál.

Anyag és módszerek

Betegek

Előrehaladott rosszindulatú daganatos betegektől a rutin vizsgálatok részeként vérvételek történtek a terápia megkezdése előtt. Gyakori fertőző betegségek tünetei (purulens köhögés, tüdő crepitatio, szimptomatikus bakteriuria) esetén a beteg nem léphetett a vizsgálatba. A kizárási kritériumok közé tartozott a feltételezett infekció, hematológiai malignitás, legalább egy biomarker adat hiánya, rapid progresszió [vagyis a vérvételtől számítva Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) státusz elérte a 3-at, mielőtt elkezdődhetett volna a daganatellenes kezelés], vagy halál, melyet nem a daganatos betegség progressziója okozott. Azon páciensek adatai kerültek elemzésre, akiknél a következő biomarkerek mindegyike meghatározásra került: CRP, D-dimer, LDH, albumin és teljes vérkép. A retrospektív elemzés elvégzéséhez az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos Kutatásaitikai Bizottságának engedélye beszerzésre

került (No. IV/5406- 1 /2021/EKU). Az adatfeldolgozás során az adatvédelmi törvény betartásra került.

Statisztikai elemzés

A cut-off meghatározások a validált „CutoffFinder” online eszköz segítségével történtek (Budczies et al. 2012), melynek lényege: Cox-modell illesztése a biomarker- és a túlélési értékekhez és az esemény bekövetkeztét jelző kategorizált változóhoz, majd log-rank teszttel a legszignifikánsabb eltérési pont megkeresése. A teljes túlélési idő hónapokban történő kifejezése a Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) ajánlása alapján történt: a dátumok közötti napok el lettek osztva a 365,24 1/12-ed részével. A median follow up számításához a statisztikus a reverz Kapla-Meier estimator-t alkalmazta. A statisztikus log-rank teszttel hasonlította össze az egyes biomarkereknél a cut-off alatti és afeletti median OS értékeket. Azon biomarkerek cut-off értékeit választotta ki, melyeknél a median OS között a legnagyobb volt a különbség és a Chi-négyzet statisztika. A prognosztikai csoportok összehasonlítását a Cox proporcionális kockázat regresszióval végezte el. Log-rank tesztet használt annak érdekében, hogy a Kaplan-Meier elemzéssel kapott túlélési görbék közötti különbségeket észlelhessen a prognosztikai csoportokon belül, ugyanakkor a Cox-modell szignifikanciáját is meghatározhassa. A hatás méret becsléséhez Mann-Whitney próbát használta. Power elemzést készített annak meghatározására, hogy milyen valószínűséggel fogadható el a referencia csoport és prognosztikai csoportok közötti szignifikáns különbség. A számításokat az R Studio Software-rel készítette.

Eredmények

Betegek jellemzői

2016 július és 2019 augusztus között 88 páciensből vett vérminták kerültek elemzésre, akik helyileg előrehaladott, kiújult vagy áttétes rosszindulatú daganatos betegségben szenvedtek. Gyakran előforduló fertőző betegség nem került diagnosztizálásra. 13 páciens adatai kizárásra kerültek az elemzésből, mivel hematológiai malignitás is fenn állt (1), valamelyik biomarker adat hiányzott (2), rapid progresszió során halál állt be a daganatellenes kezelés megkezdése előtt (4), vagy más volt halálok, mint a betegség progressziója (6). Így a végső retrospektív elemzés 75 beteg adatát tartalmazta. A legrövidebb cenzorált túlélés 24 hónap volt, vagyis 2019 júliusától eltelt idő. 2021 júliusában 6 beteg élt (8%). 47 hónapos

medián utánkövetési idővel [95% konfidencia intervallum (CI): 37,2 – 49,3] a medián OS 12,1 hónap volt (95% CI: 7,8 – 18,3).

A vágóértékek meghatározása

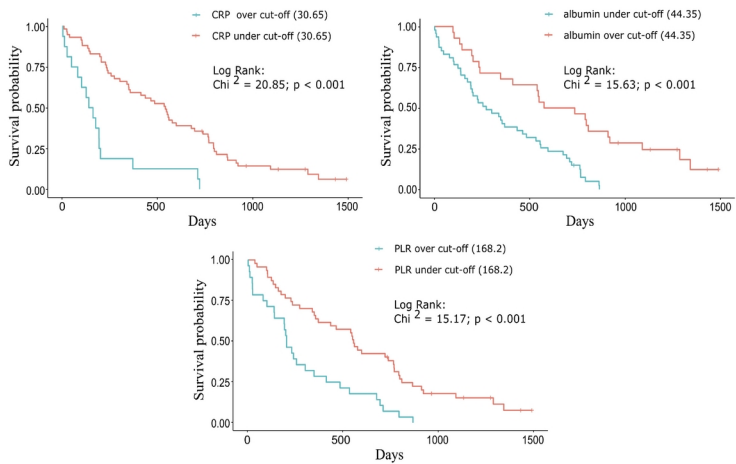
A következő vágóértékek alapján a statisztikus kiszámolta az alábbi Chi-négyzet értékeket sorrendben: CRP 30,65 mg/l (Chi-négyzet = 20,85; $p < 0,001$), D-dimer 1,98mcg/l (Chi-négyzet = 12,94; $p < 0,001$), LDH 410,50 (Chi-négyzet = 10,45; $p < 0,001$), albumin 44,35 g/l (Chi-négyzet = 15,63; $p < 0,001$), CAR 1,4950 (Chi-négyzet = 23,54; $p < 0,001$), LMR 2,65 (Chi-négyzet = 3,45; $p = 0,063$), NLR 4,34 (Chi-négyzet = 10,50; $p < 0,001$) és PLR 168,20 (Chi-négyzet = 15,17; $p < 0,001$). A két legszignifikánsabb szérum biomarkernek a következők bizonyultak: CRP, albumin, melyet a vérkép-kombinációk közül a PLR követett. Amennyiben CRP-albumin hányados (CAR) is figyelembe vételre került, úgy ez mutatta a legszorosabb kapcsolatot a teljes túléléssel, melyet a PLR, majd sorrendben a D-dimer, az NLR és az LDH követett. További szignifikáns biomarker kombinációk keresése történt. Ennek alapján a három legszignifikánsabb biomarker-kombinációk a következők lettek: CAR (cut-off 1,4950), PLR és D-dimer szorzata (PLRxD-dimer) (cut-off 150,3) és az NLR (cut-off 4,34). Amennyiben az LDH is bevonásra került az elemzésbe, akkor a legszignifikánsabb három biomarker-kombináció a következő volt: CAR, PLRxD-dimer és az NLR és LDH hányadosa (NLRdLDH) (cut-off 0,012).

A prognosztikus vágóértékek és a teljes túlélés közötti összefüggés

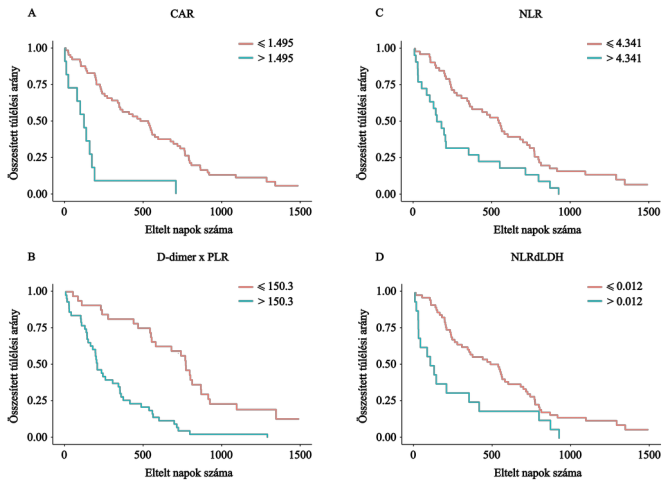
Statisztikus segítségével a legszignifikánsabb biomarkereknél és biomarker-kombinációknál a Kaplan-Meier eljárás került alkalmazásra azért, hogy a csoportok medián túlélése a vágóérték feletti és alatti értékeknél összehasonlíthatóak legyenek. A CRP és PLR esetén hosszabb túlélés volt észlelhető a vágóérték alatti csoportban összehasonlítva a vágóérték feletti csoporttal. Albumin esetén hosszabb túlélés igazolódott a vágóérték feletti csoportban. (1.Ábra) A legszignifikánsabb biomarker kombinációk (CAR, PLRxD-dimer, NLR and NLRdLDH) vágóérték alatti értékei hosszabb túléléssel korreláltak. (2.Ábra)

Betegek kockázati csoportokba sorolása

A triplet biomarker kombinációkkal prognosztikai csoportok voltak kialakíthatók függetlenül a stádiumtól, a szövettantól és az



1. Ábra: A CRP, albumin és PLR Kaplan-Meier (KM) görbéi

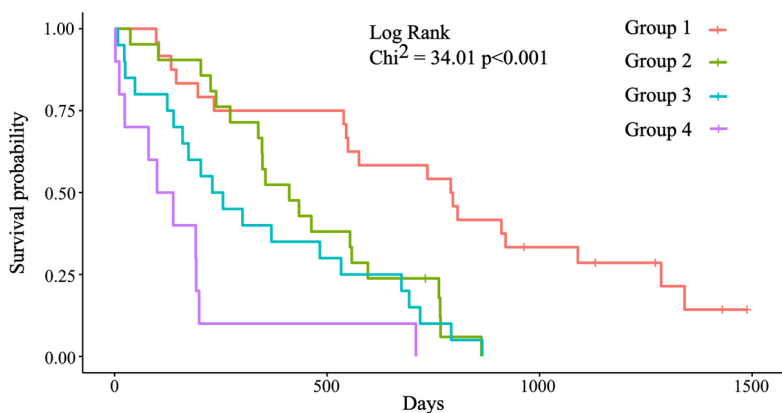


2.Ábra: A CAR, D-dimer x PLR, NLR és NLR/LDH KM-görbéi

elsővonalbeli terápia alatt kialakult progresszióig eltelt időtől. A kettő legszignifikánsabb szérumbiomarker (CRP és albumin) és az első legszorosabb kapcsolatot mutató vércépből számolt arány (PLR) alapján négy prognosztikai csoport volt képezhető az egyes biomarkerek (CRP, albumin és PLR) cut-off értékei alapján (1. Táblázat): 1. Csoport: Nincs tartományértéken kívüli (out-of range value = ORV) biomarker; 2. Csoport: Egy ORV biomarker; 3. Csoport: Kettő ORV biomarker; 4. Csoport: Három ORV biomarker. Szignifikáns különbségek voltak észlelhetők a csoportok között (3. Ábra, 2. Táblázat).

1. Táblázat: Négy csoport a CRP, albumin és PLR vágóértékei alapján

	1. csoport	2. csoport		3. csoport			4. csoport	
CRP (mg/l)	≤ 30,65	> 30,65	≤ 30,65	≤ 30,65	> 30,65	> 30,65	≤ 30,65	> 30,65
albumin (g/l)	> 44,35	> 44,35	≤ 44,35	> 44,35	≤ 44,35	> 44,35	≤ 44,35	≤ 44,35
PLR	≤ 168,2	≤ 168,2	≤ 168,2	> 168,2	≤ 168,2	> 168,2	> 168,2	> 168,2



3. Ábra: A négy csoport Kaplan-Meier görbéje

2. Táblázat: Szignifikáns különbségek a csoportok között

Csop.	n=	Med.OS(hó)	HR (95% CI)	p-érték	Power (95% CI)
1	24	26,07	1	-	-
2	21	13,50	3,0 (1,5 – 6,2)	0,003	0,896(0,242-0,997)
3	20	7,97	4,1 (2,0 – 8,3)	<0,001	0,976(0,570-0,999)
4	10	3,91	10,2 (4,2 – 24,6)	<0,001	0,999(0,981-1)

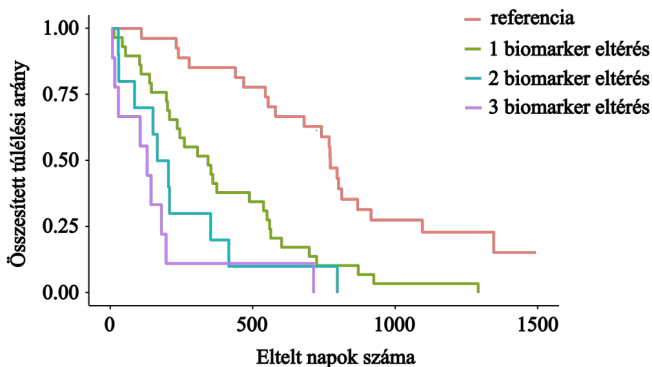
A biomarker-kombinációkat tekintve, mivel a betegek kockázati csoportba történő besorolását legegyszerűsebben a CAR, PLRxD-dimer és NLR biomarkerekkel érték el, ezért ez a kombináció került elemzésre a továbbiakban. Ezen biomarker-kombinációkkal is hasonló csoportosítások történtek (3. Táblázat). Ezen csoportok között is szignifikáns különbségek voltak kimutathatók (4. Táblázat, 4. Ábra).

3. Táblázat: Négy csoport a CAR, PLRxD-dimer és az NLR alapján

	Ref.		1		2		3	
CAR	≤ 1,495	> 1,495	≤ 1,495	≤ 1,495	> 1,495	> 1,495	≤ 1,495	> 1,495
PLRxD-dimer	≤ 150,3	≤ 150,3	> 150,3	≤ 150,3	> 150,3	≤ 150,3	> 150,3	> 150,3
NLR	≤ 4,34	≤ 4,34	≤ 4,34	> 4,34	≤ 4,34	> 4,34	> 4,34	> 4,34

4. Táblázat: Szignifikáns különbségek a csoportok között

Csop.	n=	Med.OS(hó)	HR(95% CI)	p-érték	Power (95% CI)
Ref.	27	25,16	1	-	-
1	29	11,10	3,0 (1,7–5,4)	<0,001	0,929 (0,434-0,996)
2	10	5,89	5,3 (2,4–11,7)	<0,001	0,998 (0,714-0,999)
3	9	4,07	9,0 (3,9 – 20,8)	<0,001	0,999 (0,979-1)



4. Ábra: A négy biomarker-kombinációs csoport Kaplan-Meier görbéje

Az 1 és 2 éves túlélésre vonatkozólag nagyobb szenzitivitás, specificitás, pozitív és negatív prediktív értékek (PPV, NPV) jellemezték a CAR, PLR-xD-dimer és NLR biomarker-kombinációkat, mint a CRP, albumin és PLR biomarkereket (5. és 6. Táblázatok).

5. Táblázat: CRP, albumin, PLR mérőszámai

Halál	Szenz. (% , CI)	Spec. (% , CI)	PPV (% , CI)	NPV (% , CI)
1 év	85,0 (70,2-94,3)	51,4 (33,9-68,2)	66,6 (58,1-74,2)	75,0 (57,3-87,0)
2 év	81,5 (68,6-90,7)	66,6 (43,0-85,4)	86,3 (77,2-92,1)	58,3 (42,6-72,5)

6. Táblázat: CAR, PLRxD-dimer, NLR mérőszámai

Halál	Szenz. (% , CI)	Spec. (% , CI)	PPV (% , CI)	NPV (% , CI)
1 év	89,2 (74,6-96,9)	60,5 (73,4-75,9)	68,7 (59,3-76,8)	85,2 (68,7-93,7)
2 év	81,5 (68,6-90,7)	80,9 (58,1-94,5)	91,6 (81,8-96,4)	62,9 (48,3-75,5)

Új megállapítások

Nyolc a klinikai gyakorlatban rutinszerűen mért laboratóriumi paraméter (CRP, albumin, CAR, D-dimer, LDH, LMR, NLR, PLR) kiindulási értékei és az OS közötti összefüggés elemzése alapján megállapítható, hogy a perifériás vér biomarker alapértékeinek kombinációja hozzájárulhat az OS becsléséhez előrehaladott daganatos betegek körében. Konzisztens prognosztikai csoportokat lehetett alkotni a három legszignifikánsabb biomarker (CRP, albumin és PLR) és biomarker-kombinációk (CAR, PLRxD-dimer és NLR) használatával. Az OS szignifikánsan különböző volt a kialakított prognosztikai csoportok mindegyikében. Egyik előnye a fenti elemzéseknek, hogy ezek a paraméterek többletköltség nélkül rutinszerűen mérhetőek. A disszertáció szerzőjének meggyőződése, hogy ezen és más biomarker mintázatok prognosztikai jelentőségének feltárása, és azok szerepének értékelése az eddig jól meghatározott prognosztikus rendszerekhez viszonyítva további vizsgálatokat és validálást igényel annak eldöntésére, hogy mennyire hatékony ezek ismerete a betegek prognózisának becslésében.

1.:

Előrehaladott daganatos betegcsoportunkban nyolc prognosztikus biomarker [C-reaktív protein (CRP), keresztkötött fibrin degradációs termékeke (D-dimer), laktátdehidrogenáz (LDH), albumin, CRP-albumin arány (CAR), lymphocyta-monocyta arány (LMR), neutrophil-lymphocyta arány (NLR) és vérlemezke-lymphocyta arány (PLR)] alapértékei és a medián teljes túlélés alapján meghatározott vágóértékek lehetővé tették a teljes túléléssel legszorosabb kapcsolatot mutató biomarkerek és biomarker-kombinációk kiválasztását.

2.:

Három biomarker (CRP, albumin, PLR) vagy biomarker-kombináció (CAR, PLRxD-dimer és NLR) vágóértékeit figyelembe véve előrehaladott rosszindulatú daganatos beteganyagunkon négy prognosztikai csoportot képeztünk.

3.:

Valós körülmények között a perifériás vér biomarker és biomarker-kombináció alapértékei hozzájárulhatnak a teljes túlélés (OS) becsléséhez előrehaladott daganatos betegekben.

4.:

A prognosztikus biomarkerek [C-reaktív protein (CRP), keresztkötött fibrin degradációs termékeke (D-dimer), laktátdehidrogenáz (LDH), albumin, CRP-albumin arány (CAR), lymphocyta-monocyta arány (LMR), neutrophil-lymphocyta arány (NLR) és vérlemezke-lymphocyta arány (PLR)] többletköltség nélkül rutinszerűen mérhetők.

5.:

A biomarker mintázatok prognosztikai jelentőségének feltárása, és azok szerepének értékelése az eddig jól meghatározott prognosztikus rendszerekhez viszonyítva további vizsgálatokat és validálást igényel annak eldöntésére, hogy mennyire segíti a betegek vezetését és gondozását ezek ismerete.

Összefoglalás

BEVEZETÉS: A rosszindulatú daganatos betegek rövidebb teljes túlélésével konzisztens összefüggést mutatnak az emelkedett CRP, D-dimer, LDH, csökkent albumin, LMR, az emelkedett CAR, NLR és PLR, továbbá ezen néhány biomarker kombinációja.

CÉLKITŰZÉS: A fenti biomarkerek közül a teljes túléléssel (OS) legszorosabb kapcsolatot mutató biomarkerek és kombinációik keresése, és tanulmányozása valós körülmények között egy rákközpont beteganyagán.

MÓDSZER: Retrospektív elemzése a fenti biomarkerek és kombinációinak a túléléssel való összefüggésére vonatkozóan 75 előrehaladott daganatos betegnél a validált cut-off érték meghatározás alkalmazásával.

EREDMÉNYEK: A CRP, az albumin és a PLR markáns összefüggést mutatott az OS-sel. A biomarker cut-off értékek alapján négy betegcsoport került kialakításra annak függvényében, hogy a biomarker értékek a tartományon kívül esnek-e (out of range value) a cut-off értékekhez viszonyítva. Szignifikáns különbségeket kaptunk az OS-ben a csoportok között. A CAR és a PLR mellett a következő három biomarker (D-dimer; NLR; LDH) került vizsgálatra. A CAR, a PLR-D-dimer szorzat (PLRxD-dimer) és az NLR kifejezett összefüggést mutatott a teljes túléléssel. A biomarker cut-off feletti értékei alapján négy beteg csoport volt kialakítható. Szignifikáns OS különbségekre derült fény a csoportok között.

ÚJ MEGÁLLAPÍTÁS: A CRP, albumin, PLR, valamint a CAR, PLRxD-dimer és NLR alapértékek meghatározása az OS becslését segítheti.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Deme D, Kovacs S, Telekes A. (2022) Overall survival prediction of advanced cancer patients by selection of the most significant baseline serum biomarker combination. Pathol Oncol Res. DOI: 10.3389/pore.2022.1610004 (várható **IF 2,874**)
2. Deme D. (2022) A neutrophil-lymphocytá arány (NLR) prognosztikai értéke daganatos betegségekben. Orv Hetil. 2022; 163(27): 1066-1073. (várható **IF 0,707**)

A disszertációtól független közlemények

1. Deme D, Al-Hadad A, Varga T, Szántó E, Sándor K, Rakonczai E. (2009) Maximális kezdődózissal indított és heveny veseelégtelenséggel szövődött simvastatin indukálta rhabdomyolysis: rizikófaktorkok, patomechanizmus és kezelés egy eset kapcsán Orv. Hetil. 150: 265-269.
2. Deme D, Ragán M, Kalmár K, Kovács L, Varga E, Varga T, Rakonczai E. (2010) TTP-HUS klinikai képét utánzó és heveny veseelégtelenséggel szövődő krónikus DIC háttérben álló metasztatikus prosztatarák: patomechanizmus, differenciáldiagnózis és kezelés egy eset kapcsán Magy. Onkol. 54: 351-357.
3. Deme D, Telekes A. (2015) Sarcoma synoviale kezelési lehetőségei. Orv. Hetil. 156: 875-880. (**IF 0,291**)
4. Deme D, Bishr AM, Nizar J, Telekes A. (2015) Személyre szabott kezelés szinkron, nyirokcsomó pozitív petefészek- és vastagbél-daganatban. Orv. Hetil. 156: 939-943. (**IF 0,291**)
5. Deme D, Bishr AM, Telekes A. (2016) Sarcoma synoviale. Orv. Hetil. 157: 224-229. (**IF 0,349**)
6. Telekes A, Deme D. (2016) Ramucirumab – új daganatellenes szer. Orv. Hetil. 157: 1587-1594. (**IF 0,349**)
7. Deme D, Telekes A. (2016) Az onkológiai páciensek szoros képalkotó

követése – előny vagy hátrány? Orv. Hetil. 157: 1538-1545. (IF 0,349)

8. Deme D, Telekes A. (2017) plazma C-reaktív protein (CRP) prognosztikai jelentősége az onkológiában. Orv Hetil. 158: 243–256. (IF 0,322)

9. Deme D, Telekes A. (2017) A laktát dehidrogenáz (LDH) prognosztikai jelentősége az onkológiában. Orv Hetil. 158: 1977-88. (IF 0,322)

10. Deme D, Telekes A. (2017) A keresztkötött fibrin degradációs termékek (D-dimer) prognosztikai jelentősége az onkológiában. Magy. Onk. 61: 319-26.

11. Deme D, Telekes A. (2018) Az albumin prognosztikai jelentősége az onkológiában. Orv. Hetil. 159: 96-106. (IF 0,564)

12. Deme D, Telekes A. (2018) Bevacizumab rechallenge kezelés hatékonysága vastagbél daganat májáttétje esetén – esetismertetés. Orv. Hetil. 159: 1284-1290. (IF 0,564)

13. Telekes A, Deme D. (2019) Az időskori gyógyszerterápia alapjai – áttekintő közlemény
Orv. Hetil. 160: 896-907. (IF 0,417)

Köszönetnyilvánítás

Gloria in excelsis Deo!

Köszönetemet fejezem ki Szüleimnek, akik a tanulmányaimban kezdettől fogva támogattak.

Köszönetemet fejezem ki minden tanáromnak, akiktől tanulhattam.

Köszönetemet fejezem ki Bercsényi Lajos Főorvos Úrnak, a Szent Lázár Megyei Kórház nyugalmazott Főigazgatójának, hogy már orvostanhallgatóként kiváló mentorokra bízott, majd munkába állásom után az onkológiai betegellátás irányába terelt és támogatásáról biztosított.

Köszönetemet fejezem ki mentoraimnak, Szöllősi Zsuzsanna Főorvos Asszonynak a Szent Lázár Megyei Kórház Onkológiai Osztályának nyugalmazott Osztályvezetőjének, akitől a komplex belgyógyászati-onkológiai szemléletet tanulhattam meg. Továbbá köszönöm a Szent Lázár Megyei Kórház orvosainak és ápolóinak minden tanácsát és segítségét.

Köszönetemet fejezem ki Baki Márta Főorvos Asszonynak, az Uzsoki Kórház Kandidátusának, akivel a Szent Lázár Megyei Kórházban találkoztam először egy onkológiai konzílium kapcsán, és aki tanácsaival segítette szakmai előrehaladásomat.

Köszönetemet fejezem ki Pajkos Gábor Főorvos Úrnak, akivel a Szent Lázár Megyei Kórházban nyolc hónapon keresztül dolgozhattam, és aki a korszerű onkológiai terápiás gyakorlatba vezetett be.

Köszönetemet fejezem ki Telekes András Professor Úrnak, témavezetőmnek, akitől a gyakorlati onkológiai gondolkodást sajátíthattam el, és mind szakmai mind baráti tanácsaival segítette munkámat.

Köszönetemet fejezem ki Vásárhelyi Barna Professor Úrnak a publikációk elkészítése során nyújtott segítségéért.

Köszönetemet fejezem ki Abdulfatah M. Bishr Főorvos Úrnak, aki szakmai előrehaladásomat mindenben támogatta.

Köszönetemet fejezem ki Feleségemnek, aki mindenben támogat.