

Az enzalutamid rezisztencia prediktív markereinek azonosítása prosztatatarákban

Pásztor-Csizmarik Anita

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



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

Hivatalos bírálók: Dr. Borka Katalin, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Beöthe Tamás, Ph.D., főorvos

Komplex vizsga szakmai bizottság

Elnök: Dr. Ács Nándor, Ph.D., egyetemi tanár

Tagjai: Dr. Papp Gergő, Ph.D., tudományos munkatárs

Dr. Füle Tibor, Ph.D., szaktanácsadó

Budapest
2022

1. Bevezetés

A prosztatatarák (PC) a világon a második leggyakrabban diagnosztizált daganatos megbetegedés a férfiak körében, melyből évente mintegy 1.400.000 új esetet fedeznek fel és körülbelül 375.000 férfi halálát okozza ez a daganat.

Mivel a PC egy hormonfüggő betegség, ezért az előrehaladott stádiumban standard kezelése az androgén deprivációs terápia (ADT), melynek célja a szérum tesztoszteron szint kasztrációs szintre történő csökkentése. Ez a terápia a betegek nagy részénél PSA szint csökkenést okoz és ideiglenesen megállítja a tumor növekedését. Azonban jellemzően 2-3 év után a betegség progrediál és kialakul a kasztráció rezisztens stádium (CRPC).

A metasztatikus CRPC betegek kezelésére a docetaxel (DOC) kemoterápiát több, mint egy évtizedig szinte egyedüli szisztémás kezelésként használták. 2012-től a terápiás paletta bővült, megjelent két új-generációs antiandrogén az enzalutamid (ENZA) és abirateron (ABI), valamint a csontáttéteket célzó radium-223 kezelés. Másod- vagy későbbi vonalban adható terápiák a cabazitaxel, valamint a tumor molekuláris sajátosságait figyelembe vevő pembrolizumab és a PARP inhibitor kezelések.

Az ENZA az új-generációs antiandrogén támadáspontú terápiák közé tartozik. Az ENZA hatását tekintve egy androgén receptor (AR) antagonist, mely hármas hatással rendelkezik; egyrészt

gátolja a receptor-ligand kötődés létrejöttét, másrészt gátolja a receptor-ligand transzlokációját a sejtmagba és gátolja az AR DNS-hez való kötődését, ezáltal a célgénjeinek átíródását. Az ENZA kezeléssel kapcsolatban is gyakran figyelhető meg a kezelés kezdetén és a kezelés során fellépő rezisztencia, melyekért felelős mechanizmusok egyre nagyobb mértékben válnak ismertté. Az irodalomban eddig az androgén receptor eltéréseit, a Wnt, a p53 szignálút sérüléseit, valamint a DNS hibajavító mechanizmusában részt vevő gének sérüléseivel összefüggésben kialakuló rezisztencia mechanizmusokat írták le.

Az antiandrogén terápiák ellen kialakuló rezisztencia hátterében a neuroendokrin transz-differenciáció kialakulása is szerepet játszhat. A tisztán neuroendokrin, vagy kissejtes daganat a PC igen ritka szövettani megjelenésű formája. Azonban a prosztatata adenocarcinoma is gyakran tartalmaz elszórtan elhelyezkedő neuroendokrin differenciációt mutató tumorsejteket. Közös jellemzőjük, hogy nem termelnek PSA-t, agresszív növekedésűek és az antiandrogén terápiákkal szemben rezisztenciát mutatnak, így az ADT alkalmazásának hatására kisselektálódnak és CRPC stádiumban a daganatok már nagyszámban tartalmaznak neuroendokrin tumorrészeket. Ezt a szelektációs folyamatot „neuroendokrin transz-differenciáció”-nak nevezzük. A neuroendokrin markerek szérum koncentrációi

prediktív markerként szolgálhat a PC-ben használt szisztémás terápiák hatékonyságának előrejelzésére valamint azok követésére.

Az ENZA rezisztencia mechanizmusait feltérképező kutatások ellenére nincsenek a klinikai gyakorlatban olyan markerek, amelyek képesek lennének a terápiára nagy valószínűséggel nem reagáló betegek azonosítására. Ezért kutatómunkám célja az ENZA-rezisztencia molekuláris mechanizmusainak alaposabb megismerése, valamint a rezisztenciát előrejelző markerek azonosítása volt.

2. Célkitűzés

Kutatómunkám során alábbi célokat tűztük ki:

- A szakirodalom által eddig ismertté vált, a PC kialakulásáért felelős molekuláris markerek és főbb jelátviteli utak összefoglalása. Továbbá, az új-generációs antiandrogén terápiák (ENZA és ABI) elleni rezisztenciában szerepet játszó eddig ismertté vált mechanizmusok irodalmi összefoglalása.
- ENZA-érzékeny (LAPC4, DUCAP) és -rezisztens (LAPC4-ER, DUCAP-ER) PC sejtek komparatív proteomikai vizsgálata.
- A kiválasztott legígéretesebb fehérjék koncentrációinak meghatározása ENZA-kezelt mCRPC betegek szérum mintáiban és a fehérjék prediktív értékének meghatározása.

Továbbá az egyik kiválasztott fehérje, az ALCAM szérum koncentrációját meghatároztuk ABI- és DOC-kezelt mCRPC betegek mintáiban is.

- A legígéretesebb fehérje génexpressziós vizsgálata *in silico* adatelemzéssel nyílt hozzáférésű adatbázisok felhasználásával.
- A legígéretesebb fehérje rezisztenciában betöltött esetleges funkcionális szerepének vizsgálata *in vitro* PC sejtmodellben.
- Neuroendokrin szérum markerek (CGA és NSE) prognosztikus és prediktív értékének meghatározása a lokális, hormon szenzitív PC-os betegek, továbbá ENZA-, ABI- és DOC-kezelt mCRPC betegek mintáiban.

3. Módszerek

Kutatásunk során ENZA-érzékeny (LAPC4, DUCAP) és rezisztens (LAPC4-ER, DUCAP-ER) sejtvonalpárokat tenyésztettünk, annak érdekében, hogy meghatározzuk teljes fehérje készletüket, melyhez folyadékromatográfiához kapcsolt, tömegspektroszkópiát (LC-MS/MS) használtunk. Ezzel a módszerrel azonosítottuk az eltérő mértékben kifejeződő fehérjéket az ENZA rezisztens PC sejtvonalakban az érzékeny párjukhoz képest. Az így kapott nagyszámú fehérjét tartalmazó adatlistából első körben előzetes szűrési kritériumrendszert felállítva azokat a fehérjéket választottuk ki, amelyek szignifikáns

eltérést mutattak és legalább 2 egyedi peptid alapján voltak beazonosíthatók. Az így leszűkített fehérjelistát ezután további három módszerrel szűrtük, annak érdekében, hogy kiválasszuk a legígéretesebb biomarker-jelölteket.

Az első szűrési módszer során egy általunk felállított pontozási rendszer szerint rangsoroltuk a fehérje listánkat, mely figyelembe vette a fehérjék expressziós változásának mértékét, funkcionális szerepét, a szakirodalomban leírt prognosztikus vagy prediktív értékét, valamint fontos szempont volt, hogy a későbbi szérumbizonylatok elvégzésének érdekében kereskedelmi szempontból elérhető-e megbízható ELISA kit. A második kiválasztás során a szekretálódó, tehát nagy valószínűséggel a véráramban jelen lévő fehérjéket választottuk ki. A harmadik szűrési módszer során pedig saját eredményeinket vetettük össze egy 2018-ban megjelent ENZA rezisztens és érzékeny sejteken végzett transzkriptom szintű vizsgálat eredményeivel. Ezt a három bioinformatikai szűrési módszert alkalmazva összesen négy fehérjét választottuk ki a szérumbizonylatokra.

Az ELISA vizsgálatok során a négy markert (ALCAM, AGR2, IDH1, NDRG1) 72 ENZA-kezelt mCRPC betege terápia megkezdése (alapvonal) előtti szérumbizonylat mintáiban határoztuk meg. Mivel az ELISA vizsgálatok során azt találtuk, hogy a magasabb ALCAM szérumbizonylat koncentrációk összefüggésbe vannak az ENZA-

kezelt betegek rövidebb túlélésével, ezért megmértünk az ALCAM koncentrációját további 101 ABI- és 100 DOC-kezelt mCRPC beteg alapvonali mintáiban is. A fehérjék prediktív értékének meghatározásához a betegek klinikopatológiai és követési adatait használtuk fel.

A szérumvizsgálatok eredményei alapján az ALCAM fehérje összefüggést mutatott a betegek rövidebb túlélésével, így a fehérjét további funkcionális vizsgálatoknak vetettük alá. Elsőként a proteomikai vizsgálatunk eredményeit ellenőriztük úgy, hogy megvizsgáltuk az ALCAM gén és fehérjeexpressziós szintjét mindkét ENZA rezisztens és érzékeny sejtvonalpárban, melyhez RT-qPCR és Western-blot technikát alkalmaztunk. A funkcionális vizsgálatok során a fehérje kifejeződését siRNS technikával gátoltuk, majd egyidejűleg különböző koncentrációjú ENZA-kezelésnek vetettük alá a sejteket és WST-1 sejtproliferációs technika alkalmazásával figyeltük az ENZA kezelés elleni rezisztenciájuk változásait.

Kutatásom során a neuroendokrin szérum markerek (CGA és NSE) prognosztikus és prediktív értékének meghatározásához radikális prosztataektómián (RPE) átesett lokális PC betegek műtét előtti, valamint DOC- és ABI/ENZA-kezelt mCRPC betegek mintáit használtuk fel. A vizsgálatokhoz a lokális PC esetén 157 RPE átesett férfi műtét előtti mintát használtuk fel. A

DOC-kezelt betegek esetén 95 férfi kezelés előtti mintáit vizsgáltuk. Továbbá a kezelés alatti minden megkezdett ciklus első napján gyűjtött minták is rendelkezésünkre álltak. Az ABI/ENZA kezelésekkal kapcsolatban összesen 143 kezelés előtti szérum minta állt rendelkezésünkre, továbbá 93 beteg esetében a kezelés megkezdése utáni 3. hónapban gyűjtött minták is elérhetőek voltak.

4. Eredmények

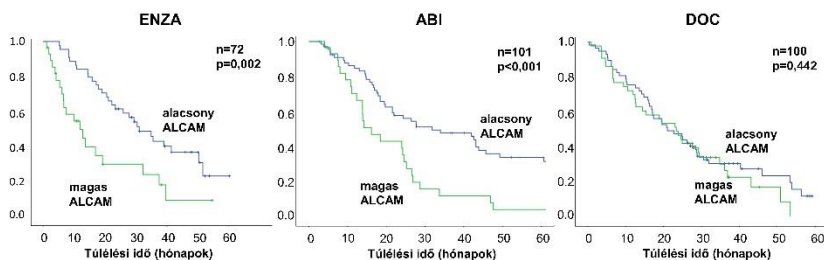
Az ENZA érzékeny és rezisztens sejtvonalpárok összehasonlító proteomikai elemzése 4786 eltérő expressziót mutató fehérjét azonosított, melyek közül a három bioinformatikai szűrési módszerünkkel az ALCAM, AGR2, IDH1 és az NDRG1 fehérjéket választottuk ki a további szérumvizsgálatokra.

Az ENZA-kezelt betegcsoport univariancia vizsgálata alapján a lágyszövet- és csontmetasztázisok jelenléte szignifikáns összefüggést mutatott a betegek rövidebb túlélésével. Azok a betegek, akik másod vagy annál későbbi vonalban kapták az ENZA kezelést szignifikánsan rövidebb túlélést mutattak. Továbbá, a kezelés előtti emelkedett PSA és ALCAM koncentrációk a betegek rövidebb túlélésével korreláltak (1. ábra). A multivariancia analízis eredményei alapján a csontmetasztázisok jelenléte, valamint a kezelés előtti magas PSA és ALCAM (>146,6

ng/ml) koncentrációk egymástól független prognosztikus faktornak bizonyultak a túlélés tekintetében.

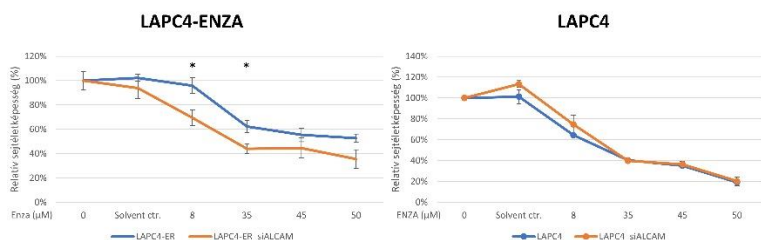
Az ABI-kezelt betegek esetében a magasabb ECOG pontszámmal mért általános állapot (>2), a magas kezelés előtti PSA és ALCAM szérumszintek szignifikáns összefüggést mutattak a betegek rövidebb túlélésével (1. ábra). Multivariáns analízissel vizsgálva a kezelés előtti magas ALCAM koncentrációk (>143,1 ng/ml) és a rossz ECOG státusz (>2) a túlélés független prognosztikai faktorának bizonyultak.

A DOC-kezelt betegek esetén a kezelés előtti magas PSA szint és a betegek rosszabb ECOG státusza (>2) bizonyult független prognosztikus faktornak a túlélés tekintetében. Ugyanakkor ebben a kezelési csoportban nem találtunk szignifikáns összefüggést a betegek túlélése és az ALCAM szérumszintek között.



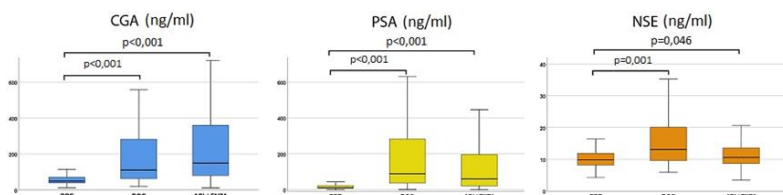
1. ábra - Az ENZA-, ABI- és DOC-kezelt betegek ALCAM túlélés analízise Kaplan-Meier görbén bemutatva. Az ENZA- és ABI-kezelt csoport esetén a kezelés előtti magas ALCAM koncentrációk (>146,6 és >143,1 ng/ml) a betegek rövidebb túlélésével korreláltak. Ezzel szemben a DOC-kezelt betegek esetében nem találtunk hasonló összefüggést a betegek túlélése és az ALCAM szérumszintek között.

Funkcionális vizsgálataink során először RNS és fehérje szinten sikeresen validáltuk az ALCAM fehérje proteomikai vizsgálat által meghatározott expressziós különbségét az ENZA-rezisztens és érzékeny sejtvonalpárokban. A géncsendesítés sikerességét fehérje szinten, Western blot technikával ellenőriztük. Az ALCAM fehérje siRNS-sel történő géncsendesítését követően megvizsgáltuk a sejtek életképességének változását különböző ENZA dózisek mellett, mely során 6 napig kezeltük az siRNS-sel csendesített és a kontroll sejteket is. A LAPC4-ER sejtvonal esetében a csendesítés hatására a sejtek életképessége szignifikáns mértékben csökkent a kontroll sejtekhez viszonyítva az ENZA kezelés hatására, míg a LAPC4 sejtvonal esetében nem találtunk hasonló összefüggést. Így elmondható, hogy az ALCAM génextpressziójának gátlása jelentős mértékben megnövelte a sejtek ENZA-érzékenységét (2. ábra).



2. ábra – Az ALCAM csendesítésnek alávetett LAPC4-ER, illetve LAPC4 sejtek életképessége a 6 napos ENZA-kezelést követően. Az ALCAM csendesített LAPC4-ER esetében a 8 és 35 µM ENZA kezelés hatására szignifikánsan csökkent a sejtek életképessége.

A neuroendokrin szérumbiomarkerek kutatásával foglalkozó munkánk során szignifikánsan magasabb volt mindhárom vizsgált marker szérumszintje a kasztráció-rezisztens betegcsoportok (ENZA/ABI, DOC) esetén, a lokális, hormonérzékeny és RPE műtéten átesett betegcsoportéhoz képest ($p < 0,001$) (3. ábra).



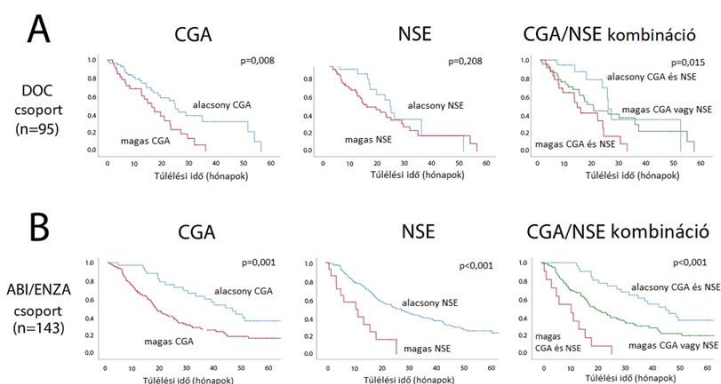
3. ábra – A hormon érzékeny, RPE műtéten átesett PC betegek és a ENZA/ABI- és DOC-kezelt mCRPC betegek CGA, NSE és PSA szérum koncentrációinak Box-plot ábrázolása.

A RPE-n átesett betegek multivariancia analízise alapján a malignus elváltozás stádiuma ($pT3-4$) és a műtét előtti emelkedett PSA szintek bizonyultak egymástól független prognosztikus faktornak a PSA-PFS tekintetében. A RPE-n átesett lokális PC betegek esetén a CGA és NSE szérum koncentrációk nem mutattak szignifikáns összefüggést a PSA-PFS-sel.

Az ENZA/ABI-kezelt mCRPC betegek esetén szignifikáns összefüggést találtunk a rosszabb általános állapot ($ECOG > 2$), a csontmetasztázisok jelenléte, a kezelés előtti emelkedett PSA, CGA és NSE koncentrációk és a rövidebb teljes túlélés között. A legerősebb összefüggést a túléléssel akkor kaptuk, ha a kezelés előtti emelkedett CGA ($> 85,0$ ng/ml) és NSE ($> 19,0$ ng/ml)

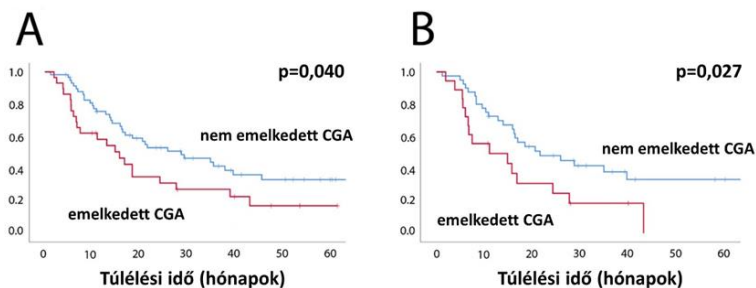
szintjeit egymással kombináltuk (4. ábra). Multivariancia analízissel vizsgálva a kezelés előtti emelkedett CGA ($p=0,047$) szint a túlélés tekintetében független prognosztikus faktornak bizonyult.

A DOC kezelt betegcsoport esetén szignifikáns korrelációt találtunk a rövidebb teljes túlélés és a rosszabb ECOG szerinti általános állapot (>1), a PSA válasz és a magas kezelés előtti CGA között (4. ábra). Multivariancia analízissel vizsgálva a kezelés előtti emelkedett CGA (>168 ng/ml) bizonyult független prognosztikus faktornak a túlélés tekintetében.



4.ábra – A CGA és NSE szérumszintek Kaplan-Meier túlélés analízise. (A) A DOC-kezelt betegek esetén a kezelés előtti magas CGA szintek szignifikáns összefüggést mutatnak a rövidebb túléléssel. (B) Az ENZA/ABI-kezelt betegek esetén a kezelés előtti emelkedett CGA és NSE szintek szignifikáns összefüggést mutatnak a betegek rövidebb túlélésével, továbbá a CGA és NSE értékek kombinációja egy még pontosabb prognosztikai elválasztást tesz lehetővé.

Az ENZA/ABI-kezelt betegcsoport esetén megvizsgáltuk a CGA és NSE szérumszintjének változásait a kezelés megkezdése utáni 3. hónapban vett mintákban. Ezután elvégeztük a túlélés analízist az egész csoportra, valamint külön azokra a betegekre is, akiknek a kezelés előtti szérum CGA és NSE értékei is emelkedettek voltak. Az egész csoporton elvégzett kiértékelés alapján azon betegek túlélése szignifikánsan rövidebb volt, akiknél a kezelés alatt legalább 50%-kal emelkedett a CGA koncentráció ($p=0,040$) (5. ábra). Továbbá, ez a korreláció sokkal egyértelműbb volt abban a betegcsoportban, ahol már a kezelés előtt is emelkedett CGA koncentrációt mértünk ($p=0,027$) (5. ábra).



5. ábra – Az ENZA/ABI-kezelt mCRPC betegek Kaplan-Meier túlélés analízise a 3. havi követéses CGA szérumszintek függvényében. (A) Az egész csoportot vizsgálva a CGA legalább 50%-os emelkedése a terápia megkezdése után vett 3. havi mintában szignifikáns összefüggést mutat a rövidebb túléléssel. (B) Azoknál a betegeknél, akiknél a CGA érték a kezelés előtt emelkedett volt ($>101,9$ ng/ml) és a terápia során tovább növekedett szignifikánsan rövidebb túlélést kaptunk.

A DOC-kezelt betegeknél is megvizsgáltuk a kezelés megkezdése után vett mintákban a CGA és NSE változásai és a túlélés közötti kapcsolatot. Azonban a DOC csoportban nem találtunk az ENZA/ABI csoportéhoz hasonló összefüggéseket, ami arra utal, hogy a fenti két marker csak az ENZA/ABI kezelés hatékonyságát képes előrejelezni, ami ezen markerek terápiaprediktív értékére utal.

5. Következtetések

Kutatómunkám során két ENZA-érzékeny és rezisztens PC sejtvonalpáron végeztünk proteomikai analízist, melyhez tömegspektroszkópiai módszert alkalmaztunk. Ezzel a módszerrel sikeresen azonosítottunk több ezer olyan fehérjét, melyek részt vehetnek az ENZA rezisztencia kialakításában. A proteomikai vizsgálattal kapott adatsorból különböző szempontok szerint kialakított bioinformatikai módszerekkel 4 fehérjét (ALCAM, AGR2, NDRG1, IDH1) választottunk ki klinikai mintákon történő szérum ELISA vizsgálatokra.

A szérum vizsgálatok eredményei alapján az ALCAM fehérje kezelés előtti emelkedett szintje szignifikáns összefüggést mutatott a betegek rövidebb túlélésével. Továbbá, az ALCAM szérum vizsgálatainkat kiterjesztettük az mCRPC-ben leggyakrabban alkalmazott további két kezelésre (ABI és DOC), melynek során

azt találtuk, hogy az ALCAM fehérje kezelés előtti szérumszintje összefüggést mutat az ABI-kezelt betegek rövidebb túlélésével, ugyanakkor a DOC-kezelt betegek esetében nem találtunk hasonló összefüggést. Eredményeink alapján az ALCAM fehérje kezelések megkezdése előtt mért szérumszintjének meghatározása hozzásegíthet az ENZA és ABI-rezisztens betegek azonosításához, így hozzájárulva a hatékonyabb elsővonalbeli terápia kiválasztásához.

In vitro vizsgálataink során az ALCAM fehérje ENZA rezisztenciában betöltött funkcionális szerepét vizsgáltuk a LAPC4 /LAPC4-ER sejtvonalpárban. Kísérleteink során az ALCAM expressziójának gátlására a LAPC4-ER sejtek ENZA érzékenysége megnövekedett, ami az ALCAM ENZA rezisztenciában betöltött funkcionális szerepére utal és az ALCAM lehetséges terápiás célpontkénti alkalmazását is felveti.

Eredményeinket figyelembe véve a terápia érzékeny és rezisztens sejtvonalpárok fehérjekészletének proteomikai módszerrel való vizsgálata és a kapott eredmények hipotézismentes feldolgozása hatékony és alkalmas módszer új biomarkerek és terápiás célpontok azonosítására. Vizsgálatunk eredményei alapján az ALCAM, mint prediktív biomarker, klinikai alkalmazásra is alkalmas lehet, amihez azonban elengedetlen, hogy eredményeinket egy nagyobb, független

betegkohorton is validálni tudjuk. Továbbá a fehérje ENZA és ABI rezisztenciában betöltött szerepének pontosabb megismeréséhez további funkcionális vizsgálatokra van szükség.

A neuroendokrin szérum markerek prognosztikai értékének vizsgálata során szignifikánsan magasabb CGA és NSE szérumszintek detektáltunk az antiandrogén terápiával (ENZA/ABI) és DOC kemoterápiával kezelt mCRPC betegek esetén a hormonérzékeny, lokális PC betegekhez képest. Ez az eredmény a neuroendokrin transz-differenciáció tumorprogresszió során történő kifejlődésére utal. Ebben szerepet játszhat az ADT kezelés által kiváltott neuroendokrin sejteket érintő pozitív szelektációs hatás, amely a daganat neuroendokrin transz-differenciációjához vezet.

Szérumvizsgálatainkkal sikerült a CGA prediktív értékét kimutatnunk, mely klinikai szempontból fontos információt szolgáltat az DOC és az ENZA/ABI terápiák közötti terápiás döntés optimalizálásához. Továbbá, a CGA emelkedése az ENZA/ABI terápia során alkalmas lehet a kezelés monitorozására, ami segíthet a terápiaváltás szükséges időpontjának megválasztásában segítve ezzel a hatékonyabb kezelést és a betegek hosszabb túlélését.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó saját közlemények:

1. **Csizmarik A**, Keresztes D, Nagy N, Bracht T, Sitek B, Witzke K, Puhr M, Tornyi I, Lázár J, Takács L, Kramer G, Sevcenco S, Maj-Hes A, Jurányi Zsolt, Hadaschik B, Nyirády P, Szarvas T. Proteome profiling of enzalutamide-resistant cell lines and serum analysis identified ALCAM as marker of resistance in castration-resistant prostate cancer. *Int J Cancer*. 2022; Online ahead of print **IF:7,316**
2. Szarvas T, **Csizmarik A**, Fazekas T, Hüttl A, Nyirády P, Hadaschik B, Grünwald V, Püllen L, Jurányi Z, Kocsis Z, Shariat SF, Sevcenco S, Maj-Hes A, Kramer G. Comprehensive analysis of serum chromogranin A and neuron-specific enolase levels in localized and castration-resistant prostate cancer. *BJU Int*. 2021; 127: 44-55. **IF:5,969**
3. **Csizmarik A**, Hadaschik B, Kramer G, Nyirady P, Szarvas T. Mechanisms and markers of resistance to androgen signaling inhibitors in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Urol Oncol*. 2021; 39: 728.e13-728.e24. **IF:2,954**
4. Szarvas T, **Csizmarik A**, Nagy N, Keresztes D, Váradi M, Küronya Z, Riesz P, Nyirády P. Az áttétes kasztrációrezisztens prosztatarák gyógyszer-rezisztenciájának molekuláris vonatkozásai. *Orv Hetil*. 2020; 161: 813-820. **IF:0,540**
5. Szarvas T, **Csizmarik A**, Szűcs M, Nyirády P. A prosztatarák molekuláris altípusai és célzott terápiás kilátásai. *Orv Hetil*. 2019; 160: 252-263. **IF:0,497**

A disszertációtól független saját közlemények:

6. Kovács PT, Mayer T, **Csizmarik A**, Váradi M, Oláh C, Széles Á, Tschirdewahn S, Krafft U, Hadaschik B, Nyirády P, Riesz P, Szarvas T. Elevated Pre-Treatment Serum MMP-7 Levels Are Associated with the Presence of Metastasis and Poor Survival in Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Biomedicines*. 2022; 10: 698. **IF:4,757**
7. Keresztes D, **Csizmarik A**, Nagy N, Módos O, Fazekas T, Bracht T, Sitek B, Witzke K, Puhr M, Sevcenco S, Kramer G, Shariat S, Küronya Z, Takács L, Tornyai I, Lázár J, Hadaschik B, Lászik A, Szűcs M, Nyirády P, Szarvas T. Comparative proteome analysis identified CD44 as a possible serum marker for docetaxel resistance in castration-resistant prostate cancer. *J Cell Mol Med*. 2022; 26: 1332-1337. **IF:5,295**
8. Nagy ND, Fazekas T, Baghy K, Papp G, **Csizmarik A**, Szűcs M, Nyirády P, Szarvas T. A karboplatin-kemoterápia hatékonysága egy áttétes, kasztrációrezisztens, BRCA2-mutáció-pozitív prosztatarákos betegben. *Orv Hetil*. 2021; 162: 1004-1008. **IF:0,707**
9. Krafft U, Olah C, Reis H, Kesch C, Darr C, Grünwald V, Tschirdewahn S, Hadaschik B, Horvath O, Kenessey I, Nyirady P, Varadi M, Modos O, **Csizmarik A**, Szarvas T. High Serum PD-L1 Levels Are Associated with Poor Survival in Urothelial Cancer Patients Treated with Chemotherapy and Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *Cancers (Basel)*. 2021; 13: 2548. **IF:6,575**

10. Szarvas T, **Csizmarik A**, Váradi M, Fazekas T, Hüttl A, Nyirády P, Hadaschik B, Grünwald V, Tschirdewahn S, Shariat SF, Sevcenco S, Maj-Hes A, Kramer G. The prognostic value of serum MMP-7 levels in prostate cancer patients who received docetaxel, abiraterone, or enzalutamide therapy. *Urol Oncol*. 2021; 39: 296.e11-296.e19. **IF:2,954**
11. Fazekas T, Szarvas T, **Csizmarik A**, Hadaschik B, Nyirády P. Correction to: COVID-19 research: promising tracks leading to uro-oncology. *Int Urol Nephrol*. 2020; 52: 995-997.
12. Szarvas T, Hoffmann MJ, Olah C, Szekely E, Kiss A, Hess J, Tschirdewahn S, Hadaschik B, Grotheer V, Nyirady P, **Csizmarik A**, Varadi M, Reis H. MMP-7 Serum and Tissue Levels Are Associated with Poor Survival in Platinum-Treated Bladder Cancer Patients. *Diagnostics (Basel)*. 2020; 11: 48. **IF:3,992**
13. Olah C, Tschirdewahn S, Hoffmann MJ, Krafft U, Hadaschik B, Nyirady P, Szendrői A, Módos O, **Csizmarik A**, Kovalszky I, Reis H, Szarvas T. Soluble Syndecan-1 Levels Are Associated with Survival in Platinum-Treated Bladder Cancer Patients. *Diagnostics (Basel)*. 2020; 10: 864. **IF:3,706**
14. Nagy N, Reis H, Hadaschik B, Niedworok C, Módos O, Szendrői A, Bíró K, Hager T, Herold T, Ablat J, Black PC, Okon K, Tolkach Y, Csizmarik A, Oláh C, Keresztes D, Bremmer F, Gaisa NT, Kriegsmann J, Kovalszky I, Kiss A, Tímár J, Szász MA, Rink M, Fisch M, Nyirády P, Szarvas T. Prevalence of APC and PTEN Alterations in Urachal Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2020; 26:2773-2781. **IF:3,201**
15. Szarvas T, Jardin-Watelet B, Bourgoin N, Hoffmann MJ, Nyirády P, Oláh C, Széll T, **Csizmarik A**, Hadaschik B, Reis

H. High-soluble CGA levels are associated with poor survival in bladder cancer. *Endocr Connect.* 2019; 8: 625-633.

IF:2,592

16. Szarvas T, Sevcenco S, Módos O, Keresztes D, Nyirády P, **Csizmarik A**, Ristl R, Pühr M, Hoffmann MJ, Niedworok C, Hadaschik B, Maj-Hes A, Shariat SF, Kramer G. Matrix metalloproteinase 7, soluble Fas and Fas ligand serum levels for predicting docetaxel resistance and survival in castration-resistant prostate cancer. *BJU Int.* 2018; 122: 695-704.

IF:4,524

17. Darr C, Krafft U, Hadaschik B, Tschirdewahn S, Sevcenco S, **Csizmarik A**, Nyirády P, Küronya Z, Reis H, Maj-Hes A, Shariat SF, Kramer G, Szarvas T. The Role of YKL-40 in Predicting Resistance to Docetaxel Chemotherapy in Prostate Cancer. *Urol Int.* 2018; 101: 65-73.

IF:1,698