

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM**

**EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI KAR**

**EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

**Programvezető: Prof. Dr. Kiss István**

**Témavezető: Dr. Bellyei Szabolcs**

**Possible predictive markers of response to therapy in  
esophageal and rectal cancers**

**Doktori (Ph.D.) téziszüzet**

**Dr. László Zoltán**

Pécs, 2019

## 1. Bevezetés

A **nyelőcső daganat** (ESCC) az egyik legagresszívabb rosszindulatú daganat. A nyolcadik leggyakoribb daganat a világon, illetve a daganatos halálozási listán a 6. helyen áll. A nyelvőcső tumorok előfordulási gyakorisága emelkedik, főleg a nyelvőcső alsó harmadában található adenocarcinómák számának növekedése miatt.

A neoadjuváns kemoradioterápia (NCRT) az elfogadott kezelési módszer a lokálisan előrehaladott ESCC terápiájában, mivel a preoperatív kemoradioterápia bizonyítottan növeli a hosszú távú túlélést.

Számos NCRT-ban részesülő beteg rosszul, vagy egyáltalán nem reagál a kezelésre. A kezelésre adott válasz optimalizálható az alkalmazott kemoterápiás kezelés (cisplatin, 5-FU) és a besugárzás dózisének emelésével. A kezelésre adott rossz válaszra utaló jelek azonosítása elengedhetetlen, mivel ezek célpontjai lehetnek az egyénre szabott, hatékonyabb terápiának.

Az Akt útvonalat a sejtek egyik fő anti-apoptotikus útvonalának tartják. Kimutatták, hogy az anti-apoptotikus foszforilált-Akt (p-Akt) közvetített útvonalak aktiválása korrelál az NCRT-re adott gyenge reakcióval és az ESCC betegek alacsonyabb átlagos túlélésével. A pAkt útvonalakat aktiváló fehérjéket, például a 90-es hő sokkfehérjét (Hsp90) és az Aurora-A fehérjét azonosították a terápia lehetséges célpontjaként. Egy nemrégiben tipizált kis hő sokkfehérje (sHsp), azaz a Hsp16.2 expresszióját kimutatták neuroektodermális tumorokban. Úgy találták, hogy SOUL, a BH3-domén

fehérje család új tagja, ami elősegíti a nekrotikus sejthalált oxidatív stresszben.

**A végbél daganat** a harmadik leggyakoribb rosszindulatú daganat a férfiaknál, illetve a második a nőknél, ami évente mintegy 1,2 millió új esetet jelent világszerte. Randomizált klinikai vizsgálatok adatai alapján a lokálisan előrehaladott rectális daganat esetében a preoperatív neoadjuváns kemoradioterápiát (NCRT) követő műtét a standard kezelési eljárás. Számos tanulmányban kimutatták, hogy a klinikai eredmény nemcsak a daganat kezdeti stádiumától függ, hanem az NCRT által kiváltott tumor választól is, ami az egyes betegek között eltérő.

A növekedési hormon-fel szabadító hormon (GHRH) a hipotalamusz által kiválasztott peptidhormon, de különböző szövetekben és tumorokban is jelen van. A növekedési hormon-fel szabadító hormon antagonistáit különböző tumorok kísérleti kezelésében tesztelték.

**A céljaink a következők voltak:**

1. A kezelési paraméterek (kemoterápiás dózis) és az NCRT-re adott válasz közötti összefüggés meghatározása ESCC-ben.
2. Annak vizsgálata, hogy van-e összefüggés a fehérjék, p-AKT, SOUL, sHsp16.2, GHRH-R expressziója és az NCRT-kezelésre adott válasz között az ESCC betegeknél.

3. A celluláris fehérjék, p-AKT, SOUL, sHsp16.2, GHRH-R expressziója és a 3 éves teljes túlélés közötti összefüggés vizsgálata az ESCC betegektől származó tumor mintákban.
4. Annak bemutatása, hogy a p-AKT, SOUL, sHsp16.2 és GHRH-R lehetnek az ESCC-s betegek NCRT-terápiára adott válaszában lehetséges biomarkerei.
5. Az ESCC betegek klinikai paramétereinek (életkor, Karnowsky index, tumor lokalizáció, fogyás) és a 3 éves teljes túlélés közötti kapcsolat vizsgálata.
6. Annak vizsgálata, hogy milyen intenzitással festődnek a kezelés előtti rectum tumor minták a p-AKT, SOUL, Hsp16.2, Hsp90 és GHRH-R fehérjékkel.
7. A rectum daganatban szenvedő betegeknél a kezelés előtti klinikai adatok (életkor, nem, anális határtól való távolság, a kezelés előtti cT vagy cN és tumor regressziós fokozat, az eltelt időintervallum) és az NCRT-re adott hisztopatológiai válasz közötti kapcsolat meghatározása.
8. Annak vizsgálata, hogy van-e korreláció a p-AKT, SOUL, Hsp16.2, GHRH-R fehérje expressziója és az NCRT-re adott hisztopatológiai válasz között rectum daganatos betegek esetében.
9. Annak bizonyítása, hogy a p-Akt, SOUL, Hsp16.2, a GHRH-R a tumor NCRT-re történő regressziójának előrejelzőjeként szolgálhat rectum daganatok esetén.

## 2. Betegek - Módszerek

### **A nyelvőcső daganat vizsgálat esetén**

#### ***Betegek, előkezelés és utókezelés***

Kilencvenkét inoperábilis beteget vizsgáltunk, lokálisan előrehaladott (cT34, cN0-1, cM0) laphámsejtes nyelvőcső daganattal, akik NCRT-t kaptak. Négy héttel az NCRT befejezése után re-staging-et végeztünk, és a kezelésre adott klinikai választ a RECIST szerint értékeltük. Megállapítottuk a hisztopatológiai tumor regressziós fokozatot (TRG).

#### ***Immunohisztokémia***

A kezelés előtti tumoros szövetmintákat az alábbi primer antitestekkel inkubáltuk: önállóan kifejlesztett anti-Hsp16.2 és anti-SOUL poliklonális primer ellenanyagok, GHRH-R primer antitest, amelyet az Abcam-tól (Abcam Inc., Cambridge, MA) szereztünk be, p-AKT primer antitest.

#### ***Statisztikai analízis***

Minden statisztikai elemzést az SPSS 15.0 statisztikai program (SPSS, Chicago) segítségével végeztünk.

### **A rectum daganat vizsgálat esetén**

#### ***Betegek, előkezelés és utókezelés***

Hatvannégy rectum adenocarcinomás beteget vizsgáltunk, átlag életkoruk 59 év volt (34-78 év között), akiket NCRT-vel kezeltünk. A neoadjuváns kezelésre adott patológiás választ a reszekált minták szövettani értékelésével határoztuk meg.

### ***Immunohisztokémia***

A tumorszövetmintákat az alábbi primer antitestekkel inkubáltuk: önállóan kifejlesztett anti-Hsp16.2 és anti-SOUL poliklonális primer antitestek, GHRH-R primer antitest, p-AKT és Hsp90 primer antitestek. Immunhisztokémiai festést végeztünk.

### ***Statisztikai analízis***

Az összes statisztikai elemzést SPSS 16.0 statisztikai program (SPSS, Chicago) segítségével végeztük.

### 3. Eredmények

#### **A nyelőcső daganattal kapcsolatos tanulmányhoz kapcsolódó eredmények**

##### ***Klinikai eredmény***

Klinikai értékelés szerint 36 (39%) daganat mutatott klinikai választ a neoadjuváns CRT-re, 4 (4%) betegnél teljes, 32 (35%) betegnél részleges remisszió alakult ki. A preoperatív CRT-re adott válaszreakció hisztopatológiai értékelése a reszekált nyelőcső mintákban 6 esetben a 42-ből (14%) teljes választ (TRG1), és 16 esetben 42-ből (38%) szignifikáns választ (TRG2) tárt fel.

##### ***A fehérje expresszió és az NCRT-re adott válasz közötti összefüggés ESCC-ben***

A GHRH expressziója a tumor minták 90%-ában alacsony volt, és a GHRH-R festés sem mutatott szignifikáns összefüggést a NCRT-re mutatott tumorválasszal. A Hsp16.2 magas expressziós szintjei a kezelés előtti tumor biopsziás mintákban szignifikánsan korreláltak a gyenge klinikai és hisztopatológiai válaszokkal ( $p=0.001$ ,  $p=0.000$ ). A p-AKT nagy intenzitású festése szintén összefüggést mutatott a jó klinikai és hisztopatológiai válasz szignifikánsan alacsonyabb szintjével ( $p=0.02$ ,  $p=0.032$ ). A SOUL alacsony expressziója kétszer annyi klinikai választ adó ( $p=0.037$ ), és négyszer annyi hisztopatológiai választ adó ( $p=0.001$ ) beteget eredményezett.

**A fehérje (SOUL, Hsp16.2, GHRH-R és p-Akt) expresszió, valamint az NCRT-re adott klinikai és hisztopatológiai válasz közötti kapcsolat**

Molecular Markers		Clinical Downstaging (n=88)		<i>p value</i>
		Responder	Non-responder	
<b>SOUL</b>	low intensity	25 (28%)	23 (26%)	<b><i>p=0.037</i></b>
	high intensity	12 (14%)	28 (32%)	
<b>Hsp16.</b>	low intensity	26 (30%)	18 (20%)	<b><i>p=0.001</i></b>
	high intensity	11 (12%)	33 (38%)	
<b>GHRH</b>	low intensity	24 (27%)	40 (46%)	<i>p=0.158</i>
	high intensity	13 (15%)	11 (12%)	
<b>p-AK</b>	low intensity	20 (23%)	15 (17%)	<b><i>p=0.020</i></b>
	high intensity	17 (19%)	36 (41%)	
<b>TRG (n=42)</b>				
		Responder	Non-responder	
<b>SOUL</b>	low intensity	18 (42%)	6 (15%)	<b><i>p=0.001</i></b>
	high intensity	4 (10%)	14 (33%)	
<b>Hsp16.2</b>	low intensity	22 (52%)	2 (5%)	<b><i>p=0.000</i></b>
	high intensity	0 (0%)	18 (43%)	
<b>GHRH-</b>	low intensity	17 (41%)	14 (33%)	<i>p=0.592</i>
	high intensity	5 (12%)	6 (14%)	
<b>p-AKT</b>	low intensity	15 (36%)	7 (17%)	<b><i>p=0.032</i></b>
	high intensity	7 (17%)	13 (30%)	

### **Az ESCC-ben a kezelés paramétereit és az NCRT-re adott válasz közötti összefüggés**

A besugárzás magasabb dózisa (41-45 Gy) szignifikánsan nagyobb számú klinikai választ eredményezett ( $p=0.009$ ), míg a sugárdózis nem befolyásolta jelentősen a TRG-t. Másrészt a cisplatin magasabb dózisa ( $75 \text{ mg/m}^2$  felett) jelentősen megnövelte a TRG válaszadók számát ( $p=0.004$ ), de nem befolyásolta jelentősen a klinikai választ. Az 5-fluorouracil (5-FU) dózisa nem befolyásolta szignifikánsan a TRG-t és a klinikai választ.

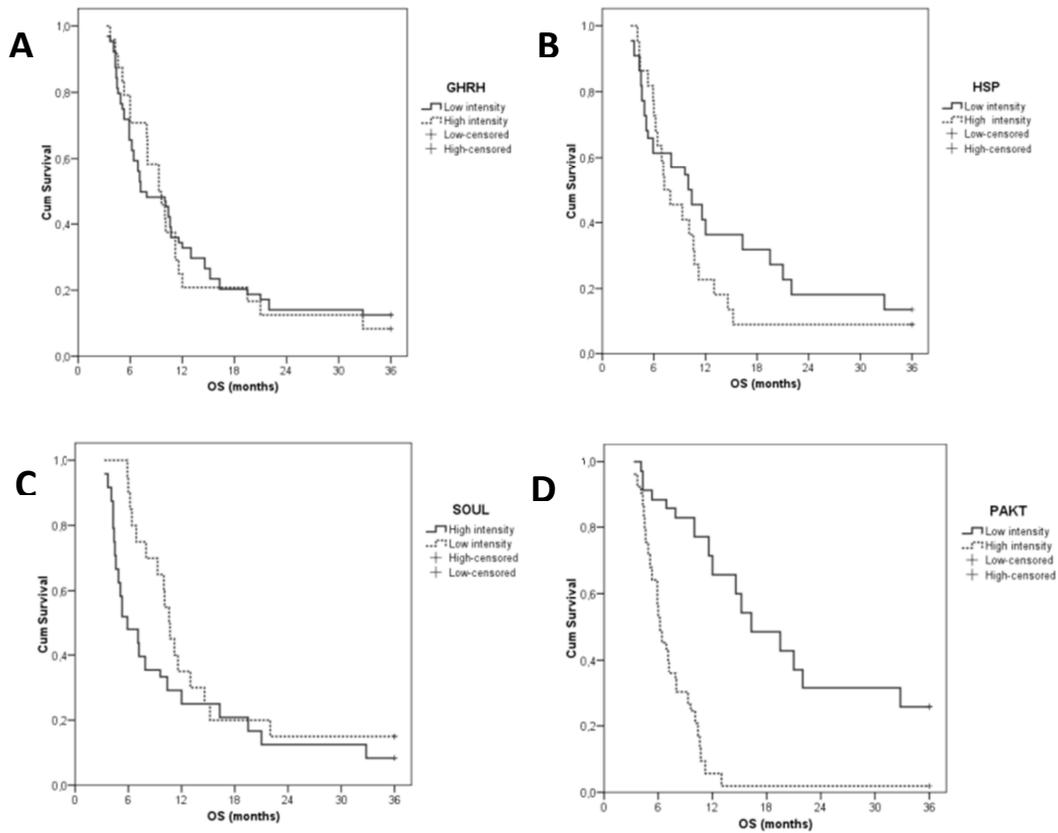
### **Kezelési paraméterek és az NCRT-re adott válasz közötti összefüggés ESCC-ben**

Treatment parameters	Clinical Downstaging (n=88)		<i>p value</i>
	Responder	Non-responder	
<b>Dose of radiation</b>			<b><i>p=0.009</i></b>
36-40Gy	15 (17%)	35 (40%)	
41-45 Gy	22 (25%)	16 (18%)	
<b>Dose of Cisplatin</b>			<i>p=0.188</i>
Below $75 \text{ mg/m}^2$	18 (20%)	32 (36%)	
Above $75 \text{ mg/m}^2$	19 (22%)	19 (22%)	
<b>Dose of 5-FU</b>			<i>p=0.383</i>
Below $750 \text{ mg/m}^2$	26 (30%)	40 (46%)	
Above $750 \text{ mg/m}^2$	11 (12%)	11 (12%)	

	TRG (n=42)		
	Responder	Non-responder	
<b>Dose of radiation</b>			
36-40Gy	8 (19%)	10 (24%)	$p=0.372$
41-45 Gy	14 (33%)	10 (24%)	
<b>Dose of Cisplatin</b>			
Below 75mg/m <sup>2</sup>	8 (19%)	16 (38%)	$p=0.004$
Above 75mg/m <sup>2</sup>	14 (33%)	4 (10%)	
<b>Dose of 5-FU</b>			
Below 750mg/m <sup>2</sup>	14 (33%)	16 (38%)	$p=0.241$
Above 750mg/m <sup>2</sup>	8 (19%)	4 (10%)	

***A kezelés előtti fehérjék (SOUL, Hsp16.2, GHRH-R és p-Akt) expressziója és 3 éves teljes túlélés (OS) közötti összefüggés***

A GHRH-R (1.A ábra) festés intenzitása nem befolyásolta jelentősen a 3 éves túlélést ( $p=0.891$ ). A Hsp16.2 és SOUL alacsony expressziója (1.B, C ábra) nem növelte szignifikánsan a 3 éves túlélést ( $p=0.19$  és  $p=0.63$ ), habár körülbelül 8 hónap követési idő után nem-szignifikáns javulás mutatkozott a 3 éves túlélésben. Érdekes módon a p-Akt alacsony intenzitású festése (1.D ábra) jelentősen növelte a 3 éves túlélést ( $p=0.00$ ).

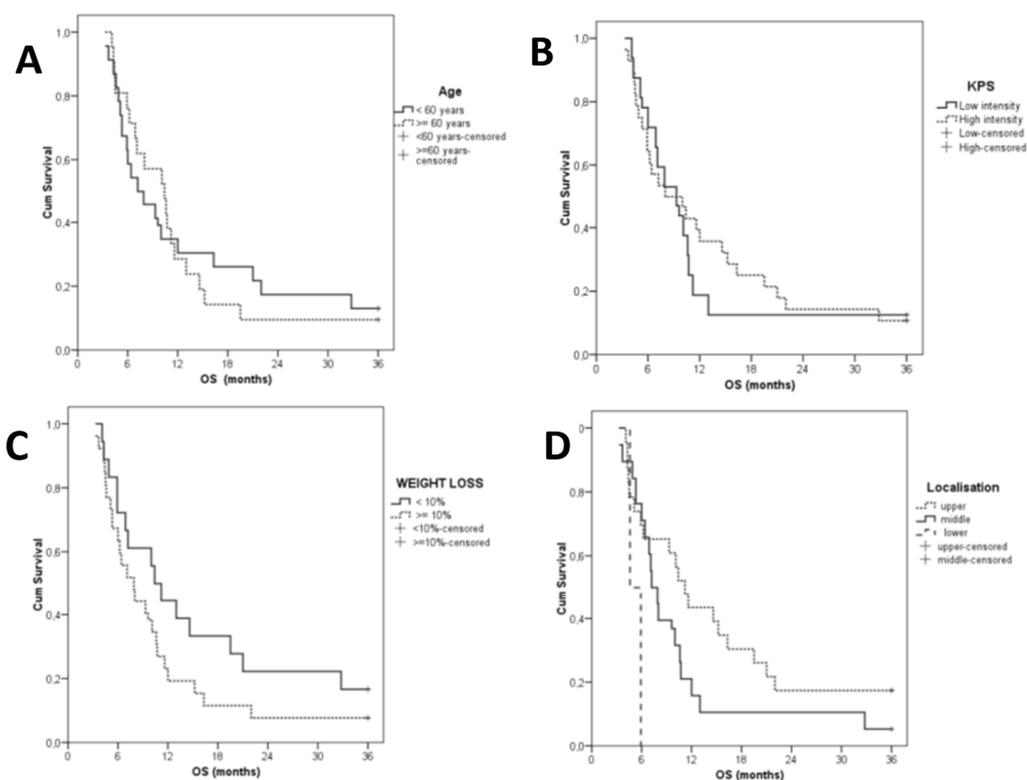


1. ábra.

A GHRH-R (A)  $p=0.891$ , a Hsp 16,2 (B)  $p=0.19$ , a SOUL (C)  $p=0.63$  és a p-Akt (D)  $p=0.00$  kezelés előtti fehérjék festése és a 3 éves túlélés közötti kapcsolat. A biológiai markerek hatását a teljes túlélésre Kaplan-Meier görbékkel igazoltuk, és a szignifikancia szintjét log-rank teszt segítségével határoztuk meg. A valószínűségi ( $p$ )  $<0.05$  értékeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

## **A klinikai paraméterek (életkor, Karnowsky pontszám, kezelés előtti súlyvesztés, tumor lokalizáció) és 3 éves túlélés közötti kapcsolat**

A 3 éves túlélésben szignifikáns csökkenés volt tapasztalható azoknál a betegeknél, akiknél a kezelés előtti súlyvesztés (2. ábra) meghaladta a testtömegük 10%-át ( $p=0.045$ ). A felső-harmadban lévő ESCC-ben szenvedő betegeknél szignifikánsan magasabb volt a 3 éves túlélés, mint a közép- és alsó harmadban lévő tumorok esetében ( $p=0.002$ ). Nem találtunk szignifikáns összefüggést a többi klinikai paraméter és a 3 éves túlélés között. (2. ábra)



2. ábra

A klinikai paraméterek: kor (A)  $p=0.875$ , Karnowsky pontszám (B)  $p=0.6$ , kezelés előtti súlyvesztés (C)  $p=0.045$ , tumor lokalizáció (D)  $p=0.002$  és a 3 éves túlélés közötti összefüggés.

## A rectum daganattal kapcsolatos tanulmányhoz kapcsolódó eredmények

### *Hisztopatológiai válasz a neoadjuváns CRT-re*

A preoperatív CRT-re adott válaszreakció patológias értékelése a reszekált rectum mintákban 20 esetben a 64-ből (31%) teljes választ (TRG1), és 11 esetben a 64-ből (17%) jelentős választ (TRG2) mutatott.

### *Fehérje expresszió a kezelés előtti biopsziás mintákban*

A kezelés előtti biopsziás minták immunhisztokémiai értékelése nagy intenzitású festést (++, +++) mutatott SOUL, Hsp16.2, Hsp90 és GHRH-R esetében az esetek 67%-ában, 61%-ában, 58%-ában és 25%-ában. Magas intenzitású p-Akt festést találtunk minden végbél biopsziás mintában.

### *A fehérjék immunhisztokémiai expressziója a kezelés előtti biopsziás mintákban*

Markers	Immunohistochemical expression			
	low intensity		high intensity	
	0	+	++	+++
<b>SOUL</b>	0 (0%)	23 (33%)	38 (55%)	8 (12%)
<b>Hsp16.2</b>	0 (0%)	27 (39%)	33 (48%)	9 (13%)
<b>Hsp 90</b>	1 (1.5%)	28 (40.5%)	28 (40.5%)	12 (17.5%)
<b>p-Akt</b>	0 (0%)	0 (0%)	6 (9%)	63 (91%)
<b>pGHRH-R</b>	0 (0%)	44 (64%)	25 (36%)	0 (0%)

### *A kezelés előtti klinikai adatok és a CRT-re adott hisztopatológiai válasz közötti összefüggés*

A kezelés előtti klinikai jellemzők egyike sem, kivéve a neoadjuváns terápia és a műtét vége közötti időintervallumot, mutatott statisztikai összefüggést a hisztopatológiai válasszal.

***A fehérje expresszió és a CRT-re adott hisztopatológiai válasz közötti kapcsolat***

A SOUL, a Hsp16.2 és a p-Akt festés nem mutatott szignifikáns összefüggést a tumor regressziójával. A Hsp90 és GHRH-R nagyfokú expressziója a kezelés előtti tumor biopsziás anyagban szignifikáns korrelációt mutatott a gyenge hisztopatológiai válaszokkal ( $p=0.00002$ ,  $p=0.00006$ ).

***A fehérje expresszió és a neoadjuváns CRT-re adott hisztopatológiai válasz közötti összefüggés (n=64)***

<b>Markers</b>	<b>Case no. (n=64)</b>	<b>Good response (n=31)</b>	<b>Poor response (n=33)</b>	<b>p</b>
<b>pp23</b>				
low intensity	20 (31%)	8 (12%)	12 (18%)	0.43
high intensity	44 (69%)	23 (36%)	21 (33%)	
<b>pp25</b>				
low intensity	25 (39%)	15 (23%)	10 (16%)	0.29
high intensity	39 (61%)	16 (25%)	23 (36%)	
<b>HSP90</b>				
low intensity	28 (44%)	23 (36%)	5 (8%)	<b>0.00002</b>
high intensity	35 (55%)	8 (13%)	27 (42%)	
<b>P-AKT</b>				
low intensity	6 (9%)	4 (6%)	2 (3%)	0.75
high intensity	58 (91%)	27 (42%)	31 (49%)	
<b>GHRH</b>				
low intensity	42 (66%)	28 (44%)	14 (22%)	<b>0.00006</b>
high intensity	22 (34%)	3 (5%)	19 (29%)	

Statistical analysis with chi-square test, level of significance  $p<0.05$

## 4. Diskusszió

A korábbi vizsgálatokkal összhangban azt tapasztaltuk, hogy a magasabb sugár dózis (40 Gy felett) az ESCC-ben szenvedő betegek esetében a klinikai válaszok számának növekedéséhez vezetett, illetve hogy a magasabb ciszplatin dózisok alkalmazása ( $75 \text{ mg/m}^2$  felett) több hisztopatológiai választ eredményezett.

Az ESCC rossz prognózisa miatt nagyon fontos, hogy a kezelés megkezdése előtt azonosításra kerülhessenek a terápiára reagálók. A p-Akt, Hsp16.2 fehérjék magas festődése és a gyenge válaszreakció közötti szignifikáns korreláció kimutatása mind klinikai, mind hisztopatológiai (TRG) válaszreakcióban megfigyelhető, ami azt mutatta, hogy ezek a fehérjék lehetnek a kezelés prediktív markerei. A kezelésre adott válasz mellett a túlélés hossza is fontos a kezelés hatékonyságának értékelése során. Különösen érdekes volt, hogy azok a betegek, akiknél a tumorok erős festődést mutattak a Hsp16.2 és a p-Akt esetében, rosszabb volt a 3 éves túlélés, mint azoknál a betegeknél, akiknél a tumorok alacsony intenzitással festődtek. Mivel a p-Akt útvonalak aktiválásának szerepét az ESCC-ben számos tanulmány kimutatta, felmerült a p-Akt útvonal használatának lehetősége, mint célpont a daganat kezelésében. Bizonyítékunk arra utal, hogy a Hsp16.2 szelektív célzása, és így a PI-3kináz/Akt útvonal gátlása ígéretes eszköz lehet az ESCC kezelésében.

Azt is megállapítottuk, hogy a daganatmintákban az alacsony SOUL-festődés összefüggésben van a szignifikánsan jobb klinikai és hisztopatológiai válaszokkal. Legutóbbi vizsgálatokban bizonyították, hogy a tumor-nekrózis-faktor alfa (TNF-alfa) szerepet játszhat a kemoterápiával

szembeni fokozott rezisztenciában prosztaták esetében. Ezért feltételeztük, hogy a tumorban magasabb nekrozis-szintet generálva a SOUL a tumor sejtek érzékenységét csökkentheti a kemoterápiára.

A tápláltsági állapot bizonyítottan a túlélés prediktora. Ennek megfelelően azt tapasztaltuk, hogy azoknál a betegeknél, akik testtömegük több mint 10%-át elvesztették a betegség első tüneteinek megjelenése és az NCRT kezdete között, szignifikánsan rövidebb volt a 3 éves túlélés, mint azoknál, akik kevesebb, mint 10%-ot vesztek.

Kimutattuk, hogy nemcsak az NCRT-re adott válasz, hanem a 3 éves túlélés is szignifikánsan jobb volt azoknál a betegeknél, akiknek felső-harmadi lokalizációban volt a nyelőcső daganatuk, mint a közép- vagy alsó harmadban lévő tumoroknál. Ez összhangban van egy korábbi tanulmánnyal, amelyben azt láttuk, hogy a felső-harmadi ESCC-ben szenvedő betegeknél magasabb fokú válaszreakció figyelhető meg, mint a közép- illetve alsó harmadban elhelyezkedő ESCC-ben.

A lokálisan előrehaladott rectum daganat széles körben elfogadott kezelése a neoadjuváns CRT, majd az azt követő műtét. A rectum daganat kimenetele korrelációt mutat a CRT-re adott válasszal, amely jellemzően igen eltérő. A jelen tanulmányban azt tapasztaltuk, hogy a betegek 48%-a mutatott jó választ (TRG1 és TRG2).

Kimutatták, hogy a besugárzás dóziséén kívül a műtét és a neoadjuváns kezelés közötti idő is jelentősen befolyásolja a tumor regresszióját. Vizsgálatunkban bizonyításra került, hogy a CRT és a műtét közötti 7 hétnél hosszabb időintervallum összefüggésben van a szignifikánsan magasabb

fokú jó tumorválasz arányával, ami megerősíti azt a koncepciót, hogy a sugárzás által indukált biológiai változások hosszabb idő alatt fejlődnek ki.

A számos vizsgált potenciális markerek közül a Bax, p53 és p27 expressziói, valamint a spontán apoptózis és tumor nekrozis korreláltak a tumor regresszióval.

Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy az anti-apoptotikus p-Akt, nekrozist elősegítő SOUL és a citoprotekcióban részt vevő Hsp16.2 immunhisztokémiai festésének szintje, illetve a tumor regresszió között nincs kapcsolat. Ugyanakkor szignifikáns összefüggést találtunk a GHRH-R és Hsp90 expresszió, illetve a gyenge hisztopatológiai válasz között. Adataink szerint a GHRH-R-t és/vagy Hsp90-et magas szinten expresszáló rectum daganatok rosszul reagáltak a neoadjuváns CRT-re. Ezek az eredmények fontosak, mivel alapvető fontosságú, hogy a neoadjuváns CRT-re nem reagáló betegek ne menjenek át a kezelésem, amivel időt vesztenek a műtétiig, ami körülbelül 3 hónappal a diagnózis felállítása után van. A nem reagáló betegek számára az egyénre szabott kezelés elengedhetetlen. A Hsp90-gátló vegyületeket jelenleg pre-klinikai vagy I-III. klinikai vizsgálatokban tesztelik rákellenes szerként.

A növekedési hormon-felszabadító hormon (GHRH) antagonistáit különböző tumorok, köztük a rosszindulatú gliomák, az emlődaganat, a petefészekdaganat (98), a prosztata és a tüdődaganat kísérleti kezelésében vizsgálták. Jelen tanulmányban azt találtuk, hogy a GHRH-R-t magas szinten expresszáló rectum tumorok kevés, vagy semmilyen tumor-regressziót nem mutattak. Ezért a GHRH-R amellet, hogy lehetséges prediktív

markerként működhet, a Hsp90-hez hasonlóan a terápia célpontjává válhat, ha a GHRH-antagonistákat be lehet vezetni a klinikai gyakorlatba.

## 5. Konklúziók

1. A magasabb besugárzási dózis jelentősen nagyobb számú klinikai válaszadót eredményezett az ESCC betegek körében. A ciszplatin magasabb dózisa ( $75 \text{ mg/m}^2$  feletti) jelentősen megnövelte a TRG válaszadók számát.
2. A Hsp16.2 és a p-AKT magas expressziós szintjei a kezelés előtti tumor biopsziás anyagban szignifikánsan korreláltak az ESCC-s betegek NCRT re adott gyenge klinikai és hisztopatológiai válaszával. A SOUL alacsony expressziós szintje kétszer annyi klinikai válaszadó beteget eredményezett, és négyszer annyi hisztopatológiailag reagáló beteget. A GHRH-R festés nem mutatott szignifikáns összefüggést az NCRT-re adott tumor válasszal.
3. A p-Akt alacsony intenzitású jelölődése jelentősen megnövelte a 3 éves túlélést az ESCC betegeknél. A Hsp16.2 és a SOUL alacsony expressziója nem növelte szignifikánsan a 3 éves túlélést, habár egy nem-szignifikáns javulást kimutattunk 8 hónap után a 3 éves túlélésben. A GHRH-R festés intenzitása nem befolyásolta jelentősen a 3 éves túlélést.
4. Mivel a Hsp16.2, p-Akt és SOUL magas szintjei negatív prognosztikai faktorok voltak az NCRT-re adott válasz esetében az ESCC-ben szenvedő betegeknél, és korreláltak a csökkent 3 éves általános túléléssel, ezek a biomarkerek potenciális előjelzői lehetnek a

kezelésre adott válasznak, aminek következményei lehetnek a klinikai gyakorlatra.

5. Az ESCC betegeknél, akiknél a kezelés előtti súlyvesztés meghaladta a testtömeg 10%-át, jelentősen csökkent a 3 éves teljes túlélés. A felső-harmadi ESCC betegeknél szignifikánsan magasabb volt a 3 éves túlélés, mint a közép- és alsó harmadban lévő tumorok esetében. A 3 éves túlélésben nem volt szignifikáns különbség a különböző korcsoportokban vagy a Karnowsky-pontszám szerinti csoportok között, bár 12 hónap után nem-szignifikáns javulás volt a fiatalabb betegek túlélésében.
6. Az immunhisztokémia nagy intenzitású festést mutatott a p-Akt-ra minden kezelés előtti rectum daganat biopsziás mintában. A biopsziás minták különbözőek voltak a SOUL, Hsp16.2, Hsp90 és GHRH-R nagy intenzitású festéseitől függően.
7. A kezelés előtti klinikai jellemzők egyike sem (életkor, nem, anális határtól való távolság, kezelés előtti cT vagy cN és tumor regressziós fokozat, eltelt időintervallum), kivéve az NCRT vége és a műtét közötti időintervallumot, mutatott statisztikai összefüggést a rectumdaganatos betegek hisztopatológiai válaszával. Azok a betegek, akiket az NCRT befejezése után 7 vagy több héttel műtöttek, szignifikánsan nagyobb eséllyel adtak jó válaszreakciót a neoadjuváns kezelésre, mint azok, akiket az NCRT után 7 héten belül műtöttek meg.
8. A Hsp90 és GHRH-R nagyfokú expressziója a kezelés előtti rectum tumor biopsziában szignifikáns korrelációt mutatott az NCRT-re adott gyenge hisztopatológiai válasszal. A SOUL, Hsp16.2 és p-Akt festés nem

mutatott szignifikáns összefüggést a tumor regressziójának mértékével.

9. Adataink azt mutatták, hogy a GHRH-R és a Hsp90 a rectum daganatos betegeknél a tumor NCRT-re történő regressziójának előrejelzője lehet. Továbbá a GHRH-R és Hsp90 ígéretesnek bizonyult új terápiás lehetőségek biztosítására a gyengébben reagáló betegek számára.