

Szegedi Tudományegyetem
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar
Elméleti orvostudományok Doktori Iskola

A hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma korai felfedezése – a szűrés új lehetőségei

PhD értekezés

Illés Dóra M.D.

Témavezető: Czakó László M.D., Ph.D., D.Sc.



Szeged

2024

1. Publikációk jegyzéke

1.1 Ezen értekezés tárgyát képezi – első szerző

1. Illés D, Terzin V, Holzinger G et al. New-onset type 2 diabetes mellitus – a high-risk group suitable for the screening of pancreatic cancer? *Pancreatology*. 2016;16(2):266-71. IF: 2.58 SJR indicator: Q2.
2. Illés D, Torday L, Czakó L. A pancreascarcinoma korszerű kezelése. *Onkológia & hematológia*. 2016;5:22-30.
3. Illés D, Czakó L. A pancreascarcinoma korszerű kezelése. *Central European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016;2(4):176-182.
4. Illés D, Czakó L. A hasnyálmirigy-rák Világnapja 11.21. – Lankadatlan éberség! *Lege Artis Medicinae*. 2019;29(12):643-646. SJR indicator: Q4.
5. Illés D, Czakó L. A diabetes és az emésztőrendszer betegségei: pancreatitis és emésztőrendszeri tumorok. *Magyar Belorvosi Archivum*. 2020;73:63–67.
6. Illés D, Ivány E, Holzinger G et al. New Onset of Diabetes in a Association with pancreatic cancer (NODES trial): Protocol of a Prospective, Multicentre Observational trial. *BMJ Open*. 2020;10(11):e037267. IF: 2.692 SJR indicator: Q1.

1.2 Ezen értekezéshez nem köthető

1. Illés D, Urbán E, Lázár A et al. Az antibiotikumrezisztencia változása cholangitisben: klinikai tapasztalataink. *Orvosi Hetilap*. 2019;160(36):1437-1442.
2. Illés D, Czakó L. Rate of early hospital readmission in acute pancreatitis as a quality marker. *Orvosi Hetilap*. 2021;162(11):413-418.
3. Zsóri G, Terzin, Illés D et al. Effects of a continental climate on the prevalence and severity of acute non-variceal gastrointestinal bleeding. *Climate Research*. 2017;73(3):187-194.
4. Zsóri G, Czepán M, Illés D et al. Pancreatic diabetes mellitus and heavy drinking are risk factors for the development of liver fibrosis in alcoholic chronic pancreatitis. *Pancreatic Disorders and Therapy*. 2017;3:1000186.
5. Kui B, Illés D, Ivány E et al. Új megoldás egy régi problémára. Epeelfolyási zavar megoldása endoszkópos ultrahang-vezérelt epeúti drenázzsal. *Central European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;4(4):816-822.

6. Zsóri G, Illés D, Terzin V et al. Exocrine pancreatic insufficiency in type 1 and type 2 diabetes mellitus: do we need to treat it? A systematic review. *Pancreatology*. 2018;18(5):559-565.
7. Lemes K, Illés D, Ivány E et al. Az idült hasmenés kóreredete és kezelése. *Magyar Belorvosi Archívum*. 2019;72(6):307-313.
8. Párniczky A, Lantos T, Illés D et al. Antibiotic therapy in acute pancreatitis: From global overuse to evidence based recommendations. *Pancreatology*. 2019;19(4):488-499.
9. Zsóri G, Illés D, Ivány E et al. In New-Onset Diabetes Mellitus, Metformin Reduces Fat Accumulation in the Liver, But Not in the Pancreas or Pericardium. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2019;17(5):289-295.
10. Tod P, Farkas N, Illés D et al. Initial Renal Function (eGFR) Is a Prognostic Marker of Severe Acute Pancreatitis: A Cohort-Analysis of 1,224 Prospectively Collected Cases. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:671917.
11. Czakó L, Gyökeres T, Illés D et al. Epeút- és epehólyag-gyulladás: diagnosztikus kritériumok és terápia. *Orvosi Hetilap*. 2023;164:(20):770-787.
12. Tóth I, Ábrahám Sz, Illés D et al. Multidisciplinary management of acute cholecystitis during the COVID-19 pandemic. *Scientific Reports*. 2023;13(1):16257-64.
13. Karamya ZA, Kovács A, Illés D et al. Prevalence of Autoimmune Pancreatitis in Pancreatic Resection for Suspected Malignancy: A Systematic Review and Meta-analysis. *BMC Gastroenterology*. 2024 (in press).

1.2.1 A Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport tagjaként társszerző

1. Szentesi A et al. Analysis of Research Activity in Gastroenterology: Pancreatitis Is in Real Danger. *PLOS ONE*. 2016;11(10):0165244.
2. Kui B et al. The use of Early Achievable Severity (EASY) index is beneficial for rapid risk stratification in acute pancreatitis on hospital admission. *Pancreatology*. 2019;19:2-15.
3. Szentesi A et al. Multiple hits in acute pancreatitis: components of metabolic syndrome synergize each other's deteriorating effects. *Frontiers in Physiology*. 2019;10:1202.
4. Farkas N et al. A Multicenter, International Cohort Analysis of 1435 Cases to Support Clinical Trial Design in Acute Pancreatitis. *Frontiers in Physiology*. 2019;10:1092.
5. Halász A et al. Outcomes and timing of endoscopic retrograde cholangiopancreatography for acute biliary pancreatitis. *Digestive and Liver Disease*. 2019;51(9):1281-1286.
6. Hágendorn R et al. Development of disturbance of consciousness is associated with increased severity in acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2020;20(5):806-812.

7. Demcsák A et al. Acid suppression therapy, gastrointestinal bleeding and infection in acute pancreatitis – An international cohort study. *Pancreatology*. 2020;20(7):1323-1331.
8. Mosztbacher D et al. Hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis: A prospective, multicenter, international cohort analysis of 716 acute pancreatitis cases. *Pancreatology*. 2020;20(4):608-616.
9. Nagy A et al. Glucose levels show independent and dose-dependent association with worsening acute pancreatitis outcomes: Post-hoc analysis of a prospective, international cohort of 2250 acute pancreatitis cases. *Pancreatology*. 2021;21(7):1237-1246.
10. Kiss S et al. Early prediction of acute necrotizing pancreatitis by artificial intelligence: a prospective cohort-analysis of 2387 cases. *Scientific Reports*. 2022;12(1):7827.
11. Ocskay K et al. Recurrent acute pancreatitis prevention by the elimination of alcohol and cigarette smoking (REAPPEAR): protocol of a randomised controlled trial and a cohort study. *BMJ Open*. 2022;12(1):050821.
12. Czapári D et al. Detailed characteristics of post-discharge mortality in acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2023;165(3):682-695.
13. Vánca S et al. Metabolic-associated fatty liver disease is associated with acute pancreatitis with more severe course: Post hoc analysis of a prospectively collected international registry. *United European Gastroenterology Journal*. 2023;11(4):371-382.
14. Juhász MF et al. Invalidity of Tokyo guidelines in acute biliary pancreatitis: A multicenter cohort analysis of 944 pancreatitis cases. *United European Gastroenterology Journal*. 2023;11(8):767-774.

Szcientometriai adatok

Összes közlemény	29
Elsőszerzős közlemény	8
Hirsch index	10
Független idézettség	348

<https://m2.mtmt.hu/gui2/?type=authors&mode=browse&sel=10058299&view=pubTable>

2. Bevezetés

2.1. A témakör jelentőségének ismertetése

A hasnyálmirigy rosszindulatú daganatai közül a hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma (PDAC) fordul elő a leggyakrabban: ez teszi ki az exocrin hasnyálmirigy malignus daganatainak több, mint 90%-át. Bár ritka betegségről van szó - prevalenciája 1,39% -, a PDAC igen agresszív, rossz prognózisú betegség: hosszú ideig tünetmentesen fejlődik, illetve aspecifikus tüneteket okoz, így a betegek általában késői, előrehaladott stádiumban kerülnek diagnosztizálásra, amikor az egyetlen kuratív kezelés, a sebészi reszekció távoli áttétek illetve lokoregionális infiltráció miatt már nem kivitelezhető. Így érthető, hogy a PDAC morbiditási/mortalitási aránya ~1. A PDAC incidenciája évente 0,5-1%-kal növekszik, így az előrejelzések szerint 2030-ra a rákos megbetegedésekből származó halálozás második leggyakoribb oka lesz majd. Az előrehaladott PDAC szövődményei rendkívüli megterhelést jelentenek a betegek számára, ellátásuk jelentős kórházi költségekkel jár. Mindez elkerülhető lenne, ha a betegség korai, még operálható stádiumban felfedezésre kerülne. Sajnos jelenleg nem áll rendelkezésre hatékony szűrőprogram.

Tekintettel arra, hogy a PDAC alacsony prevalenciájú, relatív ritka daganat, a népesség egészére kiterjedő szűrés nem lenne hatékony, emellett hatalmas pénzügyi terhet jelentene az egészségügyi rendszer számára. Ezért célszerű egy, a PDAC szempontjából magas kockázatú csoport azonosítása. A kockázati tényezők közül a diabetes mellitus (DM) áll a legszorosabb kapcsolatban a hasnyálmirigyrákkal: a PDAC betegek 40-65%-a teljesíti a DM diagnosztikus kritériumait.

A DM világjárványnak számít: előrejelzések szerint a DM-ban szenvedők száma 2025-re eléri a 300 milliót, 2030-ra pedig a 366 millió főt. Ez évente rengeteg új beteget jelent, így ezen csoport szűrése nem lenne költséghatékony; *a célcsoport további szűkítésére van szükség a PDAC és a DM közötti kapcsolat vizsgálatával.*

2.2. Kétirányú kapcsolat/ kettős ok-okozati összefüggés

A PDAC és a DM közötti összefüggés évtizedek óta ismert. Epidemiológiai vizsgálatokban a tápcsatornai tumorok fokozott előfordulását figyelték meg a diabeteses populációban. A relatív kockázat 1.3-4.7 között mozog.

Érdekesség, hogy a PDAC kialakulásának kockázata a rövid ideje (<4 év) cukorbetegségben szenvedő betegeknél több, mint 1.5-szeres az 5 évnél hosszabb ideje cukorbetegségben

szenvedő betegekhez képest. Pannala és munkatársai arról számoltak be, hogy a 2-es típusú diabetes mellitusszal (T2DM) diagnosztizált betegeknél a diagnózistól számított 2-3 éven belül 8-szoros a PDAC kialakulásának kockázata az általános populációhoz képest.

A fentiek alapján a PDAC és a DM közötti kapcsolat kétirányú: a "hosszú távú" DM kockázati tényező, míg a "rövid távú" DM paraneoplasztikus következmény a PDAC vonatkozásában. A "rövid távú" DM-et a szakirodalomban "újkeletű" DM-nek nevezik. Újkeletű a DM, ha a diagnózistól számítva legfeljebb 36 hónap telt el. *Az újkeletű DM betegek megfelelő csoportot jelenthetnek a hasnyálmirigy-rák szűrésére, ezt azonban statisztikailag is alá kell támasztani.*

Az idősebb életkor tovább szűkíthetné a PDAC szűrésére alkalmas csoportot. Az életkor a PDAC független kockázati tényezője - 50 év feletti, újonnan diagnosztizált cukorbetegéknél a PDAC előfordulása körülbelül 1%-ra tehető.

2.3 Pancreatogen diabetes

A PDAC indukálta DM a pancreatogen diabetes (T3cDM) egyik formája, T3cDM esetek mindössze 9%-ért felelős. A PDAC indukálta DM egy, a hasnyálmirigy-daganathoz társuló paraneoplasztikus jelenség. A patomechanizmusra vonatkozó egyik hipotézis szerint a cukorbetegség kialakulása a tumor által szekretált anyagok következménye. Egy vizsgálatban 104, hasnyálmirigy-rák miatt operált beteget vontak be. 41 betegnél a műtét idején már ismert volt DM. Ezen csoporton belül az újkeletű DM betegek 57%-ánál a műtét után megszűnt a DM, míg a régóta fennálló DM betegek esetén cukorbetegség a műtét után is fennmaradt. Ezek alapján sem az exocrin hasnyálmirigy-elégtelenség (PEI), sem a kóros hasnyálmirigy-morfológia, mint a T3cDM diagnosztikus kritériuma nem feltétlenül van jelen a PDAC indukálta DM esetén. Ezért a T3cDM diagnosztikai kritériumai önmagukban nem lennének hatékonyak a PDAC indukálta DM szűrésében, tekintve, hogy ezen vizsgálatok nehezen elérhetőek, drágák, a betegek számára megterhelőek, így szűrőműszerként nem is alkalmazhatóak.

2.4 Az exocrin hasnyálmirigy cukorbetegsége

Az az ellentmondás, hogy a PDAC indukálta DM mint a T3cDM egyik formája nem feltétlenül okoz PEI-t vagy kóros morfológiát, rávilágított a pancreatogen DM nevezéktana újragondolásának szükségességére. Az exocrin hasnyálmirigy cukorbetegsége (DEP) megjelölés többek között tartalmazza a tünetmentes hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma okozta újkeletű diabetes (NOD-PDAC) speciális entitást.

Tekintettel arra, hogy a DEP új nómenklatúráját 2021-ben kezdték el használni, saját kutatásainkban a NOD-PDAC betegek csoportját PDAC-T3cDM néven említjük. Ez a csoport ideális lenne a PDAC szűrésére. *Az újonnan diagnosztizált cukorbetegek körében tehát az "egyszerű" T2DM és a NOD-PDAC megkülönböztetése a PDAC szűrésére tekintettel kiemelt jelentőségű, de új diagnosztikai megközelítést igényel.*

2.5 A szűrés jelenlegi diagnosztikus lehetőségei

A vérvizsgálatok közül a tumormarkerek szérumszintjének mérése mint lehetséges szűrő módszer ígéretes, mivel olcsó, könnyen elvégezhető és széles körben elérhető. Jelenleg a szénhidrát antigén 19-9 (CA 19-9) az egyetlen biomarker, amelyet PDAC esetében alkalmaznak. A CA 19-9 a szializált Lewis A vércsoport antigén tumorasszociált, de nem tumorspecifikus epitópja. E marker érzékenysége a PDAC kimutatására 70-90%, specificitása 90%, pozitív prediktív értéke 69%, negatív prediktív értéke 90%. Ezért *ha a CA 19-9-et szűrésre szeretnénk használni, azt más módszerrel kombinálva érdemes megtenni.*

A PDAC diagnosztikájának arany standardját a képalkotók jelentik. Elsőként választandó a transzabdominális ultrahang (US), azonban ennek érzékenysége a PDAC-re vonatkoztatva csupán 50-70%. Pontossága alacsony a <1 cm-es (általában jól operálható) tumorok esetében, és ezt is negatívan befolyásolja az elhízás és a meteorizmus. A computertomográfia (CT), az endoszkópos ultrahang (EUS) vagy az endoszkópos retrográd cholangiopancreatographia szintén nagy valószínűséggel ad diagnózist, de a PDAC alacsony előfordulási gyakorisága, a sugárterhelés és az endoszkópos eljárások jelentette megterhelés, valamint a magas költség együttesen kizárja a szűrésben való alkalmazásukat. *Az US azonban széles körben elérhető, nem invazív és viszonylag olcsó, így ideális szűrési módszernek bizonyulhat.*

Mint fentebb említettük, a vérvizsgálat ideális szűrési módszer lenne. A metabolom vizsgálata, beleértve a lipidomikát is a közelmúltban egyre inkább megvalósíthatóvá vált, lehetővé téve biomarkerek azonosítását. Mayerle és munkatársai egy kilenc metabolitból és a CA 19-9 fehérjéből álló biomarker panelt azonosítottak, amely 89.9%-os szenzitivitással, 91.3%-os specificitással és 99.8%-os negatív prediktív értékkel (NPV) rendelkezik a PDAC és a krónikus pancreatitis megkülönböztetésére vonatkozóan.

A biomarker panel alkalmas lehet a NOD-PDAC és a „sima” cukorbetegség differenciáldiagnózisára. *Amennyiben a panel validálásra kerül, hatékony lehet a PDAC szűrésére idős, újkeletű DM betegek, mint PDAC-re magas kockázattal bíró csoport esetén.*

3. Célkitűzés

3.1 Study A - New-onset type 2 diabetes mellitus – a high-risk group suitable for the screening of pancreatic cancer? (HiRiPaC study)

Első vizsgálatunkban azt kívántuk statisztikailag alátámasztani, hogy az újkeletű DM betegek megfelelő csoportot képeznek a hasnyálmirigy-rák szűrésére. Célul tűztük ki a PDAC előfordulásának prospektív meghatározását az újkeletű T2DM-betegek körében. A szűrés alapját a szérumban CA 19-9 szintjének meghatározása képezte hasi ultrahang (US) vizsgálattal kombinálva.

3.2 Study B – New-Onset of DiabeteS in aSsociation with pancreatic ductal adenocarcinoma (NODES trial)

Második vizsgálatunk célja az „egyszerű” T2DM és a NOD-PDAC megkülönböztetése biomarker panel segítségével újonnan diagnosztizált cukorbeteg esetén. Emellett (1) a panel szűrési módszerként történő validálása az idős, újonnan kialakult DM-es betegek, mint magas kockázatú csoport esetén. (2) a PDAC korai, műthető stádiumban történő diagnosztizálása és (3) a PDAC előfordulásának becslése az újonnan kialakult cukorbetegségben szenvedő betegek körében.

4. Betegek és módszerek

4.1 Study A – HiRiPaC Study

4.1.1 Betegek

2012 márciusa és 2014 októbere között 115, klinikánkon kezelt újkeletű T2DM-ben szenvedő beteget vontunk be prospektív vizsgálatunkba. A T2DM diagnózisát az Amerikai Diabetes Szövetség (ADA) kritériumai szerint állítottuk fel. A T1DM-ben szenvedő és bármilyen, hasnyálmirigy-betegségre utaló tünettől rendelkező eseteket kizártuk. A követés időtartama 36 hónap volt. Minden beteg írásos beleegyezését adta a vizsgálatban való részvételhez. A vizsgálati protokoll teljes mértékben megfelelt a Helsinki Deklaráció követelményeinek, és a Szegedi Tudományegyetem Etikai Bizottsága is jóváhagyta (engedélyszám: 97/2012).

4.1.2 Módszerek

Első vizit során tájékozott beleegyezést követően CA 19-9 szérumszint- mérés és transzabdominális US vizsgálat történt. A helyi laboratóriumi szabványoknak megfelelően a szérumban CA 19-9 szintjének határértéke 27 U/ml volt. Ha a transzabdominális US rendellenességet mutatott (normális vagy emelkedett CA 19-9 szint mellett), hasi

computertomográfiát (CT) végeztünk. Ennek pozitivitása esetén endoszkópos ultrahangvizsgálatot (EUS), EUS-vezetett finom tűs aspirációt (EUS-FNA) és sebészeti szakvizsgálatot végeztünk/kértünk. Hasi CT történt emelkedett szérum CA 19-9 szint esetén, US-eltérés nélkül is. Ha a CT nem mutatott ki elváltozást, a szérum CA 19-9 szintet 3 hónap múlva ismételten meghatároztuk. Normál CA 19-9 szint és negatív US mellett a CA 19-9 szint mérését 6 havonta, hasi UH vizsgálatot évente végeztünk.

Az újkeletű T2DM betegek, mint PDAC-re magas kockázattal rendelkező csoport szűrésre való alkalmasságának statisztikai alátámasztása végett meghatároztuk a standardizált incidenciarányt (SIR). Ezt a PDAC magyarországi incidenciájának (9.3 eset/100.000 fő) figyelembevételével számoltuk ki. Ha a SIR értéke 1, akkor a vizsgált populációban megfigyelt rákos esetek száma megegyezik az általános populációban várható rákos esetek számával. A $SIR > 1$ azt jelzi, hogy a vártnál több rákos megbetegedés fordult elő a vizsgált csoportban. A CA 19-9 és az US mint a PDAC potenciális diagnosztikai eszközei hatékonyságának értékeléséhez a szenzitivitás, specificitás, pozitív- és negatív prediktív értékek kerültek kiszámításra.

4.2 Study B – NODES trial

4.2.1 Betegek

4.2.1.1 Kutatási terv

A NODES egy prospektív, multicentrikus, megfigyeléses kohorszvizsgálat, amelynek célja egy 10-tagú biomarker panel validálása a PDAC korai stádiumában való kimutatására. A vizsgálatba 60 év feletti, 6 hónapon belül cukorbetegséggel (újonnan) diagnosztizált betegeket vontunk be, akik aláírták az írásbeli beleegyező nyilatkozatot. Az (1) aktív alkoholfogyasztás, a (2) krónikus pancreatitis, (3) korábbi hasnyálmirigy-műtét/pancreatectomia, (4) terhesség és (5) aktív malignus daganat valamint 1-es típusú DM kizáró kritériumnak számított. A krónikus pancreatitisben szenvedő betegeket kizártuk, mivel ezen és a PDAC csoport differenciálására a panelt korábban már validálták. Jelen vizsgálat célja a NOD-PDAC-ban szenvedő betegek és az egyéb okok miatt újonnan kialakuló cukorbetegségben szenvedő betegek megkülönböztetése.

4.2.1.2 Esetszám

Figyelembe véve azokat az epidemiológiai adatokat, amelyek arra utalnak, hogy a PDAC prevalenciája Magyarországon jelentősen magasabb, mint más országokban, az elemszámbecslésnél 2%-os prevalencia értékkel számoltunk. Ennek alapján a vizsgálatba 2661

beteg bevonását terveztük, hogy 10%-os kiesési arány, 80%-os statisztikai erő és 95%-os szignifikancia szint mellett megerősítsük vagy elutasítsuk az elsődleges végpontra vonatkozó hipotézist.

4.2.1.3 Időtartam

A betegbevonás kezdete 2020. január 31. Minden bevont beteget 36 hónapig tervezünk követni. *A COVID 19 világjárvány miatt a betegbevonás és a vizsgálat még folyamatos. A majdnem hároméves késedelmet az egészségügyi rendszer csökkent kapacitása okozta, mivel a világjárvány miatt a járóbeteg-ellátás központi korlátozás alá esett.*

4.2.1.4 Klinikai adatok és végpontok

Életkor, nem, testsúly, testtömegindex, DM diagnózisának időpontja, mintavétel időpontja, társbetegségek, antidiabetikus gyógyszeres kezelés, klinikai tünetek, PDAC szövettan és stádium került regisztrálásra. Az adatgyűjtést kérdőívvel segítségével végeztük. Az adatokat elektronikus adatbázisban (elektronikus esetjelentő űrlap - eCRF) tároltuk.

Az elsődleges klinikai végpontok a biomarker teszt érzékenysége, specificitása, PPV, NPV és pontossága. Másodlagos végpontok: (1) a PDAC mortalitása (2) a lokalizált és reszekálható PDAC aránya (3) a testsúly változása az 1. vizit előtt és a 2-6. vizit során (4) az éhgyomri vércukorszint és a hemoglobin A1c (HbA1c) változása az 1. vizit előtt és a 2-6. vizit során (5) antidiabetikus gyógyszerek és a PDAC kockázata (6) kísérő betegségek jelenléte (7) dohányzás és alkoholfogyasztás (8) a PDAC előfordulása az újonnan kezdődő cukorbetegségben szenvedő betegeknél (9) költség-haszon elemzés.

A vizsgálatot a ClinicalTrials.gov-on regisztráltuk (NCT04164602). A vizsgálatot a Magyar Orvostudományi Kutatóintézet Tudományos és Kutatási Etikai Bizottsága jóváhagyta (41085-6/2019). A protokoll változata: V1.0 08.01.2019.

4.2.2. Módszerek

4.2.2.1 Protokoll

Az újonnan diagnosztizált (laboratóriumi teszt) DM betegeket diabetológusok és háziorvosok segítségével gyűjtöttük össze. A 0. vizitre a referálást követő 2 héten belül sor került. Azokat a betegeket, akik megfeleltek a vizsgálatba való bevonási kritériumoknak, de nem rendelkeztek kizárási kritériummal, tájékoztattuk és felajánlottuk a vizsgálatban való részvételt. Bevonás előtt a beleegyező nyilatkozat aláírása megtörtént.

Klinikai adatok, testsúly és aggasztó jelek (nem szándékos fogyás: a testsúly 5%-ának elvesztése nem ismert okból 6 hónapon belül, hasi fájdalom/dyskomfort, kóros laboratóriumi értékek, instabil glükóz-anyagcsere a megfelelő étrend és orvosi kezelés ellenére, valamint interkurrens fertőzés nélkül) a 0. vizit során rögzítésre kerültek. Éhgyomri vérvétel történt a laboratóriumi adatok és a metabolom értékeléséhez. A C-peptid és a glutaminsavdekarboxiláz antitestek (GADA) mérése is ekkor történt, az 1. típusú DM-ben szenvedő betegeket kizártuk. Ha a 0. vizit során aggasztó jelek voltak jelen, mágneses rezonancia képalkotást (MRI) vagy EUS-t végeztünk. Az egyértelmű PDAC-léziók (>1 cm vagy MRI-n is látható) miatt sebészeti bemutatás történt. A hasnyálmirigyben lévő bizonytalan elváltozásoknál EUS ill. EUS-FNA történt. A PDAC diagnózisa szövettani vizsgálattal történt. Az 1-5. vizitet 6 havonta ejtettük meg. A klinikai tüneteket, a testsúlyt, a laboratóriumi adatokat (éhgyomri vércukorszint, HbA1c, máj- és vesefunkció, lipidek, vérkép) minden egyes vizit alkalmával regisztráltuk. Biobanki vérvétel és CA19-9 meghatározás 12 havonta történt. A betegek követését 36 hónap után, vagy PDAC diagnózist követően állítottuk le.

4.2.2.2 Biokémiai módszerek

Tájékozott beleegyezést követően a betegektől koplalás után (legalább 8 óra) EDTA-csőbe vettünk mintát. A vérvételtől számított 2 órán belül a vércsöveket 10 percig centrifugáltuk. A centrifuga hőmérséklete 19°C-21°C-on szabályozott. A centrifugálást követően a felülúszót óvatosan eltávolítottuk, egy új 9 ml-es csőbe tettük és óvatosan összekevertük, hogy homogenizáljuk a plazma felülúszójában esetleg kialakult gradienst. A plazmát ezután 0,5 ml-es adagokban -80°C-on tároltuk egy erre a célra szolgáló fagyasztóban (a centrifugálástól a fagyasztásig ≤6 óra telt el). A biomarkerek meghatározásához összehasonlítottuk a PDAC-val diagnosztizált betegek és a cukorbetegségben szenvedő, daganatmentes betegek plazmamintáinak metabolitszintjét. A CA 19-9-et központilag, minősített klinikai laboratóriumban mértük, 37 U/ml-es cut-off értéket használva határértékként. A biomarker-teszt költségét, a költséghatékonysági arány és a minőségi nyert életevek kiszámítását terveztük.

4.2.2.3 Metabolit-profilalkotás

A GC-MS (gázkromatográfia) és az LC-MS/MS (folyadékkromatográfia-MS/MS) módszereket használtuk metabolit-profilalkotásra. A plazmamintákból (60 µl) a fehérjéket kicsapattuk. A poláris és nem poláris frakciókat ezután víz, valamint etanol és diklórmetán keverékének hozzáadásával választottuk szét a GC - MS és LC - MS/MS elemzésekhez. A GC

- MS elemzéshez a nem poláris frakciót savas körülmények között metanollal kezeltük, hogy a szabad zsírsavakból és a hidrolizált komplex lipidekből származó zsírsav-metilésztereket kapjuk. A poláros és nem poláros frakciókat a GC-MS-analízis előtt tovább derivatizáltuk O-metil-hidroxilamin-hidrokloriddal az oxocsoportok O-metiloximokká történő átalakítása érdekében. Az LC-MS/MS elemzéshez mindkét frakciót megszáritottuk, majd megfelelő oldószer-keverékekben visszaállítottuk. A HPLC-t metanol/víz/hangyasav gradiens elúcióval végeztük fordított fázisú oszlopokon.

Az MxP lipidek a szfingolipidek (ceramidok, szfingomielinek és szfingobázisok) profiljának meghatározására terjednek ki. A teljes lipideket a plazmából folyadék/folyadék extrakcióval, kloroform/metanol alkalmazásával extraháltuk. A lipidkivonatokat ezt követően normál fázisú folyadék LC-vel fracionáltuk különböző lipidcsoportokra a referenciáknak megfelelően. A frakciókat LC-MS/MS-sel elemeztük elektropray ionizációval és atmoszférikus nyomású kémiai ionizációval, a szfingomielinek és a ceramidok specifikus többszörös reakciófigyelő átmeneteinek kimutatásával.

4.2.2.4 Statisztikai módszerek

Az adatok normalizálása után leíró statisztikák - átlag, medián, SD, kvartilisek és relatív gyakoriság - relatív kockázat (dichotóm változók), független kétmintás t-próba (folytonos változó) normál eloszlás esetén, és Mann-Whitney U-próba nem normális eloszlás esetén kerülnek kiszámításra. Logisztikus regressziót használunk a prediktív tényezők feltárására. A kapcsolódó statisztikai elemzéseket 0,05-ös hibavalószínűséggel (I. típusú hiba valószínűsége) végezzük. Az érzékenységre, specificitásra és pontosságra vonatkozó konfidenciaintervallumokat (CI) a képzési adatokban előre meghatározott határértékre vonatkozóan a Clopper és Pearson módszerrel kapjuk meg a binomiális eloszlásra. A PPV és NPV esetében a CI-eket a Gart és Nam által a binomiális paraméterek arányaira alkalmazott módszerrel kapjuk meg, amelyet az R csomagban a pairwise CI-ben implementáltak. A biomarker és a CA 19-9 összehasonlításakor a tesztadatokon az érzékenység és a specificitás különbségeit McNemar-teszt segítségével tervezzük tesztelni.

5. Eredmények

5.1 Study A - HiRiPaC Study

A vizsgálatba összesen 115 újkeletű T2DM-ben szenvedő beteget vontunk be (49 férfi, 66 nő, átlagéletkor: 58 ± 11 év, 32-85 év). Ezt követően 7 beteget különböző okok miatt kizártunk: 1 férfinak T1DM-je volt, 1 nőnek policisztás ovárium szindrómája, és 5 beteg később

visszautasította a részvételt. A T2DM diagnózisa és a vizsgálatba való bekerülés között átlagosan 3.5 ± 4.4 hónap telt el (0-20 hónap).

A szérumszintje CA 19-9 szintje 10 betegnél (9%) volt emelkedett (átlag: 52.613 ± 23.13 U/ml), de egyikükönél sem volt morfológiai eltérés az US vagy CT vizsgálaton.

A képalkotó vizsgálatok három betegnél mutattak ki hasnyálmirigy-daganatot, kettőnél emelkedett szérumszint CA 19-9 szint nélkül. A PDAC teljes előfordulási gyakorisága vizsgálatunkban így 2.78% (3/108) volt. A SIR kiszámításához a vizsgálatunkban szereplő person-time incidenciára volt szükség. Az összes résztvevő követési idejét években fejeztük ki, majd összegeztük (162.42 év). A person-time incidenciát $(3/162.42 \cdot 100)$ 1.847 eset/100személyév volt. A PDAC incidenciát Magyarországon $9.3/100.000 = 0.0093/100$ személyév volt. A SIR értéke $1.847/0.0093 = 198.6$ (95% CI = 6.25-46.9) adódott.

A három beteg közül kettőnél az US-vizsgálat egyértelműen kimutatta a daganatot. A fennmaradó 105 negatív US-lelettel rendelkező beteg esetében az utánkövetés kizárta a PDAC lehetőségét. 18 betegnél végeztünk CT-t (két betegnél pozitív US-lelet, tíznél emelkedett CA 19-9 szint, négyenél hiányos US-lelet és kettőnél hasnyálmirigy-betegségtől független tünetek miatt). A CT mindhárom PDAC esetén kimutatta a daganatot.

5.2 Study B – NODES trial

Mivel a NODES vizsgálat a COVID 19 világjárvány okozta késedelmek miatt még mindig zajlik, a tézis írásakor még nem állnak rendelkezésre végleges eredmények. Jelenleg 58 újonnan diagnosztizált DM beteg vérmintáit elemzik Németországban. Ezek közül 4 betegnél (6.8%) a DM diagnózisát követő 6 hónapon belül PDAC-t diagnosztizáltunk.

6. Megbeszélés

Prospektív HiRiPaC vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a PDAC előfordulásának valószínűsége az újkeletű diabetes mellitusban szenvedő betegekénél 198.6-szor nagyobb volt, mint a normál populációban. Ez jelentősen magasabb, mint a korábban közölt 8-szoros kockázat. Pannala és munkatársai retrospektív tanulmányukban PDAC-val diagnosztizált betegeket és daganatmentes kontrollokat vontak be. A cukorbetegség megléte nem bevonási kritérium volt, hanem egy vizsgált paraméter. A vizsgálatba 512 PDAC-ban szenvedő beteget vontak be, akiknek 41.6%-a cukorbeteg volt. E betegek 75%-ának újkeletű cukorbetegsége volt. Ez azt jelenti, hogy a vizsgálat nem tett különbséget a NOD-PDAC és a T2DM esetek között. Ennek eredményeként a PDAC kumulatív kockázata ebben a vegyes DM-csoportban alacsonyabb,

mint a csak NOD-PDAC csoportban. Ezzel szemben mi 108 újkeletű cukorbetegét vontunk be vizsgálatunkba. A követés során az eltérő vizsgálati protokoll miatt csak a NOD-PDAC betegeket tudtuk diagnosztizálni. A korlátozott esetszám szintén okozhat némi torzítást a SIR magas értékét illetően.

Az újkeletű DM magas kockázatot jelent PDAC kialakulására. Damiano és munkatársai a PDAC hasonló incidenciájáról (5.2%) számoltak be az újonnan (30 nap>) diagnosztizált DM miatt kórházba került betegeknél, akiknél a DM instabilitása miatt inzulinkezelésre volt szükség.

Vizsgálatunk során bizonyítottuk, hogy az újkeletű DM kezelt tünetmentes betegek PDAC felismerése szempontjából megfelelő rizikócsoportot képeznek a szűréshez. Eredményeink ugyanakkor elkeserítőek is voltak, mivel a szűrőprogramunkban diagnosztizált mindhárom PDAC eset előrehaladott, nem operálható stádiumban került felfedezésre. Egy korábbi retrospektív vizsgálat szerint a DM megjelenése és a PDAC diagnózisa között átlagosan 10 hónap telt el (5-29 hónap) (15). A DM diagnózisa és a betegek vizsgálatunkba való bevonása között eltelt átlagos idő 3.5 ± 4.4 hónap volt a teljes szűrővizsgálati populációban, és 3.7 ± 4 hónap a végül PDAC-val diagnosztizált betegeknél. Ezért az a tény, hogy vizsgálatunkban előrehaladott eseteket diagnosztizáltunk nem magyarázható azzal, hogy a DM megjelenése és a vizsgálatba való bekerülés között túl hosszú idő telt el.

A korábbi adatokkal ellentétben bizonyítottuk, hogy sem a szérum CA 19-9 szintjének meghatározása, sem a transzabdominális US elvégzése nem hatékony szűrőmódszer a PDAC korai stádiumban történő kimutatására. A CA 19-9 érzékenysége és pozitív prediktív értéke egyaránt nulla, a fals pozitív arány pedig 9% volt vizsgálatunkban. Az emelkedett CA 19-9 szintek átlagértéke vizsgálatunkban mindössze 52.613 ± 23.13 U/ml volt. A CA 19-9 optimális határértéke azonban a jó- és rosszindulatú pancreatobiliaris betegség megkülönböztetésére irodalmi adatok alapján 70.5 U/ml (82.1% szenzitivitás, 85.9% specificitás, 81.3%-os pozitív prediktív érték és 86.5%-os negatív prediktív érték). Eredményeink nem egyeznek Choe és munkatársai eredményeivel, akik arról számoltak be, hogy a CA 19-9 önmagában alkalmas a PDAC diagnosztizálására újkeletű DM betegeknél. Eredményeink inkább összhangban vannak Zubarik és munkatársai eredményeivel, akik kimutatták, hogy a CA 19-9 pozitív prediktív értéke a PDAC pozitív családi anamnézissel rendelkező betegeknél is csak 3.7%.

Az US alacsony szenzitivitása vizsgálatunkban arra utal, hogy szűrés szempontjából nem hatékony. A hasi CT hatékonysága a PDAC diagnosztizálásában vizsgálatunkban bár kiváló

volt, de nem tudtuk bizonyítani, hogy a CT megfelelő szűrőeszköz a korai stádiumú PDAC esetében. HiRiPaC-vizsgálatunk korlátja a kis esetszám, ezért további vizsgálatokat terveztünk a PDAC korai felismerésének megoldására.

A reszekálható PDAC-val rendelkező esetek nagyobb arányú azonosítása érdekében tovább kell szűkíteni az újkeletű DM-betegek kockázati csoportját. Az idősebb (>55 éves) egyéneknél diagnosztizált DM általában PDAC által okozott DM, míg a fiatalabb életkorban diagnosztizált betegség T2DM-re utal, ahogyan azt vizsgálatunkban is láttuk. Gupta és munkatársai azonban ellentétes következtetésre jutottak: a fiatalabb életkor a NOD-PDAC kockázati tényezője.

A NODES vizsgálatban idős, újonnan diagnosztizált diabetes mellitusban szenvedő betegeket vonunk be, hogy egy biomarker panel (a CA 19-9 és metabolitok kombinációja) segítségével elkülöníthessük a NOD-PDAC eseteket a T2DM betegektől. A NODES vizsgálat várható pozitív végpontja ennek a biomarker panelnek a validálása; hogy alkalmas-e egy többnyire gyógyíthatatlan, magas halálozási arányú daganat korai diagnózisára, amikor még a kuratív műtét kivitelezhető. Ily módon ez a biomarker panel a T3cDM NOD-PDAC alcsoport diagnosztikai eszköze lehet. A teszthez csak egyetlen vérvétel szükséges, ami azt jelenti, hogy a módszer egyszerű, megismételhető, tolerálható, minimálisan invazív, szinte fájdalommentes, széles körben elérhető és viszonylag olcsó - a szűrési módszerrel szemben támasztott valamennyi kritériumnak megfelel.

7. Következtetések

Összefoglalva, prospektív vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a PDAC előfordulása szignifikánsan magasabb újkeletű diabetes mellitusban szenvedő betegeknél, mint a normál populációban, így ez a csoport alkalmas a PDAC szűrésére. Megerősítettük, hogy sem a szérumban CA 19-9, sem a transzabdominális US, sem kombinációjuk nem hatékony szűrési módszer a PDAC korai felismerésére. Vizsgálatunkban a hasi CT hatékony képalkotó eszköz a PDAC diagnózisára, de nem tudtuk bizonyítani, hogy a CT megfelelő szűrőeszköz lenne a korai stádiumú PDAC esetében. A NODES vizsgálat célja egy biomarker panel validálása a NOD-PDAC diagnosztizálására idős, újonnan diagnosztizált cukorbetegknél, azaz a PDAC korai kimutatása egy nagy kockázatú betegcsoport megfigyelése révén.

8. Új megállapítások

1. Tanulmányunkban statisztikailag alátámasztottuk, hogy az újkeletű cukorbetegségben szenvedő betegek megfelelő csoportot jelentenek a hasnyálmirigyrák szűrésére.

2. A CA 19-9 önmagában és transzabdominális ultrahanggal kombinálva sem hatékony a hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma szűrésére vagy diagnosztizálására.
3. A transzabdominális ultrahang nem hatékony a hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma szűrésére vagy diagnosztizálására.
4. A hasi CT megbízható képalkotó eszköz a hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma diagnózisára, bár nem a korai stádiumban. A sugárterhelést is számításba véve, szűrésre nem alkalmas.
5. A NODES vizsgálatban vizsgált biomarker panel validálásával a NOD-PDAC diagnózisa lehetővé teszi a hasnyálmirigy ductalis adenocarcinoma korai stádiumban történő szűrését az újonnan diagnosztizált diabetes mellitusban szenvedő betegeknél.

9. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, **Prof. Dr. Czakó Lászlónak** útmutatásáért és támogatásáért, amelyek nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre. Tudása és szorgalma példaértékű számomra.

Köszönöm továbbá **Prof. Dr. Lengyel Csaba, Prof. Dr. Ábrahám György és Prof. Dr. Wittmann Tibor** jelenlegi és korábbi tanszékvezetőnek, hogy lehetőséget biztosítottak számomra intézményükben kutatási tevékenység folytatására.

Külön köszönet **Dr. Terzin Viktória** tanársegédnőnek, aki hallgatói munkám első napjától kezdve mellettem állt, segítséget és információt nyújtott a kutatási tevékenység mibenlétével kapcsolatban. Szeretném megköszönni minden kollégámnak és munkacsoportunk tagjainak, **Dr. Zsóri Gábornak, Dr. Ivány Emesének, Dr. Kui Baláznak, Dr. Tajti Máténak** az évek során tanúsított együttműködésüket és bátorításukat.

Hálás vagyok **Prof. Dr. Hegyi Péternek** és a **Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport** minden tagjának, akik lehetővé tették, hogy egyszerre több kutatási projektben is részt vehessek.

Végül azoknak, akiknek a legtöbbet köszönhetek. Örökké hálás leszek bátyámnak, **Lászlónak**, aki megmutatta, hogy sosem késő elkezdni vagy megtanulni valami újat. Szeretnék köszönetet mondani szüleimnek, **Lászlónak és Ildikónak** a végtelen szeretetükért, támogatásukért és bátorításukért. Nélkülük nem lennék az az ember, aki ma vagyok. Ezt az értekezést nekik ajánlom.