A DNS metiláció szerepe a vastagbélrák kialakulásában

Doktori tézisek

dr. Patai Árpád

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Molnár Béla, Ph.D., az MTA doktora, tudományos tanácsadó

Hivatalos bírálók:
Dr. Rakonczay Zoltán, az MTA doktora, egyetemi tanár
Dr. Bödör Csaba, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Komplex vizsga elnöke:
Dr. Arató András, az MTA doktora, egyetemi tanár
Komplex vizsga bizottság tagjai:
Dr. Tory Kálmán, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Szabó László, Ph.D., med. habil., főiskolai tanár
Dr. Tulassay Tivadar, Ph.D., az MTA rendes tagja, egyetemi tanár

Budapest
2018

BEVEZETÉS

A vastag- és végbélrák (colorectalis adenocarcinoma, CRC) nem egységes betegség, hanem különböző molekuláris háttérrel és klinikopatológiai eltérésekkel jellemezhető altípusok összessége.
A CRC-k kb. 80-85%-a az ún. adenoma-carcinoma szekvencia (ACS) során alakul ki, amely során az egymást követő genetikai mutációk hatására az egészséges nyálkahártyából rákmegelőző állapotokon, egyre súlyosbodó, low-grade, majd high-grade stádiumba sorolt diszplasztikus elváltozásokat tartalmazó adenomákon keresztül invazív, rosszindulatú daganat alakul ki. Ennek értelmében tumorszuppresszor gének (például *APC*, *SMAD4* és *TP53*) inaktiváló, valamint onkogének (például *KRAS*, *PIK3CA*) aktiváló mutációja felelős a daganat kialakulásáért.
A genetikai mutációknál nagyságrendnyivel nagyobb számban fordulnak elő epigenetikai (pl. DNS-metilációs) eltérések CRC-ben, amelyek a gének promoter régiójában bekövetkező hipermetiláció révén – a mutációktól eltérő módon – a gének inaktiválódását okozzák. CRC-k körülbelül 20-30%-a az átlagosnál nagyobb gyakorisággal tartalmaznak DNS-metilált géneket, ezt az altípust CpG-sziget metilátor fenotípusnak (CpG island methylator phenotype, CIMP) nevezték el. Ezekre a daganatokra az idősebb kor és a női dominancia jellemző.

A harmadik, úgynevezett mikroszatellita instabilitást hordozó (MSI) alcsoportba a vastagbélrákos esetek 10-20%-a tartozik, erre a DNS-replikáció során fellépő hibák kijavítását végző (mismatch repair, MMR) enzimrendszer funkcionális kiesése jellemző, amely hátterében sporadikus daganatokban ezeknek a géneknek (például *MLH1*) a hipermetilációja áll, így a sporadikus MSI daganatok egy része a CIMP alcsoport részének is tekinthető. A CRC kialakulásában a Wnt-jelátviteli útvonal kulcsfontosságú szerepet játszik, kóros aktivációja (pl. az *APC* mutációja vagy az *SFRP* (secreted frizzled-related protein) gének DNS metiláció általi inaktivációja) által daganat kialakulásához vezet.

Az adenoma-karcinoma útvonalon kialakult CRC-k rákmegelőző állapotai az adenomatózus polipok, míg az elsősorban CIMP útvonalon keresztül keletkező léziókat, fogazott polipoknak (hagyományos fogazott adenoma, traditional serrated adenoma, TSA; szesszilis fogazott adenoma (sessile serrated adenoma, SSA) nevezzük.

Bizonyos daganatkeltő ágensek (például krónikus gyulladás, dohányzás) hatására a makroszkóposan és szövettanilag épnek tűnő nyálkahártyában (epi)genetikai elváltozások alakulhatnak ki, amelyek daganatképződésre érzékeny területeket hozhatnak létre akár az egész nyálkahártyában. Ezek a területek ismételt behatásokra malignizálódhatnak. Ezt a jelenséget *field effect*-nek vagy *field cancerization*-nek, magyarul háttérjelenségnek nevezzük.

CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataim során a vastagbéldaganat kialakulásának egyes állomásainak DNS-metilációs változásait vizsgálatam meg, valamint azt hogy ez hogyan hat a gén- és fehérjeexpresszióra.

Célkitűzéseimet az alábbi főbb pontokban foglaltam össze:

- 96 gén DNS metilációs státuszának, valamint 12 gén gyakori mutációjának vizsgálata
  - egészséges vastagbélmintákon,
  - rákmegelőző állapotokban (hagyományos és fogazott adenomák),
  - gyulladásos bélbetegségekben,
  - CRC-s,
  - valamint CRC melletti szövettanilag ép mintákon
- A promoter DNS-metiláció hatásának vizsgálata a gén mRNS- és fehérjeexpresszió szintjére
- A tumor mikrokörnyezeti DNS-metilációs eltérések vizsgálata a WNT-jelátviteli útvonal szabályozásában
- Demetilációs kezelésre adott mRNS-expressziós változás mértékének meghatározása a vizsgált génekre vonatkozóan vastagbél adenocarcinoma sejtvonalban

MÓDSZEREK

Betegek és mintagyűjtés

A DNS-metilációs vizsgálatokhoz a klinikai mintákat a rutin kolonoszkópia során nyertük. Összesen 78 mintát

dolgoztunk fel: 5 db ép gyermek (young, Y), 5 db ép felnőtt (normal healthy adult, N), 4 db aktív stádiumú colitis ulcerosa (UCa) , 4 db inaktív stádiumú colitis ulcerosa (UCi), 4 db szövettanilag ép a CRC-től <2 cm-re (field, F), 4 db szövettanilag ép a CRC-től >10 cm-re (cancer normal, CN), 17 db tubularis adenoma low-grade dysplasiával (LGD), 6 adenoma high-grade dysplasiával (HGD), 4 db szesszilis serrated adenoma (SSA), 1 db tradicionális serrated adenoma (TSA), 17 db I-III. stádiumú vastag- és végbélrák (CRC) és 7 db IV. stádiumú vastag- és végbélrák (MCRC).

DNS-metiláció array vizsgálata

A DNS-izoláláshoz High Pure PCR Template Preparation Kitet, a DNS-metilációs profilok vizsgálatára az EpiTect Methyl qPCR Array System-et használtam.

RNS-izolálás és teljes genom mRNS-expresszió microarray vizsgálat

Teljes RNS-t az RNeasy Mini Kit segítségével vontunk ki. A teljes genom mRNS-expressziót a HGU133 Plus2.0 microarray-vel vizsgáltuk.

Mismatch repair (MMR) fehérjék (MSI státusz) és SFRP1 immunhisztokémiai vizsgálata

A vizsgált minták formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetblokkjaikból 2 mm core átmérőjű szöveti microarray-ket (TMA) készítettem. A TMA blokkokból

készült metszeteken az alábbi monoklonális antitestekkel végeztünk el immunhisztokémiai reakciót: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, SFRP1. Digitális archiválást követően a digitalizált szövettani mintákat Pannoramic Viewer szoftver segítségével értékeltük ki.

A miofibroblasztok SFRP1 (secreted frizzled-related protein 1)-termelésének vizsgálata

A stromális miofibroblasztok vizsgálatához α-SMA-SFRP1 kettős fluoreszcens festést használtunk normális (n=20), CRC (n=35) valamint olyan CRC mintákban, amelyek NAT területet is tartalmaztak (n=12).

Demetilációs kísérletek sejtkultúra modellben

Demetiláló, 5-aza-2'-deoxicitidin kezelést végeztünk HT29 vastagbél adenocarcinoma sejtvonalon, majd a sejtekből RNS-t vontunk ki és teljes genom mRNS-expresszió microarray vizsgálatot végeztünk a fentiek szerint. *In silico* egy eltérő molekuláris fenotípusú vastagbélrák sejtvonal, a HCT116 5-aza-2'-deoxicitidin/trichostatin A kezelés teljes genom mRNS-expressziós eredményeit is megvizsgáltuk.

Mutációs eltérések vizsgálata új generációs szekvenálással

A mutációk gyakoriságának átfogóbb jellemzésére, a fenti napi rutinban használt mutációkon kívül még 10, tehát összesen 12 CRC-ben gyakran előforduló gén

(*APC, BRAF, CTNNB1, EGFR, FBXW7, KRAS, MSH6, NRAS, PIK3CA, SMAD2, SMAD4, TP53*) mutációjának vizsgálatára saját PCR-primereket terveztünk. Az amplikonokat GS Junior eszközzel szekvenáltuk meg, a szekvenáláshoz a GS Junior Titanium Sequencing Kitet használtunk. A variánsokat az Amplicon Variant Analyzer szoftverrel elemeztük.

EREDMÉNYEK

Jó- és rosszindulatú vastagbéldaganatok metilációs mintázatának összehasonlítása

A vizsgált csoportok metilációs mintázatának összehasonlításakor a jóindulatú, rákmegelőző állapotokban (LGD, HGD), valamint CRC-ben lényegesen több metilált gént találtunk, mint az egészséges gyermek és felnőtt mintákban. Gyulladásos bélbetegségben, sem a szövettanilag aktív, sem az inaktív colitis ulcerosás mintákban nem találtunk lényeges különbséget a vizsgált gének metilációs státuszában az egészséges mintákhoz képest. Low-grade és high-grade adenomákban valamint CRC-ben azonban azonosítottunk egy jellegzetes metilációs mintázatot: 10 gént sikerült azonosítani, amelyek a jó- és rosszindulatú vastagbél daganatok több mint 85%-ában metilált volt, ugyanakkor az egészséges gyermek és felnőtt, daganat melletti szövettanilag ép, valamint gyulladásos mintákban nem (vagy csak 1-1 esetben) voltak metiláltak (akkor is a 15%-os metilációs küszöbérték határán). Érdekes módon,

ezek a gének metasztatikus CRC-ben (MCRC) nem voltak metiláltak. Az adott gének metiláltsági fokának átlaga a diszplastikus (HGD majd LGD) mintákban volt a legmagasabb, ezt követték a CRC-s minták, míg a legalacsonyabb értékeket a MCRC-ben láttuk.
A vizsgált minták 95%-ában 9 hipermetilált gént találtunk, amelyek az egészséges és colitis ulcerosás mintákban egyaránt metiláltak voltak. Ezen felül további 34, 46, valamint 32 metilált gént azonosítottunk az LGD-s, a HGD-s és a CRC-s minták legalább felében. Az MCRC-s mintákban azonban csak 2 további metilált gént figyeltünk meg. A legtöbb metilált gént tartalmazó mintacsoportban, HGD-ben 12 olyan gén volt, amely csak ebben a csoportban volt metilált. A jóindulatú daganatokban (LGD, HGD) a csoporton belüli metilált gének aránya sokkal nagyobb volt, mint CRC-ben.
A CRC-s és a mellette elhelyezkedő, szövettanilag ép (CN és F) minták összehasonlításakor az egészséges mintákhoz képest nem találtunk olyan gént (az összes mintában metilált 9 gént leszámítva), amely a szövettanilag ép mintákban és a CRC-s mintákban egyaránt metilált lett volna.

DNS-metilációs eltérést mutató gének validációja

A DNS-metiláció foka magasabb volt rákmegelőző állapotokban (LGD, HGD), mint CRC-ben. Ennek a megfigyelésnek a megerősítésére CRC-s betegek olyan alcsoportját is megvizsgáltuk, akikben a rosszindulatú

daganattal egyidejűleg (szinkron) szövettanilag LGD-nek bizonyult polyp is előfordult. Ezekben a párokban is hasonló eredményre jutottunk: az LGD-s mintákban mind a metilált gének száma, mind a metiláció foka magasabb volt, mint a szinkron CRC-kben. További megerősítés céljából a restrikciós emésztésen alapuló módszer alkalmazása után 3 kiválasztott génen (*SFRP1, SFRP2, MAL*) célzott metilációspecifikus (biszulfit) PCR-vizsgálatot is végeztünk, amely az eredményeiket megerősítette.

DNS-metiláció, mRNS- és fehérjekifejeződés kapcsolatának vizsgálata

A DNS-metiláció transzkripciós és transzlációs hatásának vizsgálata céljából a Wnt-útvonal egy jól ismert antagonistáját, az *SFRP1* gén kifejeződését vizsgáltuk mRNS- és fehérjeszinten, amely metilációs vizsgálatunk eredménye szerint az egyik leggyakrabban metilált génnek bizonyult. A génexpressziós vizsgálatainkkal megerősítettük, hogy az *SFRP1* gén hipermetilációja az mRNS- és fehérjeszint csökkenésével jár mind jóindulatú (LGD, HGD), mind rosszindulatú vastagbéldaganatokban (CRC).

Mutációs panel vizsgálata az adenoma-carcinoma szekvencia során és sessilis serrated adenomákban

A CRC-s mintákban a leggyakoribb mutációk (*APC, TP53, KRAS, SMAD4, BRAF*) előfordulási aránya 6-53%

között volt, hagyományos adenomákban (LGD és HGD) ugyanezek a mutációk egy kissé ritkábban, 4-30%-ban fordultak elő. A *BRAF* mutációja a leggyakrabban (18%) fogazott adenomákban fordult elő.

Fogazott polypok DNS-metilációs array vizsgálata

Az egészséges mintákkal való összehasonlításkor a 9 közös génen felül 12 gén (*CALCA, DKK2, GALR2, OPCML, PCDH10, SFRP1, SFRP2, SLIT3, SST, TAC1, VIM, WIF1*) mind a 4 SSA-ban, 2 további gén (*BNC1* és *PDLIM4*) pedig 4-ből 3 SSA-ban volt hipermetilált.

Az egyetlen TSA mintában az egészségeshez képest mindössze 2 gén (*CALCA* és *SST*) hipermetilációját tudtuk kimutatni. Ez a 2 gén mind az öt fogazott polipban metilált volt.

A secreted frizzled-related protein 1 (SFRP1) mRNS-expresszió változása a CRC és NAT szövetben

A biopsziás (makrodisszektált) mintákban szignifikánsan ($p<0,001$) nagyobb *SFRP1* mRNS-expressziót találtunk a NAT mintákban, mint a CRC szövet esetében. Lézer mikrodisszekció után ugyancsak szignifikáns expressziós különbséget ($p<0,001$) találtunk a NAT epitéliumban a CRC hámrétegéhez képest: a CRC mintákban az *SFRP1* mRNS átlag expresszió kb. harmada volt a NAT mintákban mért mRNS-expresszióhoz képest.

A miofibroblasztok SFRP1-termelésének vizsgálata normális, daganathoz közeli ép (NAT) és vastagbélrákos (CRC) mintákban

Erős stromális SFRP1-fehérjekifejeződést találtunk a normális, a NAT, valamint a NAT és CRC területek közötti átmeneti területeken, amely nagyrészt a perikriptális területekre koncentrálódott. Kettős fluoreszcens festés segítségével az itt található SFRP1-pozitív sejteket α-SMA-pozitív miofibroblasztokként azonosítottunk. A NAT területeken az SFRP1-proteinexpressziója magas volt az α-SMA-pozitív sejtek nagy részében (85,73%±12,61%). A legtöbb CRC mintában heterogén SFRP1-expresszió volt látható, az α-SMA-pozitív sejtek aránya szignifikánsan nagyobb volt, bár az SFRP1 protein expresszió szignifikánsan csökkent (27,65%±18,27%) a NAT területekhez képest ($p<0,001$).

A környező miofibroblasztok erős SFRP1-termeléséhez képest, ép hámban közepes SFRP1-expressziót láttunk. Csökkent SFRP1-expresszió volt megfigyelhető a NAT területeken. Az epitelialis SFRP1-expresszió csökkenésével párhuzamosan a szubepiteliális miofibroblasztok megtartott SFRP1-expressziót mutattak. Azok a NAT területek, amelyek a tumortól messzebb helyezkedtek el a normálishoz hasonló epiteliális és stromális expressziós mintázatot mutattak. Csökkent gyenge (0) epiteliális SFRP1-expresszió volt látható a CRC minták többségében (71,42%).

A *SFRP1* promoter hipermetiláció vizsgálata a NAT és a CRC területeken

Az α-SMA-pozitív stromális miofibroblasztok metilációs státuszát, NAT és CRC sejtekből származó laser mikrodisszektált sejteken vizsgáltuk. A NAT-ból származó stromális miofibroblasztokban nem, míg CRC-ből származó stromális miofibroblasztokban részleges (heterogén) *SFRP1*-hipermetilációt mutattunk ki metilációspecifikus (biszulfit) PCR-vizsgálattal.

Demetilációs kezelés hatása a metilált gének kifejeződésére

Teljes genomiális mRNS-expressziós array segítségével HT29 vastagbélrák sejtvonalon 7 metilált gén (*MAL, PCDH10, PDLIM4, SFRP1, SLIT2, SST, TMEFF2*) mRNS-expresszióját egészséges biopsziák adataival hasonlítottuk össze. A 7 gén a minták többségében csökkent mRNS-expressziót mutatott. A metilációs folyamat reverzibilitásásnak bizonyításásra 5-aza-2'-deoxicitidin, demetilációs kezelést alkalmaztunk, amely hatására a 7 kiválaszott génben az expresszió részben visszaállítható volt. HCT116 vastagbélrák sejtvonalon végzett demetilációs kísérlet eredményeinek *in silico* elemzésekor a kiválasztott gének esetében hasonló változást figyeltünk meg.

KÖVETKEZTETÉSEK

96 gén metiláltsági státuszát vizsgálva CRC-ben, valamint rákmegelőző állapotaiban (LGD, HGD)

azonosítottunk egy 10 gyakran (az esetek több mint 85%-ban) metilált génből álló panelt (*SFRP1, SST, BNC1, MAL, SLIT2, SFRP2, SLIT3, ALDH1A3, TMEFF2, WIF1*). CRC-hez képest a rákmeglőző állapotokban több és nagyobb mértékben metilált gént találtunk, amikor szinkron LGD-CRC párokat hasonlítottunk össze.

A többi daganatos (LGD, HGD, CRC) mintához képest metasztatikus CRC-ben (MCRC) kevesebb metilált gént találtunk.

Kimutattuk, hogy 7, a daganatos mintákban hipermetilált gén csökkent mRNS expresszióval bírt, amely sejtkísérletben demetilációs kezeléssel részben visszaállítható volt. Ezek közül az SFRP1-t fehérjeszinten is megvizsgálva szintén csökkent expressziót láttunk daganatban az egészséges mintákhoz képest.

Mutációk gyakoriságával összehasonlítva a hipermetilált gének lényegesebb gyakrabban voltak kimutathatóak vastagbélrákban és rákmegelőző állapotaiban: a 10 leggyakrabban hipermetilált gén a minták több mint 85%-ban kimutatható volt, míg a leggyakoribb mutációk előfordulása 0-50% között volt.

Vizsgálatunkban számos új hipermetilált gént (*BNC1, SFRP1, SFRP2, SLIT3, SST, WIF1*) sikerült azonosítani SSA-ban. Ez a 6 gén ugyanakkor nemcsak fogazott polipokban, hanem hagyományos adenomákban és vastagbélrákban is hipermetilált volt.

SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

PhD értekezés témájához szorosan kapcsolódó közlemények

1. **Patai ÁV*** és Barták BK* és Péterfia B*, Micsik T, Horváth R, Sumánszki C, Péter Z, Patai Á, Valcz G, Kalmár A, Tóth K, Krenács T, Tulassay Z, Molnár B. (2017) Comprehensive DNA methylation and mutation analyses reveal a methylation signature in colorectal sessile serrated adenomas. Pathol Oncol Res, 23: 589-594. *társelsőszerzők (IF: 1,736)
2. **Patai ÁV**, Valcz G, Hollósi P, Kalmár A, Péterfia B, Patai Á, Wichmann B, Spisák S, Barták BK, Leiszter K, Tóth K, Sipos F, Kovalszky I, Péter Z, Miheller P, Tulassay Z, Molnár B. (2015) Comprehensive DNA methylation analysis reveals a common ten-gene methylation signature in colorectal adenomas and carcinomas. PLoS One, 10: e0133836. (IF: 3,057)
3. Valcz G* és **Patai ÁV***, Kalmár A, Péterfia B, Fűri I, Wichmann B, Műzes G, Sipos F, Krenács T, Mihály E, Spisák S, Molnár B, Tulassay Z. (2014) Myofibroblast-derived SFRP1 as potential inhibitor of colorectal carcinoma field effect. PLoS One, 9: e106143. *társelsőszerzők (IF: 3,234)
4. **Patai ÁV*** és Sumánszki C*, Sipos F, Molnár B, Tulassay Z. A DNS-metiláció szerepe és klinikai jelentősége a vastagbélrák kialakulásában. (2015) Magy Belorv Arch, 68: 163-168. *társelsőszerzők (IF: 0)

5. **Patai ÁV**, Micsik T, Péter Z, Horváth R, Molnár B, Tulassay Z. (2014) A fogazott polypok jelentősége a vastagbélrák kialakulásában. Magy Belorv Arch, 67: 225-233. (IF: 0)
6. **Patai AV**, Molnár B, Tulassay Z, Sipos F. Serrated pathway: alternative route to colorectal cancer. (újranyomás könyvfejezetben) (2014) World Clinical Gastroenterology, 1: 241-249. (IF: 0)
7. **Patai AV**, Molnár B, Tulassay Z, Sipos F. (2013) Serrated pathway: alternative route to colorectal cancer. World J Gastroenterol, 19: 607-615. (IF: 2,433)
8. **Patai AV*** és Molnár B*, Kalmár A, Schöller A, Tóth K, Tulassay Z. (2012) Role of DNA methylation in colorectal carcinogenesis. Dig Dis. 2012; 30: 310-315. *társelszerzők (IF: 2,725)
9. Barták BK, Kalmár A, Péterfia B, **Patai ÁV**, Galamb O, Valcz G, Spisák S, Wichmann B, Nagy ZB, Tóth K, Tulassay Z, Igaz P, Molnár B. (2017) Colorectal adenoma and cancer detection based on altered methylation pattern of SFRP1, SFRP2, SDC2, and PRIMA1 in plasma samples. Epigenetics, 12: 751-763. (IF: 4,394)
10. Tóth K, Patai ÁV, Kalmár A, Barták BK, Nagy ZB, Galamb O, Wichmann B, Tulassay Z, Molnár B. (2017) Circadian Rhythm of Methylated Septin 9, Cell-Free DNA Amount and Tumor Markers in Colorectal Cancer Patients. Pathol Oncol Res, 23: 699-706. (IF: 1,736)

11. Péterfia B, Kalmár A, **Patai ÁV**, Bodor A, Micsik T, Wichmann B, Egedi K, Hollósi P, Kovalszky I, Tulassay Z, Molnár B. (2017) Construction of a multiplex mutation hot spot PCR panel: the first step towards colorectal cancer genotyping on the GS Junior platform. J Cancer, 8: 162-173. (IF:2,916)

12. Galamb O, Kalmár A, Barták BK, **Patai ÁV**, Leiszter K, Péterfia B, Wichmann B, Valcz G, Veres G, Tulassay Z, Molnár B. (2016) Aging related methylation influences the gene expression of key control genes in colorectal cancer and adenoma linked key control genes. World J Gastroenterol, 22: 10325-10340. (IF: 3,365)

13. Galamb O, Kalmár A, Péterfia B, Csabai I, Bodor A, Ribli D, Krenács T, **Patai ÁV**, Wichmann B, Barták BK, Tóth K, Valcz G, Spisák S, Tulassay Z, Molnár B. (2016) Aberrant DNA methylation of WNT pathway genes in the development and progression of CIMP-negative colorectal cancer. Epigenetics, 11: 588-602. (IF: 4,394)

14. Kalmár A, Péterfia B, Hollósi P, Galamb O, Spisák S, Wichmann B, Bodor A, Tóth K, **Patai ÁV**, Valcz G, Nagy ZB, Kubák V, Tulassay Z, Kovalszky I, Molnár B. (2015) DNA hypermethylation and decreased mRNA expression of MAL, PRIMA1, PTGDR and SFRP1 in colorectal adenoma and cancer. BMC Cancer, 15: 736. (IF: 3,265)

15. Kalmár A, Péterfia B, Wichmann B, **Patai ÁV**, Barták BK, Nagy ZB, Furi I, Tulassay Z, Molnár B. Comparison of automated and manual DNA isolation methods for

DNA methylation analysis of biopsy, fresh frozen, and formalin-fixed, paraffin-embedded colorectal cancer samples. J Lab Autom, 20: 642-651. (IF: 1,297)

16. Kalmár A, Péterfia B, Hollósi P, Wichmann B, Bodor A, **Patai ÁV**, Schöller A, Krenács T, Tulassay Z, Molnár B. (2015) Bisulfite-based DNA methylation analysis from recent and archived formalin-fixed, paraffin embedded colorectal tissue samples. Pathol Oncol Res, 21: 1149-1156. (IF: 1,940)

17. Leiszter K, Sipos F, Galamb O, Krenács T, Veres G, Wichmann B, Fűri I, Kalmár A, **Patai ÁV**, Tóth K, Valcz G, Molnár B, Tulassay Z. (2015) Promoter hypermethylation-related reduced somatostatin production promotes uncontrolled cell proliferation in colorectal cancer. PLoS One, 10: e0118332. (IF: 3,057)

18. Tóth K, Wasserkort R, Sipos F, Kalmár A, Wichmann B, Leiszter K, Valcz G, Juhász M, Miheller P, **Patai ÁV**, Tulassay Z, Molnár B. (2014) Detection of methylated Septin 9 in tissue and plasma of colorectal patients with neoplasia and the relationship to the amount of circulating cell-free DNA. PLoS One, 9: e115415. (IF: 3,234)

19. Sipos F, Műzes G, **Patai AV**, Fűri I, Péterfia B, Hollósi P, Molnár B, Tulassay Z. (2013) Genome-wide screening for understanding the role of DNA methylation in colorectal cancer. Epigenomics, 5: 569-581. (IF: 5,215)

20. Tóth K, Sipos F, Kalmár A, **Patai AV**, Wichmann B, Stoehr R, Golcher H, Schellerer V, Tulassay Z, Molnár

B. (2012) Detection of methylated SEPT9 in plasma is a reliable screening method for both left- and right-sided colon cancers. PLoS One, 7: e46000. (IF: 3,730)

13.1. PhD értekezés témájához szorosan nem kapcsolódó közlemények

21. Patai Á, Solymosi N, Mohácsi L, **Patai ÁV**. (2017) Indomethacin and diclofenac in the prevention of post-ERCP pancreatitis: a systematic review and meta-analysis of prospective controlled trials. Gastrointest Endosc, 85: 1144-1156.e1. (IF: 6,501)

22. Patai Á, **Patai ÁV**, Tulassay Z. (2017) Van-e kapcsolat az appendix és a colitis ulcerosa kóreredete között? Magy Belorv Arch. 2017; 70: 154-156. (IF: 0)

23. Patai Á, **Patai ÁV**. (2017) A gyomor-, bélrendszer rákbetegségeinek megelőzési stratégiái. A vastag- és végbélbélrák megelőzhető! (könyvfejezet) Vas prevenció egészségfejlesztési füzetek I., 53-62. (IF: 0)

24. Németh BC, **Patai ÁV**, Sahin-Tóth M, Hegyi P. (2016) Misfolding cationic trypsinogen variant p.L104P causes hereditary pancreatitis. Gut, 66: 1727-1728. (IF: 16,658)

25. **Patai ÁV**, Patai Á. (2016) Rectal indomethacin for the prevention of post-ERCP pancreatitis. Gastroenterology, 151: 565-566. (IF: 18,392)

26. Valcz G, Galamb O, Krenács T, Spisák S, Kalmár A, **Patai ÁV**, Wichmann B, Dede K, Tulassay Z, Molnár B. (2016) Exosomes in colorectal carcinoma formation:

ALIX under the magnifying glass. Mod Pathol, 29: 928-938. (IF: 5,728)

27. **Patai ÁV**, Molnár Cs, Csóka C, Micsik T, Hajdu-Andersson I, Farkas P, Herszényi L, Tulassay Z. (2016) Gyomorrák genetikája és molekuláris altípusainak jelentősége. Magy Belorv Arch, 69: 5-8. (IF: 0)
28. Csontos ÁA, **Patai ÁV**, Miheller P. (2015) Antiszensz oligonukleotid kezelés gyulladásos bélbetegségekben szenvedők körében. Magy Belorv Arch, 68: 351-353.
29. **Patai ÁV*** és Péter Z*, Csontos ÁA, Tulassay Z. Ritka epeúti intervenciós megoldások endoszkópos retrográd kolangio-pankreatográfia során. Magy Belorv Arch, 68: 347-350. *társelsőszerzők (IF: 0)
30. **Patai ÁV**, Csóka C, Micsik T, Miheller P, Csontos ÁA, Müllner K, Herszényi L, Tulassay Z. (2015) Melanoma malignum a vastagbélben. Magy Belorv Arch, 68: 303-306. (IF: 0)
31. Patai Á, **Patai ÁV**. (2015) Effect of acetylsalicylic acid, clopidogrel and indomethacin on bleeding after sphincterotomy: the good, the better and no-one is ugly. Endoscopy, 47: 1191 (IF: 5,634)
32. Patai Á, **Patai ÁV**, Solymosi N, Tulassay Z, Herszényi L. (2015) Az endoszkópos retrográd cholangiopancreatographiát követő heveny hasnyálmirigy-gyulladás megelőzése. Orv Hetil, 156: 711-715. (IF: 0,291)
33. Takács T, Czakó L, Dubravcsik Z, Farkas G, Hegyi P, Hritz I, Kelemen D, Lásztity N, Morvay Z, Oláh A, Pap

Á, Párniczky A, **Patai Á**, Sahin-Tóth M, Szentkereszti Z, Szmola R, Tiszlavicz L, Szücs Á; Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport. (2015) Krónikus pancreatitis. A Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport bizonyítékon alapuló kezelési irányelvei. Orv Hetil, 156: 262-288. (IF: 0,291)

34. Patai Á, Solymosi N, **Patai ÁV**. (2015) Effect of rectal indomethacin for preventing post-ERCP pancreatitis depends on difficulties of cannulation: results from a randomized study with sequential biliary intubation. J Clin Gastro, 49: 429-437. (IF: 3,163)

35. Patai Á, Solymosi N, **Patai ÁV**. (2014) Does rectal indomethacin given for prevention of post-ERCP pancreatitis increase bleeding after biliary endoscopic sphincterotomy or cardiovascular mortality. Post hoc analysis using prospective clinical data. Medicine, 93: e159. (IF: 5,723)

36. Leiszter K, Galamb O, Sipos F, Krenács T, Veres G, Wichmann B, Kalmár A, **Patai AV**, Tóth K, Valcz G, Molnár B, Tulassay Z. (2013) Sporadic colorectal cancer development shows rejuvenescence regarding epithelial proliferation and apoptosis. PLoS One, 8: e74140. (IF: 3,534)

37. Valcz G* és **Patai AV***, Kalmár A, Sipos F, Molnár B, Tulassay Z. (2012) A horizontális génátvitel szerepe a tumorképződésben. Magy Belorv Arch, 65: 256-260. *társelsőszerzők (IF: 0)

38. Fűri I, Sipos F, Spisák S, Kalmár A, **Patai ÁV**, Molnár B, Tulassay Z. (2012) A Toll-like receptor rendszer

aktiválása nukleinsav-analógokkal gyulladásos és daganatos betegségek terápiájában. Magy Belorv Arch, 65: 249-255. (IF: 0)

39. Valcz G, Sipos F, Krenács T, Molnár J, **Patai AV**, Leiszter K, Tóth K, Wichmann B, Molnár B, Tulassay Z. (2012) Increase of α-SMA(+) and CK(+) cells as an early sign of epithelial-mesenchymal transition during colorectal carcinogenesis. Pathol Oncol Res, 18: 371-376. (IF: 1,555)

40. Valcz G, Krenács T, Sipos F, **Patai AV**, Wichmann B, Leiszter K, Tóth K, Balogh Z, Csizmadia A, Hagymási K, Masszi T, Molnár B, Tulassay Z. (2011) Lymphoid aggregates may contribute to the migration and epithelial commitment of bone marrow derived cells in colonic mucosa. J Clin Pathol, 64: 771-775. (IF: 2,306)

41. Valcz G, Sipos F, Krenács T, Molnár J, **Patai AV**, Leiszter K, Tóth K, Solymosi N, Galamb O, Molnár B, Tulassay Z. (2010) Elevated osteopontin expression and proliferative/apoptotic ratio in the colorectal adenoma-dysplasia-carcinoma sequence. Pathol Oncol Res, 16: 541-545. (IF: 1,483)

42. Leiszter K, Galamb O, Sipos F, Tóth K, Valcz G, **Patai VA**, Molnár J, Molnár B, Tulassay Z. (2010) Az öregedés mikroszkópos és molekuláris jelei a vastagbélben, valamint ezek lehetséges szerepe az időskori vastagbélrák kialakulásában. Orv Hetil, 151: 885-892. (IF: 0)