



Válogatott emlőelváltozások immunhisztokémiai jellemzése

Ph.D. Thesis

Dr. Kővári Bence Péter

Témavezető:

Prof. Dr. Cserni Gábor, D.Sc.

Patológiai Intézet

Szegedi Tudományegyetem

Szeged, Magyarország

Szeged

2016



A PhD ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA:

- I. **Kővári B**, Rusz O, Schally AV, Kahán Z, Cserni G.
Differential immunostaining of various types of breast carcinomas for growth hormone-releasing hormone receptor - Apocrine epithelium and carcinomas emerging as uniformly positive.
APMIS 2014; 122: 824-831.
IF: 2.042

- II. **Kővári B**, Szász AM, Kulka J, Marusić Z, Sarcevic B, Tizslavicz L, Cserni G.
Evaluation of p40 as a myoepithelial marker in different breast lesions.
Pathobiology 2015; 82: 166-171.
IF: 2.480

- III. **Kővári B**, Báthori Á, Cserni G.
CD10 immunohistochemical expression in apocrine lesions of the breast.
Pathobiology 2015; 82: 259-263.
IF: 2.480

1. BEVEZETÉS

1.1. A NÖVEKEDÉSI HORMONT FELSZABADÍTÓ HORMONSZEREPE A KARCINOGENEZISBEN

A növekedési hormont felszabadító hormon (GHRH) részben a neuroendokrin tengelyen keresztül közvetetten, másrészt közvetlenül autokrin és parakrin mechanizmusokkal szerepet játszhat a karcinogenezisben. Számos szövetféleség rákos megbetegedésében mutatták ki a GHRH és a GHRH receptorok (GHRH-R) jelenlétét. A GHRH és a GHRH-R kifejeződése emlőrákokban is bizonyított. Az autocrin/paracrin szabályozó mechanizmusok szerepét támasztja alá, hogy emlőráksejtek GHRH génexpressziójának kiütése csökkentette a sejtproliferációt. Az MCF-7 sejtvonal (eredendően nem expresszál GHRH-R-t) transzfekciója GHRH-R-rel fokozza a sejtproliferációt GHRH hozzáadása után, valamint exogén GHRH hozzáadása nélkül is. Továbbá a GHRH antagonisták a daganatsejtek adhéziós, migrációs és túlélési képességeit befolyásolva *in vitro* csökkentették tumor sejtvonalak invazivitási és metasztatikus potenciálját. Egybehangzó irodalmi adatok alapján a GHRH antagonisták számos *in vitro* és állatkísérletes emlőrákos modellben csökkentették a tumorsejtek növekedését, így felmerül, hogy ezen antagonisták hatékonyak lehetnek az emlőrákok célzott kezelésében.

1.2. A p53 TUMORSZUPRESSZOR GÉNC SALÁD

A tumor protein 40 (p40) egyike annak a számos fontos transzkripciós faktornak, amelyet a p53 tumorszupresszor géncsalád kódol. A tumor protein 63 (p63) a géncsalád másik tagja. Kifejeződését napjaink diagnosztikus patológiai gyakorlatában elsősorban a laphám-, myoepithelialis (MEC), prosztata bazális és urothel sejtek markereként használják. A p40 új, nemrég bevezetett immunhisztokémiai (IHC) marker, amely a p63-hoz viszonyítva előnyösebbnek bizonyult a nem kissejtes tüdőrákok differenciáldiagnosztikájában a laphámsejtes differenciáció igazolásában. A bazális differenciációt mutató emlőrákokban bizonyos myoepithelialis markerek (pl. a cytokeratin 5, CK5) is kifejeződhetnek. A CK5-höz képest a p63 ritkán expresszálódik a bazális emlőrákokban (BLBC), és csak kevés adat áll rendelkezésre a p40 kifejeződéséről ilyen tumoroknál.

1.3. A CD10 KIFEJEZŐDÉSE EMLŐSZÖVETEKBE

A CD10 ellenes IHC reakciót az emlő diagnosztikus hisztopatológiájában jelenleg a MEC-ek azonosítására használják. Bár az épductusok és lobulusok körül elhelyezkedő MEC-ek szépen jelölődnek ezzel a markerrel, kóros elváltozásokban, például ductalis in situ carcinomában (DCIS) a CD10 reakcióérzékenysége viszonylag alacsony. A reakcióspecifitását csökkenti, hogy a tumorsejtek ritkán szintén megfestődhetnek az antitesttel, bár a CD10 kifejeződését neoplasztikus emlő epithéliumban nem vizsgálták széleskörűen. Apokrin hámban már leírták CD10 pozitívítást, valamint Kalof és mtsai. egyértelműen dokumentálták az apokrin metapláziák konzisztens luminalis festődését, azonban korábbi tanulmányokban még nem vizsgálták a neoplasztikus apokrin léziók CD10 expresszióját.

2. CÉLKITŰZÉS

Azértekezés céljai az alábbiak voltak:

Emlőrák minták GHRH-R expressziójának vizsgálata és e receptorok jelenlétének az emlőrákokbizonyos morfológiai vagy biológiai altípusaival mutatott összefüggésének értékelése.

Az emlőtumorokkörüli benignus apokrin hám pozitív immunfestődése miatta GHRH-R expressziót értékelő vizsgáltukat kiterjesztettükapokrin emlőrákora is.

Az GHRH-R expresszió változásának és esetleges kiesésénekvizsgálata a primer tumoroknyirokcsomó-metasztázisaiban.

A p40 és p63 expresszió összehasonlítása ép emlőszövet MEC komponensében és olyan emlőelváltozásokban, amelyekben ismerten csökken vagy kiesik egyes MEC markerek festődése. A p40 és p63 reakciókMEC markerkénti felhasználhatóságának összehasonlítása a rutin patológiai diagnosztikai gyakorlatban.

A p63 és p40 expresszió összehasonlító értékelése a helyettesítő ICH módszer alapján BLBC-nek megfeleltethető CK5 pozitív tripla-negatív emlőrákokban (TNBC).

A CD10 expresszió vizsgálata apokrin differenciációt mutató emlőelváltozásokepithelialis és myoepithelialis komponenseiben, valamint az epithelialis immunfestődés elemzése benignus, in situ és inazív malignus apokrin emlőlélziókban.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A GHRH-R, p40 és CD10 expressziós tanulmányokat retrospektíven IHC vizsgálattal végeztük. A Bács-Kiskun Megyei Oktató Kórház, a Szegedi Tudományegyetem, a Torinói Egyetem és a Budapesti Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézetének anyagából emlémegetartó és teljes mastectomiás beavatkozások preparátumaiból származó formalinban rögzített és paraffinba ágyazott szövetmintákat használtunk. Szöveti microarray (TMA) technikával több emlőrákos eset mintájából kompozit szövetblokkokat is készítettünk. Az egyes vizsgálatokban használt elsődleges antitestek a következők voltak: GHRH-R: poliklonális (ab 76263); Abcam (Cambridge, UK), hígítás: 1:250; p40: monoklonális (klón: BC28); BioCare (Concord, USA), hígítás: 1:200; CD10: monoklonális (klón: 56C6); Cell Marque (Rocklin, USA), hígítás: 1:50.

3.1. GHRH-R EXPRESSZIÓ EMLŐRÁKOK KÜLÖNBÖZŐ TÍPUSAIBAN

Különböző szövettani, molekuláris és klinikopatológiai típusú emlőrákos eseteket vizsgáltunk. A tumorheterogenitás hatásának mérséklésére kis, elsősorban ≤ 2 cm-es emlőrákokat értékeltünk. A szövettani típusok vonatkozásában az Egészségügyi Világszervezet (WHO) emlőtumor osztályozása alapján definiált invazív tubuláris, invazív ductalis / nem speciális típusú (NST) és invazív lobularis carcinomákat (ILC) vizsgáltunk. A stádium-besorolás a Nottingham séma szerint történt. A molekuláris típust helyettesítő IHC vizsgálattal határoztuk meg a 2011-es St. Gallen-ikonszenzus találkozó ajánlásait követve. Egyes szerzők szerinti kedvezőtlen kimenetele miatt amammográfias felvételen öntvényyszerű mikrokalcifikációt tartalmazó eseteket is bevontunk a vizsgálatba. A tumorok értékelésekor következetesen erős GHRH-R festődést láttunk a peritumorális apokrin metapláziás góciókban. E nem várt jelenséget tovább vizsgálva 31 apokrin differenciációt mutató emlőrák GHRH-R expresszióját értékeltük. Az apokrin differenciációt hisztomorfológiai és IHC kritériumok [ösztrógen receptor (ER) és progesteron receptor (PR) negatív, androgén receptor (AR) és GCDFP-15 (gross cystic disease fluid protein-15) pozitív] alapján határoztuk meg. A GHRH-R pozitív primer tumorok nyirokcsomó-metasztázisait is vizsgáltuk TMA technikával. A pozitivitást a daganatsejtek festődési aránya szerint, egy alacsonyabb, 10%-os és magasabb, 50%-os határértéket alkalmazva is értékeltük.

3.2. p40EXPRESSZIÓ BAZÁLIS TÍPUSÚ EMLŐRÁKOKBAN ÉS A p40 MINT MYOEPITHELIALIS MARKER EMLŐELVÁLTOZÁSOKBAN

Olyan különböző szövettani típusú emlőléziókat, ideértve jóindulatú szklerotizáló elváltozásokat, DCIS-t és adenomyoepithialis elváltozásokat (AME) vizsgáltunk, amelyek esetén igazolták az MEC fenotípus időnkénti megváltozását. Ahol jelen volt, ott az elváltozások melletti ép emlőszövetben is értékeltük a MEC festődését. A Nielsen és mtsai szerinti helyettesítő IHC besorolással a BLBC-k egy csoportjának megfeleltethető CK5 expresszáló TNBC esetekből TMA blokkot készítettünk.

3.3. CD10 EXPRESSZIÓ APOKRIN EMLŐELVÁLTOZÁSOKBAN

50 véletlenszerűen kiválasztott jóindulatú, in situ és invazív apokrin emlőelváltozást, összességében 44 teljes szövetmetszeten és egy TMA kompozit blokkon vizsgáltunk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. GHRH-R EXPRESSZIÓ EMLŐRÁKOK KÜLÖNBÖZŐ TÍPUSAIBAN

GHRH-R pozitivitást 10%-os határértéket alkalmazva az esetek 54%-ában (54/100), 50%-os határértékkel 28%-ában (28/100) észleltünk. ILC-ben szignifikánsan gyakrabban tapasztaltunk GHRH-R pozitivitást (10%-os határérték: $p = 0,03$; 50%-os határérték: $p = 0,0003$), mint ductalis/NST carcinomákban. Érdekes módon GHRH-R pozitívitas legnagyobb arányban a grade 2-es tumorok között fordult elő. Különböző grádusú tumorokat vizsgálva, a GHRH-R expresszió statisztikai értékelése nem adott szignifikáns eredményt ($p = 0,0527$) 10%-os határértékkel, de 50%-os határértéket alkalmazva szignifikáns összefüggést találtunk ($p = 0,001$). A GHRH-R expresszió és a proliferáció kapcsolatának értékelésére egyrészt a mitotikus pontszámot használtuk, de így nem kaptunk szignifikáns összefüggést. Másrészt a Ki-67 festődési indexet (LI) véve alapul, 50%-os határértékesetén szignifikáns kapcsolat igazolódott ($p = 0,0455$). Nem volt statisztikailag szignifikáns kapcsolat a nyirokcsomó státusz és a GHRH-R festődés között. Az IHC osztályozás alapján

meghatározott molekuláris altípusok közül (10%-os határérték: $p = 0,009$; 50%-os határérték: $p = 0,00001$) a luminalis B-szerű tumorok bizonyultak a legnagyobb arányban pozitívnak. ATNBC-k majdnem harmadában (8/26, 31%) láttunk GHRH-R pozitívítást a tumorsejtek 10-50%-ában (átlagosan: 25%), de a tripla-negatív apokrin karcinómákat kivéve, egy esetben sem észleltünk 50%-nál kiterjedtebb festődést. Speciális klinikai entitásként 12, a mammográfiás felvételen öntvényyszerű mikrokalcifikációt tartalmazó NST karcinómát is vizsgáltunk. Bár utóbbi csoportban nagyobb arányban fordult elő GHRH-R pozitívítás az öntvényyszerű meszesedést nem tartalmazó NST tumorokhoz viszonyítva, a statisztikai elemzés nem igazolt szignifikáns kapcsolatot. Az apokrin differenciációt mutató emlőrákok jelentős többségét (10%-os határérték: 97%, 50%-os határérték: 90%) erős GHRH-R pozitívítási jellemzi. Csupán 20 GHRH-R-t expresszáló elsődleges emlőtumor esetében állt rendelkezésre vizsgálható nyirokcsomó-metasztázis. Kizárólag egy esetben kaptunk teljesen negatív eredményt, 70%-ban (14/20) a tumorsejtek több mint 10%-ában, és 30%-ban (6/20) a tumorsejtek több mint 50%-ában láttunk pozitívítást.

4.2. p40 EXPRESSZIÓ BAZÁLIS TÍPUSÚ EMLŐRÁKOKBAN ÉS A p40 MINT MYOEPITHELIALIS MARKER EMLŐELVÁLTOZÁSOKBAN

Tizenkilenc CK5 expresszáló TNBC-t és harminchat gyakran megváltozott fenotípusú MEC komponens-tartalmazó emlőelváltozást (10 AME, 13 előrehaladott DCIS csökkent MEC réteggel és 11 szklerotizáló elváltozás) vizsgáltunk, és amennyiben jelen volt, az ép emlőszövetet is értékeltük. Minden esetben (31/31) diffúz, erős nukleáris p40 pozitívítást észleltünk az ép terminális ductulolobularis egységekben (TDLU). A p40 és a p63 festődési mintázataiban nem volt különbség az ép emlőszövetben. Minden AME nukleáris p40 pozitívítást mutatott a MEC komponensekben, az eloszlás gyenge fokális (5/10) és erős diffúz (5/10) értékek között változott, a p40 és p63 reaktivitás között nem mutatkozott észlelhető különbség. A környező ép TDLU-hoz viszonyítva, DCIS-ben az atrophias MEC-ek gyengébben festődtek, 1-1 egyértelműen MEC morfológiájú negatív sejtet is láttunk, továbbá elvétele a DCIS-sel kitöltött ductusok körül egyáltalán nem láttunk pozitívítást. A p40 és p63 kifejeződése in situ tumorokban egyező. Mind a 11 szklerotizáló lézióban a MEC-ek mindkét reakcióval egyformán, változó intenzitású pozitívítást mutattak, amely gyengébb volt, mint a kontrollként használt endogén ép TDLU-k festődése. Több esetben, gócosan negatív MEC-ek is előfordultak.

A 19 CK5-expresszáló TNBC közül 8 esetben fordult elő 1-2 sejttől a tumorsejtek 70%-áig terjedő, változó mértékű p63 pozitivitás. Ezzel szemben az esetek többségében (18/19), a sejtek 1%-70%-ában fordult elő p40 pozitivitás, amelynek intenzitása a p63-éhoz hasonló vagy annál enyhén erősebb volt. Mindét reakcióval a festődés általában igen fókális és intenzitásában gyenge volt, így esetenként felfedezése aprólékos keresgélést igényelt.

4.3. CD10 EXPRESSZIÓ APOKRIN EMLŐELVÁLTOZÁSOKBAN

Ötven apokrin elváltozást vizsgáltunk: 10 cisztát (papilláris hiperpláziával vagy anélkül), 1 cisztát MEC réteg nélkül, 6 apokrin adenóvizist, 2 papillómát, 13 DCIS-t, 14 invazív ductalis/NST carcinomát és 4 ILC-t. 17/19 [0,89; 95% CI 0,68–0,97] jóindulatú apokrin elváltozás teljes vagy részleges luminalis CD10 festődést mutatott, bár a legtöbb esetben előfordultak nem festődő góccok, és 2 elváltozás teljesen negatív volt. A MEC-ek jóindulatú elváltozások esetén gyakran, de nem mindig pozitívak.

A rosszindulatú elváltozásoknál 8/13 apokrin DCIS-ben volt luminalis festődés, de 4 (0,31; 95% CI 0,13–0,58) esetben gócos luminalis pozitivitás látható volt. A MEC festődése DCIS körül a negatívtól az intenzív, diffúz pozitívig változott. Csak 4/18 (0,22; 95% CI 0,09–0,46) invazív carcinomában láttunk membránfestődést. Citoplazmatikus CD10 pozitivitást gócosan 4 invazív carcinomában és 3 DCIS-ben láttunk, illetve diffúzan 1 invazív NST carcinomában fordult elő. Két „aberráns” citoplazmatikus festődést mutató invazív és 1 in situ carcinomában nem láttunk membránfestődést. A jóindulatú elváltozásokban gyakrabban fordult elő membránfestődés (17/19 vs. 8/31; $p < 0,0001$), és bárminemű festődés, beleértve az aberráns citoplazmatikus festődést is (17/19 vs. 11/31; $p = 0,0006$), mint a malignus eltérésekben.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. GHRH-R EXPRESSZIÓ EMLŐRÁKOK KÜLÖNBÖZŐ TÍPUSAIBAN

A GHRH hormonális hatását a rákos megbetegedésekben elsősorban autokrin/parakrin úton fejti ki. A GHRH antagonistákat számos malignus betegségben,

köztük emlőrákban istanulmányozták lehetséges célzott terápiás készítményként. A GHRH-R expressziót az emlőrák különböző altípusaiban még nem vizsgálták széleskörűen. Mivel a GHRH-R jelenléte kritériuma lehet a célzott GHRH antagonistáknak, úgy gondoltuk, hogy hasznos lehet egy olyan vizsgálat, amely meghatározza az emlőtumzorok azon alcsoportjait, amelyeken nagyobb gyakorisággal fejeződik ki a receptor.

Az emlőrákok különböző szövettani típusait vizsgálva, a GHRH-R pozitivitás szignifikánsan gyakoribb ILC-ben, mint ductalis/NST carcinomákban.

A differenciáció mértéke, 50%-os határértéket alkalmazva szignifikáns asszociációt mutatott a GHRH-R státusszal, és a Grade 2 daganatoknál többször láttunk GHRH-R pozitivitást, mint az 1-es vagy 3-as grádusú tumorokban. Az utóbbi eredmények nem egyértelműek, különösen a molekuláris vizsgálatok eredményeit figyelembe véve. A génexpressziós profil alapján meghatározott alacsony és magas genomikus grádusokból fedik a szövettani Grade 1-es és Grade 3-as kategóriákat, a 2-es szövettani grádusú emlőtumorok azonban besorolhatóak az alacsony vagy magas genomikai grádusok valamelyikébe. Eredményeink arra utalnak, hogy a GHRH-R pozitivitás bármely grádusú emlőrák esetén előfordulhat. A carcinomák differenciációjával kapcsolatos eredményekkel összhangban, a GHRH-R pozitivitás és a tumorok proliferációs aktivitása közti összefüggés isnehezen értelmezhető. Bár nem volt szignifikáns kapcsolat a GHRH-R expresszió és a mitotikus pontszámok között, szignifikáns összefüggés igazolható, ha a proliferációs aktivitást Ki-67 LI-vel határozzuk meg. A tumor grádus és GHRH-státusz közti, csak 50%-os határértékkel igazolható szignifikáns összefüggés, illetve a mitotikus pontszám és a Ki-67 LI statisztikai elemzése közti különbség alapján felvethető, hogy a bizonytalan eredmények a hagyományos szövettani grádusbesorolás hiányosságaiból eredtek, és talán erősebb összefüggést lehetne kimutatni genomikai grádusbesorolás alkalmazásával.

Rossz kimenetelűkre utaló tapasztalatink miatt a mammográfiás felvételen öntvényeszerű mikrokalcifikációt tartalmazó 12 ductalis/NST carcinoma GHRH-R expresszióját külön vizsgáltuk. Az 50%-os határértékkel az esetek 33%-ában láttunk GHRH-R pozitivitást, ami a ductalis/NST carcinomákban mért 14%-os pozitivitási arányhoz képest több mint kétszeres; azonban ez a különbség nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak.

GHRH-R pozitivitás az emlőrákok minden molekuláris altípusában előfordul,

beleértve az ER-pozitív és ER-negatív eseteket is. A luminalis B-szerűtumorok többségében erős és diffúz GHRH-R kifejeződés látható, de mivel a luminalis B-szerűtumorok heterogének, ezen eredmény jelentősége bizonytalan. Bár a nem apokrin TNBC-k csak az esetek kisebb részében (8/26, 10%-os határérték) és a tumorsejtek viszonylag alacsony százalékában (5-30%, átlag: 15%) pozitívak GHRH-R reakcióval, e carcinomák rossz prognózisa és a csak korlátozottan rendelkezésre álló terápiás lehetőségek az eredmény fontosságát hangsúlyozzák. További vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy a kiterjedtebb GHRH-R expresszió hiánya a TNBC-kben korlátozza-e a GHRH antagonistákkal történő kezelés esetleges alkalmazhatóságát. Optimizmusra ad azonban okot, hogy célzott GHRH gátló kezelés hatásosnak bizonyult humán TNBC xenograftal transzplantált egereknél.

Nem volt összefüggés az emlőrákok GHRH-R expressziója és a nyirokcsomóstátusz között.

Metasztatikus emlőrákok szempontjából GHRH-R expresszáló elsődleges tumorok hónalji nyirokcsomóáttéteit értékeltük. Bár az elsődleges tumorhoz képest az áttétekben változó mértékben csökkent GHRH-R festődést láttunk, csupán egy esetben fordult elő a GHRH-R expresszió teljes eltűnése. Ez fontos megfigyelés, ha figyelembe vesszük, hogy egy jövőbeli célzott terápiás módszer még ígéretesebb, ha előrehaladott daganatos folyamatokban is hatásos lehet.

Az apokrin metapláziát mutató cisztákban észlelt egységes GHRH-R expresszió miatt 31 apokrin carcinomát is bevontunk a vizsgálatba, melyekben 10%-os határérték alkalmazásával 97%-ban, 50%-os határérték mellett 90%-ban igazolódott erős pozitívítás. Az IHC-vel meghatározott molekuláris altípusok szempontjából az apokrin carcinomák közel felében a humán epidermális növekedési faktor receptor 2 (HER2) overexpressziója észlelhető, míg több mint felük TNBC. Újabb vizsgálatokkal leírtak egy fokozott androgén jelátvitellel rendelkező TNBC altípust is, amelyet szokás molekuláris apokrin típusnak is nevezni. Az androgén jelátviteli út adta célzott kezelési lehetőség kérdésében jelenleg fázis 1-es és 2-es vizsgálatok folynak, további vizsgálatok szükségesek azonban annak eldöntésére, hogy a látott GHRH-R pozitívítás alapján lehetőség lesz-e célzott kezelésre GHRH antagonistákkal adásával is.

5.2. p40 EXPRESSZIÓ BAZÁLIS TÍPUSÚ EMLŐRÁKOKBAN ÉS A p40 MINT MYOEPITHELIALIS MARKER EMLŐELVÁLTOZÁSOKBAN

A külső MEC réteg azonosítása értékes információ az emlőelváltozások differenciáldiagnosztikájában. Számoskülönböző tulajdonságokkal jellemezhető MEC markerismert (pl. simaizom aktin (SMA), simaizom miozin nehézlánc (SMMHC), calponin, S100, CK5/6, S100, p63 és CD10). Magas szenzitivitása és specificitása miatt sokan a nuclearis festődésű p63-at preferálják a kötőszöveti sejteket is gyakran jelölő cipolazmatikus markerekkel (SMA, calponin és SMMHC)szemben. Bizonyos markerek csökkent expressziója (CD10, CK5/6 és SMMHC) DCIS, AME és komplex szklerotizáló elváltozások MEC komponensében jól dokumentált jelenség. Evizsgálat fent felsorolt megváltozott fenotípusúMEC-eket tartalmazó elváltozások p40 expresszióját értékelte. Eredményeink azt mutatják, hogy a p63 és a p40 reakciók ilyen esetekben hasonlóan működnek. Azép emlőszövetben a MEC-ekjől kirajzolódnakmindkét antitesttel, és ha patológias állapotban az egyik expressziója csökkent, a másikonál is az expresszió hasonló csökkenése látható; akifeződés gócos kiesése is párhuzamosan fordult elő.Bár ismert, hogy a p40 specificitása magasabb a p63-éhozképest a nem kissejtes tüdőrákok differenciáldiagnosztikájában a laphámrák markereként, úgy tűnik, hogy emlőelváltozások esetén - azokban is ahol ismert, hogy a MEC markerek expressziója csökkent lehet - a két marker egyformán viselkedik. Egy nagy esetszámú emlőelváltozásokat TMA-val értékelő vizsgálat szintén hasonló eredményre jutott. Ezek alapján úgy tűnik, hogya rutin patológiai diagnosztikában mindkét antitest egyformán alkalmazható a MEC-ek kimutatására.

Az emlőrákok molekuláris alcsoportjának meghatározása értékes információt ad, és segíthet a prognózis, valamint a terápia meghatározásában. Mivel a molekuláris alcsoport meghatározására a génexpressziós vizsgálata rutin diagnosztikában még nem érhető el, széles körben helyettesítő IHC módszert használnak. IHC alkalmazásával a BLBC úgy határozható meg, mint egy ER, PR és HER2 negatív tumor, amely a bazális/myoepithelialis sejtekre jellemző fehérjéket expresszál. Bár a leggyakrabban használt bazális markerek ebben a vonatkozásban a CK5 és az EGFR, egyéb markerek, pl. a p53 tumorszupresszor géncsaládból a p53 és a p63 expresszió is alkalmazható a bazális fenotípus markereként. A p53 ellenes antitest specificitása 80-85%, szenzitivitása 50-60%, míg a p63 reakció specificitása nagyon magas (94%), deszenzitivitása alacsony (14%). A p40 antitestnemrég került kereskedelmi

forgalomba, és korábban nem vizsgálták BLBC-ben. CK5-expresszálo TNBC-kben gyakrabban észleltünk p40, mint p63 expressziót. Az, hogy ez a jelenség kizárólag vagy elsősorban CK5 expresszálo BLBC-ben fordul-e elő, egy folyamatban lévő vizsgálatunk témája.

Ha a p40 reakciót MEC markerként használjuk lehetséges tumorsejt pozitivitás odafigyelést igényel, de az eltérő hisztomorphológiájuk miatt nem befolyásolja a MEC festődés értékelését.

5.3. CD10 EXPRESSZIÓ APOKRIN EMLŐELVÁLTOZÁSOKBAN

Az a tény, hogy a CD10 számos normális sejttípusban és kóros elváltozásbankifejeződik csökkenti aCD10 ellenes IHC reakció specificitását és rutinszerű alkalmazhatóságát a kórszövettani differenciáldiagnosztikában, így az kizárólag specifikus differenciáldiagnosztikai kérdések eldöntésére alkalmas.

Bár az emlőhamban ritkán fejeződik ki a CD10, ismeretlen eredetű metasztatikus tumorban észlelt CD10 pozitivitás alapjánem zárható ki, hogy az elsődleges tumor az emlőben található. NST carcinomákban és ILC-kben ritka a CD10 pozitivitás, de néhány alcsoport kivételt képezhet. Egy vizsgálatban 40 ER-pozitív tumorból egy esetben sem láttak CD10 pozitivitást, míg 77 ER-negatív carcinomából 12 esetben citoplazma- vagy membránfestődés igazolódott. Az apokrin carcinomák általában ER- és PR-negatívak. A TNBC-k egy része IHC-vel bazális/ MEC markert expresszálo, és ez a tulajdonság felhasználható az emlőrákok BLBC alcsoportjának elkülönítésére. Mivel a CD10 MEC marker is, nem meglepő, hogy e carcinomák közöttesenként szintén látható CD10 pozitivitás.

CD10 pozitivitást már leírtak jóindulatú apokrin hamban, de ezidáig nem volt adat apokrin emlőelváltozások különböző típusainak CD10 expressziójáról. Eredményeink arra utalnak, hogy a jóindulatú apokrin hámjellemezően, de nem mindig CD10 pozitív, a festődési mintázat többnyire luminalis. Apokrin differenciációt mutató malignus elváltozásokban ez a festődési mintázat a malignizálódás folyamata során részlegesen vagy teljesen elveszik, ami tehát ritkain situ, és még ritkább invazív tumorokban. Apokrin léziókban aberráns citoplazmafestődés is előfordulhat.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Munkánk alapján aGHRH-R kifejeződése emlőrákokbanem köthető jól megnevezhető szövettani típusokhoz, a differenciálódás grádusához vagy molekuláris altípusokhoz. Az ILC-kgyakrabban expresszálják ezt a markert, mint a ductalis/NST carcinomák. Az öntvénszerű mikrokalcifikációt tartalmazó ductalis/NST carcinomákviszonylag nagyarányúpozitivitásának jelentősége bizonytalan. Bár TNBC-kben a GHRH-R pozitivitás az esetek kevesebb mint harmadában, és a tumorsejtek kisszázalékában fordul elő, valamint a tumorsejtek több mint felére kiterjedő pozitivás egy esetben sem észlelhető, e betegség rossz kimenetele és a terápiás lehetőségek korlátozottsága rávilágítanak ezen eredmény fontosságára. Ezzelátamasztja, hogy GHRH antagonistákhatékonynak bizonyultak humán TNBC xenograftal transzplantált egerekben. A vizsgálat legjelentősebb eredménye azapokrin carcinomákdiffúz és erős GHRH-R festődése. További vizsgálatok szükségesek annak igazolására, hogy a GHRH antagonisták alkalmasak-e az emlőrák célzott kezelésére.

A p40 protein MEC markerként a p63-hoz hasonlóan működikaz épemlőszövetben és a gyakran megváltozott MEC immunfenotípusú kóros léziókban is. A tumorsejt pozitivitás, amit IHC festődési profil alapján BLBC típusú NST carcinomákbanláttunk, eltérő cytomorphológiájuk miatt nem befolyásolta a MEC pozitivitás értékelését, de odafigyelést igényel. Jellemzően fokális pozitivitása miatt a p40 nem ideális BLBC marker. További vizsgálatok szükségesek a p40 expressziójáról az egyéb molekuláris altípusú tumorokban.

A CD10 a jóindulatú apokrin elváltozások nagy részében, azonbanem egységesen, luminalisfestődést mutat, amely időnként gócos. Apokrin DCIS-ben hasonló festődés ritka, és még ritkább invazív apokrin carcinomákban, de atípusos citoplazmatikus pozitivitás is előfordulhat. A CD10 nem ideális MEC marker apokrin eltérésekben. A CD10 reakciót MEC markerként vagy ismeretlen kinidulású áttéticarcinomákban használva fontos tudni, hogy az emlő benignus és malignus apokrin elváltozásai is kifejezhetnek CD10-et. Az a tény, hogy a CD10 nagyszámú normális sejttípusban és kóros elváltozásban, így köztük az emlő apokrin lézióiban is kifejeződik, csökkenti a CD10 ellenes IHC reakció specificitását és rutinszerű alkalmazhatóságát a kórszövettani diagnosztikában, így kizárólag specifikus differenciáldiagnosztikai kérdések eldöntésére alkalmas.

7. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki elsősorban témavezetőmnek, **Prof. Dr. Cserni Gábornak**, aki szakmai és személyes támogatásával mindvégig segítette tudományos munkámat.

Köszönöm **Prof. Dr. Iványi Bélának** a Szegedi Tudományegyetem Pathologiai Intézet vezetőjének, hogy több mint kiváló környezetet és lehetőséget biztosított számomra a tudományos munkámhoz, amiben mindvégig támogatott.

Hálával tartozom **Prof. Dr. Kahán Zsuzsannának** és **Prof. Dr. Andrew V. Schallynek**, akiknek köszönhetően a GHRH-R témájával foglalkozni kezdtem.

Köszönet illeti **Dr. Hamar Sándort**, **Dr. Kaizer Lászlót**, és **Dr. Vörös Andrást**, akik bevezettek a diagnosztikus emlőpatológia világába.

Köszönettel tartozom a szegedi emlő munkacsoport tagjainak: **Prof. Dr. Kahán Zsuzsanna**, **Prof. Dr. Lázár György**, **Prof. Dr. Cserni Gábor**, **Dr. Paszt Attila**, **Dr. Simonka Zsolt**, **Dr. Ormándi Katalin**, **Dr. Hoffmann Csilla**, **Dr. Lázár Máté**, **Dr. Valicsek Erzsébet**, **Dr. Nikolényi Aliz**, **Dr. Kelemen Gyöngyi**, **Dr. Dobi Ágnes**, **Dr. Együd Zsófia**, **Dr. Rusz Orsolya**, **Dr. Báthori Ágnes**, **Dr. Zombori Tamás**.

Hálával tartozom a Pathologiai Intézet asszisztenseinek (kiemelten az immunhisztokémiai festéseket készítő **Balogh Beátának** és **Daru Krisztiánnak**), továbbá **Dezső Mihály** fotósnak magas színvonalú munkájukért, amely nélkül jelen munka nem készülhetett volna el.

Nem utolsó sorban köszönöm családomnak és barátaimnak kitartó türelmüket és támogatásukat.

A tudományos munkát támogatta: **TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0035**
és SZTEKEP 2013, 2014 és 2015.