



A neoadjuváns kemoterápia hatásai az emlőrák grade-jére és proliferációjára

Ph. D. Tézis

Dr. Ferenczi Ádám

Témavezető:

Prof. Dr. Cserni Gábor, Ph.D., D.Sc.

Szegedi Tudományegyetem

Pathológiai Intézet

Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Szeged, 2026

A PH.D. TÉZIS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

I. **Ádám Ferenczi**, Gábor Cserni. Changes in breast cancer grade from biopsy to excision following surgery or primary chemotherapy. *Pathologica* 2024; 116:22-31, doi: 10.32074/1591-951x-958

IF (2024): 2,9 (Scimagojr: Q1)

II. Tamás Zombori, **Ádám Ferenczi**, Anita Sejben, Szintia Almási, Veronika Szelestei, Renáta Koszó, Tamás Lantos, Zsuzsanna Kahán, Gábor Cserni. The prognostic value of histological grade determined after neoadjuvant chemotherapy of breast cancer. *Pathol Res Pract* 2025; 265:155732, doi: 10.1016/j.prp.2024.155732

IF (2024/2025): 3,2 (Scimagojr: Q2)

III. **Ádám Ferenczi**, Tamás Lantos, Gábor Cserni. Temporality of change in Ki67 labelling following neoadjuvant systemic chemotherapy of breast cancer – The common drop often subsides with time. *Virchows Arch* 2025; Nov 13, doi: 10.1007/s00428-025-04263-7

IF (2024/2025): 3,1 (Scimagojr: Q1)

1. BEVEZETÉS

Az emlőrák mind a prevalenciája, mind a mortalitása alapján népegészségügyi fontossággal bíró betegség. A neoplasztikus betegségek kezelése egyre inkább eltolódik a személyre szabott terápiák felé. Ehhez számos paramétert kell értékelni, beleértve a prognosztikai tényezőket (a kimenetelre bizonyítottan hatást gyakorló változókat) és a prediktív markereket (egy adott kezelés hatékonyságát előre jelző változókat). A patológiai lelet ezek közül számos paramétert tartalmaz, lehetővé téve a legmegfelelőbb kezelési terv kiválasztását. Sok más tényező mellett az emlőrák patológiai leletének tartalmaznia kell a nottinghami osztályozási rendszer szerinti szövettani grade-et (G).

A szövettani grade a tumor differenciációját és biológiai viselkedését tükrözi, és emlőrák esetében a tubulusképzés (T), a magpleiomorfizmus (P) és a látótérhez igazított mitotikus ráta (M) alpontszámainak összegzésével határozzák meg, amelyek

mindegyike háromfokozatú skálán kerül értékelésre. Ezen alpontszámok összege alapján a tumor lehet jól (grade 1, 3-5 pont), közepesen (grade 2, 6-7 pont) vagy rosszul differenciált (grade 3, 8-9 pont). A grade meghatározása szubjektív tényezőket tartalmaz, és befolyásolhatja az értékelő tapasztalata, ezért reprodukálhatósága közepesnek tekinthető; mindazonáltal prognosztikai jelentősége a modern molekuláris vizsgálatok és génexpressziós profilok korában is megállja helyét.

Az emlőrák kezelése magába foglalja a lokoregionális módszereket, mint a műtét és a sugárterápia, valamint a távol és egyben lokálisan és regionálisan is ható szisztémás lehetőségeket, mint az endokrin terápia, a kemoterápia, a célzott kezelések és az immunterápiák.

A molekuláris diagnosztika korszakában az emlőrák kifejezetten heterogén kórképpé vált. A fő, génexpresszió alapuló molekuláris altípusok a luminális A, luminális B, bazális-szerű és HER2-enriched csoportok. A mindennapi klinikai gyakorlatban a genomikai vizsgálatok használata kevésbé elterjedt, így helyettesítő molekuláris altípusok kerültek leírásra, melyek a luminális A-szerű, tripla negatív (TN), HER2-pozitív és luminális B-szerű csoportok, amelyek közül az utóbbi meglehetősen heterogén és nem jól definiált.

A nem metasztatikus emlőrák kezelésében szisztémás kemoterápia a műtét előtt és/vagy után is alkalmazható, így neoadjuváns, illetve adjuváns kemoterápiaként definiálhatjuk. Számos irányelv szerint a szövettani grade-et mind a műtét előtti hengerbiopsziás (CNB) mintákból, mind a műtéti preparátumból (EXC), továbbá neoadjuváns kemoterápia (NACT) után is meg kell határozni, ugyanakkor ez utóbbi esetben prognosztikai értéke kevésbé bizonyított. A NACT egyre szélesebb körben alkalmazott, mivel képes a lokálisan előrehaladott daganatok stádiumát csökkenteni, így lehetővé téve az emlőmegtartó műtétet, és egyben a daganat kezelésre adott válaszána monitorozására is szolgál, valamint a mikrometasztázisok, vagy akár nagyobb áttétes depozitumok kezelésére is alkalmas a magas kockázatú korai vagy lokálisan előrehaladott emlőrákok esetében.

A tumor kezelésre adott válaszána leírása NACT-t követően szintén kötelező tartalmi eleme a patológiai leletnek több ajánlás alapján. E célból a legfrissebb magyar irányelvek szerint a leletben a Residual Cancer Burden (RCB) és a European Working Group for Breast Screening Pathology (EWGBSP) tumour response (TR) és nodal response (NR) kategóriáit kell használni. Az RCB-rendszer figyelembe veszi a primer invazív tumorágy területét, daganatsejt cellularitását, az in situ komponens százalékos arányát, a pozitív nyirokcsomók számát és a legnagyobb metasztázis átmérőjét, ami az RCB-0, -I, -II és -III kategóriákat eredményezi. Az EWGBSP TR-rendszer 3 fő kategóriát tartalmaz, amelyek közül 2 további felosztást tartalmaz. A patológiai komplett regresszió (pCR) feltétele a tumorágy és az összes reszekált nyirokcsomó teljes feldolgozása, valamint a tumorsejtek teljes hiánya. A pCR jó prediktora a túlélésnek.

A legtöbb modern szisztémás kemoterápiás kezelés az emlőrák esetében taxánokat (pl. docetaxel vagy paclitaxel) tartalmaz, amelyeket antraciklinekkel (pl. doxorubicin vagy epirubicin), vagy platina-alapú kemoterápiás szerekekkel kombinálnak, pl. kardiális komorbiditás esetén. A kemoterápia hatása általánosságban a sejtciklus különböző komponenseinek gátlása révén kifejtett proliferáció gátlásként írható le.

A tumor proliferációja többek között Ki67 immunhisztokémiai (IHC) vizsgálattal és a festődő sejtek százalékos arányát jellemző jelölési indexszel (Ki67 labelling index [LI]) értékelhető. A Ki67 egy sejtmagi fehérje, amelyik a sejtciklus G1, S, G2 és M fázisaiban expresszálódik, de a nyugalmi állapotban, G0-ban nem. A Ki67 LI független prognosztikai tényezőnek bizonyult mind a teljes túlélés (OS), mind a kiújulásmentes túlélés (RFS) tekintetében, hengebiopsziából (CNB-Ki67) és posztneoadjuváns műtéti mintákból (yKi67) értékelve egyaránt, valamint a biopszia és a műtéti minta értékei közötti változás (Δ Ki67) alapján is. Korábbi kutatások azt is bemutatták, hogy a magasabb Ki67 LI a pCR erős prediktora. A Ki67-ről és prognosztikai értékéről szóló kiterjedt szakirodalom ellenére a NACT utáni Ki67 LI változási dinamikája és időbelisége kevésbé ismert.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Az emlőrák szövettani grade-jében és a tubulusképzési, magpleiomorphismus és mitóziásszám alpontszámokban megfigyelhető változások leírása NACT után és ezen értékek összehasonlítása NACT nélkül primeren műtött esetekkel.
2. A posztneoadjuváns grade (yG) prognosztikai értékének vizsgálata emlőrákokban NACT-t követően.
3. A tumor proliferációjának vizsgálata Ki67 IHC-val NACT előtt és után, valamint dinamikájának értékelése.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A leírt tanulmányok etikai jóváhagyást kaptak a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Regionális Humán Orvosbiológiai Tudományos és Kutatásetikai Bizottságától (91/2021 SZTE-RKEB).

3.1 A NEOADJUVÁNS KEMOTERÁPIA UTÁNI SZÖVETTANI GRADE ÉS ALPONTSZÁMAI VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA

A Bács-Kiskun Vármegyei Oktatókórház digitális medikai rendszeréből kigyűjtésre kerültek a 2010 és 2022 közötti időszakban invazív emlőrákkal diagnosztizált betegek adatai. A betegeknek mind CNB, mind EXC mintákkal rendelkezniük kellett.

A Patológiai Osztályon vizsgált összes eset közül a következők kerültek kizárásra:

- multifokális daganatok, amelyeknél a gócok szövettani grade-je eltérő volt, és nem volt egyértelmű, hogy a CNB melyik gócból származott (ez a kizárás nem vonatkozott azokra az esetekre, amelyekben a több góc szövettani grade-je megegyező volt);
- a biopsziás minta károsodott volt, vagy korlátozott diagnosztikai értékkel bírt, ami a grade értékelhetőségét nem tette lehetővé (pl. a tumor mérete kevesebb volt, mint 10 nagy nagyítású látótér, ami 2 mm²-nek felel meg, vagy műtermék miatt a magpleiomorfizmus, vagy a lumenképződés értékelése bizonytalan volt);
- a CNB alapján in situ karcinóma diagnózisok;

- neoadjuváns endokrin terápiában részesülő esetek;
- patológiai teljes remissziót mutató, vagy a grade meghatározására alkalmatlan reziduális betegséget mutató esetek.

Minden bevont esetben a szövettani grade-et és annak alpontjait az eredeti leletekből nyertük ki, és az összes adatot Microsoft Excel táblázatban rögzítettük. Az eseteket az alkalmazott terápia típusa szerint csoportokba osztottuk, a NACT-kezelésben részesülő csoportot PST-nek, míg a primeren műtétiileg kezelt csoportot CHIR-nek neveztük el. A szövettani grade-et a nottinghami osztályozási rendszer szerint egy emlőpatológiában jártas patológus értékelte. Minden esetben a kezelés előtti és utáni mintából egyaránt meghatározásra került a szövettani grade (G), valamint T, P és M értékei háromosztatú skálán. Az adott változók értékei minden esetben a CNB és EXC mintákhoz lettek illesztve, így azok az adott változó első és második mérési eredményét jelentették. A CHIR és PST csoportban minden változó minden értékének eloszlását, valamint a két csoportban a konkordancia mértékét Chi-négyzet próba segítségével értékeltük mind a CNB, mind az EXC minták esetében.

A változók módosulásának értékelését nemparaméteres Wilcoxon-féle előjel próbával végeztük, mivel ez figyelembe veszi a változók negatív és pozitív változásait, és elemzi, hogy a megfigyelt változás véletlenszerű-e, vagy valamilyen tendenciát mutat. A statisztikai számításokat a Microsoft Excel Real Statistics Resource Pack kiegészítőjével végeztük. A kétoldalas, 95%-os konfidencia-intervallummal végzett teszt z-pontszáma 1,96-os érték felett minősült szignifikánsnak. A szignifikancia szintje $p < 0,05$ volt.

3.2. A POSTNEOADJUVÁNS GRADE PROGNOZTIKAI ÉRTÉKÉNEK VIZSGÁLATA

A retrospektív, konszekutív eseteket tartalmazó vizsgálatba olyan emlőrákos betegek kerültek bevonásra, akik 1999 és 2018 között a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Onkoterápiás és Sebészeti Klinikáján NACT-kezelésben, majd műtéti beavatkozásban részesültek, valamint azon betegek, akiket 2000 és 2018 között a Bács-Kiskun Megyei Oktatókórházban, Kecskeméten kezeltek.

A vizsgálat kizárási kritériumai a következők voltak: nem elegendő reziduális tumorszövet, vagy a szövet rossz rögzítése miatt meghatározhatatlan yG, valamint távoli áttétek (M1, IV. stádium) megjelenése a kezdeti diagnózistól számított 6 hónapon belül, továbbá az utánkövetési adatok hiánya a digitális rendszerben.

Az összes bevont esetben több klinikopatológiai paraméter, például a nem, életkor, szövettani diagnózis, a tumor biopsziás mintájának (BxG) szövettani grade-je, a NACT típusa, a műtét típusa, a reszekció teljessége, a biopszián alapuló ER-, PR- és HER2-státusz, a limfovaszkuláris invázió jelenléte vagy hiánya, yG-, ypT- és ypN kategóriák, valamint végül a teljes túlélés (OS) és a recidíva-mentes túlélés (RFS) ideje került kigyűjtésre és rögzítésre Microsoft Excel táblázatban. A túlélés értékeléséhez a szisztémás kezelés megkezdésétől az utolsó utánkövetésig, vagy a recidíva (RFS) / exitus (OS) időpontjáig eltelt időt használtuk; az utánkövetésből kiesett betegek esetében az utolsó utánkövetés időpontja került felhasználásra.

A szövettani grade változását ebben a betegcsoportban is kontingenciátáblákkal és Chi-négyzet próba segítségével értékeltük. A yG prognosztikai értékét Kaplan-Meier görbékkel és log-rank-próbával értékeltük, és eredményeink további megerősítésére egyváltozós Cox-arányos kockázati regressziós modellt is alkalmaztunk. Az egyváltozós modellben szignifikánsnak bizonyuló változók többváltozós modellben is vizsgálatra kerültek. A statisztikai számításokat és a grafikonok elkészítését az SPSS Statistics V 23.0 szoftverrel (Armonk, USA) végeztük.

3.3. A KI67 JELÖLÉSI INDEX VÁLTOZÁSÁNAK ÉS IDŐBELISÉGÉNEK LEÍRÁSA NEOADJUVÁNS KEZELÉST KÖVETŐEN

A Bács-Kiskun Vármegyei Oktatókórházban 2009 és 2024 közötti olyan emlőrákkal diagnosztizált betegek adatai kerültek kigyűjtésre, ahol NACT kezelés történt, és amelyeknél mind CNB, mind EXC minták rendelkezésre álltak. A beválasztás feltétele volt, hogy mindkét mintához Ki67 immunhisztokémiai (IHC) festett metszet rendelkezésre álljon, és kizárásra kerültek azon esetek, amelyeknél a festés technikailag nem volt optimális, a tumor kifaragódott, vagy a tumorok csak makroblokk formájában álltak rendelkezésre.

Minden egyes esetről rögzítettük a beteg életkorát, a tumor típusát, szövettani grade-jét, ER-, PR- és HER2-státuszát, a Ki67 IHC-eredményeket, amelyeket egy tapasztalt patológus szemrevételezéssel, a festett tumorsejtek százalékos arányának szubjektív becslésével (EB-EST) határozott meg, valamint a T, P és M pontszámokat, mitotikus indexet (MI: mitózisok száma 10 nagy nagyítású látótérben, ami 2 mm²-nek felel meg), a műtét és a műtétet megelőző utolsó NACT ciklus pontos dátumait, a NACT típusát és a kezelésre adott választ. A kezelésre adott választ RCB I, II és III kategóriák, valamint az EWGBSP TR 2a, 2b, 2c és 3 kategóriák alapján jellemeztük, ahol az RCB-I és TR2a kategóriák jó terápiás választ jelentenek (minimális reziduális betegség), míg az RCB-III és TR3 kategóriák a kezelésre adott válasz hiányát jelzik. A viszonylag szubjektív EB-EST módszer mellett a Ki67-pozitív sejtek arányát két objektívebb módszerrel is meghatároztuk.

A releváns Ki67-festett metszeteket kigyűjtöttük a Patológiai Osztály archívumából és minden egyes esetet Panoramic 250 metszetszkennelrel (3DHitech, Budapest, Magyarország) digitalizáltunk. Minden metszetről három reprezentatív képet készítettünk a SlideViewer szoftverrel (3DHitech, Budapest, Magyarország) 30x nagyításban; ezek a képek szolgáltak a további elemzések alapjául.

Az egyik meghatározási módszer az ImmunoRatio (IR) 1.0c plugin alkalmazásával történt a Fiji imagej.net képfeldolgozó csomagon belül. Ez a szoftver képes meghatározni a pozitív és negatív sejtmagokat a kép barna és kék színek küszöbérték szerinti elemzésével. A nagy kiterjedésű kötőszövetet, vagy gyulladásos sejtes infiltrátumot tartalmazó metszetek elemzése során a képet maszkoltuk, hogy csak a tumorsejteket tartalmazó terület szerepeljen az elemzésben.

A Ki67 festődés arányának értékelésére alkalmazott harmadik módszer a Vörös és mtsai által leírt rácslapú számlálás (GRID) volt, így az összes képet exportáltuk a Microsoft PowerPoint programba, és minden képre egymástól 1,5 cm-es távolságra lévő, vízszintes vonalakkal álló rácsot helyeztünk, ami a metszetről készült kép közepétől mindkét irányba terjedt. Az ezen rácsvonalakkal átmetszett sejtmagokat ezután manuálisan megszámoltuk, és kiszámítottuk a pozitív sejtmagok arányát az összes sejtmaghoz viszonyítva (azaz a Ki67 jelölési indexet [LI]).

A meghatározás végére minden daganat esetében három pár CNB és EXC Ki67 LI érték állt rendelkezésre, amelyeket lineáris regressziós modellek segítségével korreláltunk az utolsó NACT ciklus után eltelt idővel. A meghatározási módszerek közötti egyezés mértékét Bland-Altman-diagramok segítségével értékeltük.

4. EREDMÉNYEK

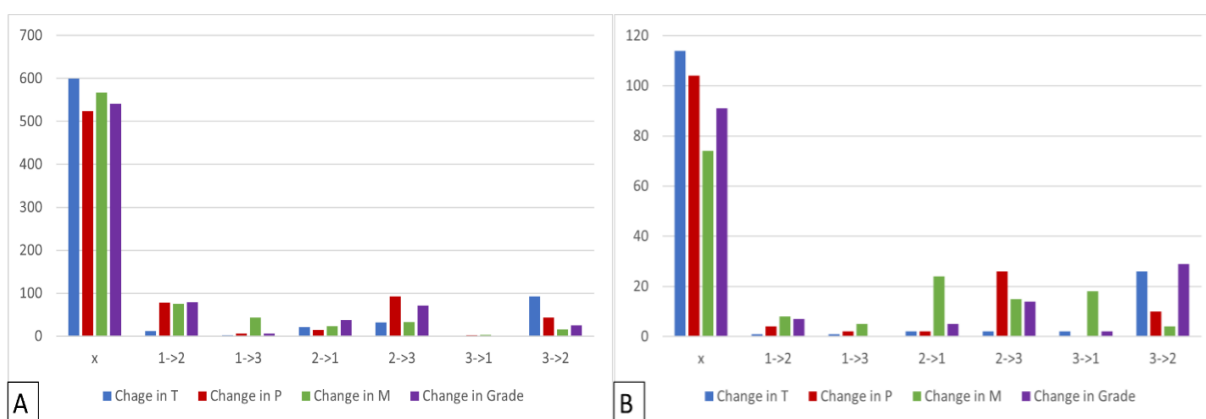
4.1. A NEOADJUVÁNS KEMOTERÁPIA UTÁNI SZÖVETTANI GRADE ÉS ALPONTSZÁMAI VÁLTOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Összesen 1257 pár CNB és EXC emlőrákos mintát sikerült azonosítani, amelyekből az összes kizárás után 908 maradt a vizsgálatban. A primer műtéten átesett CHIR csoport 760 pár mintát tartalmazott, míg a neoadjuváns szisztémás kemoterápián átesett PST csoport 148 pár mintából állt. Az utóbbi csoportban a legtöbb esetben taxán kemoterápiát alkalmaztak (132/148, 89,2%), amelyet általában antraciklinekkel, főként epirubicinnel vagy platina-alapú szerekkel kombináltak. HER2-pozitív tumorok (azaz HER2-overexpresszáló vagy *ERBB2*-amplifikált) esetén általában anti-HER2 kezelést is alkalmaztak.

A CHIR és PST csoportokban az alpontszámok és grade értékeinek eloszlását összehasonlítva, a biopsziák esetében minden paraméter (T, P, M és G, mind $p < 0,001$), míg az EXC minták esetében a T ($p < 0,05$), P ($p < 0,001$) és G ($p < 0,001$) szignifikánsan eltértek, az M ($p = 0,544$) azonban nem.

Az alpontszámok és grade változását illetően CNB és EXC minták között mind a CHIR (T: 78,9%, P: 68,9%, M: 74,6%, G: 71,2%), mind a PST (T: 77%, P: 70,3%, M: 50%, G: 61,5%) csoportokban egyaránt magas egyezési arányt figyeltünk meg. Az eltérő esetekben a leggyakoribb változás egy pontnyi különbség volt. Az egyezési arányok szignifikánsan eltértek a CHIR és a PST csoportok között a G értékében ($p = 0,024$) és az M alpontszámokban ($p < 0,0001$), de a T ($p = 0,68$) és a P ($p = 0,82$) alpontszámokban nem. A diszkordáns eseteknél a következő tendenciák voltak megfigyelhetők. A T alpontszám változásai mindkét csoportban túlnyomórészt alacsony tubulusképződésről magasabb tubulusképződési tendenciára (azaz magasról alacsonyabb alpontszámra) irányultak. A CHIR csoportban a P és M alpontszámokban leggyakrabban megfigyelt

változás az egy ponttal történő emelkedés volt (1→2 vagy 2→3), azonban az M esetében a 2 ponttal történő emelkedés is előfordult. A PST csoportban a P alpontszám tendenciózusan emelkedett (2→3), míg az M alpontszámában a domináns változás az egy, vagy két ponttal történő csökkenés volt. A fent leírt változások eredményeként a CHIR csoportban a grade gyakrabban emelkedett (71,2%, 95% CI: 64,7%-77,0%), míg a PST csoportban gyakrabban csökkent (63,2%, 95% CI: 50,2%-74,5%) (1. ábra). A Wilcoxon-féle előjel próbának az eredményei statisztikailag szignifikáns változást jeleztek mindkét csoportban az összes értékelte paraméter tekintetében (CHIR-csoport: T, P, M és G, mind $p < 0,001$; PST-csoport: T, $p < 0,001$, P, M és G, $p < 0,05$).



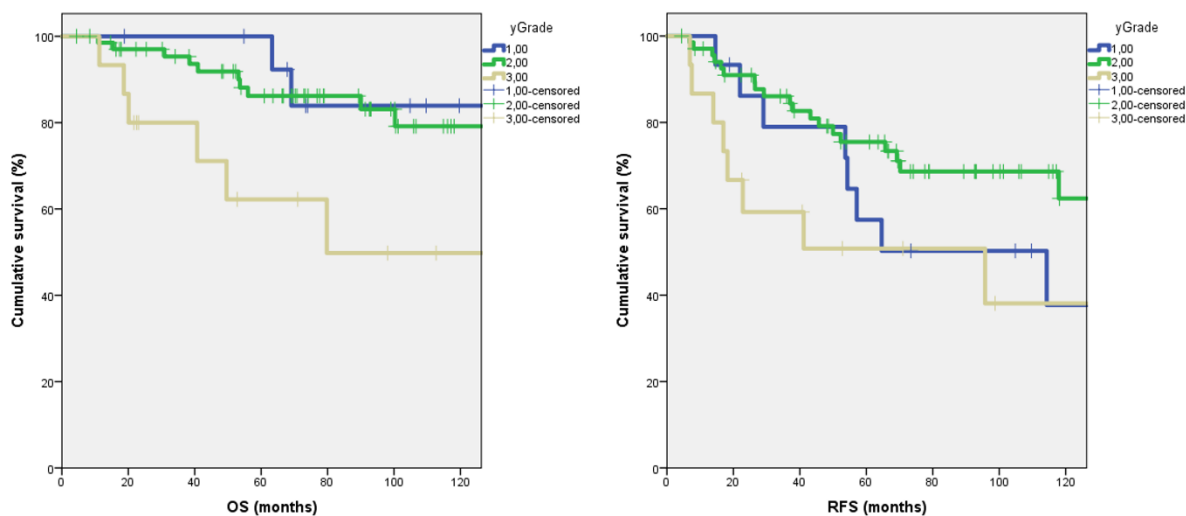
1. ábra. A T, P és M alpontszám, valamint G értékének változása CNB és EXC minták között a CHIR (A) és PST (B) csoportokban.

CHIR: primeren műtétiileg kezelt csoport; CNB: vastagtű-biopszia; EXC: műtéti preparátum; G: szövettani grade; M: mitotikus ráta; P: magpleiomorphismus; PST: primer szisztémás kemoterápiával kezelt csoport; T: tubulusképzés; x: változatlan érték

4.2. A POSTNEOADJUVÁNS GRADE PROGNOZTIKAI ÉRTÉKÉNEK VIZSGÁLATA

Összesen 355 emlőrákkal diagnosztizált beteg vett részt a vizsgálatban, akik mindannyian NACT kezelést kaptak, és a műtéti mintákban reziduális invazív karcinóma volt jelen. A leggyakoribb tumor típus a nem speciális típusú (NST) emlőrák volt, ER-pozitív, BxG 3. A leggyakoribb kezelés a taxán alapú NACT és a mastectomia volt. A betegek körülbelül 40%-ánál ypT1, 70%-ánál ypN1-3 kategória került megállapításra, yG1 alig fordult elő, míg yG2 és yG3 kategóriák gyakorisága hasonló volt. A követés medián ideje 73 hónap volt (tartomány: 3,5-236 hónap), 86 beteg elhunyt és 155-nél jelentkezett a betegség kiújulása.

A legnagyobb változás hormonreceptor- (HR-)pozitív, HER2-pozitív daganatokban mutatkozott (chi-négyzet: 22,26, szabadságfok: 3, $p < 0,0001$), ezt követték a HR-pozitív, HER2-negatív esetek. Az összes lúminális típusú daganat együttes vizsgálata során a grade változásának aránya szignifikánsan magasabb maradt, mint a tripla negatív, vagy HER2-pozitív, HR-negatív emlőrákok esetében (chi-négyzet: 11,32, szabadságfok: 2, $p = 0,004$). A BxG és yG kategóriák különböző összehasonlításaiban az OS és az RFS közötti különbségek statisztikailag szignifikánsak voltak. Általánosságban elmondható, hogy mind a BxG, mind az yG magasabb kategóriái kedvezőtlen prognózissal társultak az RFS és az OS becslések tekintetében. Alcsoport-elemzést végeztünk az eltérő BxG-vel és yG-vel rendelkező esetekre, ami a magasabb yG kategória kedvezőtlen prognózisát tükrözte mind az RFS, mind az OS tekintetében (2. ábra). Az összes eset közül 320 daganat esetében állt rendelkezésre mind a BxG-re, mind a yG-re vonatkozó adat; 221 (69%) esetben nem változott a grade, míg 21 (7%) esetben emelkedés, 78 (24%) esetben pedig csökkenés volt megfigyelhető.



2. ábra. Alcsoport analízis és Kaplan-Meier túlélés görbék az eltérő BxG-vel és yG-vel rendelkező esetekre ($n=99$). Szignifikáns eltérés látható RFS tekintetében az yG2 és 3 ($p_{RFS}=0.022$) között, azonban yG1 és 2 ($p_{RFS}=0.213$) és yG1 és 3 ($p_{RFS}=0.463$) között nem. Továbbá szignifikáns volt a különbség OS tekintetében az yG1 és 3 ($p_{OS}=0.048$) és yG2 és 3 ($p_{OS}=0.008$) között, de yG1 és 2 ($p_{OS}=0.555$) között nem.

Az egyváltozós elemzésben az idősebb életkor, az ER és PR expresszió hiánya, a limfóvaszkuláris invázió jelenléte, az inkomplett reszekció és a magasabb ypT, ypN és

yG kategóriák szignifikáns kedvezőtlen prognosztikai paraméterek voltak az OS tekintetében, míg az ER és PR expresszió hiánya, a mastectomia, a limfovaszkuláris invázió jelenléte és a magasabb ypT, ypN, BxG és yG kategóriák bizonyultak szignifikáns kedvezőtlen prognosztikai tényezőknek az RFS tekintetében. A többváltozós elemzésben az OS és RFS becslések tekintetében szignifikáns független prognosztikai tényezők az ER-státusz (HR_{OS} : 2,71, 95% CI: 1,74–4,20, $p_{OS}<0,001$; HR_{RFS} : 1,72, 95% CI: 1,14–2,59, $p_{RFS}=0,009$), a limfovaszkuláris invázió (HR_{OS} : 2,26, 95% CI: 1,42–3,58, $p_{OS}=0,001$; HR_{RFS} : 1,84, 95% CI: 1,27–2,69, $p_{RFS}<0,001$) és az ypN kategória (HR_{OS} : 3,32, 3,50 és 5,11, p_{OS} mind $<0,001$, valamint HR_{RFS} : 2,46, 3,06 és 3,16, p_{RFS} mind $<0,001$ ypN1a, ypN2 és ypN3 esetében). Alcsoport-elemzést végeztünk a különböző BxG és yG kategóriájú esetekre, és az egyváltozós elemzés azt mutatta, hogy az idősebb kor (HR_{OS} : 5,83, 95% CI: 1,69–20,06, $p_{OS}=0,005$) és a magasabb yG kategória (HR_{OS} : 5,13 95% CI: 1,03–25,88 $p_{OS}=0,045$) kedvezőtlen hatással van a prognózisra. Egyik sem bizonyult függetlennek a többváltozós elemzésben. A HR-pozitív, HER2-negatív emlőrákos esetek között szignifikáns különbségek voltak a RFS és az OS becslései között a yG1 és yG3, valamint a yG2 és yG3 kategóriák között.

4.3. A KI67 JELÖLÉSI INDEX VÁLTOZÁSÁNAK ÉS IDŐBELISÉGÉNEK LEÍRÁSA NEOADJUVÁNS KEZELÉST KÖVETŐEN

A kizárások után összesen 54 páros eset került be a tanulmányba. A leggyakrabban megfigyelt helyettesítő molekuláris altípus a luminális B-szerű volt ($n=22$), ezt követte a TN ($n=16$), a HER-pozitív ($n=12$) és végül a luminális A-szerű ($n=4$). A leggyakoribb regressziós fokozatok az RCB-II ($n=39$) és a TR2b ($n=20$) voltak. Az utolsó NACT ciklus és a műtéti beavatkozás közötti átlagos idő 40,3 nap volt (tartomány: 8-82). Taxán tartalmú NACT kezeléseket alkalmaztak 52/54 esetben, ami leggyakrabban epirubicin és docetaxel szekvenciális adását jelentette, azonban néhány beteg taxán és platina tartalmú kombinációs kezelést, vagy más taxán tartalmú kezelést kapott. A HER2-pozitív tumoros esetekből 12 beteg közül 10-nél trastuzumab (5 ER+ és 1 ER- tumor), vagy trastuzumab és pertuzumab kettős blokádnak (4 ER- tumor) formájában anti-HER2 kezelést alkalmaztak.

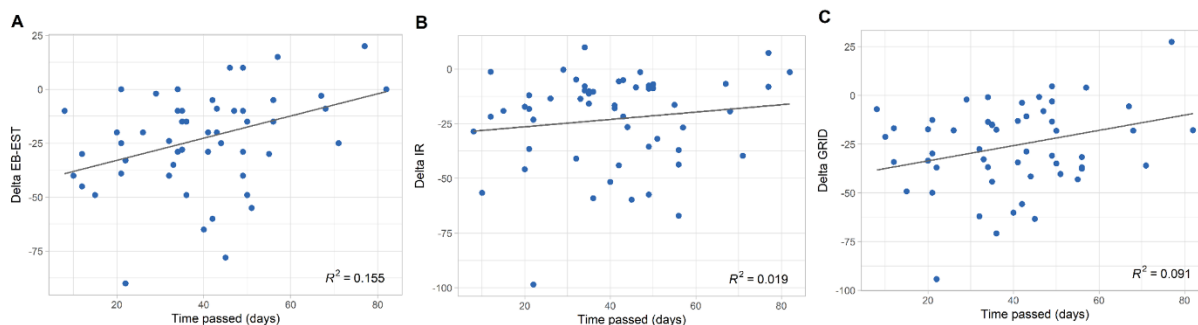
Minden esetet ugyanaz a patológus leletezett, és a mások által leletezett anyagokat ugyanaz a patológus (CsG) vizsgálta felül, ezáltal korlátozva az interobszerver variabilitást. Az adatgyűjtés időszakában ugyanaz a mikroszkóp volt használatban a mitózisok pontozásához.

A Ki67 LI időbeli változását leíró lineáris regressziós modellben, az alsó csoportok elemzése előtt, a legjobb illeszkedést az EB-EST módszer érte el, ami felfelé irányuló tendenciát és így a Ki67 LI változásának időbeli csökkenését jelzi ($p=0,003$, $R^2=0,1548$)(3. ábra), így a módszer elterjedt klinikai alkalmazását is figyelembe véve a további összehasonlító vizsgálatok alapjául ez került kiválasztásra.

A helyettesítő molekuláris altípusokon alapuló alsó csoport-elemzésben a HER2-pozitív ($p=0,091$, $R^2=0,2589$), TN ($p=0,045$, $R^2=0,2563$) és luminális B-szerű ($p=0,039$, $R^2=0,1961$) tumorok mind emelkedő trendvonalat mutattak, ami arra utal, hogy a NACT proliferációt gátló hatása ezekben a tumorokban az idő múlásával csökken. A luminális A-szerű daganatok mutatták a legjobb illeszkedést a lineáris regressziós modellhez ($p=0,125$, $R^2=0,766$), ami csökkenő trendvonalat és így a proliferáció gátló hatásnak a növekedését jelzi az utolsó NACT ciklus után eltelt idővel, bár ez az alsó csoport tartalmazta a legkevesebb esetet ($n=4$), ezért ebből az alsó csoportból érdemben nem lehet következtetéseket levonni.

Az RCB regressziós grádus pontszámain alapuló alsó csoport-elemzés eltérő irányú trendvonalakat mutatott az RCB-I, valamint az RCB-II és RCB-III kategóriák között, az előbbi csökkenő, míg az utóbbi kettő fordított, emelkedő tendenciát mutatott; az emelkedő tendencia a NACT utáni proliferációcsökkentő hatás fokozatos elvesztését jelenti. Az RCB-I és RCB-III alsó csoportok esetében a betegek száma nem volt optimális ($n=8$, illetve $n=7$), ami a tanulmányunk limitációja.

Végül, az EWGBSP TR regressziós kategóriákon alapuló alsó csoport-elemzésben a TR2a tumorok lineáris regressziós trendvonala csökkenő tendenciát és ezáltal a kemoterápia tartós hatását mutatta ($p=0,276$, $R^2=0,2819$), míg a TR2b ($p=0,051$, $R^2=0,1951$), TR2c ($p=0,028$, $R^2=0,3209$) és TR3 ($p=0,02$, $R^2=0,4019$) csoportok mindegyike ellentétes, emelkedő tendenciát demonstrált.



3. ábra. Lineáris regressziós eredmények és R^2 érték minden eset vonatkozásában, meghatározási módszer szerint.

Delta: a kezelés utáni és előtti Ki67 LI értékek különbsége; EB-EST: szemrevételezés útján nyert becslési módszer; IR: ImmunoRatio szoftver eredményei; GRID: rácsvonalak mentén történő számolás és festődési arány meghatározása

A hengerbiopsziák esetében a Bland-Altman-elemzés, ami az EB-EST és az IR, valamint az EB-EST és a GRID (ebben a sorrendben, páronként) meghatározási módszerek közötti egyezést értékelte, 9,3-es (95% CI: 4,6–14,0; $p < 0,001$) és -4,0-es (95% CI: -7,3 és -0,6; $p = 0,02$) átlagos eltérést mutatott, az egyezés határértékei pedig -24,6 és +43,2, illetve -28,1 és +20,2 voltak.

A műtéti minták értékei tekintetében a Bland-Altman-elemzés 9,8 (95% CI: 5,1–14,6; $p < 0,001$) és -0,9 (95% CI: -3,0–+1,2; $p = 0,4$) átlagos különbséget mutatott az EB-EST és az IR, illetve az EB-EST és a GRID között. Az egyezés határértékei -24,2 és +43,9, illetve -15,9 és +14,1 voltak. Ezenkívül az összes módszer esetében szignifikáns növekvő tendenciát észleltünk a különbségekben ($p < 0,001$ és $p = 0,01$), ami a hengerbiopszia eredményeiben nem volt megfigyelhető ($p = 0,874$ és $p = 0,112$). Ennek jelentése, hogy a meghatározási módszerek közötti különbség a Ki67 LI érték nagyságával növekszik, vagyis az EB-EST az értékek növekedésével magasabb értékeket ad, mint az IR vagy a GRID.

5. MEGBESZÉLÉS

Az emlőrák hagyományos prognosztikai tényezői, beleértve a szövettani grade-et, a molekuláris és genomikai vizsgálatok korában is relevánsak maradnak, és a szövettani grade-et az interobszerver variabilitás ellenére is jó prognosztikai tényezőnek tekintik. A magasabb BxG (azaz G3) a NACT utáni pCR-rel korrelál, ami többváltozós elemzés

alapján független prognosztikai tényező. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy bár a legtöbb esetben a műtét előtti és a műteti minták grade-je megegyezik, az eltérő esetekben bizonyos tendenciák figyelhetők meg. Egy 33 tanulmány (4980 beteg) alapján végzett meta-analízis szerint a legtöbb esetben (59% és 94% között, összesített becslés: 71%) a grade megegyezett, azonban az eltérő biopsziás és műteti preparátumból meghatározott grade-ek esetében kétszer olyan gyakori (19%) volt az alulbecslés, mint túlbecslés (9%). A bevont tanulmányok közül néhány a grade számításához használt alpontszámokról is beszámolt, és az eltérő esetekben ezekben is megfigyelhetőek voltak bizonyos tendenciák: 1./ Az egyezés volt a jellemző, de eltérés esetén 2./ a tubulusképzés (T) gyakrabban volt túlpontozva, mint alulpontozva (13% vs. 9% 12 tanulmány összesített százalécai alapján), 3./ a magpleiomorfizmus (P) alulbecslése gyakoribb volt, mint a túlbecslése (17% vs. 10% 14 tanulmány alapján), végül 4./ a mitotikus ráta (M) alulbecslése gyakoribb volt, mint a túlbecslése (30% vs. 8% 13 tanulmány alapján). A grade és az alpontszámok változásának elemzésén alapuló eredményeink összhangban vannak a bemutatott összesített elemzésekkel. A CNB és EXC minták grade-jének egyezési aránya 71% volt, ami nemcsak, hogy szinte megegyezik az összesített eredményekkel, hanem megbízhatónak is tekinthető adat, mivel a meta-analízisbe bevont legnagyobb súlyú tanulmány 300 esetet tartalmazott, ami kevesebb, mint fele a mi tanulmányunk CHIR csoportjában szereplő esetek számának. Eredményeink megerősítik a korábban leírt tendenciát, miszerint a T pontszámot túlbecsülik, a P, M pontszámot és a grade-et pedig alulbecsülik, pontosabban a grade-t megközelítőleg kétszer gyakrabban alulbecsülik, mint túlbecsülik.

A biopsziákból vagy műteti mintákból meghatározott grade-ek közötti eltéréseket általában a biopsziás minta alulrepresentáltságával magyarázzák. Ez a hatás méginkább kifejezett az olyan emlőrákok esetében, amelyek a tumoron belül heterogenitást mutatnak, mint például a kevert tubuláris karcinómák. Egy másik ismert jelenség a proliferáció heterogén eloszlása és az ebből fakadó ajánlás, hogy a mitotikus alakokat a tumor perifériáján számoljuk, mivel ezek a területek optimálisabb környezetet biztosítanak a proliferációhoz (hipoxia hiánya).

Mind a heterogén tubulusképzés, mind a proliferatív sejtek heterogén eloszlása eltéréseket okozhat a hengerbiopsziás tüvel végzett tangenciális és radiális mintavételek között, és ezek a variabilitások kisebb szerepet játszanak a műtéti mintákban, ahol a lézió teljes metszési felületét tudjuk értékelni. Mivel a biopsziás minta mérete és minősége (legalább 2 mm² tumor terület, 10 nagy nagyítású látótér, nincs artefaktum) szintén fontos a grade megfelelő meghatározásához, ezek a minták végül értékelhetetlenek lehetnek. A hideg ischaemiás idő és a rögzítés körülményei közötti eltérések szintén említésre kerülnek, mint lehetséges okok. A nem tökéletes interobszerver variabilitást is megemlítették az eltérések lehetséges okaként, mivel az emlőrákok szövettani grade-jének reprodukálhatósága csak közepes, azonban az interobszerver variabilitás nem befolyásolta tanulmányunk eredményeit, mivel minden esetet ugyanaz a patológus leletezett, és az intraobszerver egyezés mindig jobbnak bizonyult, mint az interobszerver egyezés. Az összes fent említett jelenség szerepet játszhat a PST csoportban megfigyelt eltérésekben, és az eltérő tendenciák a populációk közti különbségeknek vagy a NACT hatásának tulajdoníthatók. A PST csoportban, bár az esetek többsége továbbra is egyezést mutatott, az arány szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a CHIR csoportban (71% vs. 62%). A diszkordáns esetekben a legszembetűnőbb változás a G érték csökkenése volt (88%). Az alpontszámok tekintetében a T és a P jelentős egyezést mutatott a CNB és az EXC minták között, és az arányok szinte megegyeztek a CHIR csoportban megfigyelttel. Ezzel szemben az M alpontszám az esetek felében diszkordanciát mutatott, ami szignifikánsan gyakrabban fordult elő, mint a CHIR csoportban. Az eltérő esetekben a T és M pontszámok gyakrabban csökkentek, míg a P pontszámok gyakrabban emelkedtek. A taxánok a mikrotubulusok működésének és a mitotikus orsó kialakulásának megzavarásával pleiomorf tumoros óriássejtek és bizarr, nagy sejtmagok kialakulását okozhatják, ami végső soron növeli a pleiomorfizmus alpontszámot, azonban ez nem feltétlenül játszik jelentős szerepet a látott változásokban, mivel a legtöbb esetben a P pontszám eredetileg is 3 volt. Az M alpontszám változása a NACT kívánt és várt hatásának tulajdonítható. A fent említett hatások, és különösen az M alpontszám drasztikus csökkenése a PST csoportban együttesen azt eredményezték, hogy a G inkább csökkent, mint nőtt az EXC mintákban, ami a NACT hatásának tulajdonítható.

Mivel a NACT-tal kezelt emlőrákok többsége magas grade-ű, és a legtöbb értékelt paraméter esetében 3-as alpontszámot kap, a legtöbb esetben nem fordulhat elő pontszám emelkedés, azonban a proliferáció csökkenése a reziduális tumor grade-jének csökkenéséhez vezethet. Kevésbé ismert, hogy ez a változás javítja-e a prognózist, mindazonáltal a NACT utáni szövettani grade meghatározása több ajánlás részét képezi. Bebizonyosodott, hogy a NACT utáni reziduális tumor kiterjedése prognosztikai jelentőséggel bír, amit az RCB is tükröz, de a Ki67 proliferációs index, az ER-státusz és a yG hozzáadása tovább javítja a prognosztikát, ami arra utal, hogy a yG-nek is prognosztikai jelentősége van. Meg kell jegyezni, hogy a tanulmányunkban elemzett esetek nem érték el a pCR-t, ezért rosszabb prognózisú kohorszt képviselnek. Első tanulmányunkban a CNB és EXC minták grade-jének összehasonlítása során a tumorok 24%-ánál észleltünk grade csökkenést a NACT után, és második tanulmányunkban a grade hasonlóan 24%-ban csökkent. Egy korábbi, antraciklinekkel vagy antraciklinekkel és taxánokkal kezelt, 485 beteg eredményeire alapuló tanulmány a BxG és a yG prognosztikai hatását mutatta ki, ami az yG esetében erősebb volt. A kohorsz 8% G1, 41,5% G2 és 50,5% G3 daganatot tartalmazott, pCR 115 esetben (23,7%) valósult meg. A fennmaradó 370 esetben, ahol reziduális tumor volt kimutatható, 12% yG1, 55% yG2 és 33% yG3 grádusú volt, és a Cox arányos kockázati regressziós modell szignifikáns teljes és távoli betegségmentes túlélési hátrányt mutatott az yG3 esetében (ami nem vonatkozott az yG1 és yG2 esetekre) a pCR-hez képest, bár az yG-t nem értékelték külön a csak reziduális tumorral rendelkező esetekben.

Korábbi eredményeink azt mutatják, hogy a NACT utáni grade csökkenés vezető tényezője az M alpontszám, azaz a tumor proliferációjának jelentős csökkenése. A tumor válasza a NACT-ra heterogénnek tekinthető, mivel nagymértékben függ az emlőrák biológiai viselkedésétől, amit alátámaszt az a tény is, hogy gyakrabban alkalmazzák rosszul differenciált, kifejezetten proliferatív tumorral rendelkező betegeknél, mivel ezek a betegek jobban profitálhatnak a NACT proliferációt gátló hatásából.

A Ki67 fontossága a terápiás válasz alapján történő kezelésmódosítási protokollok során, valamint az emlőrákok helyettesítő molekuláris altípusokba történő felosztásakor mérülhet fel.

A mitózisszámon alapuló eredményeink azt mutatják, hogy a műtét előtti szisztémás terápia nélkül végzett, műtéti mintákban a diszkordáns esetekben a proliferáció mértékének alulbecslése látható, míg a NACT-tal kezelt esetekben a proliferáció a hengerbiopsziás mintákban általában magasabb volt, mint a műtéti mintákban, ami összhangban áll a szakirodalomban szereplő eredményekkel.

Míg a ΔKi67 szintén prognosztikai tényezőként ismert, a yKi67 továbbra is a korai lokális és távoli metasztázis kockázatát és a túlélést előrejelző fő tényező, azaz a magasabb yKi67 értékek rosszabb prognózist jelentenek, függetlenül a változás mértékétől. Számos szerző egyetért a yKi67 LI prognosztikai értékével kapcsolatban.

Korábbi tanulmányokból arra a következtetésre juthatunk, hogy a Ki67 LI és annak változása fontos információt hordoz és hatással van a prognózisra, azonban a kemoterápia utolsó ciklusa és a műtét közötti időben bekövetkező változásának időbeli jellege és tendenciája még kevésbé kutatott terület. Tanulmányunk célja ennek a hiánynak a pótlása volt. Összesített adataink arra utalnak, hogy a NACT utáni proliferáció csökkenése fokozatosan megszűnhet, ezért az utolsó kemoterápiás kezelés óta eltelt idő is befolyásolhatja a yKi67 és a ΔKi67 prognosztikai értékét. Ez a feltevés egyértelműbb lenne, ha minden tumor hasonlóan reagálna a NACT-ra, de ez nem így van. Amikor megpróbáltuk a tumorokat a helyettesítő molekuláris alcsoport szerinti, vagy a NACT-ra adott válasz mértékének megfelelő bontásban elemezni, szinte minden alcsoportban hasonló tendenciát láttunk a yKi67 csökkenésében, kivéve a jó prognózisú lúminális A-szerű tumorokat és a kezelésre legjobban reagáló eseteket (RCB I és EWGBSP TR2a kategóriák), amelyek mind alulreprezentáltak voltak a kohorszban. Az adatok pusztán leíró jellegűek, és úgy tűnik, hogy a NACT proliferációt csökkentő hatásának dinamizmusát tükrözik. Különböző meghatározási módszereket alkalmaztunk, köztük két objektív, mintavételen alapuló módszert (IR, GRID) és egy alaposan elvégzett, de szubjektív módszert (EB-EST), és mindegyik hasonló tendenciákat mutatott; végül az EB-EST-et választottuk ki a legjobb illeszkedés és az elterjedt klinikai alkalmazás miatt.

6. KONKLÚZIÓK ÉS ÚJ EREDMÉNYEK

Eredményeink megerősítették a korábban leírt egyezést a grade és annak alpontszámai tekintetében a biopsziás és a műtéti minták között, valamint azt a tendenciát, hogy a biopsziák esetében alulbecslésre kerül a tubulusképzés mértéke (túlbecsülve annak pontszámát), valamint a magpleiomorfizmus, a mitotikus arány és a grade, összehasonlítva a műtéti mintákkal a diszkordáns esetekben. A primer szisztémás kemoterápia után az egyezési arányok alacsonyabbak voltak, valamint az M alpontszám és a grade csökkenése volt megfigyelhető.

Második munkánk megerősítette a grade prognosztikai értékét posztneoadjuváns környezetben, jelezve, hogy az yG3 rosszabb RFS-sel és OS-sel jár, mint az yG1 és az yG2, ezért a grade csökkenése, ami az esetek körülbelül 1/4-ében figyelhető meg, amint azt első és második tanulmányunk is bizonyítja, jobb prognózissal járhat. Ezt az eredményt alátámasztotta az egyváltozós Cox-regressziós elemzés is, azonban mivel a többváltozós elemzésben a szignifikancia elvész, az yG nem bizonyult független prognosztikai faktornak.

Eredményeink megerősítik, hogy a legtöbb vizsgált emlőrák esetében NACT után csökken a proliferáció, és arra utalnak, hogy ez a csökkenés a NACT utolsó ciklusa és a műtét között eltelt idő növekedésével csökkenő mértékű lehet. Ez a dinamika az agresszívebb molekuláris altípusokban és a kezelésre kevésbé reagáló daganatokban volt megfigyelhető, és előfordulhat, hogy hiányzik a neoadjuváns kezelésben ritkábban részesülő lúminális A-szerű daganatokból, vagy a kezelésre jobban reagáló karcinómákból, bár az utóbbi alcsoportokra vonatkozó következtetések az alacsony esetszám miatt korlátozottak voltak.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Legmélyebb hálámat szeretném kifejezni témavezetőmnek és mentoromnak, Dr. Cserni Gábor Professzor Úrnak az útmutatásáért, mérhetetlen segítségéért és példamutatásáért.

Hálával tartozom minden társszerzőnek a kutatásunkhoz való hozzájárulásáért, köztük Dr. Sejben Anitának, Dr. Lantos Tamásnak, Dr. Almási Szintianak, Dr. Zombori Tamásnak, Prof. Dr. Kahán Zsuzsannának, Dr. Szelestei Veronikának és Dr. Kószó Renátának.

Szeretném köszönetemet kifejezni Dr. Vörös Andrásnak, az Intézet vezetőjének a kutatásom ideje alatti támogatásáért.

Hálás vagyok a Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézete minden munkatársának, továbbá a Bács-Kiskun Vármegyei Oktatókórház munkatársainak, valamint a klinikusoknak és a multidiszciplináris emlő onkoteam minden tagjának.

Külön köszönettel tartozom Dr. Sejben Anitának, aki folyamatosan tanít és ösztönöz, hogy kiaknázzam a bennem rejlő potenciált.

Hálás vagyok a Szegedi Tudományegyetem Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programjának (EKÖP) és Open Access Alapjának, valamint a Magyar Szenológiai Társaságnak, hogy támogatták a kutatásom, illetve az eredmények publikálását.

Végül, de nem utolsó sorban, hatalmas köszönettel tartozom családomnak és barátaimnak, akik mellettem állnak és támogatnak életem minden lépésében.