

Bartykowszki Andrea ÁOK V, Matlakovics Balázs ÁOK V

Semmelweis Egyetem Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet¹, Radiológiai, és Onkoterápiás Klinika², Budapest

A sinus és az atrioventricularis nodális artériák radiológiai, preparációs és szövettani azonosítása

A szív ingerképző és ingervezető szöveteinek vérellátását biztosító erek szükülete, illetve elzáródása gyakran életveszélyes ritmuszavarok kialakulásához vezethet. Éppen ezért évek óta intenzív kutatások folynak a sinuatrialis (SAN), és atrioventricularis (AVN) csomók területét ellátó érrendszer feltérképezésére. Ennek ellenére a nemzetközi irodalomban megjelenő adatok igen ellentmondásosak.

Célkitűzések: Igy célul ezen ellentmondások tisztázását tűztük ki: I) Az SAN, AVN régiókban futó erek megjelenítése, azonosítása [SNA – sinus node artery; AVNA – atrioventricular nodal artery; a Kugel-féle artéria - arteria anastomotica auricularis magna (AAaM)]; II.) Statisztika készítése ezen erek eredési megoszlásáról, és lefutásáról.

Anyag és módszer: A jobb (RCA) és a bal (LCA) arteria coronaria preparálása, majd kanulálása után az erekbe Lipiodol Ultrafluid 5%-os oldatát injektáltuk szelektíven a coronaria szájadékokba. Ezt követően Philips Brilliance 16 szeletes Multidetector Computed Tomograph-al (MDCT) post mortem angiographiát készítettük. A kontrasztanyag kimosása után egy Kiss M. által leírt 4 komponensű gyantával töltöttük fel a coronariarendszert. Ezt követően az előzővel azonos paraméterekkel ismét CT-felvételeket készítettünk. Mivel a radiológiai képeken nem egyértelműen azonosítható a sinus régió, ezért a sinus csomót (SN) fedő epicardialis zsírszövetbe az angiographiát megelőzően egy csonttüskét helyeztünk, mely jól mutatja a radiológiai képeken a sinuscsomó feltételezett helyét. Hogy biztosak legyünk a csonttüske pozíciójában, ezért azt az angiographiás vizsgálatok után kivettük, helyére fonalat öltöttünk, majd a régióból kimetszett blokkot szövettanilag feldolgoztuk. A szívek egy részét formalinban fixáltuk és óvatos preparálással tártuk fel a sinuscsomó és az atrioventricularis csomó területén található gyantával töltött artériás érhálózatot. A gyantával töltött szívek más részét pedig korróziós eljárásnak vetettük alá, majd a coronaria öntvényeken vizsgáltuk az artériák eredési megoszlásait.

Eredmények: A sinuscsomó régiójának szövettani vizsgálata igazolta, hogy az általunk sinus nodalis artériaként (SNA) azonosított artéria valóban a sinuscsomóhoz fut. Az SNA-k eredésének vizsgálata során azt találtuk, hogy az esetek (38 eset) 61%-ában egyetlen arteria látta el a sinus csomót mely kizárólag a jobb coronariából eredt. Az összes SN-t ellátó ér-ből (52 db), Ortale-féle beosztás szerint 50% R1, 23% R2, 8% L1, 2% L2, 15% pedig L3 lokalizációban eredt. Az esetek 34%-ban az SA csomónak kétszeres (RCA+LCA), 3%-ban pedig háromszoros (RCA+CX+CX) ellátása van. A Kugel-féle artériák 33%-a csak a bal, míg 26%-a csak a jobb coronariából eredt, és az esetek 26%-ában láthatunk egyszerre két Kugel-féle artériát. Adataink szerint az esetek csupán 15%-ában fordul elő, hogy a SN vérellátását kizárólag a Kugel-féle artéria adja. Azonban ha a sinus csomót több ér látja egyszerre el, akkor ezek 48%-a a Kugel-féle artériákból ered. Az atrioventricularis csomót ellátó erek eredhetnek a jobb coronaria distális, illetve proximális szakaszából, a bal coronaria ramus circumflexusából, valamint a ramus interventricularis anteriorból. Az AV csomóhoz az esetek 51%-ában egy, 43%-ában két, 3%-ában három, illetve 3 %-ában négy artéria fut.

Következtetések: I) Azonosítottuk az SNA, és AVNA-kat, valamint az azok környezetében futó, de a csomók vérellátásában részt nem vevő artériákat. Anatómiailag feltérképeztük, ezen artériák lefutását és eredési megoszlását.

Témavezetők: Dr. Nemeskéri Ágnes¹; Dr. Karlinger Kinga²

Bugyik Edina, ELTE-TTK, IV.

Semmelweis Egyetem, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

Kísérletes májmetasztázisok vérellátása és növekedése közötti összefüggés vizsgálata

Napjainkban sem teljesen tisztázott az a kérdés, hogy a májmetasztázisok a méretnövekedés következtében lesznek artériás ellátásúak, vagy maga az artériás ellátás biztosít a metasztázis számára növekedésbeli előnyt.

Munkánk során különböző kísérletes májmetasztázisok vérellátását (artériás és portális/kevert) tanulmányoztuk a máj érhálózatának műgyantával történő feltöltése után. A metasztázisokban a tumorsejtek proliferációját BrDU inkorporációs módszerrel határoztuk meg (200mg/kg BrdU, intraperitoneálisan).

A májmetasztázisokat egér C38 colon és Lewis lung carcinoma (3LL-HH), illetve A2058 humán melanoma sejtvonalak egerek lépébe történő oltásával hoztuk létre. A portális rendszert kék-, az artériás rendszert piros színű műgyantával töltöttük fel. Az egér májban lévő számos arterio-portális anasztomózis miatt először a portális rendszer került feltöltésre. A portális rendszer feltöltése során sztereómikroszkóp segítségével ellenőriztük, hogy feltöltés csak a terminális portális venuláig terjedjen, a szinuszoidokba ne kerüljön gyanta. Ezzel a feltöltési módszerrel meggátoltuk, hogy a piros színű gyanta a portális rendszeren keresztül bejusson a metasztázisokba, de minden utat nyitva hagyunk, ahol az artériás rendszer direkt összeköttetésben állt a metasztázisokkal.

A feltöltést követően a májat eltávolítottuk, a mintákból fagyasztott metszeteket készítettünk. A DNS-be beépült BrDU-t indirekt immunhisztokémiai reakcióval tettük láthatóvá. A sejtmagok festésére TOTO3-t, vagy DAPI –t használtunk. Konfokális mikroszkóppal készített képeken meghatároztuk a BrdU-jelzett, illetve az össztumorsejt számot. Az egyes metasztázisok vérellátását könnyen meghatározhattuk a gyantában levő festékek autofluoreszcenciájából (az artériás vérellátású metasztázisokban erős piros fluoreszcencia volt megfigyelhető, míg a portális/kevert vérellátású metasztázisok gyenge zöld fluoreszcenciát mutattak).

Eredményeink azt mutatták, hogy a tumorsejtek proliferációs rátáját tekintve, nincs jelentős különbség az artériás és portális/kevert vérellátású metasztázisok között. Mindemelllett a proliferációs ráta kismértékben, de szignifikánsan emelkedett az A2058 humán melanoma sejtvonal artériás vérellátású metasztázisaiban.

Vizsgálati eredményeink alapján elmondható, hogy az artériás vérellátású metasztázisok, nem, vagy csak kis mértékben tettek szert növekedésbeli előnyre a kevert vérrel ellátott metasztázisokkal szemben. Következésképpen megállapíthatjuk, hogy az artériás vérellátásnak nincs hatása a metasztázisok növekedésében.

Témavezető: Dr. Paku Sándor

Doma Viktória ÁOK V, Végvári Dóra ÁOK V.

Semmelweis Egyetem Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet, Budapest

Az M/L-csapok fejlődésére ható faktorok vizsgálata in vitro organotipikus retinakultúrákban

Az emlősök többségének retinájában csak kétféle csapot találunk, amelyek közül az egyik a rövid hullámhosszakra (S-csap), míg a másik általában zöld, vagy a vörös fényre érzékeny (M/L-csap). A transzdifferentiációs elmélet szerint e két csaptípus nem egymástól függetlenül fejlődik. Minden csap először a rövidhullám érzékeny pigmentet kezdi termelni, és néhányan a felnőttkorig csak ennek a szintézisére képesek (definitív S-csapok). A csapok többségében azonban beindul az M/L-pigment termelése is - ezek egy ideig mindkét opszint tartalmazzák (átmeneti fotopigment koexpresszió) - majd az S-pigment termelése fokozatosan leáll.

Ha feltételezzük, hogy minden M/L-csap transzdifferentiációval fejlődik, valószínűleg léteznek olyan faktorok, amelyek ezt a pigmentváltást szabályozzák. Az irodalom nagyon sok ilyen ágens szerepét felveti: pajzsmirigyhormon (T_3), E-vitamin, retinolsav, növekedési faktorok és receptoraik. Kevés esetben sikerült azonban szerepüket biztosan meghatározni, illetve bizonyítani.

Kutatásainkban azt a célt tűztük ki magunk elé, hogy megvizsgáljuk az egér csapfejlődésben biztosan szerepet játszó pajzsmirigyhormon, valamint az E-vitamin szerepét in vitro, organotipikus retinatenyészetben. A módszer legfontosabb előnye, a mesterséges környezet teljes kontrolljának lehetősége: a használt médium összetevői jól ismertek, koncentrációjuk tetszés szerint változtatható, tehát a vizsgált faktorok szerepe, a hatástartam ideje pontosan meghatározható, az esetleges extraretinális hatásokkal pedig biztosan nem kell számolnunk. A retinákat újszülött (1-3 napos) korban ültettük ki, 14 napos korig in vitro tenyésztettük, fixáltuk, a tenyészetek további feldolgozását immuncitokémiával, csap opszin ellenes ellenanyagokkal végeztük.

Kísérleteinket patkányon és szíriai aranyhörcsögökön végeztük. Az utóbbi faj előnye, hogy retinájában kizárólag M/L-csapok találhatók.

Előzőleg beszámoltunk róla, hogy patkányban, az egérben leírt irodalmi adatokkal egyezően, a pajzsmirigyhormon szükséges és elégséges az M/L-csapok kialakulásához. Hörcsögben azonban a T_3 megvonása nem befolyásolja érdemben e csaptípus differenciálódását. Mind a hormont tartalmazó, mind a hormonmentes tápban (10% FCS kiegészítés mellett) tenyésztett retinákban megjelentek az M/L-csapok, hasonló sűrűségben és morfológiával. Új eredményeink szerint szérumentes médiumokban ugyanakkor csak a pajzsmirigyhormont és E-vitamint együtt tartalmazó tápban fejlődtek ki az M/L-csapok. Eredményeink felvetik, hogy legalábbis ebben a fajban az E-vitaminnak is specifikus szerepe lehet e csap altípus fejlődésében. További kísérleteinkkel szeretnénk tisztázni, hogy a csapfejlődésben az E-vitamin mint antioxidáns szükséges, vagy pedig más, specifikus szerepe van.

Eredményeink felhívják a figyelmet arra, milyen keveset tudunk még a csap altípusok fejlődéséről. Egyes faktorok szerepe lehet fajfüggő, különböző fotoreceptor eloszlást mutató fajok esetében talán a fejlődés is különbözőképpen megy végbe. Reményeink szerint az általunk használt módszer – ebben a viszonylag egyszerű rendszerben - sok új adattal járulhatunk hozzá a fotoreceptorok és az idegi sejtek differenciálódásának megértéséhez.

Témavezetők: Dr. Lukáts Ákos, Prof. Dr. Szél Ágoston

Dorogi Bence ÁOK III, Matlakovics Balázs ÁOK V.

Semmelweis Egyetem Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet, Budapest
Semmelweis Egyetem Radiológiai, és Onkoterápiás Klinika Budapest

A jobb pitvar, a sinuscsomó és az atrioventricularis csomó vénás elvezetése és klinikai vonatkozásai

A nemzetközi irodalomban eddig egyetlen cikket sem találtunk, mely foglalkozna a sinuscsomó (SN), és az atrioventricularis csomó (AVN) vénás elvezetésével, valamint a jobb pitvar vénáiról is kevés dokumentációt találtunk. Amennyiben léteznek a sinus-, és atrioventricularis csomónak saját vénái, akkor azoknak az esetleges occlusioja vénás pangást, így e csomók perfúziójának romlását okozhatja, vagyis hozzájárulhat egyes szívsebészeti beavatkozásokat követően az ingerképző csomók funkciózavarához.

Célkitűzések: Felvetődött, ha a sinus-, és atrioventricularis csomónak van saját artériás hálózata, kell lennie vénás elvezetésének is, amelynek eddig sem a lokalizációja, lefutása, variációja nem ismert. Ezen feltevésekből kiinduló kutatásunk céljai az alábbiak voltak: 1.) A szív vénás rendszerének láthatóvá tétele, és elemzése korróziós preparátumokon; 2.) A sinuscsomó vénás elvezetésének igazolása és pontos anatómiai feltérképezése; 3.) Az atrioventricularis csomó vénás elvezetésének felderítése és pontos anatómia leírása. 4.) A jobb pitvar vénáinak pontos anatómia leírása.

Anyag és módszer: Az általunk használt szervek a Semmelweis Egyetem Igazságügyi és Biztosításorvostani Intézetéből származtak, előzetes TUKEB engedély alapján.

A szervekbe egy többkomponensű, folyékony, előzőekben Kiss M. által leírt gyantapolymert fecskendeztünk. A gyanta befecskendezése a vénás rendszerbe a vena cava superioron, az artériás rendszerbe az aortán keresztül valósult meg, a megfelelő, lehetséges kiáramlási pályák elzárásával. Ezt követően történt a korróziós inkubálás, 4 napon át, 25%-os sósavban.

Eredmények: A korróziós preparátumainkon sikerült megjeleníteni és fényképekkel dokumentálni a vénákat. A preparátumok részletes elemzésével meghatároztuk a vénák lefutását: 1.) a sinuscsomó vénája a vena cava superior benyílása és a crista terminalis közötti területről indulva, egyenes, rövid lefutás után nyílik közvetlenül a jobb pitvarba, annak kb. középmagasságában, a crista terminalis hátsó oldalán; 2.) az AV csomó vénájának két variációját találtuk: a.) a valvula semilunaris aortae posterior alól indulva rövid, a sulcus coronarius közel párhuzamos lefutás után, a vena cava superior és inferior benyílásának középmagasságában, az interatrialis septum középső részén nyílik közvetlenül a jobb pitvarba; b.) a valvula semilunaris posterior alól indulva, a sulcus coronariusra kb. merőlegesen futva nyílik a vena cordis mediába, annak a sinus coronariusba történő benyílásától kb. 0,5 centiméterre 3.) a jobb pitvar vénái számos apró ágként, a falból összeszedődve egy-két milliméteres, az üregre merőlegesen lefutással (tüskeszerűen) nyílnak a pitvarba.

Következtetések: A rendelkezésre álló adatokból arra következtetünk, hogy valóban léteznek olyan a vénák, melyek a sinus-, és atrioventricularis csomó vérét a jobb pitvarba vezetik. Továbbá pontos leírás adható a jobb pitvar vénáiról, melyek a pitvar falának vérét annak üregébe vezetik. Az említett vénák sérülése, occlusioja, különböző katéteres beavatkozás során történő véletlen ablatioja vénás pangáshoz, az ingerképző csomók és a pitvarfal perfúziójának romlásához, ebből kifolyólag sinus és/vagy atrioventricularis valamint pitvari dysfunctiohoz vezethetnek.

Mivel a jelenlegi kis esetszám miatt releváns statisztikákról nem beszélhetünk, célunk a rendelkezésre álló esetszám bővítése, valamint a vénák pontos megjelenítése és dokumentálása post mortem CT felvételekkel.

Témavezetők: Dr. Nemeskéri Ágnes, Dr. Karlinger Kinga

Fokozott riboszómális S6 fehérje aktivitás az osztódó lymphoma-sejtekben

Kérdésselvetés: A sejtek proliferációjának és fehérjeszintézisének szabályozásában különös jelentősége van a PI3K-Akt-mTOR (foszfoinozitol-3-kináz, protein kináz B, mammalian target of rapamycin) útvonalnak, és ezen keresztül a riboszómális S6 fehérje aktivitásának. Számos daganatsejt esetében ismert az útvonal szabályozásának valamilyen zavara, túlműködése. Lymphomák biopsziás mintáiban, a mitotikus sejtekben a riboszómális S6 fehérje foszforilált, aktív (pS6) formájának különösen intenzív immunhisztokémiai festődését figyeltük meg. Célunk annak felderítése volt, hogy vajon a megfigyelt fokozott S6 aktivitás jellemző-e a mitózisban lévő sejtekre, függ-e az mTOR aktivitási állapotától, illetve megfigyelhető-e egyéb sejt- és daganattípusokban is.

Módszerek: A sejtciklus szinkronizációját célzó in vitro kezelések (nocodazole – G2/M blokk, staurosporine – G1 blokk, ill. rapamycin – szelektív mTOR gátló) után lymphoma sejtekben (CEM, KM-H2) immuncitokémiával, Western blottal, konfokális mikroszkóppal és áramlási citometriával vizsgáltuk a pS6 és a pHH3 (foszfo-hisztón H3, ismert mitózis marker) expresszióját; valamint pmTOR (foszfo-mTOR) és pS6K (foszfo-S6-kináz) immuncitokémiai vizsgálatot is végeztünk. Biopsziás mintákon immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a pS6 és pHH3 jelenlétet. Több epitheloid sejt vonal (HepG2, A431, MCF7, HT29, HT1080) pS6 immuncitokémiai vizsgálatát is elvégeztük.

Eredmények: A mitotikus orsó működését gátló, in vitro nocodazole kezelés hatására megnőtt a mitózisban rekedt lymphoma sejtek aránya, és ezek intenzív pS6 jelölődést mutattak. A G1 blokkot indukáló kezelések hatására a mitotikus, egyben pS6 pozitív sejtek aránya jelentősen csökkent. A hematoxilin-eozin festés, illetve a pHH3 immunfestés alapján számolt mitotikus sejtek százalékos aránya jól korrelált a párhuzamos mintákban számolható, erős pS6 pozitivitást mutató sejtek arányával. Western blot és áramlási citometriai vizsgálataink is alátámasztották, hogy az osztódó sejtekben az aktív riboszómális S6 fehérje mennyisége emelkedett. Kettős fluoreszcens immuncitokémia segítségével egyértelműen igazoltuk a pS6 és a pHH3 kolokalizációját az osztódó sejtekben. pmTOR és pS6K immuncitokémiai vizsgálataink eredményei szerint az S6 közvetlen upstream regulátorai (S6K, mTOR) is aktiváltak az osztódó lymphoid sejtekben. Nem lymphoid szövetek pS6 immunhisztokémiai vizsgálatát is megkezdtük, amely szerint a colon-, és emlőcarcinomák, illetve a synoviális sarcomák esetében a mitotikus S6 aktiváció érdekes módon nem mutatható ki.

Következtetések: A riboszómális S6 fehérje emelkedett mitotikus aktivitása feltehetően a lymphoid daganatok (és normál lymphoid szövetek) jellegzetessége, az általunk eddig vizsgált nem lymphoid tumorokban ez nem figyelhető meg. Az osztódó sejtek S6 aktivitása mTOR-függőnek tűnik, így eredményeink felvetik az mTOR inhibitorok (rapamycin, everolimus, temsirolimus) lehetséges szerepét lymphomák terápiájában.

Kapcsolódó publikációk: -

Dr. Sebestyén Anna

Az ösztrogén receptor pozitív emlőcarcinomák elemzése a HER2 státusz és a hagyományos prognosztikai faktorok tükrében

Bevezetés: Az emlőcarcinomák újabb, genetikai osztályozása négy nagy csoportot különít el: az ún. luminalis A, luminalis B, HER2 és tripla negatív csoportokat. A luminalis csoportok az ER pozitív daganatok. Az irodalmi adatok szerint túlélésükben jelentős különbség mutatkozik. A Luminalis B csoportba az egyidejűleg HER2 pozitív daganatok is beletartoznak és feltételezhető, hogy az ER pozitív/HER2 negatív de magas proliferációs aktivitású daganatok is ehhez a csoporthoz állnak közel.

Célkitűzés: A SE II.sz. Pathologiai Intézetében 2005. január 1. és 2007. június 11-e között diagnosztizált invazív emlőcarcinomák csoportosítása az immunfenotípusuk alapján, valamint a hagyományos prognosztikai faktorok vizsgálata az ER pozitív csoportokban.

Betegek és Módszerek: A vizsgált időszakban 776 invazív emlőrák core biopsziás vagy műtéti anyaga került az Intézetbe. A hagyományos prognosztikai faktorok mellett (típus, TNM, grade, érbetörés, nekrozis, peritumorális gyulladás) az alábbi immunhisztokémiai reakciók eredményét értékeltük: ösztrogén receptor (ER), Ki67, Her2 (CB11 antitest). A score 2+ HER2 státusz esetében a fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) eredményét vettük figyelembe. Az ER pozitív daganatokon belül három csoportba soroltuk a daganatokat: a HER2 negatív és alacsony Ki67 indexű (**A**), HER2 negatív és magas Ki67 indexű (**B**) és HER2 pozitív (**C**) csoport. Az adatokat R statisztikai programrendszer 2.7.1 segítségével értékeltük. Szignifikánsnak tekintettük a különbséget, ha $p \leq 0,05$.

Eredmények: A szövettani típusok (invazív ductalis carcinoma, invazív lobularis carcinoma, speciális típusok) megoszlásában, a peritumorális gyulladás és a daganatban előforduló nekrozis tekintetében a három nagy csoportban nem mutatkozott szignifikáns különbség ($p=0,1193$, $p=0,0645$ ill. $p=1$). Az **A** típusú daganatok 1/3-a grade 1, a **B** és **C** típusúak között viszont csak 6,9 ill. 3,58% a grade 1 daganatok aránya. Ugyanakkor a **B** és **C** típusú daganatok fele grade 3, az **A** típusú daganatok között csak 7,8% a grade 3 aránya ($p < 0,001$). Peritumorális lymphovascularis invázió az **A** típusú daganatok 1/4-ében, a **B** és **C** csoportban az esetek kb. felében volt látható ($p=0,014$). Legalacsonyabb arányban (37,8%) a **B** típusú daganatok között fordultak elő pT1 tumorok, ezek aránya az **A** és **C** típusok esetében 61,2 ill. 71,4% ($p=0,05$.) Az **A** csoportban a daganatok 2/3-ában negatív axillaris nyirokcsomókat találtunk, a **B** csoportban csak az esetek 1/3-a volt pN0, a **C** csoportban pN0 eset nem fordult elő ($p < 0,008$). A HER2 pozitív és a magas proliferációs aktivitású carcinomák diagnózisa idején a betegek medián életkora 56 év, az ún. luminalis A tumorscsoportban 60 év volt.

Következtetés: Vizsgálataink alapján az ER pozitív tumorok prognosztikai szempontból jól elkülöníthető alcsoportokra oszthatóak. A hagyományos prognosztikai faktorok alapján agresszívebb az egyidejűleg ER és HER2 pozitív ill. a magas proliferációs aktivitást mutató, HER2 negatív alcsoport. Igazolva látjuk, hogy az ER pozitív emlőcarcinomák genetikai csoportjai jó közelítéssel immunhisztokémiai vizsgálatokkal is azonosíthatóak, amelyekkel a patológus a klinikai gyakorlat számára fontos prognosztikai információt adhat, és a megfelelő irányba terelheti az egyénre szabott terápiát.

A statisztikai számítások elvégzését köszönöm Kaposi Ambrusnak.

A munkacsoportnak ebben a témában nem jelent meg közleménye.

Témavezető: Dr. Kulka Janina

Az agrin expressziójának vizsgálata metasztatikus májdaganatokban

Bevezetés: Az agrin egy komplex szerkezetű heparánszulfát proteoglikán. Munkacsoportunk korábbi kísérletei során demonstrálta akkumulálódását hepatocelluláris (HCC) és colangiocelluláris carcinomában (CCC), továbbá igazolta az agrin immunhisztokémia használhatóságát a máj benignus és primer malignus lézióinak differenciáldiagnosztikájában. HCC-ben az agrin a tumor mikrovaskuláris hálózatában van jelen nagy mennyiségben, míg CCC esetében a tumor mirigyes struktúráinak bazálmembránja mutat erős agrin pozitivitást. Újabb kísérleteinkben a metasztatikus májdaganatok agrin-expresszióját tanulmányoztuk.

Módszerek: 20 colorectális carcinoma (CRC) és 10 pancreas carcinoma metasztázis műtéti preparátumának (SE. I. Sebészeti Klinika) formalinfixált, paraffinba ágyazott szövetblokkjaiból készült metszeteken agrin, CD34 és laminin immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. Gyorsfagyasztott mintákon agrin/CD34 kettős immunfluoreszcens jelölést hajtottunk végre. Gyorsfagyasztott tumormintákból (16 HCC, 16 CRC metasztázis és 12 normál máj) teljes RNS-t izoláltunk, amit reverz transzkripció és kvantitatív valósídejű PCR követett. **Eredmények:** A primer májrakkal ellentétben a máj metasztatikus daganatainak CD34 pozitív mikroereiben csak nagyon kis mennyiségben van jelen az agrin. Ugyanakkor a tumoros mirigyszerű struktúrák körüli bazálmembrán helyenként kifejezett agrin-pozitivitást mutat. Ez a daganat dedifferenciálódása során eltűnik. A laminin immunhisztokémia tanúsága szerint az agrin a bazálmembránok dezorganizációja előtt tűnik el, ill. a tumoros bazálmembránok egy részéből eleve hiányzik. A valósídejű PCR emelkedett agrin mRNS expressziót mutatott a HCC-ben és a CRC metasztázisban az ép májhoz képest. A két tumorfélése között azonban nem volt szignifikáns különbség. **Következtetés:** A HCC-vel szemben a metasztatikus májdaganatok mikroereiben nem, vagy csak kis mennyiségben található agrin. Mindamellet a differenciálatlan áttéti daganatok tumorsejtjei körül elhelyezkedő bazálmembránban sem mutatható ki agrin immunhisztokémiai módszerrel. Figyelembe véve, hogy a HCC microvasculatúrájában -differenciáltsági foktól függetlenül- az agrin immunfestés jelentős pozitivitást mutat, valamint a CCC mirigyszerű struktúráinak bazálmembránjából csak a dedifferenciálódás késői fázisában tűnik el ez a proteoglikán, az agrin immunhisztokémiai vizsgálata segíthet eldönteni kétes esetekben a májdaganat primer vagy metasztatikus eredetét.

Publikációk: *Batmunkh E, Tátrai P, Szabó E, Lódi C, Holczbauer A, Páska C, Kupcsulik P, Kiss A, Schaff Z, Kovalszky I* : Comparison of the expression of agrin, a basement membrane heparan sulfate proteoglycan, in cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Human Pathology* 2007 Oct;38(10):1508-15

Tátrai P, Dudás J, Batmunkh E, Máthé M, Zalatnai A, Schaff Z, Ramadori G, Kovalszky I : Agrin, a novel basement membrane component in human and rat liver, accumulates in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Laboratory Investigation* 2006 Nov;86(11):1149-60

Tátrai P, Somorác Á*, Batmunkh E, Schirmacher P, Kiss A, Schaff Zs, Nagy P, Kovalszky I*: Agrin and CD34 immunohistochemistry for the discrimination of benign versus malignant hepatocellular lesions. *The American Journal of Surgical Pathology*, in press.

Témavezetők: dr. Somorác Áron, dr. Kiss András

Primer emlőcarcinomák és metasztázisaik immunfenotípusának vizsgálata

Bevezetés: Az emlőcarcinomák modern felosztása a genetikai profilon alapul, amely a biológiai viselkedéssel a hagyományos morfológiai osztályozásnál szorosabban korreláló klasszifikáció (Perou et al. 2000): luminalis A, luminalis B, Her2 típusú és tripla-negatív csoportokat különítettek el. Az emlőrákos betegek esetében leggyakoribbak a csontban, a tüdőben és a központi idegrendszerben (KIR) kialakuló metasztázisok. **Célkitűzések, kérdések:** Azonos-e a primer tumor és a metasztázis immunfenotípusa? Az áttét szervi lokalizációja függ-e a primer daganat típusától? Az áttétek megjelenéséig eltelt idő mutat-e összefüggést az áttét helyével? **Betegek és módszer:** Összesen 37 csontáttétet, 20 tüdőáttétet, 14 központi idegrendszeri áttétet és a megfelelő 49 primer emlőrákot vizsgáltunk. A reprezentatív paraffinos blokkokból 2-2, egyenként 2 mm átmérőjű szövethengert helyeztünk az előre elkészített szöveti multiblokkokba (tissue microarray, TMA). HE metszeteket készítettünk és immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk Ventana immunfestő automatával a következő antitestek felhasználásával: ösztrogén receptor (ER), progeszteron receptor (PgR), Ki67, Her2 (CB11 antitest). Az immunhisztokémiai reakciók eredményei alapján következtettünk a tumorok genotípusára: az ER/PgR-pozitív, Her2-negatív és alacsony proliferációs rátával rendelkező daganatokat „luminalis A”, az ER/PgR-pozitív és Her2-pozitív vagy magas proliferációs rátájú daganatokat „luminalis B” csoportba soroltuk, továbbá elkülönítettük a Her2 típusú valamint a tripla-negatív, azaz ER/PgR/Her2-negatív csoportot.

Eredmények: A TMA-k metszése során bekövetkezett szövetvesztés miatt összesen 43 esetünkben állt rendelkezésünkre a primer daganat és a hozzá tartozó metasztázis: 28 eset a csont-, 6 a tüdő- és 9 a KIR-áttétes betegek közül. A primer daganatok közül, melyek *ossealis áttétet* adtak, 47% „luminalis A”, 15% „luminalis B”, 31% tripla-negatív és 6% Her2 típusú volt. A csontáttétek között azonban domináltak a tripla-negatív tumorok (61%). A *pulmonális áttétet* adó primer daganatok közül 86% tripla-negatív és 14% „luminalis B” volt. A tüdőáttétek között is domináltak a tripla-negatív tumorok (68%). Ebben a csoportban nem fordult elő Her2-pozitív primer- vagy metasztatikus daganat. A KIR-áttétet képező primer emlődaganatok közel fele „luminalis A”, 20%-a Her2 típusú, 30%-a tripla-negatív volt. Az agyi áttétek közül 28% Her2 típusú, 43% luminalis B (ebből 14% ER+/Her2+), a többi tripla-negatív volt. A *csontáttétes* betegek tumorának genotípusa az esetek felében azonos maradt, a 14 genotípust váltó daganat közül 10 tripla-negatív lett. A *tüdőáttétes* betegek tumorának genotípusa mind a 6 esetben azonos maradt (5 tripla-negatív). A *KIR-áttétképzés* során 4 esetben azonos maradt, 5 esetben változott a daganat genotípusa. A vizsgált betegcsoportban az *ossealis áttétet* adó daganatok többsége ER-pozitív, a *tüdőáttétet* adó daganatok döntő többsége ER-negatív volt. Eseteinkben az emlőrákok átlagosan 4 év múlva képeztek csont- és KIR-áttétet és 7 év múlva tüdőáttétet. **Következtetések:** Az emlőcarcinomák genotípusa a metasztatizálás során gyakran változik ($p=0,037$): leggyakoribb, hogy az ER-pozitív daganatok ER-negatívvá válnak. A tripla-negatív tumorok többsége azonban áttéteiben is megőrzi eredeti genotípusát. Az agyi áttétek között egyáltalán nem fordul elő „luminalis A”, viszont Her2 típusú áttét legnagyobb arányban az agyban fordul elő. Ennek magyarázata lehet, hogy a célzott molekuláris terápiás szer, a trastuzumab nem jut át a vér-agy gáton. Bár leggyakrabban az agresszív, tripla-negatív daganatok adnak tüdőáttétet, a metasztázis kialakulásáig eltelt idő ebben a csoportban a leghosszabb.

Ebben a témában munkacsoportunktól még nem jelent meg publikáció. Kutatásunkhoz engedélyt kaptunk a SE Tudományos és Kutatásetikai Bizottságától. (TUKEB 185/2007).

Témavezetők: Dr. Kulka Janina, Dr. Szász A. Marcell

Matlakovics Balázs ÁOK VI.

Semmelweis Egyetem Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet; Semmelweis Egyetem Radiológiai, és Onkoterápiás Klinika

A sinus, és atrioventricularis nodalis artériák jelentősége a stentimplantációban

Ischaemiás szívbetegségekben, szívműtétek, illetve stentimplantáció után gyakoriak a különböző arrythmiák, melyek okaként a sinus (SN) és atrioventricularis (AVN) csomók perfúziójának romlását feltételezik. Az irodalomban nem egyértelműen tisztázott ezen artériák eredési megoszlása, valamint a nodalis artériák identifikálása is problematikus, részben a képalkotó módszerek gyakran elégtelen felbontása, részben az ellentmondásos anatómiai leírások miatt. A stentimplantációt követően a mellékágak egy része spontán embolizálhat, vagy pedig a stent elzárhatja. Sok szerző Sinuatrial Nodal Artery-ként (SNA) egy másik, ugyanebben a régióban futó, azonban lényegesen nagyobb kaliberű arteriát, az Arteria Auricularis anastomotica Magnát (AAaM; Kugel-féle arteria) jelöli meg.

Célkitűzések: i) A SNA-k, illetve Atrioventricularis Nodalis artériák (AVNA) identifikálása, anatómiai feltérképezése. Feltétlen indokolt a vizsgálatot esetlegesen megtévesztő, a régióban futó, de a csomók vérellátásában részt nem vevő artériák elkülönítése is. ii) A SNA-k, és AVNA-k eredési megoszlásairól statisztika készítése. iii) A stentimplantáció rövid, és hosszú távú hatásainak vizsgálata a stentimplantált szakaszon kilépő mellékágak kaliberére.

Anvag és módszer: A post mortem CT angiographiás vizsgálatokat Lipiodol Ultrafluid 5%-os oldattal, illetve többkomponensű gyantapolymerral (Kiss M.-féle eljárás) végeztük. A szervekről először egy natív felvételt, majd Lipiodol-kontrasztanyag CT angiographiát végeztünk, és az érszűkületek AVA programmal mértük. A kontrasztanyag kimosása után a gyanta beinjektálására került sor, majd újabb CT vizsgálatot végeztünk. Egyes szerveket preparálásra, mások szövettani feldolgozásra, illetve korrodálásra kerültek.

Eredmények: i) Az angiographiás módszerekkel megjelenített, feltételezhetően Nodalis Artériák (NA) anatómiai helyét preparációval, és korróziós készítményeken lokalizáltuk. A sinus csomó régiójának szövettani vizsgálatával igazoltuk, hogy ezen artériák valóban a sinus csomót látják el, és a szövettani képeket a preparátumokkal, és a radiológiai képpel összevetve elemeztük. ii) Adataink szerint az összes SNA 48%-a ered a jobb, illetve a bal Kugel-féle artériából. Az összes SNA 73%-a a jobb coronariából ered az Ortale-féle R1 (50%) és R2 (23%) lokalizációban. Az esetek 55%-ában egyetlen ág látta el az SN-t, mely ágak döntő, 36%-a az Ortale-féle R1 lokalizációban ered. A fent említett pozíciók tipikus helyei a stentimplantationak. Az AV csomót az esetek 51%-ában egy, 43%-ában kettő, 3%-ában három artéria látja el. Ezen artériák eredhetnek az RCA distalis, vagy proximális szakaszából, az LCX-ből, a LAD-ból valamint a jobb ramus ventricularis posterolateralisból. iii) A mellékágak szűkületét figyelhettük meg a vizsgált 8 esetből hétszer, melyet feltehetően a neointima kialakulása okozott. Azt találtuk továbbá, hogy a mellékági szűkületek jól korrelálnak a mért instent restenosis mértékével. A stentimplantált estekben a kilépő összes mellékág 73%-a mutatott szűkületeket. Azokban az esetekben, ahol a stentimplantáció az NA-k területére esett, nem találtunk SNA-kat, illetve AVNA-kat.

Következtetések: Az eddig készült angiographiák, és korróziós preparátumok alapján statisztikát készítettünk SNA-k AVNA-k eredéséről. Lehetőség nyílik az SA, AV csomót ellátó artériák eredési megoszlásainak, és lefutásának feltérképezésére, ami a klinikumban hasznosítható jelentőséggel bírhat. Az irodalomban eddig közölt klinikai adatok alapján feltételezhető, hogy ezen artériák occlusio-ja okozhat arrythmiákat. Az általunk mért adatok alapján lehetséges tehát, hogy a NA-k eredési területére implantált stentek ronthatják az SA, AV csomók perfúzióját, tehát arrythmiák kialakulásához vezethetnek.

Molnár Gyöngyvér ÁOK IV, Ruttkay Tamás ÁOK III

Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Budapest
Alkalmazott és Klinikai Anatómiai Laboratórium

Az arc felületes rétegének sebészi anatómiája különös tekintettel annak muszkuloaponeurotikus rendszerére

Bevezetés: Az arc területén végzett helyreállító és plasztikai sebészeti beavatkozások eredményességének megítélésében a klasszikus funkcionális szempontok mellett egyre kiemeltebb helyet foglalnak el az esztétikai szempontok is. Az igazán jó eredmények eléréséhez a finom anatómiai részletek ismerete is egyre fontosabbá válik. Az elmúlt néhány évtizedben számos szerző tanulmányozta az arc fascia-rendszerét. 1976-ban Mitz és Peyronie bevezette a SMAS (Superficial Musculoaponeurotic System) fogalmát. Azóta több közlemény is vitatta ennek sebészi jelentőségét, sőt egyes szerzők a létét is. A kérdés leginkább az volt, hogy a SMAS rétege valóban preparálható-e, tehát a sebész tud-e vele önálló réteggént dolgozni. A szerzők többsége úgy találta, hogy ez a réteg sebészeti szempontból is valóban létezik. Több, elsősorban esztétikai műtét lényege a SMAS mobilizálásán alapszik.

Célkitűzés: Az arc rétegződésének, a SMAS és perforáns artériáinak bemutatása. A legújabb „face lifting” műtétek anatómiai alapjainak ismertetése.

Anyag és módszer: Az a. carotis externa feltöltése utána formalinban fixált arcon klasszikus anatómiai preparálást végeztünk. Fixálatlan cadavereken a SMAS rétegét és annak szalagszerű megerősődéseit, valamint ezeknek a platysmához való helyzetét vizsgáltuk. Szövetteni metszeteken az arc rétegeit tanulmányoztuk.

Eredmények és következtetések: Munkánk során mind a formalinnal fixált anatómiai készítményeken, mind a fixálatlan cadavereken a SMAS rétege és annak szalagszerű megerősődései jól preparálhatók és egyértelműen azonosíthatók voltak. A bemutatott struktúrák és ezek anatómiai viszonyainak ismerete segítségére lehet a plasztikai sebésznek a régióban való tájékozódásban valamint a szövődmények minimalizálásában.

Témavezető: Dr. Benis Szabolcs, Dr. Patonay Lajos

Az EGF- receptor epitóp-mintázat prediktív jelentősége különböző lokalizációjú fej-nyaki daganatokban

Magyarországon a fej-nyaki tumorok okozta halálozás a világon a legmagasabb. A jelenlegi terápiás lehetőségek (sebészi, kemo- és radioterápia) mellett, az esetek több mint felében lokális, vagy távoli áttét alakul ki, mely jelentősen rontja a túlélést. A fej-nyaki laphámsejtes tumorokban az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) fokozott expressziót mutat, ami rosszabb prognózissal társul. Az utóbbi évek kutatási eredményei alapján az EGFR célzott gátlása újabb lehetőséget kínál a kezelésben. Az EGFR egy transzmembrán régióval rendelkező tirozin-kináz aktivitású (TK) glikoprotein receptor, gátlására ligandkötődést-gátló monoklonális antitestek és az intracelluláris TK aktivitást gátló kismolekulák állnak rendelkezésre. Az EGFR leggyakoribb hibája ebben a lokalizációban az amplifikáció, valamint a ligand kötő rész jelentős hosszúságú hiánya (vIII mutáns).

Célkitűzés: EGFR epitóp mintázat feltérképezése laphám eredetű fej-nyaki (hypopharynx, glottikus, supraglottikus, nyelvgyöki és tonsilla eredetű) tumorokban, illetve az EGFR-gátlás vizsgálata *in vitro* és *in vivo* kísérletekben fej-nyaki tumorvonalakon.

Anyag és módszer: Összesen 81 műtéti blokkot dolgoztunk fel immunhisztokémiával, ebből 19 hypopharynx, 8 nyelvgyök, 10 tonsilla és 36 gége eredetű tumorból származott, illetve 8 esetben a primer tumorhoz tartozó metasztázist vizsgáltuk. Deparaffinálást követően, blokkonként négyféle epitóp-specifikus antitesttel (AT) vizsgáltuk a receptor különböző doménjeinek jelenlétét (ligand kötő régió: DakoCytomation Clone E30; extracelluláris membránközeli régió: Ventana 790-2988; intracelluláris domén: BioGenex, PU335-UP; tirozin-kináz domén 1086-os autofoszforilációs helye: Biosource 44-790). *In vitro* megvizsgáltuk különböző EGFR-TK inhibitorok (Gefitinib, Erlotinib), valamint az EGFR ellenes monoklonális antitest (Cetuximab), illetve RAS útvonalat gátló biszfoszfonát (Zometa) hatását PE/CA PJ15 és PJ41 humán nyelvgyökkarcinóma-sejtek proliferációjára. RT-PCR-el meghatároztuk a tumorsejtvonalak EGFR vIII mutációját, valamint RFLP-vel a lehetséges RAS mutációkat. *In vivo* állatkísérletben vizsgáltuk az Erlotinib és a Cetuximab hatását a xenograftok növekedésére SCID egerekben.

Eredmények és következtetés: Az immunhisztokémiai vizsgálatok alapján arra következtethetünk, hogy a különböző anatómiai lokalizációjú fej-nyaki laphámrákokban az EGFR epitóp-mintázata eltérő. Továbbá egy tumoron belül is a tumorsejtek EGFR expressziója nagyfokú heterogenitást mutat. A minták statisztikai kiértékelése azt mutatta, hogy a receptort fokozottan expresszáló tumorok prognózisa jelentősen rosszabb. A PJ15 sejtvonal vIII-mutáns EGFR-t expresszál, ennek megfelelően az *in vitro* proliferációja csak a TK inhibitorokkal volt gátolható, az antitest-terápia hatástalan maradt. Az EGFR gátló antitest kisebb mértékű kötődését a sejtekhez konfokális mikroszkópiával is igazoltuk. A vad típusú EGFR-t expresszáló PJ41 sejtvonal érzékenyebb volt az antitest-terápiára is, amelyet az *in vivo* xenograft modellkísérlet is megerősített. Mindkét sejtvonal vad típusú RAS-t expresszál, amelynek gátlása szignifikánsan csökkentette a sejtek *in vitro* proliferációs képességét.

Eredményeinkből az következik, hogy az EGFR státusz meghatározása fontos lehet a helyes anti-EGFR kezelési metódus kiválasztásában a fej-nyaki daganatok esetében is. Ezen felül érdemes lehet a RAS és az EGFR együttes gátlásának vizsgálata is, amely jobb terápiás válasz kialakulásának lehetőségét vetíti előre.

A bemutatott munka egy új téma első kísérleteinek eredményei, amelyből publikáció még nem jelent meg.

Témavezetők: Dr. Tóvári József, Dr. Szabó Balázs

Van-e jelentősége a HER2 poliszomiának és aneuszomiának emlőcarcinomákban?

Bevezetés: A HER2 státusz az emlőcarcinomák prognózisát és modern kezelését meghatározó tényező. Mai ismereteink szerint a HER2 gén amplifikációját mutató emlőcarcinomák alkalmasak korszerű, molekuláris alapú onkológiai kezelésre. Célzott kezelés csak az egyértelműen HER2 pozitív daganatok esetében indikált. A HER2 státusz megállapítása szigorú algoritmus szerint történik. Az első lépcső standardizált immunhisztokémiai (IHC) vizsgálat, amely a biztosan negatív (score 0 és 1+) és biztosan pozitív (3+) eseteket nagy pontossággal különíti el. A score 2+ esetekben FISH vizsgálat szükséges a HER2 gén amplifikációjának igazolására vagy kizárására. A jelenlegi ajánlások szerint a poli- vagy aneuszomiás esetek HER2 negatívnak tekintendők. **Célkitűzésünk** a jelen vizsgálatban az volt, hogy részletesen elemezzük azokat az eseteket, amelyekben a FISH vizsgálat a HER2 gén aneuszomiája, ill. poliszomiája volt megállapítható, mivel erre a lehetőségre az érvényes patológiai és onkológiai útmutatókban nincs utalás. **Betegek és Módszerek:** Intézetünkben 2004.01.01 és 2008.09.30 között 1219 emlőcarcinoma FISH vizsgálata történt. A HER2 IHC és FISH eredmény, a betegek kora, a tumor grade, TNM stádium, ösztrogén- (ER) és progesteron-receptor (PgR) státusz, Ki67 proliferációs marker és p53 pozitivitás adatait vizsgáltuk. Sebészi reszekátumok esetében jeleztük a daganat méretét és a Nottingham Prognosztikai Index (NPI) értékét is. Ezen paraméterek százalékos megoszlását vizsgáltuk a biztosan HER2+, a biztosan HER2-, illetve a HER2 génre nézve poli- és aneuszomiás esetekben. **Eredmények:** IHC vizsgálat: 730 carcinoma HER2 score 0, 120 score 1+, 183 score 2+, 125 score 3+. 61 esetben a reakció nem volt értékelhető. FISH vizsgálat: 221 carcinoma HER2 gén amplifikációt mutatott, 869 negatív volt, 40 esetünkben észleltünk poli- vagy aneuszomiát, 89 esetben a FISH sikertelen volt. Mivel az IHC score 0 és 3+ eseteink között csak egy-egy esetben fordult elő poliszómia, a továbbiakban csak a score 1+ és score 2+ eseteket (303) vizsgáltuk a többi paraméter szempontjából. Közülük FISH vizsgálat a 167 HER2 negatív (nem amplifikált, NA), 90 HER2 amplifikált (A), 38 poli- vagy aneuszomiás. A kor-megoszlás mindhárom csoportban azonos, a betegek 70%-a 50 év feletti. ($p=0,998$) A Grade I-es tumorok aránya a NA és a poliszómiás esetekben 10-10%, az A esetekben 5%, Grade II-es tumorok aránya a NA és a poliszómiás esetekben 53 ill. 50%, míg az A esetekben 30%, a Grade III-as tumorok aránya a NA ill. poliszómiás esetekben 37 ill 40%, az A esetekben 67%. ($p=0,0019$) 2 cm-nél nagyobb tumort találtunk a NA esetek 51-, a poliszómiás esetek 59-, ill. az A esetek 61%-ában. ($p=0,445$) A nyirokcsomó státusz a NA és poliszómiás esetekben 55 ill. 58 %-ban negatív volt, míg ez az A esetek csupán 44%-ról mondható el. ($p=0,493$) A legtöbb ER és PgR pozitív tumor a poliszómiás esetekben fordult elő, 85,2 ill. 55,5% arányban ($p=0,00003$ ill. 0,0002). Poliszómiás eseteinkben a proliferációs ráta az esetek közel kétharmadában $> 20\%$ ($p=0,0019$), a p53 pozitív tumorok aránya pedig 25%. ($p=0,0223$) **Következtetések:** A HER2 gén poli- és aneuszomiás emlőcarcinomák több szempontból köztes csoportot képviselnek a biztosan HER2 negatív és biztosan HER2 amplifikált daganatok között: az ER és PgR státusz, az átlagos proliferációs ráta és a p53 pozitív tumorok aránya köztes értéket mutat. Az ilyen tumorok grade megoszlás, nyirokcsomó státusz szempontjából közelebb állnak a HER2 negatív daganatokhoz, de a pT2 tumorok ($>2\text{cm}$) előfordulási gyakorisága szempontjából inkább a HER2 amplifikált daganatokhoz hasonlók. Mindezek alapján tervezzük ebben a betegcsoportban a betegkövetési adatok elemzését is, így remélhető, hogy a HER2 gén poli- és aneuszómia valódi biológiai jelentőségét tisztázni lehet. A témában még nem jelent meg közleményünk. Témavezető: Dr. Kulka Janina és Dr. Lotz Gábor

Szuák András ÁOK VI.

Semmelweis Egyetem, Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet¹, Radiológiai és Onkoterápiás Klinika²

A női test szeletanatomiája – a testszeletek computer tomográfias és mágneses rezonanciás feldolgozása

A képalkotó vizsgálatok a klinikumban széles körben elterjedtek, a mindennapi diagnosztikai gyakorlat részét képezik. Az orvostanhallgatók a testtel háromdimenziós struktúraként találkoznak a boncteremben. Sürgetően időszerű, hogy már az anatómia oktatása során felkészítsük a medikusokat, a kétdimenziós virtuális ábrázolásokon való tájékozódásra.

Célkitűzés: Az oktatás feltétele egy szeletanatómiai, a valós testszeletekről készült felvételeket tartalmazó jegyzet, ami tartalmazza ugyanezen szeletekről készült CT és MR felvételeket. Mint minden anatómiai atlasz, ez is úgy használható fel legcélszerűbben, ha a medikusok a gyakorlatok során kézbe véve a szeleteket, azonosíthatják a szeletanatómiai jegyzetben látható valós és virtuálisan megjelenített képleteket. Ezért hosszú távon használható, állagát megtartó testszelet preparátumok készítése indokolt.

Módszerek: A szeleteket digitális kamerával lefényképeztük, majd a szeletekről CT és MR felvételeket készítettünk. A szeletek megőrzésére a Günther von Hagens által 1982-ben leírt plasztinációs eljárást alkalmaztunk. A 1,5 cm vastag testszeleteket acetonnal víztelenítettük, szilikongumival impregnáltuk, majd gázközegben keményítettük.

Eredmények: Az előző évi konferencia során beszámoltam a női test szeletanatómiájának kezdeti munkálatairól. Az elmúlt év során lehetőségem nyílt tovább folytatni a testszeletek computer-tomográfias (CT) és mágneses rezonanciás (MR) vizsgálatát. Jó térbeli felbontású képeket kaptunk a testszeletek postmortem CT vizsgálatokor, a csontos struktúrák jól elkülönülnek, a zsírt tartalmazó szöveti részek az egyéb lágyrészekről jól eldifferenciálhatók. A mozgó protonok detektálásán alapuló mágneses rezonancia vizsgálattal a vizes közegű szöveti struktúrák kiválóan differenciálhatók lettek. A csontos struktúrák éppen ezért kevésbé vizsgálhatók. Az agy fehér- és szürkeállománya jól megkülönböztethető. Az izomkompartmentek és zsírtartalmú szöveti részek jól elkülönültek. Mind a CT, mind az MR felvételeken a légtartalmú lumenek jól vizsgálhatók.

Mivel MR felvételeket csak nedves preparátumokról lehet készíteni, és a plasztinációs eljárás a preparátum teljes víztelenítésével jár, csak ezután kezdhették meg a 9-12 hónap hosszúságú plasztinálást. A plasztinált szeletek előnye: nem sérülékenyek, tárolásuk egyszerű, nem rákkeltők, nincs kellemetlen szaguk, és kesztyű nélkül is szabadon tanulmányozhatóak. A szeletanatómiai jegyzetet a női test fej-nyaki, mellkasi, hasi, felső és alsó végtagi régióiból szelektált reprezentatív szeletek, struktúrajelöléssel ellátott fotóiból és az adott szeletekhez tartozó radiológiai felvételekből állítottuk össze.

Az elmúlt évben minden szeletről elkészültek a CT és MR felvételek, illetve a szeletekről professzionális minőségű fotók is készültek. A plasztinálás folyamata szintén elkezdődött. Az eljárás hosszú időt (9-12 hónap) vesz igénybe, ezért a plasztinált készítmények várhatóan csak jövőre készülnek el.

Témavezető: Dr. Nemeskéri Ágnes¹, Dr. Karlinger Kinga²

A TCPOBOP primer mitogénre adott proliferációs válasz vizsgálata fibrotikus egérmájban

Felnőtt állatok májában a hepatocyták osztódása előidézhető a máj egy részének eltávolításával vagy úgynevezett primer hepatocytá mitogénekkal. A két különböző módon kiváltott proliferatív válasz szabályozásában fontos eltérések vannak. A parciális hepatectomiával kiváltott regeneratív válasz idős állatokban jelentősen csökken. Ezzel szemben a primer mitogének hatását az életkor nem befolyásolja, ami felveti klinikai alkalmazásuk lehetőségét, idős embereken végzett májműtétek után.

A máj regeneráció szintén kevésbé hatékony fibrotikus, cirrhotikus májakban, ezért megvizsgáltuk, hogy ez a körülmény befolyásolja-e a primer mitogének hatását.

Hím C₅₇ Black egerekben krónikus CCl₄ illetve Thioacetamid adagolásával váltottunk ki májcirrhotist. A fibrogén hatású vegyszer adagolásának leállítását követően 3 mg/kg TCPOBOP nevű primer hepatocytá mitogénnel kezeltük az egereket.

A sejtproliferáció mértékét a hepatocyták DNS-ébe beépült BrdU immunhisztokémiai detektálásával határoztuk meg.

A cirrhotikus májakban a proliferáció kis mértékben magasabb, mint a kontroll állatokéban. Irodalmi és saját eredményeink szerint is a TCPOBOP kezelést követően a DNS szintézis csúcsa a hepatocytákban 36h körül van. A cirrhotikus májakban 36 órával a mitogén kezelést követően a pulse BrdU jelöléssel vizsgált proliferáció mértéke szignifikánsan elmaradt a kontroll májakon mért értékektől. Ha 4 napon keresztül az ivóvízben adott BrdU-val jelöltük meg az osztódáson átesett májsejteket, szintén mindkét vegszerrel előidézett cirrhosisban szignifikánsan alacsonyabb proliferatív pool volt kimutatható.

A TCPOBOP nevű primer hepatocytá mitogén két különböző vegszerrel előidézett májcirrhotisban is kevésbé bizonyult hatékonynak a sejtproliferáció előidézésében, mint kontroll májakban.

Ebben a témakörben még nem jelent meg közlemény munkacsoprtunktól.

Témavezető: Prof. Dr. Nagy Péter, Dr. Turányi Eszter

Tömböl Judit ÁOK V.

Semmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

ROR1 expresszió B-sejtes non-Hodgkin lymphomákon

A ROR1 az orphan receptorok családjába tartozó tirozin-kináz receptor, mely alapvető szerepet játszik az organogenezisben. Korábbi kutatások igazolták, hogy a receptor krónikus lymphoid leukémiás (CLL) sejtek felszínén is megjelenik, azonban más B-sejtes lymphomákon nem vizsgálták az expresszióját. 62 leukémiás vérképpel járó non-Hodgkin lymphomás esetet vizsgáltunk annak eldöntésére, hogy a ROR1 a CLL-en kívül más B-sejtes lymphomán is expresszálódik-e. A 62 mintából 30 CLL, 12 köpenysejtes lymphoma (MCL), 20 marginális zóna lymphoma (MZL) volt. A perifériás vérből és csontvelőből származó mintákat áramlás citometriával vizsgáltuk. A mérések során háromszínű festést használtunk. A lymphoma sejtek ROR1 expressziójának intenzitását a minták saját CD5+CD19- T-sejtjeihez és egészséges kontroll csoport mintáinak CD5+CD19+ B-sejtjeihez hasonlítottuk. A krónikus lymphoid leukémiás és a köpenysejtes lymphomás esetekből származó minták egyformán magas ROR1 expressziót mutattak. A CD5-CD19+ marginális zóna lymphoma sejtek felszínén mérsékelt, de a T-sejteken és a nem tumoros kontroll B-sejteken mértnél szignifikánsan magasabb ROR1 expressziót találtunk. Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a ROR1 expresszió nem tekinthető a CLL specifikus markerének, ezért B-sejtes lymphomák differenciál diagnózisára nem alkalmas. Azonban non-Hodgkin lymphoma sejteken való expressziója arra utalhat, hogy általános szerepe van a lymphomák kialakulásában és/vagy túlélésében.

G. Barna, B. Tímár, J. Tömböl, Zs. Csende, A. Sebestyén, R. Mihalik, A. Matolcsy. ROR1 expression in B-cell non-Hodgkin's lymphomas with leukemic blood picture (közlés alatt)

Témavezető: Dr. Barna Gábor

Az emlőrák diagnosztikában használt Her2 státusz meghatározási algoritmus alkalmazhatóságának vizsgálata húgyhólyagrákok esetében

Bevezetés, célkitűzések: Az emlőrákok esetében terápiás jelentőségű a Her2 státusz meghatározása, azonban más rosszindulatú daganatok, így a húgyhólyagrákok esetében is leírták már a Her2 gén amplifikációját. Célunk volt megvizsgálni, hogy az emlőrákok patológiai diagnosztikájában használt Her2 státusz meghatározási algoritmus alkalmazható-e a húgyhólyagrákok esetében is. Továbbá vizsgálni kívántuk, hogy a húgyhólyagrákokban előforduló Her2 amplifikáció a daganatos elváltozás kialakításában is szerepet játszó genetikai elváltozás, vagy megjelenése inkább a tumorfejlődés késői, számos kromoszómális aberráció és génhiba együttes előfordulásával jellemzett szakaszának része-e.

Módszer: A Semmelweis Egyetem ÁOK II. Patológiai Intézetének valamint a Pécsi Tudományegyetem ÁOK Patológiai Intézetének anyagából származó 72 urothelsejtes carcinoma (UCC), továbbá kontrollként 10 gyulladással, 1 hiperplasztikus és 1 jóindulatú daganatos hólyagelváltozás reprezentatív metszetein Novocastra CB11 primer antitest felhasználásával Ventana ES automata rendszeren elvégeztük a Her2 immunhisztokémiai (IHC) kimutatását. Ezekben a Her2 expressziót a rutin emlőrák diagnosztikában használt szemikvantitatív módon értékeltük (0-3+). Ugyanezen mintákból Ventana Benchmark automata rendszer segítségével a Her2 gén kópiaszámának meghatározására fluoreszcens in situ hibridizációs (FISH) vizsgálatot végeztünk, melyet szükség esetén 17-es kromoszóma kimutatással is kiegészítettünk. A Her2 IHC és FISH vizsgálatok adatait összevetettük a korábban ezen esetek vizeletcitológiai mintáin elvégzett, hólyagrák detektáló UroVysion FISH teszt eredményeivel.

Eredmények: A 72 UCC eset közül IHC módszerrel a Her2 expresszió 46 esetben (64%) volt 0-1+ /negatív/, 18 esetben (25%) 2+ /bizonytalan/ és 8 esetben (11%) 3+ /pozitív/. FISH módszerrel 6 UCC-ban (8%) észleltünk Her2 génamplifikációt, 29 esetben (40%) a 17-es kromoszóma számbeli eltéréssel magyarázható Her2 génkópia többszöröződést láttunk. A 8 db 3+ IHC eredményű eset közül 5 Her2 amplifikált volt, 3 pedig 17-es polisomiát mutatott. A 2+ esetek közül 1 volt Her2 amplifikált, 11 mutatott 17-es polisomiát, míg 6-ban egyik specifikus genetikai eltérés sem volt jelen. Az IHC negatív esetek között amplifikált nem volt, 17-es kromoszóma-többlet volt észlelhető Her2 FISH-el 13-nál. Az amplifikált esetekben a vizeletből származó tumorsejtek nagy hányadában volt észlelhető Urovysion módszerrel komplex genetikai eltérés (több kromoszóma többlet), és mindegyikük grade 3 fokozatú, T1 vagy T2 stádiumú volt. A kontroll esetek mindegyike IHC negatív volt, egyikükben sem találtunk Her2 gén felszaporodást vagy 17-es kromoszóma többletet, és az Urovysion teszt eredménye is negatív volt.

Következtetés: A húgyhólyagrákok között a Her2 amplifikáció jóval ritkább genetikai eltérés (8%), mint az emlőrákoknál ($\approx 30\%$), viszont a 17-es kromoszóma többlet gyakran előfordul ezen urothelsejtes carcinomákban. A rutin emlőrák diagnosztikában használt Her2 IHC értékelési módszer jól használható hólyagrákok esetében is, álnegatív eredményt nem ad, viszont a 3+ eseteket is érdemes Her2 FISH-el verifikálni. A Her2 és UroVysion FISH eredmények, továbbá a fokozat és stádium adatok összevetése alapján a hólyagrákok esetében a Her2 amplifikáció inkább a tumorfejlődés előrehaladottabb szakaszában fordul elő.

Irodalom: Riesz P, Lotz G, et al.; Detection of Bladder Cancer from the Urine using Fluorescence in situ Hybridization Technique. Pathol Oncol Res, 13(3):187-194, 2007.

Témavezető: Dr. Lotz Gábor, Dr. Kiss András

Immunszuppresszív szerek lymphoma ellenes hatása in vitro és in vivo

A szervtranszplantációban és az autoimmun betegségek kezelésében alkalmazott immunszuppresszív szerek a lymphocyták és egyéb gyorsan osztódó sejtek proliferációját eltérő módon gátolják. A mycophenolat mofetilből (MMF) in vivo felszabaduló mikofenolsav (MPA) gátolja az inozitol-monofoszfát-dehidrogenázt, a guanin-mononukleotid de novo szintézisét, így a lymphocytákban szelektíven, a salvage mechanizmus hiányában a DNS szintézis zavarához vezet. A Rapamycin az mTOR-kináz enzimet gátolja, amely fontos szerepet játszik a sejtek növekedésének, anyagcseréjének, és osztódásának szabályozásában - ezen keresztül a T és B lymphocyták funkciójára is hat. Előbbi a szervtranszplantációs immunszuppresszív kezelésben alkalmazható vegyületek hatását lymphoma sejtek esetében vizsgáltuk munkánk során. A munkacsoport korábban jellemezte a MPA in vitro és in vivo a sejtproliferációt gátló, apoptotikus hatásait diffúz nagy B-sejtes lymphomákban. Kísérleteinkben a rapamycin lymphoma ellenes hatásait és MPA Hodgkin lymphoma sejtekre gyakorolt hatásait vizsgáljuk in vitro és in vivo.

Módszerek: In vitro szövettenyésztés – humán Hodgkin (KMH2) és non-Hodgkin lymphoma (NHL, HT58) lymphoma sejteken rapamycin (50 ng-10 μ g), MPA (0.05-50 μ M) és Rituximab 1-10 μ g (anti-CD20) kezelés dózis és idő függő (0-72h) hatásait vizsgáltuk. A sejtciklus változásait és apoptózis mértékét áramlási citometriával detektáltuk. A megfigyelhető apoptózis morfológiai vizsgálatát cytospin lemezekon is elvégeztük. Az in vivo vizsgálatokat subcutan HT58 NHL, illetve egy újonnan létrehozott Hodgkin lymphoma xenograft (KMH2) modell kialakításával végeztük (SCID egerek). In vivo az állatokat az oltást követően (2. naptól) vagy a tapintható, jól mérhető tumorok megjelenésétől kezdtük kezelni (Rapamycin/Rapamune - heti 5 \times 3mg/tkg, MMF/Cellcept heti 6 \times 100 mg/tkg, Rituximab/Mapthera heti 1 \times 4mg/tkg). A kezelés közben folyamatosan regisztráltuk a tumorok méretének és egerek súlyának változásait, majd a kísérlet végén mértük a tumorok tömegét és paraffinos blokkokat készítettünk. Morfológiai és immunhisztokémiai festésekkel karakterizáltuk az új KMH2 xenograft modellt illetve vizsgáltuk a kezelt és kezeletlen tumorok proliferációs, apoptotikus aktivitását és a tumorsejtek pS6, pp70S6K és pmTOR expresszióját.

Eredmények: A rapamycin esetében még a legnagyobb dózisokkal is csak proliferáció gátló hatást figyeltünk meg in vitro a különböző lymphomákban, míg in vivo az immunszuppresszív kezeléseknél megfelelő dózisok is jelentős tumornövekedést gátló és apoptózist indukáló hatást mutattak. A MPA esetében kimutattuk a Hodgkin lymphoma sejtek proliferáció gátló, és jelentős mértékű apoptózist indukáló hatásait in vitro. Mátrigél segítségével sikerült létrehoznunk KMH2 Hodgkin lymphoma sejtekből subcutan human lymphoma xenograftot SCID egerekben, ennek segítségével lehetségessé vált a MPA és rapamycin Hodgkin lymphoma ellenes hatásainak in vivo tesztelése is.

Diszkusszió: A rapamycin és MMF immunszuppresszív szerek lymphoma ellenes hatása in vivo állatkísérleteinkben bizonyítást nyert. Meglepő, hogy a rapamycin esetében ez a hatás jobban érvényesül in vivo, mint in vitro Hodgkin és non-Hodgkin lymphomákban egyaránt. In vitro eredményeink alapján a MPA non-Hodgkin lymphomában már bizonyított kemoterápiás hatásához képest, a Hodgkin lymphomás vizsgálataink esetében még hatékonyabb tumorelles hatásra számíthatunk. Eddigi eredményeink alapján ezek a szerek kemoterápiarezisztens lymphoid tumoroknál illetve a terápia sikertelensége esetén, az életminőséget alig befolyásoló mellékhatásaik révén, hosszútávú fenntartó kezeléseknél felhasználhatóak lehetnek.

Témavezető: Dr. Sebestyén Anna

Végyári Dóra, ÁOK, V. évf. , Doma Viktória, ÁOK, V. évf.

Semmelweis Egyetem, Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet, Budapest

Erythropoietin expresszió fejlődő patkány retinában

Nagy számú kísérletes eredmény bizonyítja, hogy az erythropoietin a klasszikus, vérképzést serkentő hatásán túl egy általános, a haemopoiesistől független szerepet is betölt. Expressziója nem korlátozódik a vesére, lokális termelődését számos szervben, így a retinában is leírták. Bár indukált patológiás körülmények között neuroprotektív, és antiapoptotikus hatással bír, a retinára gyakorolt normál élettani szerepe nem ismert. Kísérleteink során az erythropoietin retinális fejlődésre kifejtett fiziológiás hatásaira keressük a választ.

Korábbi munkánkban immunhisztokémiai módszerekkel kimutattuk, hogy az erythropoietin expressziója időbeni változást mutat a fejlődő Sprague-Dawley patkány retinában. A megszületést követő első napokban az erythropoietin expressziója a ganglionsejt rétegben volt kifejezett, majd a retina rétegződésével diffúz pozitív jel jelent meg a belső magvas réteg sejtjein és az elkülönülő külső plexiform rétegben. Felnőtt retinákban a ganglionsejtek mellett a belső magvas réteg sejtjei, a fotoreceptor beltágok és a plexiform rétegek jelölődtek a fejlődés alatt látottaknál alacsonyabb intenzitással erythropoietin ellenes antitesttel.

Újabb vizsgálatainkkal Western blot alkalmazásával igazolni tudtuk az erythropoietin immunhisztokémiával látott időbeli expressziós változásait. A korai posztnatális fejlődésre jellemző magas expressziós szintekkel szemben a felnőtt állatokban alacsony proteinszintet találtunk. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy az erythropoietin hatása nem korlátozódik a kóros folyamatokra, hanem a retina fejlődésében is fontos szerepet játszik.

Vizsgálatunk újabb fázisában mono- és poliklonális antitestek segítségével az erythropoietin termelődést szabályozó faktorok közül a HIF-1 α és HIF-2 α expressziós mintázatát térképezzük fel. Jelenleg is folyó in vitro kísérleteinkben rekombináns erythropoietin, ill. az azzal antagonistá hatású szolubilis erythropoietin receptor hatását vizsgáljuk organotipikus retinatenyészetekben. Az egyes sejtípusok fejlődésére gyakorolt hatást immunhisztokémiai módszerekkel, míg a feltételezett apoptosist gátló hatást TUNEL reakcióval vizsgáljuk.

Témavezető: Dr. Szabó Arnold

Az EGF receptoron keresztül aktivált szignál utak vizsgálata emlőrákokban

Az emlőrák világszerte népegészségügyi probléma. Hazánkban a harmadik leggyakoribb daganatos megbetegedés. Gyakorisága még mindig emelkedő tendenciát mutat, annak ellenére, hogy a betegség patogenezisééről és progresziójáról egyre többet tudunk és korszerű szűrő, diagnosztikai és célzott terápiás eljárások is rendelkezésre állnak.

A célzott terápia a daganat növekedésében, progressziójában, metasztázis képzésében szerepet játszó fehérjék blokkolásán keresztül hat. A célmolekulák (prediktív biomarkerek) jelenlétének diagnosztikus igazolása a megfelelő válaszkészségű betegcsoport kiválasztásának feltétele. A célzott hormonterápiára anti-ösztrogén hatású tamoxifent alkalmaznak. A célzott immunterápia az epidermális növekedés faktor receptor (EGFR) családba tartozó HER2 elleni antitest a transtuzumab (Herceptin) kezeléssel történik.

Bár az immunterápia indikációja, a fokozott HER2 termelés hátterében a gén amplifikációja is igazolható, általában csak az esetek felében érhető el terápiás hatás.

Ebben a munkában a receptor tirozin kinázok (RTK), köztük az EGFR receptor család által potenciálisan működtetett „down-stream” szignál utak (MAPK, lipid-kináz) elemeinek expresszióját és aktivitását emlőkarcinómák klinikopatológiai tulajdonságaival vetettük össze, a terápiás betegkiválasztásnál is hasznosítható megfigyelések reményében.

48 invazív emlőrák 144 formalinban rögzített, paraffinban ágyazott mintájából szöveti multiblokkot (TMA/”tissue microarray”) készítettünk, mely ideális nagy beteganyagon gyors és gazdaságos biomarker szűrésre/validálásra. A TMA metszeteken deparaffinálás és antigénfeltárás után polimer-peroxidáz módszerrel immunhisztokémiai reakciókat végeztünk. Az intracelluláris jelutak aktivitására a foszforilált célfehérjék kimutatásával következtettünk. Az értékelést hazai fejlesztésű digitális mikroszkóp (Mirax Scan, gyártó: 3DHISTECH; forgalmazó: Zeiss) és program (Mirax TMA Module) segítségével végeztük (1).

Pozitív korrelációt találtunk a daganatok EGFR expressziója és a foszforilált ERK1-2 mennyisége között, ami a MAP kináz szignál út preferált szerepére utal az EGFR-en keresztüli daganatnövekedésben.

A HER2 pozitív nem-bazális típusú esetek többségében (5/8 eset) a lipid-kináz jelút tűnik elsődlegesnek, amire a pBAD75 és -99 fokozott expressziója utal. A 19 HER2 negatív bazális daganatban, mindkét jelút aktivitása 11 esetben volt megfigyelhető, a lipid-kináz út 7 esetben a MAP-kináz út 1 esetben dominált.

A legrosszabb prognózisú emlőrákokban (bazális/HER2 pozitív, ill. hármas-negatív ER/PgR/HER2) mind a MAP kináz, mind a lipid kináz szignál út aktívnak bizonyult (3/3 ill. 2/2).

Luminális típusú daganatok nagy részében (9/16) szintén mindkét jelút aktivitását megfigyeltük, bár az összes mintánk ER negatív és Grade 3-as típusú, azaz szintén rossz prognózisú volt.

Eredményeinkből úgy tűnik, hogy a legrosszabb prognózisú emlődaganatokban több intracelluláris jelút aktivitása megfigyelhető, míg a kevésbé rossz prognózishoz inkább egy jelút dominanciája kapcsolható. Megjegyzendő, hogy a vizsgált jelutak aktiválásában egyéb RTK-ok (pl. IGFR, PDGFR) is szerepelhetnek, melyeket szintén vizsgálni kívánunk.

Az előadás témájában a témavezető vagy csoportja által megjelent publikáció

1. Krenacs T. Zsakovics I. Diczhazi C. Ficsor L. Varga VS. Molnar B. The potential of digital microscopy in breast pathology. Pathol Oncol Res 2008. Aug. 28. [Epub ahead of print]

Témavezető: Dr. Krenács Tibor