

Glikohisztokémiai és mikrovaszkularizációs prognosztikai faktorok tüdőrákban

Doktori (Ph.D) értekezés tézisei

Készítette:

Dr. Szőke Tamás
Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Klinika

Témavezető:

Dr. Horváth Ákos
Debreceni Egyetem
Általános Orvostudományi Kar
Sugárterápia Tanszék

Debrecen, 2005

RÖVIDÍTÉSEK

CI: konfidencia intervallum
 ECM: extracelluláris mátrix
 Gal-1: galektin-1
 Gal-1-KK: galektin-1-kötőkapacitás
 Gal-1-EX: galektin-1-expresszió
 Gal-3: galektin-3
 Gal-3-KK: galektin-3-kötőkapacitás
 Gal-3-EX: galektin-3-expresszió
 HBL: heparin-binding lectin
 HS: hialuronsav
 HS+Ca⁺⁺: hialuronsav kalciumtartalmú közegben
 MS: átlagos túlélési idő
 NSCLC: nem kissejtes tüdőrák
 SCLC: kissejtes tüdőrák
 Sv: felületfrakció
 Vv: volumenfrakció

1. BEVEZETÉS

Napjainkban a leggyakrabban előforduló és a legtöbb beteg halálát okozó rosszindulatú daganat a tüdőrák, amelynek gyakorisága az utóbbi 30 évben több mint négyszeresére nőtt. Hazánkban, 1970-ben 2530 új esetet regisztráltak, amely 14.5%000-es incidenciának felel meg. 2002-ben a felfedezett esetek száma 6361 volt, amely 62.4%000-es incidenciát jelez. A műtéti technika és radikalitás fejlődése, az újabb citosztatikus gyógyszerek megjelenése és egyre modernebb sugárterápiás kezelési lehetőségek ellenére a tüdőrák kezelése nem megoldott és az eddigi próbálkozások csak szerény eredményeket tudnak felmutatni: míg az 1960-as években az összes tüdőrákos betegre vonatkozóan az öt éves túlélés 5%-os volt, a multimodális kezelés fejlődésével – vagy ennek ellenére - ez az arány csak 14-15%-ra emelkedett 40 év alatt (1). A jobb prognózmeghatározás és ezáltal a multimodális kezelés korrektebb indikációja lehetőséget adhat arra, hogy a tüdőrák terápiájának eredményeit javítsuk. Számos olyan molekula szerkezetét és funkcióját ismerjük már, amelyeknek szerepe van a daganatos progresszióban (proliferációs markerek, onkogének, tumorszupresszor gének, növekedési faktorok, apoptózis markerek, vaszkularizáltság). Vizsgálatuk nemcsak a daganatok terjedésének jobb megismerését szolgálja, hanem alkalmasak lehetnek a tumoros betegség prognózisának megítélésére. A különböző folyamatokat jellemző prognosztikai faktorok kombinálásával pedig „substaging” rendszerek alakíthatóak ki (2).

Az utóbbi évtizedben a korábbi fehérje, nukleinsav és kisszámú szteroid jellegű információhordozó molekula mellett egyre többet tudunk meg a komplex szénhidrátokról. Fehérjékkel vagy lipidekkel történt kovalens kötésük révén prominens részét képezik a sejtfelszínnek, így ideális helyzetben vannak ahhoz, hogy a sejt-sejt és a sejt-mátrix interakciókban részt vegyenek. A glikokonjugátok szénhidrát építőpajai a differenciálódás, tumoros elfajulás vagy bizonyos molekulák, pl. citokinek vagy szteroidhormonok hatására kvantitatív vagy kvalitatív módon megváltozhatnak, és ennek szerepe lehet a progresszió fent említett folyamatának szabályozásában (3).

A lektinek vizsgálata hozzájárul ahhoz, hogy jobban megismerjük a tumorprogresszió egyes lépéseit. In vitro kísérleti eredmények a lektinek számos, a sejtnövekedésre és a tumorprogresszióra kifejtett hatását igazolták már eddig, amelyek érintik a sejtproliferációt, a sejtek adhéziós képességét, az angiogenezist és a metasztázisok kifejlődését (4-8).

A tumorok növekedéséhez megfelelő tápanyag és oxigénellátásra van szükségük. Az ehhez szükséges erek lehetnek a gazdaszervezet saját erei és lehetnek a tumorsejtek által termelt angiogenetikus faktorok hatására képződött új erek. A tumorsejtek hatására a proliferáló kapillárisok bazális membránja sérül, fragmentálódik, és így lehetővé válik, hogy a migráló tumorsejtek a legkisebb ellenállás irányába vándorolva bejussanak a vérkeringésbe (9). *Macchiarini* és kollégái írták le először az angiogenesis prognosztikai szerepét nem kissejtes tüdőcarcinománál (10), és azóta több vizsgálat is megerősítette ezt (2, 11, 12).

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Kimutatható-e összefüggés a tüdőrák pT, pN klasszifikációja, valamint a szövettani típus és a daganatok hialuronsav- és lektin-kötőkapacitása, ill. lektinexpressziója között?
2. A tüdőtumorsejteken kimutatható hialuronsav- és lektin-kötőkapacitás, valamint a lektinexpresszió mutat-e összefüggést a túléléssel és van-e prognosztikai szerepe?
3. Szintaktikai struktúraanalízissel kimutatható-e összefüggés a tüdőrák pT, pN klasszifikációja, valamint a szövettani típus és a lektinkötő- és lektinexpresszáló daganatok szöveti struktúrája között?
4. A hialuronsavkötő-, valamint a lektinkötő és expresszáló tüdő daganatok szintaktikai struktúraanalízissel jellemzett szerkezete mutat-e összefüggést radikálisan operált betegeknél a túléléssel és van-e prognosztikai szerepe?
5. A daganatok vaszkularizáltságának kvantitatív jellemzői és a tüdőrák pT, pN klasszifikációja, valamint a szövettani típus között mutatható-e ki összefüggés?
6. A tüdőrák vaszkularizáltsága befolyásolja-e a radikálisan operált betegek túlélését?

3. A TÜDŐRÁK KVALITATÍV ÉS KVANTITATÍV LEKTIN-IMMUNHISZTOKÉMIAI JELLEMZŐI ÉS ÖSSZEFÜGGÉSE A PROGNÓZISSAL

3.1. Beteganyag és módszer

Vizsgálataink során 481 radikálisan operált tüdőrákos beteg szövettani anyagát dolgoztuk fel, akiknél 1990. január 1. és 1995. december 31. között történt műtét. 246 beteget a heidelbergi Thoraxklinik mellkassebészeti osztályán, 235 beteget pedig a Szegedi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján operáltak. A betegek átlagéletkora 58.7 év volt, 390 férfi és 91 női betegnél történt műtét. A szövettani típusok megoszlása az alábbi volt: laphámcarcinoma 216 (44.9%), adenocarcinoma 178 (37%), nagysejtes carcinoma 67 (13.9%), kissejtes carcinoma pedig 20 (4.2%) volt. A daganatok közül 60 (12.5%) az I/A, 178 (37%) az I/B, 6 (1.2%) az II/A, 91 (19%) a II/B, 137 (28.5%) a III/A, 6 (1.2%) a III/B, 3 (0.6%) a IV stádiumba tartozott. A két központ beteganyagának paraméterei és a túlélés között nem találtunk szignifikáns különbséget, kivéve az életkort.

Paraffinba ágyazott szövettani készítményekből 4-6 µm-es metszeteket készítettünk és a deparaffinizálás után immunhisztokémiai festéseket végeztünk. A tumorsejtek lektinkötőkapacitását biotinilált galektin-1, galektin-3 és CL(chicken lectin)-16 segítségével vizsgáltuk. A hialuronsavkötő-kapacitás vizsgálata biotinilált hialuronsav-molekulákkal történt Ca^{++} -mentes és 8 mmol/l Ca^{++} -t tartalmazó közegben. A 10 µg/ml véghígítású ligandokkal szobahőmérsékleten 60 percig inkubáltuk a metszeteket. A lezajlott reakciókat avididin-biotin technikával (Vector Laboratories, USA), DAB chromogen felhasználásával tettük detektálhatóvá. A lektinexpresszió kimutatására nyúlban termelt galektin-1, galektin-3 és heparinkötő-lektin (HBL) ellenes IgG antitesteket használtunk. Az antitestkötődés detektálására nyúlimmunoglobulin ellenes monoklonális IgG alkalmazásával történt, ahol a

jelölőrendszer streptavidin-biotin komplex volt (BioGenex, San Ramon, USA). Ellenfestést végeztünk a tumorsejtek magjának megjelölésére. Pozitív és negatív kontrollmetszeteket használtunk.

A metszeteket rutin fénymikroszkópos vizsgálat során ugyanaz a patológus értékelte és nyilvánította negatívnak vagy pozitívnak a festődés erőssége szerint.

A festődést mutató tumorokat számítógépes képanalízis segítségével szintaktikai struktúraanalízisnek vetettük alá. A képfeldolgozás DIAS szoftver (Towersoft, Berlin) segítségével történt, amelyhez a felhasználói programot a heidelbergi Thoraxklinik patológiai osztályán írták. Első lépésben interaktív módon kijelöltük tumorsejtek és a tumorszövetben látott lymphocyták sejtmagjának közepét. Metszetenként legalább 300 tumorsejtet és 50 lymphocytát jelöltünk meg.

Clusterként olyan sejtsoportokat definiáltunk, ahol a sejtek közötti távolság nem haladja meg a sejtek közötti átlagos távolság (m) és a standard deviáció (sd) kétszeresének összegét ($d_0 \leq m(e_0) + 2sd(e_0)$). A strukturális entrópia meghatározása *Kayser* (13) módszerével történt a sejtek közötti távolság- és festődésbeli különbségek felhasználásával:

$$E(\text{MST}) = \Sigma[(D_i(\text{Ic})/\text{Ic}]^2 + [D_i(\text{r})/\text{r}]^2, \text{ ahol}$$

$D_i(\text{Ic})$ = a legközelebbi szomszédos sejtek festődése közötti különbség

Ic = az összes sejt átlagos festődése

$D_i(\text{r})$ = a legközelebbi szomszédos sejtek közötti távolság

r = a sejtek közötti átlagos távolság

A szintaktikai struktúraanalízis során az alábbi paramétereket határoztuk meg:

1. Nem festődő tumorsejtek aránya (%)
2. Közepesen festődő tumorsejtek aránya (%)
3. Intenzíven festődő tumorsejtek aránya (%)
4. Tumorsejtek átlagos távolsága egymástól (μm)
5. Nem festődő tumorsejtek átlagos távolsága egymástól (μm)
6. Közepesen festődő tumorsejtek átlagos távolsága egymástól (μm)
7. Intenzíven festődő tumorsejtek átlagos távolsága egymástól (μm)
8. Lymphocyták távolsága egymástól (μm)
9. Nem festődő tumorsejtek átlagos távolsága a lymphocytáktól (μm)
10. Közepesen festődő tumorsejtek átlagos távolsága a lymphocytáktól (μm)
11. Intenzíven festődő tumorsejtek átlagos távolsága a lymphocytáktól (μm)
12. Tumorsejtek átlagos száma clusterenként
13. Nem festődő tumorsejtek átlagos száma clusterenként
14. Közepesen festődő tumorsejtek átlagos száma clusterenként
15. Intenzíven festődő tumorsejtek átlagos száma clusterenként
16. Tumorsejtclusterek átlagos átmérője (μm)
17. Nem festődő tumorsejtek alkotta clusterek átlagos átmérője (μm)
18. Közepesen festődő tumorsejtek alkotta clusterek átlagos átmérője (μm)
19. Intenzíven festődő tumorsejtek alkotta clusterek átlagos átmérője (μm)
20. Strukturális entrópia

A kapott eredményeket összevetettük a pT, pN státuszokkal, valamint a szövettani eredményekkel és a túlélési adatokkal. Az adatok statisztikai feldolgozását chi-négyzet próbával és ANOVA-val, a Kaplan-Meier módszerrel és Cox regressziós analízissel végeztük.

3.2. Eredmények

3.2.1. Kvalitatív lektinhisztokémiai eredmények összefüggése a pT, pN klasszifikációval és a szövettannal

Az előrehaladottabb nyirokcsomó metasztázisok esetén a galektin-1- és galektin-3-kötő, valamint galektin-1-expresszálo tumorok aránya diszkrét növekedést mutat, amely statisztikailag nem jelentős. A galektin-3-expresszió a pN0 tumorok esetén gyakoribb, mint pN1-2 daganatoknál. A galektin-1-kötőkapacitással rendelkező tumorok aránya csökken, míg a galektin-1-expressziót mutató daganatok aránya fokozatosan növekszik az előrehaladottabb pT státusznak megfelelően. Ezzel szemben a galektin-3-kötő ill. galektin-3-expresszálo daganatok aránya a pT státusz emelkedésével csökken, az utóbbi esetben szignifikáns mértékben ($p=0,001$).

A CL-16 kötőkapacitás nem mutat semmilyen összefüggést sem a nyirokcsomó státusszal, sem a pT klasszifikációval. A HBL-pozitivitás legnagyobb arányban a T2 tumoroknál látható, mintegy 10%-kal kisebb a pozitív esetek száma a T1 és T3 tumoroknál ($p=0,006$). A nyirokcsomóáttétek nem mutattak statisztikailag jelentős kapcsolatot a HBL-expresszióval.

A hialuronsavkötő tumorok aránya emelkedik az előrehaladottabb nyirokcsomóáttétek esetén, de a különbség nem szignifikáns. Az előrehaladottabb pT stádiumokban nem szignifikánsan, de csökken a hialuronsavkötő tumorok aránya mind Ca^{++} -mentes, mind Ca^{++} -t tartalmazó közegben.

A kissejtes tüdőrákos betegeknél minden vizsgálati sorban a festődést mutató esetek aránya lényegesen alacsonyabb volt, mint a nem kissejtes tüdőrákos csoportban. 5 vizsgálati sorban (galektin-1 és -3 expresszió, valamint galektin-3-, HBL- és CL-16-kötőkapacitás) esetében a különbség statisztikailag is szignifikáns volt. Azonban a különbség nem csak az SCLC és NSCLC esetek között detektálható. A galektin-1-expresszió kivételével a pozitív esetek aránya az adenocarcinomák között lényegesen magasabb, mint a laphámcarcinomás vagy nagysejtes tüdőrákos csoportban. A legnagyobb különbséget a galektin-3-kötőkapacitás és -expresszió esetén láttuk (kb. 15%, ill. kb. 20%), valamint a galektin-1-expresszióval ($p=0,022$) és a CL-16-nál ($p=0,043$) észleltünk statisztikailag jelentős különbséget a festődés megoszlásában az egyes szövettani csoportok között a NSCLC csoporton belül.

3.2.2. *Kvalitatív lektinimmunhisztokémiai eredmények összefüggése a túléléssel*

A galektin-1-et nem expresszálo tumorok medián túlélése (MS) 48.8 hónap, míg pozitív festődés esetén a medián túlélési idő 35 hónap ($p=0,027$). A galektin-3-kötő tumoroknál a pozitív esetekben 35.3 hónap, a negatív esetekben 45.9 hónap a MS ($p=0,039$). A galektin-1-kötőkapacitás és a galektin-3-expresszió esetén szintén a negatív festődésű tumorok túlélése jobb, de különbség a negatív és pozitív esetek között nem bizonyult szignifikánsnak. A galektin-1-kötő tumoroknál a MS 40 hónap, a galektin-1 negatív esetekben 46 hónap ($p=0,368$), a galektin-3-expresszálo daganatoknál ez az érték 42 hónap, míg a nem festődő eseteknél 44 hónap ($p=0,225$). A MS értéke túlélés a CL-16 kötő tumoroknál 40 hónap, a kötőkapacitással nem rendelkező daganatoknál 46 hónap ($p=0,391$). A HBL-expresszálo daganatok túlélése jobb (MS: 44 hónap), mint a negatív eseteké (MS: 29,2 hónap), a különbség azonban nem jelentős statisztikailag ($p=0,5083$). Önmagában a hialuronsavkötőkapacitás rontja a túlélés esélyeit (MS: 33.66 hónap vs. 44 hónap), addig a kalciumtartalmú közegben a hialuronsavkötő daganatok túlélése meghaladja a negatív esetekét (MS: 51 hónap vs. 40.6 hónap). A túlélésbeli különbségek nem szignifikánsak.

A klasszikus prognosztikai faktorokat (pT, pN és szövettan) és a lektinimmunhisztokémiai eredményeket magában foglaló többváltozós analízis során a szövettan ($p=0,003$), a pT ($p=0,003$), a pN ($p<0,0001$), valamint a galektin-3-kötőkapacitás ($p=0,01$, RR: 0.736) és a galektin-3-expresszió ($p=0,03$, RR: 0.761) bizonyult független prognosztikai faktornak. A relatív kockázatot is figyelembe véve, ez a kapcsolat a pT és pN klasszifikációhoz hasonló

prognosztikai erősséget jelez. A NSCLC csoporton belül a pT ($p=0.007$), a pN ($p<0.001$) és a galektin-3-kötőkapacitás ($p=0.011$, RR: 0.734) bizonyult független prognosztikai faktornak.

3.2.3. Kvantitatív lektinimmunhisztokémiai eredmények összefüggése a pT, pN klasszifikációval és a szövettani típussal

A galektin-1-kötő daganatoknál az előrehaladottabb pT esetén az intenzíven festődő tumorsejtek aránya szignifikáns mértékben fokozatosan csökken. Az intenzíven festődő sejtek távolsága az előrehaladottabb pT stádiumokban szignifikánsan növekszik. A nyirokcsomó-metasztázisok megjelenésével a galektin-1-kötő tumorok strukturális jellemzői nem mutatnak összefüggést.

Mind a közepesen, mind az intenzíven festődő tumorsejtek távolsága szignifikánsan különbözik a különböző szövettani típusokban. A legkisebb távolságokat a kissejtes tüdőrák esetén mértük, legnagyobb sejtközötti távolság a nagysejtes carcinománál észlelhető. A sejtklusterenkénti legnagyobb sejtszámot a kissejtes carcinomák esetében találtuk. A sejtklusterek átmérője a kissejtes tüdőrák esetén a legkisebb, a közepesen festődő tumorsejteknél ez a különbség szignifikánsnak bizonyult.

A galektin-3-kötő daganatoknál egyetlen paraméter sem mutat egyértelmű csökkenést vagy emelkedést a pT stádium emelkedésével. Szignifikáns eltérést találtunk a közepesen festődő tumorsejtek alkotta clusterek sejtszámában, ahol a pN1 esetén volt a legnagyobb átlagos sejtszám. Az intenzíven festődő tumorsejtek aránya legmagasabb a laphámcarcinománál, míg az adenocarcinomáknál és a nagysejtes carcinománál szignifikánsan alacsonyabb. Az entrópia értéke az adenocarcinomáknál a legnagyobb, a nagysejtes carcinomáé valamivel kisebb, legalacsonyabb a laphámcarcinománál. A nem festődő daganatsejtek és a lymphocyták átlagos távolsága a nagysejtes carcinomáknál kb. háromszor akkora, mint az adenocarcinománál ($p=0.029$).

A galektin-1-expresszáló daganatoknál az előrehaladottabb pT stádiumokban a tumorsejtek közötti távolság szignifikánsan ($p=0.026$) emelkedik. Ez az emelkedés megfigyelhető a különböző festődésű alcsoportokban is, de nem szignifikáns mértékben. A clusterenkénti sejtszám mind az összes, mind a közepesen festődő tumorsejtek esetén szignifikánsan ($p=0.016$, ill. $p=0.028$) csökken a pT2 és pT3 stádiumokban. A nyirokcsomóstátusszal csak a tumorsejtklusterek növekvő átmérője mutat szignifikáns összefüggést ($p=0.034$).

A negatív tumorsejtek aránya a differenciálatlanabb nagysejtes carcinománál magasabb, mint a laphámcarcinománál és az adenocarcinománál ($p=0.019$). A tumorsejtek távolsága a laphámcarcinománál legkisebb és szignifikánsan nagyobb az adenocarcinománál és a nagysejtes ráknál ($p=0.001$). Hasonló tendenciát lehet megfigyelni a közepesen festődő tumorsejtek távolságánál ($p=0.001$). A tumorsejtklusterek ($p=0.011$), ill. a nem festődő tumorsejtcsoportok átmérője ($p=0.002$) a nagysejtes carcinománál lényegesen nagyobb, mint a laphám- és az adenocarcinomáknál. Az entrópia értéke a laphámcarcinománál alacsonyabb, mint az adeno- vagy nagysejtes carcinománál, ahol az értékek hasonlóak ($p=0.029$).

A galektin-3-expresszáló tumoroknál is megfigyelhető, hogy a pT emelkedésével a tumorsejtek közötti távolság is növekszik. Nem szignifikáns mértékben, de a közepesen és intenzíven festődő tumorsejtek közötti távolság is növekszik az előrehaladottabb pT stádiumokban. Az entrópia a nyirokcsomó-negatív esetekben szignifikánsan kisebb, mint a nyirokcsomó-metasztázisok esetén ($p=0.021$). Az intenzíven festődő tumorsejtcsoportok átlagos sejtszáma legnagyobb az N1 metasztázisok esetén, legkisebb a nyirokcsomó metasztázissal nem járó esetekben ($p=0.034$). A nem kissejtes carcinomáknál a tumorsejtek, valamint a közepesen és az intenzíven festődő daganatsejtek közötti távolság a laphámcarcinománál a legkisebb, az adeno- és a nagysejtes carcinomáknál nagyobb távolságokat találunk ($p<0.001$, ill. $p=0.003$). A SCLC eseteknél a sejtek közötti távolság kisebb, mint az adeno- és nagysejtes carcinomáknál.

A CL-16-kötő daganatoknál csak a negatív tumorsejtek távolságában találtunk szignifikáns különbséget ($p=0.034$). Legnagyobb távolságot a pT1 tumoroknál találtuk, míg a pT2 tumoroknál ez az érték kisebb, mint a pT3 daganatoknál. A strukturális jellemzők a nyirokcsomóstátusszal nem mutattak kapcsolatot. A nem festődő tumorsejtek aránya a laphám- és a kissejtes carcinománál 25-40%-kal kisebb, mint a másik két szövettani típusnál ($p=0.04$). A tumorsejtek, az intenzíven festődő, ill. a közepesen festődő tumorsejtek közötti átlagos távolság legnagyobb a nagysejtes carcinománál. A többi típushoz képest nagyobb az átlagos távolság az adenocarcinomáknál, míg a laphám- és kissejtes carcinoma esetén találtuk a legkisebb távolságokat mindhárom paraméternél ($p<0.001$, $p<0.001$ és $p=0.012$). A tumorsejtclusterek, valamint a közepesen és az intenzíven festődő tumorsejtek alkotta clusterek sejtszámai a laphámcarcinománál és a kissejtes carcinománál nagyobb, míg a NSCLC-en belül az adenocarcinoma és a nagysejtes carcinoma sejtszámok átlagosan kevesebb sejtet tartalmaznak ($p=0.007$, $p=0.009$ és $p=0.012$).

A HBL expresszálo daganatoknál a különböző paraméterek közül egyik sem mutatott szignifikáns összefüggést sem a pT, sem a pN klasszifikációval. A nem festődő tumorsejtek aránya a laphámcarcinománál a legkisebb, míg ugyanitt a legnagyobb az intenzíven festődő sejtek aránya. Pontosan fordított helyzet látható a nagysejtes carcinománál. A tumorsejtek közötti átlagos távolság a nagysejtes carcinomáknál a legnagyobb, a laphámcarcinománál a legkisebb ($p<0.001$). Hasonló tendencia látható a közepesen és az intenzíven festődő tumorsejtek átlagos távolságánál ($p<0.001$, ill. $p=0.001$), ahol a makrocelluláris carcinomasejtek átlagos távolsága felülmúlja az adenocarcinoma és a laphámcarcinoma sejtszámok átlagos távolságát. A clusterenkénti tumorsejtszám a nagysejtes carcinománál mintegy 30%-kal alacsonyabb, mint a laphámcarcinománál vagy az adenocarcinománál ($p=0.006$). A közepesen és az intenzíven festődő sejtek alkotta clusterek esetén is a macrocelluláris carcinomás betegeknek a sejtszám jelentősen kisebb ($p<0.001$, ill. $p<0.001$). Az adenocarcinomás esetekben észleltük a legnagyobb entrópiát ($p<0.001$).

A hialuronsav-kötő tumoroknál a pT klasszifikáció és szintaktikai struktúraanalízis eredményei között nem találtunk összefüggést. A pN1 stádiumban a közepesen festődő tumorsejtek és a tumorszövetben található lymphocyták közötti távolság szignifikánsan nagyobb, mint a pN0 vagy pN2 stádiumban ($p=0.003$). Más paraméterek és a pN között nem találtunk kapcsolatot. A macrocelluláris carcinomáknál tumorsejtek közötti távolság kb. 20%-kal nagyobb, mint a laphám- és adenocarcinománál ($p=0.001$). A közepesen és intenzíven festődő daganatsejtek közötti átlagos távolságnál is ilyen arányú különbséget látunk ($p=0.003$, ill. $p=0.002$). A közepesen és az intenzíven festődő sejtek clustereinek sejtszáma a laphámcarcinomában nagyobb, az adeno- és nagysejtes carcinomában fokozatosan csökken ($p=0.002$, ill. $p=0.001$). Az entrópia itt is az adenocarcinomáknál a legnagyobb, a nagysejtes ráknál az entrópia értéke kissé csökkent, a laphámcarcinománál viszont jelentősen csökkent ($p=0.006$).

Azon tumoroknál, amelyek kalciumtartalmú közegben kötnek hialuronsavat, sem a pT, sem pN klasszifikáció nem mutatott összefüggést a szintaktikai struktúraanalízis eredményeivel.

A tumorsejtek közötti átlagos távolság legkisebb a laphámráknál, a legnagyobb értékű macrocelluláris carcinománál ($p=0.002$). A közepesen festődő sejtek közötti távolság hasonló tendenciát mutat, itt a különbség kb. 4 μm ($p<0.001$). Ezzel függhet össze, hogy a közepesen festődő sejtek clustereinek átlagos átmérője a laphámcarcinománál a legnagyobb (34.18 μm), a nagysejtes ráknál a legkisebb (16.75 μm) ($p=0.027$).

3.2.4. A túlélés és szintaktikai struktúraanalízis eredményeinek összefüggése

Az 1. táblázatban tüntettük fel azokat a paramétereket, amelyek szignifikáns kapcsolatot mutattak a prognózissal. Feltűnő, hogy 5 esetben a tumorsejtclusterek átmérőjének

növekedésével javult a túlélés. A túlélést leginkább a hialuronsav-kötő tumoroknál észleltük, ahol a nem festődő daganatsejtek alkotta clusterok sejtszámának növekedése jobb prognózissal jár (RR: 0.949). A legszorosabb összefüggést az intenzíven festődő tumorsejtclusterok átmérője mutatja a túléléssel ($p < 0.001$)(táblázat).

	Halál relatív kockázata	95%-os CI			p
Galektin-3-kötőkapacitás					
Negatív tumorsejtek távolsága	0.9872	0.9757	-	0.9988	0.031
Negatív tumorsejt clusterok átmérője	0.9923	0.9848	-	0.9999	0.046
Galektin-3-expresszió					
Intenzíven festődő tumorsejt clusterok átmérője	0.9925	0.9866	-	0.9984	0.013
Hialuronsav-kötőkapacitás					
Negatív tumorsejt clusterok átmérője	0.9906	0.9831	-	1.0077	0.015
Közepesen festődő tumorsejt clusterok átmérője	0.9845	0.9698	-	1.0198	0.043
Hialuronsav-kötőkapacitás Ca⁺⁺-tartalmú közegben					
Lymphocyták távolsága	0.9903	0.9829	-	0.9978	0.011
Szomszédos negatív tumorsejtek és lymphocyták távolsága	0.9687	0.9446	-	0.9935	0.014
Negatív tumorsejtek száma clusterenként	0.9492	0.9045	-	0.9960	0.034
Intenzíven festődő tumorsejt clusterok átmérője	0.9731	0.9584	-	0.9882	0.000

1. táblázat. A szintaktikai struktúraanalízis eredményeinek összefüggése a túléléssel tüdőráknál (a táblázatban csak a szignifikáns eltéréseket tüntettük fel)

A 2. táblázatban tüntettük fel, hogy a különböző paraméterek milyen irányban befolyásolják a betegek prognózisát. A nem festődő tumorsejtek átlagos távolsága adja az egyik legkoherensebb eredményt. A nyolcból 6 próbánál a prognózis javulását láttuk, ha a sejtek közötti távolság növekedett. A galektin-3-kötő tumoroknál ez az összefüggés statisztikailag is jelentős. Érdekes, hogy a galektin-1-kötő tumoroknál a sejtek közötti távolság növekedése festődéstől függetlenül javítja a túlélést, míg HS+Ca⁺⁺ esetén a sejtávolságok növekedésével romlik a prognózis.

	Gal-1-KK	Gal-3-KK	Gal-1 EX	Gal-3 EX	CL-16	HBL	HS	HS+Ca ⁺⁺
Negatív tumorsejtek aránya	↓	↓	↑	↑	↑	↓	↑	↓
Intenzíven pozitív tumorsejtek aránya	↑	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↑
Tumorsejtek távolsága	↓	↓	↓	↑	↓	↓	↑	↑
Negatív tumorsejtek távolsága	↑	↑↑	↓	↑	↑	↑	↑	↓
Közepesen pozitív tumorsejtek távolsága	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↓	↓
Intenzíven pozitív tumorsejtek távolsága	↑	↑	↓	↑	↑	↓	↓	↓
Lymphocyták távolsága	↓	↓	↑	↓	↑	↑	↓	↑↑
Szomszédos negatív tumorsejtek és lymphocyták távolsága	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↓	↑↑
Szomszédos közepesen festődő tumorsejtek és lymphocyták távolsága	↑	↑	↑	↓	↑	↓	↓	↑
Szomszédos intenzíven festődő tumorsejtek és lymphocyták távolsága	↑	↑	↓	↑	↓	↓	↑	↓
Tumorsejtek száma clusterenként	↑	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↓
Tumorsejtclusterok átmérője	↓	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↓
Negatív tumorsejtek száma clusterenként	↓	↓	↓	↑	↓	↑	↓	↑↑
Negatív tumorsejt clusterok átmérője	↑	↑↑	↑	↓	↓	↑	↑↑	↑
Közepesen festődő tumorsejtek száma clusterenként	↓	↓	↑	↓	↑	↑	↑	↓
Közepesen festődő tumorsejt clusterok átmérője	↓	↓	↑	↓	↓	↑	↑↑	↑
Intenzíven festődő tumorsejtek száma clusterenként	↑	↑	↑	↓	↑	↓	↑	↑
Intenzíven festődő tumorsejt clusterok átmérője	↓	↓	↑	↑↑	↑	↑	↓	↑↑
Entrópia	↑	↑	↓	↑	↑	↓	↑	↑

2. táblázat. A szintaktikai struktúraanalízis paramétereinek és a prognózis kapcsolata operált tüdő tumoros esetekben (a paraméter emelkedő értéke esetén ↑ = jobb túlélés, ↑↑ = szignifikánsan jobb túlélés, ↓ = rosszabb túlélés)

A clusterenkénti daganatsejtek átlagos számának növekedése 5 vizsgálati sorban javította túlélést. Ha a nem festődő sejtek clusteren belüli átlagos száma növekszik, a túlélés rosszabb lesz, de az egyetlen szignifikáns kapcsolatnál éppen az figyelhető meg, hogy a prognózist javítja az emelkedő sejtszám. A közepesen festődő sejteknél változó a sejtszám és a túlélés kapcsolata (bár egyetlen esetben sem szignifikáns), az intenzíven festődő sejteknél viszont 6 próbánál észleltük, hogy az emelkedő sejtszám egyúttal jobb túlélési eredménnyel is jár. Szinte teljesen egy irányba mutat a clusterok átlagos átmérőjének prognosztikai szerepe: az átlagos átmérő növekedésével a túlélés esélye csökken, bár egyetlen esetben sem sikerült ennek a kapcsolatnak szignifikáns voltát bizonyítani. Viszont a festődés szerint elkülönített sejtclusterok esetén ennek az ellenkezőjét látjuk. Összesen 5 esetben észleltük, hogy a különböző festődésű sejtcsoportok átlagos átmérőjének növekedése szignifikánsan jobb prognózissal jár. Az entrópia esetén nem találtunk szignifikáns eltérést, de a legtöbb esetben az alacsonyabb entrópia érték rosszabb túlélési eredményekkel társult. Részletesen is megvizsgáltuk, hogy azoknál a jellemzőknél, ahol a túléléssel szignifikáns összefüggést találtunk, lehetséges-e olyan csoportokat kialakítani, amelyek között statisztikailag jelentős túlélés mutatható ki, és ezzel közvetlen prognosztikai faktorokként szerepelhetnek. A 9 lehetséges strukturális tulajdonság közül 4 esetben lehetett ilyen csoportokat kialakítani (3. táblázat).

	Medián túlélés (hónap)	p
Galektin-3-kötőkapacitás		
Nem festődő tumorsejtek távolsága		
$\leq 27 \mu\text{m}$	24	0.016
$> 27 \mu\text{m}$	46	
Galektin-3-expresszió		
Intenzíven festődő tumorsejtclusterok átmérője		
$\leq 56 \mu\text{m}$	35	0.020
$> 56 \mu\text{m}$	58	
Hialuronsav-kötőkapacitás		
Negatív tumorsejt clusterok átmérője		
$\leq 56 \mu\text{m}$	26	0.007
$> 56 \mu\text{m}$	58	
Hialuronsav-kötőkapacitás Ca^{++}-tartalmú közegben		
Intenzíven festődő tumorsejtclusterok átmérője		
$\leq 46 \mu\text{m}$	44	0.034
$> 46 \mu\text{m}$	73	

3. táblázat. A szintaktikai struktúraanalízisből nyert, közvetlen prognosztikai tényezőként felhasználható paraméterek

3.3. Megbeszélés

Vizsgálataink során igazolódott, hogy a malignus tüdőtumrok lektinkötő- és expresszáló képessége nincs összefüggésben a pTN stádiumukkal.

Eredményeink szerint a galektin-3-kötő tumorok túlélése szignifikánsan rosszabb, mint a negatív eseteké. A többváltozós túlélésvizsgálat alapján a galektin-3-expresszió esetén szintén csökken a túlélés. A galektin-3 több ponton is szerepet játszik a daganatok progressziójában. Elősegíti a tumorszövet angiogenesisét, (14), szubsztrátként szerepel a mátrix metalloproteináz-2 és -9 szintézisében (15), gátolja az apoptózist (8), az endothelsejteken megtalálható galektin-3 molekuláknak vezető szerepük van a tumorsejtek megkötésében (4).

A funkciók sokrétűsége megmagyarázhatja a paradox jelenséget, hogy a T- és N-klasszifikáció szerint előrehaladottabb és ezáltal rosszabb prognózisú esetekben inkább csökken a galektin-3-expresszió ill. -kötőkapacitás. Feltehetőleg más támadáspontokon kifejtett hatásával járul hozzá a galektin-3 a tumorprogresszióhoz. Kimutattuk, hogy a tumorok angiogenesisé és a T- ill. N-klasszifikáció között nincs szoros összefüggés, tehát az angiogenetikus hatás feltehetőleg hozzájárul a tumorprogresszióhoz, anélkül, hogy akár a lokális növekedést, akár a lymphogen áttétképződést számottevően befolyásolná (ld. 4. fejezet).

A daganatsejtek galektin-1-expressziója és a galektin-1 kötő képességük szintén rosszabb túléléssel jár eredményeink szerint, viszont az előrehaladottabb T- és N-klasszifikációk esetén inkább emelkedik a pozitív festődésű esetek aránya, szemben a galektin-3-mal.

A galektin-1-nek szerepe van a tumorsejtek és a fibronectin összekapcsolódásában, expressziója összefüggésben lehet a tumorsejtek invazív fenotípusával. A stromális eredetű galektin-1 az aktivált T-lymphocyták apoptózisának indukálásával hozzájárul az antitumorális immunválasz gyengítéséhez (16). A jelátvitelben fontos szerepet játszó H-Ras(12V) fehérje és a galektin-1 összekapcsolódása az előfeltétele a fehérje sejtmembránhoz kötődésének és aktiválódásának (17).

Látszólag ellentmondásos eredményeket kaptunk a hialuronsav-kötőkapacitás vizsgálatánál. Míg a kalciummentes közegben a negatív esetek túlélése kis mértékben jobb volt, addig a kalciumot tartalmazó oldattal történt festésnél a hialuronsav-kötő esetek túlélése volt hosszabb. Több vizsgálat bizonyítja, hogy a tumorstroma magas hialuronsavtartalma kedvezőtlen prognosztikai faktor: a daganatsejtek migrációja könnyebb lehet hialuronsavkötő receptoraik (CD44, RHAMM) által (18, 19). A fentiek magyarázhatják, hogy a hialuronsavat nem kötő tumorok túlélése - ha nem is szignifikánsan -, de jobb. A hialuronsav számos sejtfelszíni molekulával léphet kapcsolatba. A C típusú lektinek közé tartozó hyalectanok aktiválása, amelyek többek között a fibroblastokon is előfordulnak, kalciumfüggő (20). Feltételezzük, hogy a kalciumot tartalmazó környezetben a hialuronsav más sejtfelszíni receptorokhoz kötődik, mint kalciummentes közegben.

Nem tudtunk szignifikáns összefüggést igazolni a tumorsejtek CL-16 kötő képessége, a HBL-expresszió és a túlélés között.

A legtöbb vizsgált lektinnél a kissejtes tüdőrák sejtszejtjei jelentősen kisebb kötőkapacitást, ill. expressziót mutattak, mint a nem kissejtes tüdőráké. Feltételezzük, hogy a kissejtes karcinóma eltérő biológiai viselkedése (gyors terjedés, korai metasztatizálódás, kemoszenzitivitás) összefügghet ezekkel a jellemzőkkel, de még nem tisztázott, hogy pontosan milyen mechanizmus alapján.

Vizsgálataink nem igazolták, hogy összefüggés lenne a sejtfelszíni lektinek vagy lektinkötő molekulák megjelenése és a hagyományos prognosztikai faktorok között. Ez lehetővé teszi, hogy a pTNM rendszer alapján becsült túlélési valószínűséget pontosítani lehessen.

A kvantitatív lektinhisztokémiai vizsgálatok során a szöveti struktúra felbomlásával járó dedifferenciálódást szintaktikai struktúraanalízis segítségével jellemeztük.

Több lektinnél is tapasztaltuk, hogy a tumorsejtek közötti távolság az előrehaladottabb pT stádiumokban általában nőtt. A legtöbb próbánál a pT1 tumoroknál a sejtek közötti távolság kisebb, mint a pT2 daganatoknál, és ez megfelel a két stádium közötti különbségnek: a pT2 daganatok nagyobbak, vagy környezetüket jobban involválva (pl. viscerális pleura) terjednek. A galektin-1-kötő és CL-16-kötő pozitív sejteknél a daganatsejtek közötti távolság nagyobb pT2 stádiumban, mint a pT3 tumoroknál. Ennek egyik magyarázata lehet, hogy a pT3 lehet viszonylag kisebb, de centrálisan elhelyezkedő tumor, amelynek invazivitása elmaradhat a T2 daganatokétól. Valószínű, hogy a sejtek közötti távolság növekedése mögött az intercelluláris kapcsolatok csökkenése és a fokozott migrációs képesség állhat.

Külön megvizsgálva a közepesen és intenzíven festődő tumorsejtek közötti távolság változását, főleg az utóbbi esetén tapasztaltuk, hogy az előrehaladottabb pT stádiumokban növekszik az átlagos távolság. A galektin-1-kötőkapacitás esetén a különbség szignifikáns mértékű. A galektin-1 gátolja a sejtek közötti adhéziót (21), elősegíti a tumorsejt fibonectinhez való kötődését (22) és ezáltal a sejtek migrációját. Hasonló szerepe lehet a galektin-3-nak, amely szerepet játszik a sejt/fibronectin és a sejt/laminin kapcsolódásban és így elősegíti a daganatsejtek vándorlását az extracelluláris mátrixban.

A tumorsejtclusterek átmérője és a clustereket alkotó sejtek száma nem mutat koherens összefüggést a pT stádiummal. Egyedül a galektin-1 expresszáló tumoroknál, ill. ezen belül külön a közepesen festődő tumorsejteknél észleltük, hogy az előrehaladottabb pT esetekben a sejtszám csökken. Mivel a clusterek egy adott távolságon belül elhelyezkedő sejtek alkotta csoport, a sejtszám emelkedése indirekt módon a sejtek erősebb intercelluláris adhézióját és/vagy kisebb migrációját is jelzi.

A pN klasszifikációval összevetve az eredményeket, statisztikailag jelentős összefüggést nem mutattunk ki. Összesen két vizsgálati eredménynél észleltük, hogy a pN klasszifikáció növekedésével a struktúraanalízis eredményei is fokozatosan változnak. A legtöbb vizsgálati sorban még tendenciájában sem követhető a pN stádium változása.

A fenti eredmények azt mutatták, hogy a szintaktikai struktúraanalízis eredményei, a szöveti struktúra dezintegrációja nincs közvetlen összefüggésben a pTN stádiummal.

A nem kissejtes tüdőrákos eseteknél a differenciálatlanabb nagysejtes carcinomáknál számos vizsgálati eredmény utal a szabályos szöveti struktúra dezorganizációjára: tumorsejtek közötti távolság növekedése, a tumorsejtclusterek átmérőjének csökkenése, a clustereket alkotó sejtek számának csökkenése. A laphámcarcinoma esetén ezek a paraméterek fordított eredményeket mutatnak, az adenocarcinoma pedig köztes helyzetet foglal el. Kivétel az entrópia értéke, amely legtöbb vizsgálatban az adnocarcinománál a legmagasabb, tehát ez bizonyult a struktúra ill. a festődés együttes mérése alapján a legrendezetlenebb daganatnak.

A kissejtes carcinománál mért értékekre jellemző, hogy a sejtclusterek átmérője általában kisebb, mint az NSCLC csoportban, viszont a clusterek sejtszáma magasabb. A sejtek közötti távolság sokszor kisebb, mint a NSCLC csoportban. A sejtek közötti távolság csökkenése, vagy a clusterenkénti magasabb sejtszám látszólag ellentmond annak, hogy a daganatsejtek migrációs képessége igen jelentős. Feltételezhető, hogy a lokális tumorprogresszió során a strukturális jellemzők megváltoznak. A folyamat elején a tumorsejtek bizonyos koncentrációja szükséges ahhoz, hogy a daganatsejtekből elégséges mennyiségben szabaduljanak fel az angiogenezis ill. az extracelluláris mátrix lebontásához megindításához szükséges anyagok (23, 24), ezután indulhat meg a daganatsejtek vándorlása és a vérkeringésbe való bejutása. A kissejtes esetek viszonylag korai stádiumú, még operábilis betegségek voltak és valószínűleg olyan stádiumban sikerült a szintaktikai struktúraanalízist elvégezni, ahol a daganatsejtek intercelluláris adhéziója még viszonylag erős és nincs számottevő migráció. Ezt alátámasztják a részleteiben a 4. fejezetben ismertetett eredmények,

amelyek szerint a vizsgálat SCLC esetekben a mikrovaszkularizáltság nem jelentősebb, mint a NSCLC betegeknél. A NSCLC csoportban viszont különböző stádiumú tumorok voltak, ahol már az intercelluláris adhéziók csökkenése és migráció is jellemző.

A túlélési eredményekből levonható az a következtetés, hogy a tumorsejtclusterek átmérője kapcsolódik leginkább a túléléshez: minél nagyobb a sejtcsoport átmérője, annál jobb a prognózis. A nagyobb clusterátmérő azt jelenti, hogy a daganatsejtek egymástól való távolsága bizonyos határon belül mozog és a tumoros progresszió még „erősebb adhézió – gyengébb migráció” fázisában van. Eredményeink alapján konkrét prognosztikai kategóriák felállítása is lehetségessé vált.

4. A MIKROVASZKULRAZICIÓN MÉRÉSE ÉS PROGNOZTIKAI SZEREPE TÜDŐRÁKBAN

4.1. Beteganyag és módszer

Vizsgálataink során 450 radikálisan operált tüdőrákos beteg szövettani anyagát dolgoztuk fel, akiknél 1990. január 1. és 1995. december 31. között történt műtét. 233 beteget a heidelbergi Thoraxklinik mellkassebészeti osztályán, 217 beteget pedig a Szegedi Tudományegyetem Sebészeti Klinikáján operáltak. A betegek átlagéletkora 58.6 év volt, 366 férfi és 84 nő betegnél történt műtét. A szövettani típusok megoszlása az alábbi volt: laphámcarcinoma 201 (44.7%), adenocarcinoma 166 (36.9%), nagysejtes carcinoma 65 (14.4%), kissejtes carcinoma pedig 18 (4%) volt. A daganatok közül 57 (12.7%) az I/A, 163 (36.2%) az I/B, 6 (1.3%) az II/A, 87 (19.3%) a II/B, 129 (28.7%) a III/A, 5 (1.1%) a III/B, 3 (0.7%) a IV stádiumba tartozott. A két központ beteganyagának paraméterei és a túlélés között nem találtunk szignifikáns különbséget, kivéve az életkort.

A tumor perifériás részéből vett és paraffinba ágyazott szövettani anyagból 4-5 μm vastag metszeteket készítettünk, és tripszines előemésztést követően kereskedelmi forgalomban kapható VIII-as faktor ellenes ellenanyaggal (BioGenex, USA) immunhisztokémiai módszerrel megfestettük. Jelölőrendszerként alkalikus foszfatázzal konjugált streptavidint (BioGenex, USA) használtunk. Ellenfestést végeztünk a tumorsejtek magjának megjelölésére. Pozitív és negatív kontrollmetszeteket használtunk.

A tumorereket mint a tumoros szövetben elhelyezkedő vérereket definiáltuk. Az elkészült metszeteket áttekintve 4 „normális” vaszkularizáltságú és 2 kifejezetten vaszkularizált területet választottunk ki a morfometriás mérések és szintaktikai struktúraanalízis számára.

A kiválasztott területeket 10x-es nagyítás mellett színes CCD kamerával (JVC TK1070) 512*512 pixeles felbontással digitalizáltuk. Saját készítésű képanalizáló szoftvert használtunk, amelynek alapja kereskedelmi forgalomban kapható Digital Image Analysing System (Towersoft, Berlin). A kiválasztott erek morfometriai vizsgálata alapján meghatároztuk a volumenfrakciót (erek kalkulált térfogata/tumorszövet kalkulált térfogata, V_v), amely az adott szövet érsűrűségét jellemzi és a felületfrakciót (erek kalkulált felszíne/tumorszövet kalkulált térfogata, S_v), amely a szöveti oxigénellátás intenzitására utal. Az abszolút értékek közül a legkisebb érátmérőt, az átlagos érkerületet és az ér felületet mértük. Szintaktikai struktúraanalízissel meghatároztuk a tumorsejtek eloszlását a hozzájuk legközelebb eső szomszédos ér környezetében, 20 μm -ként növekvő átmérőjű koncentrikus körökben. A kapott eredményeket összevetettük a pT, pN státuszokkal, valamint a szövettani eredményekkel és a túlélési adatokkal. Az adatok statisztikai feldolgozását chi-négyzet próbával és ANOVA-val, a Kaplan-Meier módszerrel és Cox regressziós analízissel végeztük.

4.2. Eredmények

4.2.1. Morfometriai eredmények

4.2.1.1 N-status alapján

A vaszkularizációs paraméterek nem mutatnak szignifikáns összefüggést a különböző szintű nyirokcsomó áttétekkel. Az N0 daganatoknál a legkisebb érátmérő, az átlagos érkerület és érterület nagyobb, mint a hilusi vagy mediasztinális nyirokcsomó-metasztázisok esetén. A legkisebb érátmérő értékei minden nyirokcsomóstádiumban 18-19 μm körül vannak és hasonlóan kicsi az eltérés az átlagos kerületnél, ahol a legnagyobb és legkisebb átlagos érték

között mindössze 8 µm a különbség. A relatív adatok (volumenfrakció, felületfrakció) az pN2 metasztázisok esetén nagyobbak, mint az nyirokcsomónegatív esetekben, bár ez a különbség mindössze 0.3% ill. 0.1%. Az pN1 tumorok vaszkuláris jellemzői nemcsak az pN2, de az pN0 tumorokénál is kisebbek. A pN0, pN1 és pN2 esetek – a fentiekben észlelt különbségek ellenére – nem mutatnak szignifikáns eltérést egymástól.

4.2.1.2 T-status alapján

A látóterenkénti érszám kivételével minden vizsgált adat a T2 tumoroknál nagyobb, mint a T1-es daganatoknál, de meghaladják a T3-as tumoroknál mért értékeket is. Az abszolút vaszkularizációs paramétereknél (legkisebb érátmérő, átlagos érkerület és terület, látóterenkénti érszám) az átlagértékek jobban eltérnek egymástól, mint a különböző N stádiumokban, de ez nem bizonyult szignifikánsnak. A felület- és volumenfrakciónál jelentősebb az eltérés a csoportok között (1,4% ill. 0,4%), a felületfrakciónál ez a különbség szignifikáns lett ($p=0,022$).

4.2.1.3. Szöveti típus alapján

A nem kissejtes carcinomákon belül érmorfológiai paramétereket tekintve nem találtunk lényeges különbséget a különböző szöveti típusok között. A kissejtes carcinomás eseteknél a legtöbb paraméter (felület- és volumenfrakció, az átlagos érkerület és érfelület) nagyobb, mint a nem kissejtes esetekben, de nem különbözik szignifikánsan az NSCLC esetektől.

4.2.2. Szintaktikai struktúra analízis eredményei

4.2.2.1. N-status alapján

Az előrehaladottabb N stádiumokban a sejtsűrűség fokozatosan emelkedik minden egyes távolságtartományban. Minden N stádiumban megfigyelhető, hogy a tumorsejtek sűrűsége fokozatosan emelkedik a különböző távolságtartományokban és a 40 és 60 µm közötti szakaszon éri el a legnagyobb értéket, szignifikáns különbség nélkül.

4.2.2.2. T-status alapján

A tumorsejtek sűrűsége az érközeli területeken a T2 tumoroknál a legnagyobb, valamivel kisebb a T4 tumoroknál. A T1 és T3 tumoroknál a sejtsűrűség minden területen, de elsősorban a 20-40 µm ill. 40-60 µm-es területen lényegesen kisebb, de nem szignifikáns mértékben.

4.2.2.3. Szöveti típus alapján

A különböző szöveti típusok közül az adenocarcinomáknál mértük a legnagyobb sejtsűrűséget. A laphámcarcinomák és a nagysejtes carcinomák esetén a sejtsűrűség hasonló. A kissejtes tüdőrákoknál a sejtsűrűség minden távolságtartományon belül kisebb, mint a többi szöveti típusnál. A NSCLC eseteknél a sejtsűrűség maximális értékét a 40-60 µm közötti szakaszon, míg SCLC esetén a 20-40 µm közötti tartományban kaptuk.

4.2.3. Túlélési eredmények

Multivariancia analízis során a TNM stádium, a tumorvolumen, a morfológiai paraméterek és a szintaktikai struktúraanalízis eredményeinek összefüggését vizsgáltuk a túléléssel. Az összes esetet figyelembe véve, a nyirokcsomó-metasztázisok megjelenése rontotta legjobban a prognózist ($p < 0.001$). A túlélést erősen befolyásolta a szövettani típus ($p = 0.002$). Az értől számított 20 μm -en belüli sejtek sűrűségének növekedése szignifikánsan csökkenti a túlélést ($p = 0.02$, RR:1.05). Ezzel szemben a 20 és 40 μm -en belül elhelyezkedő sejtek sűrűségének növekedése jobb prognózissal jár ($p = 0.046$, RR:0.93). A morfológiai paraméterek nem befolyásolták szignifikánsan a túlélést. Külön megvizsgáltuk a paramétereket a NSCLC csoportban, ahol szintén a nyirokcsomóáttétek jelentették a legerősebb prognosztikai faktort ($p < 0.001$). Hasonlóan a fenti csoporthoz, a 20 μm -en belüli sejtek arányának növekedése rontja a túlélést ($p = 0.023$, RR:1.05), a 20 és 40 μm közötti sejtsűrűség emelkedése javítja a prognózist ($p = 0.049$, RR: 0.93). A 20 μm -en belüli és a 20 és 40 μm -en közötti sejtsűrűség egymással igen erős pozitív korrelációt mutat ($r = 0.963$, $p < 0.001$).

Ha a tumorsejtek sűrűsége nem haladja meg a 8 sejt/ μm^2 értéket az erektől mért 0-20 μm területen belül, akkor a túlélés szignifikánsan jobb, mint az ennél nagyobb sejtsűrűség esetén ($p = 0.048$).

4.3. Megbeszélés

Vizsgálatainkban a morfológiai mérések és szintaktikai struktúraanalízis eredményeit hasonlítottuk össze a klasszikus prognosztikai faktorok (pT, pN, szövettan) egyes csoportjai között, valamint összefüggést kerestünk vaszkularizációt jellemző értékek és a túlélés között.

A T statusnál azt tapasztaltuk, hogy a T2 tumorok vaszkularizáltakabbak, mint a T1-es daganatok, és a T4-es tumorok érellátása is jobban fejlett a T3-as tumorokénál. Érdekes, hogy a T2-es tumorok vaszkularizáltsága nagyobb, mint T3 esetén. A T2 eseteknél a Sv értéke szignifikánsan nagyobb, mint a T1 és T3 stádiumokban. A látóterenként érszám hasonló mindhárom csoportban, viszont az átlagos érkerület és érterület kb. 10%-kal nagyobb T2-es tumorok esetén. Úgy tűnik, hogy a Sv szignifikáns eltéréseért elsősorban a nagyobb érkerület és következményesen a nagyobb érterület a felelős.

A tumorsejtek sűrűsége a legközelebbi szomszédos erek környezetében hasonló tendenciát mutat, mint a morfológiai paraméterek. Minden távolságtartományban a T2 és T4 tumoroknál legmagasabb a sejtsűrűség. Az angiogenetikus folyamat során a meglévő erek bazális membránját a tumorsejtekből felszabaduló proteolitikus enzimek (mátrix metalloproteináz, plazminogen aktivátorok) bontják le. A proteolízis során az extracelluláris mátrixból angiogenetikus faktorok szabadulnak fel, ill. bizonyos angiogenetikus anyagok aktiválják az urokináz típusú plasminogen aktivátort (25). Feltehetőleg a nagyobb sejtsűrűség miatt az angiogenetikus és proteolitikus anyagok nagyobb koncentrációban szabadulnak fel, és ez vezethet fokozott vaszkularizációhoz.

A nyirokcsomó-metasztázisok kialakulásában nem tudtuk bizonyítani a fokozott mikrovaszkularizáció szerepét. Az abszolút paraméterek a pN0 nyirokcsomóstatusz esetén voltak a legnagyobbak, csak az alacsonyabb látóterenkénti érszám miatt nincs a sztereológiai adatokban hasonló különbség. A Sv és Vv a pN1 státustól felfelé fokozatosan emelkedik, de ez a különbség nem szignifikáns, bár tendenciájában arra utal, hogy az előrehaladottabb nyirokcsomó-metasztázisok esetén nagyobb lehet a vaszkularizáltság.

A tumorsejtek sűrűsége fokozatos emelkedést mutat a pN státusznak megfelelően, de ez a különbség minden távolságtartományban minimális és úgy véljük, hogy ez nem befolyásolja a daganat lymphogen metasztatizáló képességét.

A kissejtes tüdőcarcinomás esetek a többi szövettani típushoz a morfológiai paraméterek alapján fokozott vaszkularizáltságot mutatnak. A kissejtes carcinoma biológiai viselkedését figyelembe véve – gyors haematogen metasztatizálódás – ez az eredmény nem meglepő.

Elsősorban a felület frakció átlagos értéke haladja meg több mint 10%-kal a többi szövettani csoport hasonló eredményét. Magasabb a V_v , valamint az érkerület és érterület átlagos értéke is. Mivel a látóterenkénti érszám kisebb, mint a nem kissejtes esetekben, a nagyobb S_v és V_v érték egyértelműen a nagyobb méretű ereknek köszönhető. Az átlagos sejtsűrűség az érközeleli területen kisebb, mint a nem kissejtes carcinomáknál. A különbségek nem szignifikánsak a kissejtes és nem kissejtes csoport között. Ez is magyarázhatja, hogy ezekben a kissejtes esetekben a tumor korai stádiumú, operábilis folyamat volt, ahol az 5 éves túlélés meghaladja a 20%-t. A nem kissejtes carcinomacsoporton belül nem találtunk különbséget.

Többváltozós túlélésvizsgálat szerint a vaszkularizációs paraméterek közül a legközelebbi szomszédos értől 20 μm -en belül elhelyezkedő tumorsejtek sűrűségének emelkedése rosszabb túléléssel jár. Ezek az eredmények alátámasztják azt az elképzelésünket, hogy az angiogenesis, a tumorsejtek migrációja és proliferációja együtt befolyásolja a daganatok terjedését és ezáltal a prognózist. Ez magyarázhatja azt is, hogy az önmagában csak az angiogenesiset jellemző morfometriai paraméterek közül egyik sem mutatott szignifikáns kapcsolatot a túléléssel.

Eredményeink alapján a vaszkularizáció mértéke gyenge kapcsolatot mutat a különböző tumorstádiumokkal, bár általában az előrehaladottabb pN és pT stádiumok fokozott vaszkularizációval járnak, amelyek elsősorban az S_v és V_v adatokban ill. a tumorsejtek sűrűségében észlelhető. A betegek túlélését legerősebben a nyirokcsomó-metasztázisok megjelenése befolyásolja, a vaszkuláris paraméterek közül az érhez közeli tumorsejtek sűrűsége befolyásolja kedvezőtlenül a betegek sorsát. Ha a daganatsejtek sűrűsége nem haladja meg a 8 sejt/ μm^2 -t, a túlélés szignifikánsan magasabb és ez felhasználható a közvetlen prognózis meghatározásában.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

7.1. Nagyszámú beteganyagban kvalitatív immunhisztokémiai vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy a tüdőcarcinomasejtek galektin-1- expresszáló képessége és galektin-3-kötőképessége szignifikánsan rontja a radikálisan operált betegek prognózist. A fenti galektinek expressziója és kötőkapacitása nem függ össze sem a T stádiummal, sem a nyirokcsomóáttétek megjelenésével. Több prognosztikai paraméter közül a galektin-3-kötőképesség és a galektin-3-expresszió többváltozós vizsgálat során független prognosztikai faktornak bizonyult. Mivel összefüggés nem mutatható ki a pTN klasszifikációval, feltételezhetően egyéb módon (a sejt-sejt, sejt-ECM kapcsolatok befolyásolásával) van szerepe a tumorprogresszióban. A kissejtes tüdőcarcinomáknál a pozitív reakciót adó tumorok aránya szignifikánsan kisebb, mint a nem kissejtes tüdőtumoros eseteknél. Véleményünk szerint a fenotípusban észlelt különbség összefügg a kissejtes tüdőrák eltérő biológiai viselkedésével.

7.2. A szöveti struktúra vizsgálatának (szintaktikai struktúraanalízis) eredményei nem mutatnak szignifikáns összefüggést sem a pT, sem a pN klasszifikációval. Több vizsgálati sorban tapasztaltuk, hogy az előrehaladottabb pT stádiumokban fokozatosan nő a tumorsejtek, valamint – külön megvizsgálva – a közepesen és intenzíven festődő sejtek közötti távolság, ugyanakkor ez az összefüggés statisztikailag nem jelentős. A pN változását a struktúraanalízis eredményei legtöbbször még tendenciájukban sem követik.

A differenciáltabb NSCLC típusokban (laphám- és adenocarcinoma) a tumorsejttávolságok kisebbek, a sejtclusterátmérők nagyobbak, mint a differenciálatlanabb nagysejtes carcinomáknál. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a differenciálatlan tumoroknál a sejtek adhéziója csökken, a migráció fokozódik és ez a folyamat kvantitatívan is jellemezhető.

A tumorsejtclusterek átmérőjének növekedése kedvező prognosztikai faktornak bizonyult több vizsgálati sorban is, amelynek magyarázata az lehet, hogy ezekben az esetekben az intercelluláris kötődések még erősek és minimális a tumorsejtek migrációja.

4 paraméternél tudtunk közvetlen prognózis-meghatározásra is alkalmas kategóriákat felállítani. A galektin-3-kötő tumoroknál a nem festődő daganatsejtek közötti nagyobb átlagos távolság ($>27 \mu\text{m}$), a galektin-3-expresszáló daganatoknál az intenzíven festődő tumorsejtclusterek nagyobb átmérője ($>56 \mu\text{m}$), a hialuronsavkötő tumor esetén a nem festődő tumorsejtclusterek nagyobb átmérője ($>56 \mu\text{m}$), a kalcium mediálta hialuronsavkötő tumoroknál pedig az intenzíven festődő tumorsejtclusterek nagyobb átmérője ($>46 \mu\text{m}$) szignifikánsan jobb prognózissal jár.

7.3. Nagyszámú beteganyagban a mikrovaszkularizáltság vizsgálata során igazoltuk, hogy a morfometriai és szintaktikai struktúraanalízissel kapott adatok nem mutattak kapcsolatot sem a pTN klasszifikációval, sem a szövettani típussal, kizárólag felületfrakció és a pT között találtunk szignifikáns összefüggést. A mikroértől $20 \mu\text{m}$ -en belül, valamint a 20 és $40 \mu\text{m}$ között elhelyezkedő tumorsejtek sűrűsége független prognosztikai faktornak bizonyult. A $20 \mu\text{m}$ -en belül lévő daganatsejteknek $8 \text{ sejt}/\mu\text{m}^2$ –nél kisebb sűrűség esetén a túlélés szignifikánsan javul. Ez a paraméter nemcsak a mikrovaszkularizáltság jellemzésére alkalmas, hanem tájékoztatást nyújt a sejtek migrációs képességéről is, ezáltal a progresszió kvantitatív jellemzése pontosabb lehet.

6. IRODALOM

- Ostoros Gy: A tüdőrák és a mellhártya elsődleges rosszindulatú megbetegedéseinek diagnosztikája és kezelése – Irányelvek 2001. *Medicina Thoracalis* 54:4 Suppl. 2 (2001)
- Harpole DHJ, Richards WG, Herndon JE, Sugarbaker DJ. Angiogenesis and molecular biologic substaging in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 61:1470-76 (1996)
- Gabius HJ: Concepts of tumor lectinology. *Cancer Investigation* 15(5):454-464 (1997)
- Takenaka Y, Fukumori T, Raz A. Galectin-3 and metastasis. *Glycoconj J* 19:543-549 (2004)
- Grassadonia A, Tinari N, Iurisci I, Piccolo E, Cumashi A, Innominato P, D'Egidio M, Natoli C, Piantelli M, Iacobelli S. 90K (Mac-2 BP) and galectins in tumor progression and metastasis *Glycoconj J* 19:551-556 (2004)
- Ochieng J, Furtak V, Lukyanov P. Extracellular function of galectin-3. *Glycoconj J* 19:527-535 (2004)
- Hsu DK, Liu FT. Regulation of cellular homeostasis by galectins. *Glycoconj J* 19:507-515 (2004)
- Moon BK, Lee YJ, Battle P, Jessup JM, Raz A, Kim HRC. Galectin-3 protects human breast carcinoma cells against nitric oxide-induced apoptosis. *Am J Pathol* 159:1055-1060 (2001)
- Herbst RS, Hidalgo M, Pierson AS, Holden SN, Bergen M, Eckhardt SG. Angiogenesis inhibitors in clinical development for lung cancer. *Semin Oncol* 29(I,Suppl 4):66-77 (2002)
- Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-lung cancer. *Lancet* 340:145-146 (1992)
- Kayser K, Richter B, Stryciak R, Gabius HJ. Parameters derived from integrated nuclear fluorescence, syntactic structure analysis, and vascularization in human lung carcinomas. *Analytical Cellular Pathology* 15:73-83 (1997)
- Meert A, Paesmans M, Martin B, Delmotte P, Berghmans T, Verdebout J, Lafitte J, Mascaux C, and Sculier J. The role of microvessel density on the survival of patients with

lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Brit J Cancer* 87:694-701 (2002).

13. Kayser K, Gabius HJ: Graph theory and the entropy concept in histochemistry. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1997)

14. Nangia Makker P, Honjo Y, Sarvis R, Akahani S, Hogan V, Pienta KJ, Raz A. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol* 156:899-909 (2000)

15. Ochieng J, Green B, Evans S, James O, Warfield P. Modulation of the biological function of galectin-3 by matrix-metalloproteinases. *Biochim Biophys Acta* 1379:97-106 (1998)

16. Perillo NL, Pace KE, Seilhamer JJ, Baum LG. Apoptosis of T cells mediated by galectin-1. *Nature* 378:736-739 (1995)

17. Paz A, Haklai R, Elad-Sfadia G, Ballan E, Kloog Y. Galectin-1 binds oncogenic H-Ras to mediate Ras membrane anchorage and cell transformation *Oncogene* 20:7486-7493 (2001)

18. Zhang S, Chang MC, Zylka D, Turley S, Harrison R, Turley EA. The hyaluronan receptor RHAMM regulates extracellular-regulated kinase. *J Biol Chem* 273:11342-11348 (1998)

19. Böhm J, Niskanen L, Tammi R, Tammi M, Eskelinin M, Pirinen R, Hollmen S, Alhava E, Kosma VM. Hyaluronan expression in differentiated thyroid carcinoma. *J Pathol* 196:180-185 (2002)

20. Gabius HJ: Animal lectins. *Eur J Biochem* 243:543-576 (1997)

21. Cooper DNW, Massa SM, Barondes SH. Endogenous muscle lectin inhibits myoblast adhesion to laminin. *J Cell Biol* 115:1437-1448 (1991)

22. André S, Kojima S, Yamazaki N, Fink C, Kaltner H, Kayser K, Gabius HJ. Galectins-1 and -3 and their ligands in tumor biology. *J Cancer Res Clin Oncol* 125:461-474 (1999)

23. Kopper L: A daganatok növekedése és terjedése. In: Kopper L, Jeney A: *Onkológia. Medicina, Budapest* p.93-106 (2002)

24. Tímár J: A daganatos progresszió molekuláris mechanizmusa. Krompechertől a DNS-chip-ig. *Magyar Onkológia* 48:3-11 (2004)

25. Fox SB, Gatter KC, Harris AL. Tumour angiogenesis. *J Pathol* 179:232-237 (1996)

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni **Dr. Nemes Zoltán Professzor Úrnak** és **Dr. Horváth Ákos Tanár Úrnak**, hogy támogatták tudományos elképzeléseimet, és lehetővé tették munkám elkészítését.

Köszönettel és hálával tartozom tanítómesteremnek, **Dr. Troján Imre Főorvos Úrnak**, hogy megtanított a mellkassebészet művelésére és személyes példájával mutatta meg, hogy munkánkban mindig keressük az újabb és jobb lehetőségeket. Köszönöm, hogy lehetőséget adott, hogy osztályán, az ő vezetésével végezhettem tudományos munkámat.

Hálásan köszönöm **Dr. Heinz Neef** és **Dr. Klaus Kayser Professzoroknak**, hogy lehetővé tették németországi tanulmányutamat. Az ott végzett kutatómunka közvetlen eredménye ez a doktori értekezés. Köszönöm, hogy azóta is figyelemmel kísérik és támogatják tevékenységemet, újabb és újabb munkára inspirálva engem.

Köszönöm **Dr. Balogh Ádám Professzor Úrnak**, korábbi, és **Dr. Lázár György Professzor Úrnak**, jelenlegi intézetvezetőmnek, hogy minden segítséget megadtak munkámhoz.

Köszönetemet szeretném kifejezni **Dr. Tiszlavicz László Tanár Úrnak** a hisztológiai vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségével, valamint publikációim és disszertációm patológiai részét érintő tanácsaiért és észrevételeiért.

Köszönetet mondok munkatársamnak, **Dr. Furák József Adjunktus Úrnak**, a tanulmány létrejöttéhez nyújtott segítségével.

Köszönöm feleségemnek és gyermekeimnek, hogy állandó támogatást és biztatást nyújtottak munkám során, még a nehéz időkben is. Türelmük és szeretetük nélkül ez a disszertáció nem készült volna el.

8. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

8.1. A disszertációban felhasznált saját közlemények

1. Kayser G., Baumhakek JD., **Szőke T.**, Trojan I., Riede U., Werner M., Kayser K. Vascular diffusion density and survival of patients with primary lung carcinomas. *Virchows Arch* 442: 462-267 (2003) **IF: 2,357**
2. **Szőke T.**, Troján I, Furák J, Tiszlavicz L, Balogh Á. Intrapulmonalis metastasisok prognosztikai jelentősége operált tüdőrákos esetekben. *Magyar Onkológia* 47:397-401 (2003)
3. **Szőke T.**, Troján I, Furák J, Tiszlavicz L. A sebészi kezelés eredményei és lehetőségei a tüdőrák terápiájában. *Magyar Sebészet* 57:325-331 (2004)
4. Furak J, Trojan I, **Szőke T.**, Agócs L, Csekeő A, Kas J, Svastics E, Eller J, Tiszlavicz L. Lung Cancer and Its Operable Brain Metastasis: Survival Rate and Staging Problems. *Ann Thorac Surg* (2005);79:241-247 **IF: 2,041**
5. **Szőke T.**, Kayser K, Baumhäkel JD, Trojan I, Furak J, Tiszlavicz L, Eller J, Boda K. Prognostic significance of microvascularization in cases of operated lung cancer *Eur J Cardiothorac Surg* (elfogadva) **IF: 1,465**
6. **Szőke T.**, Kayser K, Baumhäkel JD, Trojan I, Furak J, Tiszlavicz L, Horvath A, Szluha K, Gabius HJ, Andre S. Prognostic significance of endogenous adhesion/growth-regulatory lectins in lung cancer. *Oncology* (benyújtva)

8.2. A témával kapcsolatos, lektorált folyóiratban megjelent absztraktok

1. **Szőke Tamás**, Troján Imre, Furák József, Csada Edit, Szalontai Klára, Martyin Péter, Tiszlavicz László. A kissejtes tüdőrák sebészi kezelésének eredményei. *Medicina Thoracalis Suppl.* P55 (2004)
2. **Szőke Tamás**, Kayser, Klaus, Baumhäkel, Jan-Dirk, Troján Imre, Furák József, Tiszlavicz László, Gabius, Hans-Joachim. Lektinexpresszió és lektinkötő kapacitás kvalitatív jellemzői és prognosztikai jelentősége tüdőrákos esetekben. *Medicina Thoracalis Suppl.* P44 (2004)
3. **Szőke Tamás**, Kayser, Klaus, Baumhäkel, Jan-Dirk, Troján Imre, Furák József, Tiszlavicz László. Microvascularizáltság mérése és prognosztikai jelentősége operált tüdőrák esetén. *Medicina Thoracalis Suppl.* P45 (2004)
4. **Szőke Tamás**, Troján Imre, Furák József, Csada Edit, Barna Katalin, Martyin Péter, Tiszlavicz László. A sebészi kezelés lehetőségei és eredményei a tüdőrák gyógyításában. *Medicina Thoracalis Suppl.* P108 (2004)
5. Furák József, Troján Imre, **Szőke Tamás**, Höhn József, Kahán Zsuzsanna, Tiszlavicz László, Barzó Pál, Balogh Ádám. Tüdőrák és agyi metastázisának sebészi kezelése. *Magyar Onkológia* 45:3 261 (2001)
6. **Szőke Tamás**, Troján Imre, Furák József, Höhn József. Intrapulmonalis metastasisok prognosztikai jelentősége operált tüdőrákos esetekben. *Magyar Onkológia* 45:3 308 (2001)

7. **Szóke Tamás**, Troján Imre, Furák József, Tiszlavicz László. Intrapulmonalis metastasisok prognosztikai jelentősége operált tüdőrákos esetekben. *Medicina Thoracalis Suppl* 2 55: K29 (2002)

8.3. A témával kapcsolatban elhangzott előadások

1. **Szóke, T.**, Troján, I., Furák, J., Höhn, J. Prognostic significance of intrapulmonary metastases in operated lung cancer cases. EACTS/ESTS Joint Meeting, Lisszabon (2001)

2. **Szóke, T.**, Troján, I., Furák, J., Tiszlavicz, L. Die prognostische Bedeutung der intrapulmonalen Metastasen bei Lungenkarzinom. 11. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Thoraxchirurgie, Wiesbaden (2002)

3. **Szóke T.**, Baumhäkel, J-D., Kayser, K., Trojan, I., Furak, J., Tiszlavicz, L., Gabius, H-J. Auswertung histologischer prognostischer Faktoren beim operierten nicht-kelinzelligen Lungenkrebs. VIII. Bilaterales Deutsch-Ungarisches Symposium, Leipzig (2002)

4. **Szóke T.**, Baumhäkel, J-D., Kayser, K., Trojan, I., Furak, J., Tiszlavicz, L., Gabius, H-J. Prognostic significance of lectins and lectin-binding capacity in patients with lung cancer. 10th European Conference on General Thoracic Surgery, Istambul (2002)

5. **Szóke,T.**, Baumhäkel, J.-D., Kayser, K., Troján, I., Furák, J., Tiszlavicz, L., Gabius, H.-J. Die prognostische Rolle der Lektinen beim Lungenkarzinom. 12. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Thoraxchirurgie, Schöntal (2003)

6. **Szóke,T.**, Baumhäkel, J.-D., Kayser, K., Troján, I., Furák, J., Tiszlavicz, L. Microvascularization and survival in operated lung cancer patients. 2nd EACTS/ESTS Joint Meeting, Wien (2003)

7. **Szóke,T.**, Baumhäkel, J.-D., Kayser, K., Troján, I., Furák, J., Tiszlavicz, L. Measurement and prognostic significance of microvascularization in cases of operated lung cancer patients. 10th International Thoracic Surgery Congress, Kecskemét (2004)

8. **Szóke,T.**, Baumhäkel, J.-D., Kayser, K., Troján, I., Furák, J., Tiszlavicz, L. Prognostische Bedeutung der Angiogenese beim operierten Bronchialkarzinom. 13. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thoraxchirurgie, Heidelberg (2004)

8.4. A munkában fel nem használt közlemények

1. **Szóke Tamás**, Horváth Örs Péter, Farkas Gyula, Tószegi Anna, Mágóri Anikó. Gyomorcarcinoid operált esetei. *Magyar Sebészet* 46:75-80 (1993)

2. Bende János, Baltás Béla, Oláh Tibor, **Szóke Tamás**, Bajusz Huba. Programozott diagnosztikus relaparoscopia tartósan benthagyott porttal. *Magyar Sebészet* 46:245-250 (1993)

3. Furák József, Troján Imre, **Szóke Tamás**, Módok Szabolcs. Acut ellátást igénylő sternumtumor. *Medicia Thoracalis* 50:624-628 (1997)

4. Troján Imre, **Szőke Tamás**, Furák József. A videotorakoszkópia szerepe a jóindulatú mediastinalis térfoglaló folyamatok kezelésében. *Magyar Sebészet* 52:45 (1999)
5. Furák J, Troján I, **Szőke T.** Video-Assisted Thoracic Surgery (VATS) for the treatment of primary pneumothorax (ptx): early indications and "blind resection". *Acta Chirurgica* 38(2):151-154 (1999)
6. Furák J, Troján I, **Szőke T.**, Tizslavicz L, Morvay Z, Balogh Á. Surgical interventions for pulmonary tuberculosis: analysis of the indications and perioperative data of the therapeutic and diagnostic resections. *Eur J Cardiothorac Surg* 20:722-727 (2001)
7. Furák J, Troján I, **Szőke T.**, Tizslavicz L, Morvay Z, Eller J, Balogh Á. Bronchioloalveolar lung cancer: occurrence, surgical treatment and survival. *Eur J Cardiothorac Surg* 23:818-824 (2003) **IF: 1,465**
8. Furák J., Troján I., **Szőke T.**, Tizslavicz L., Morvay Z., Balogh Á. Bronchioloalveolaris tüdőrák előfordulása klinikai anyagunkban. *Magyar Onkológia* 47:349-353 (2003)
9. Furák József, Farkas Gyula, Troján Imre, **Szőke Tamás**, Tizslavicz László. Hasnyálmirigy reszekció tüdőrák áttéte miatt. *Magyar Sebészet* 56:209-210 (2003)
12. Furák, J., Szolnoky, J., Troján, I., Bogáts, G., **Szőke, T.** Combined off-pump coronary artery bypass an right upper lobectomy for lung cancer trough median sternotomy. *Magyar Sebészet* 56:247-248 (2003)
13. Furák J., Troján I., **Szőke T.**, Tizslavicz L., Boda K., Balogh Á., Róth E. A tüdő tuberkulotikus granulomájának szövettani és immunhisztokémiai szerkezet antituberkulotikummal kezelt és kezeletlen esetben. *Orv Hetilap* 143:1347-1353 (2003)