

Egyetemi doktori (Ph.D) értekezés tézisei

**TRANSZFORMÁLT DERMATOFIBROSARCOMA PROTUBERANS:
KLINIKOPATHOLOGIAI ÉS MOLEKULÁRIS PATHOLOGIAI ELEMZÉS**

dr. Szöllősi Zoltán

Témavezető:
Prof. Dr. Nemes Zoltán

Debreceni Egyetem
Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Pathologiai Intézet
2006.

BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP) a fibrohistiocytás lágyrésztumorok közé sorolt intermediér malignitású, dermalis kiindulású elváltozás. Általában felnőttekben jelentkezik, leginkább a 20-50 évesek között figyelhető meg. Megjelenését tekintve leginkább a törzsön, illetve a proximális végtagokon alakul ki. A klasszikus szövettani jellemzők magukban foglalják a tipikusan monoton, storiform növekedési formát, melyet a jellegzetes elnyújtott orsó alakú sejtek építenek fel. Ugyancsak jellemző vonás a subcutis zsírszövetének lépesmézyszerű infiltratioja. Immunhisztokémiailag leginkább a CD34 reaktivitást tartják jellemző markernek.

A DFSP klinikailag lokálisan agresszív tumor, melyet gyakori recidivák jellemeznek, azonban metastasisok (1-4%), valamint a tumor által okozott halálozás alacsony. A daganat kiújulása az elsődleges sebészi kezelést követően 20-50% közé tehető. A daganat mérete, valamint a recidiva készség között összefüggést nem találtak, ugyanakkor a sebészi eltávolítás radikalitása meghatározó. Általánosságban szólva a 2 cm tumormentes szegéllyel rendelkező, úgynevezett széles kimetszés a relapsusok számát szignifikánsan csökkenti.

A DFSP morfológiailag nem egységes, számos ritka variáns került leírásra. Ezeket fontos ismerni, mert egyéb, magasabb malignitású tumorokat képesek utánozni. A legtöbb ilyen szövettani variáns a klasszikus DFSP-hez hasonlóan viselkedik, kezelésében hasonló elvek érvényesek.

Létezik azonban néhány olyan eset, ahol a DFSP mellett fibrosarcoma (FS), még ritkábban malignus fibrosus histiocytoma (MFH) ismerhető fel. Az elmúlt két évtizedben többen vizsgálták az úgynevezett transzformált DFSP prognosztikai, illetve klinikopathológiai jellemzőit, a sarcomatosus transzformáció prognosztikai jelentősége azonban mindmáig vitatott téma.

Penner 1951-ben közölte az első áttéteket képző DFSP leírását, melyben a klasszikus fibrosarcomához hasonlatos területek is felismerhetők voltak. Jóval később Ding és munkatársai magasabb kiújulási arányt észleltek fibrosarcomatosus DFSP-k esetén, azonban a kezelés részleteit munkájuk nem taglalja. Hasonló megállapításokat közöltek Mentzel és munkatársai, valamint Pizzaro és munkatársai, de tanulmányaikban csupán az esetek kis hányada részesült megfelelő lokális kimetszésben, vagy a kezelés módozatait nem ismertették.

Ellenkező megállapításra jutott Connely és Trotter, akik a recidiva hajlamot a kimetszés radikalitásával hozták összefüggésbe. Az egyik nagy tanulmány Goldblum és munkatársai vizsgálatában nem talált lényeges különbséget a szokványos DFSP és a sarcomatosusan transzformált DFSP prognózisában, amennyiben a sebészi kezelés széles lokális kimetszés volt.

Másrészről, újabb cytogenetikai vizsgálatok leírták, hogy a DFSP-re jellemző a t(17;22)(q22;q13) transzlokáció kialakulása, melyet számfeletti r(17;22) ring kromoszóma kialakulása is kísér. A kromoszomális átrendeződés a kollagén I α 1 (COLIA1), valamint a thrombocytá

növekedési faktor B-lánc (PDGFB) génjének fúziójához vezet. A génátrendeződés kapcsán a PDGFB gén a regulátor, exon 2 előtti szekvenciáit elvesztve a COLIA1 gén szabályozása alá kerül, mely a PDGFB növekedési faktor kontrollálatlan termelődéséhez vezet, ami a jelen kutatások szerint a DFSP kialakulásának döntő lépése.

Bonyolult diagnosztikai esetekben a COLIA1-PDGFB fúziós génnek megfelelő mRNS kimutatása döntő lehet. Erről az irodalomban találunk adatokat, sőt a fenti transzlokációt óriássejtes fibroblastomában, fibrosarcomatosusan átalakult DFSP-ben, valamint superficialis felnőttkori fibrosarcomában is kimutatták. Semmit sem tudunk azonban a fenti transzlokáció állapotáról a malignus fibrosus histiocytoma irányában átalakult DFSP-k esetében.

A real time PCR egyre növekvő szerepet játszik a klinikai diagnosztikai munkában, mert objektív, gyors, költséghatékony, és minimális mennyiségű anyagon is kivitelezhető. További előnyeként említhető, hogy specifitása miatt sürgősen szükség van a különböző PCR reakció utáni kiegészítő vizsgálatok. Mivel a real time PCR kis mennyiségű cDNS-t használ az amplifikációhoz, jól használható a paraffinba ágyazott anyagok vizsgálatánál is.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Vizsgálni a transzformált DFSP biológiai viselkedését hosszú utánkövetéssel.
2. Leírni a lokális kezelés hatását a transzformált DFSP-k esetén.

3. Kidolgozni a DFSP, illetve a transzformált DFSP vizsgálatában használható real time PCR vizsgálatot.
4. Malignus fibrosus histiocytoma irányú átalakulást mutató DFSP-k vizsgálata a pathogenesisben szerepet játszó t(17;22)(q22;q13) transzlokáció irányában.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Esetek

87 DFSP eset került áttekintésre a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Pathológiai Intézet archivumából. Minden esetben paraffinba ágyazott, formalin fixált anyag állt rendelkezésre. Első lépésben a hagyományos szövettani feldolgozással elkészített hematoxylin-eosin festett metszeteket vizsgáltuk a sarcomatosus transzformáció jelenléte céljából. A következő diagnosztikai kritériumokat használtuk: (1) a klasszikus DFSP jelenléte, (2) a sarcomatosus átalakulás jelenléte az elváltozás területének minimum 5%-ban. Fibrosarcomatosus átalakulás jelenlétét akkor fogadtuk el, amikor egy mitotikusan aktív, cellularis területet találtunk, ahol a tumorsejtek karakterisztikus fascicularis elrendeződést mutattak. Malignus fibrosus histiocytoma irányú átalakulás jelenlétét akkor tekintettük diagnosztikusnak, amikor mitotikusan aktív, sejtdús területet találtunk, ami differenciálatlan, pleiomorph sejtekből épült fel. A 87 vizsgált esetből nyolc felelt meg a fenti kritériumoknak.

Utóbbi esetekben a következő jellemzőket dokumentáltuk: a tumor

mérete; a sarcomatosus transzformáció területe; a sarcomatosus terület, valamint a klasszikus DFSP százalékos aránya; a mélységi infiltráció; mitoticus alakok száma (MF) 10 nagy nagyítású látótérben. Mindemellett valamennyi sarcomatosus terület gradus megállapítását is elvégeztük a Trojani rendszer alapján.

Az esetek immunhisztokémiai feldolgozását is elvégeztük. A deparaffinált metszeteket az alábbi antitestekkel inkubáltuk szobahőn 30 percig: anti-vimentin (clone V6, Dako, 1/40 hígítás), anti- α -simaizom-aktin (clone α sm1, Novocastra, 1/50 hígítás), anti-desmin (clone D33, Dako, 1/40 hígítás), anti-CD34 (clone QBEnd/10, Novocastra, 1/25 hígítás), anti-factor XIIIa (FXIIIa, polyclonal, Calbiochem, 1/200 hígítás). Citrát pufferben (pH 6.0) magas nyomású antigén feltárást alkalmaztunk, melyet standard peroxidase jelölt streptavidin-biotin módszerrel VIP chromogen (SK4600, Vector Laboratories) segítségével vizualizáltunk. A CD34 és a FXIIIa immunreaktivitás az érintett, pozitivitást mutató sejtek a tumorsejtekhez viszonyított aránya szerint, szemikvantitatív módon került értékelésre (-, +, ++, +++).

A klinikai adatok a klinikai információs rendszerből, valamint az intézeti regiszterből kerültek feldolgozásra.

Kontroll csoport a klinikopathologiai elemzés számára

A sarcomatosus transzformációt nem mutató 79 tumorból 20 esetet választottunk ki a sebészi eltávolítás radikalitása alapján: minden esetben ún. széles lokális kimetszést végeztek. Rögzítettük a vonatkozó klinikai

információkat, valamint a tumorok maximális átmérőjét.

Microdissectio

A microdissectio Wang és munkatársai eredeti eljárása alapján történt. Röviden, a sarcomatosusan átalakult DFSP esetek paraffinos blokkjai RNS/RNase mentes környezetben kerültek feldolgozásra, ahol cserélhető pengéjű microtommal 10µm vastag metszeteket készítettünk. A microdissectio céljából a metszeteket tárgylemezre helyeztük, majd xylolban 10 percig deparaffináltuk, ezt követően leszálló alkoholsorban rehidráltuk, majd haematoxylin-eosin háttérfestést alkalmaztunk. Steril pengével a határzónának megfelelő keskeny sáv kihagyásával a két komponenst egymástól elválasztottuk, azokat külön kezeltük.

Öt konvencionális DFSP esetet hasonlóan kezelve pozitív kontrollként használtunk a real time PCR vizsgálatokhoz.

RNS extractio

A deparaffinált metszetek steril Eppendorf-csőbe kerültek, majd ezután proteinase K-t tartalmazó pufferben 56°C-on, 16 órán át emésztettük az anyagot. Abszolút alkoholos kicsapást követően a mintákban fellelhető teljes RNS mennyiség kivonásra került az EZ1 Biorobot EZ1 RNA Tissue Mini Kit protokollnak megfelelően (Qiagen, Hilden, Germany).

Probe és primer tervezés

A primer és probe szekvenciák a Primer Express szoftver segítségével kerültek megtervezésre (Applied Biosystems, Foster City, USA), a COL1A1 gén exon 5, valamint exon 49 közötti szekvenciáknak megfelelően. Hogy elkerülhessük többféle probe szekvencia használatát, egy probe-ot terveztünk a PDGFB gén exon2 5' végének megfelelően. A reverz primer a probe-ot követő PDGF exon 2-n belüli szekvenciának megfelelő volt.

Egylépéses real time PCR

A PCR reakció ABI 7300 real time PCR készülékben (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 96-well plate-en került kivitelezésre. Minden reakciót duplán végzetünk el. A végső reakció elegy 10 μ l extrahált RNS-t, 25 μ l Quantitect Probe RT-PCR mixet, 0.5 μ l Quantitect RT mixet, 0.7 μ l-0.7 μ l (1 μ M-1 μ M) forward, valamint reverse primert és 0.3 μ l (0.2 μ M) probe-ot tartalmazott 17.8 μ l RNS mentes víz kíséretében. (Quantitect Probe PCR kit, Qiagen, Hilden, Germany)

Az RNS integritás ellenőrzése az általánosan expresszált 36B4 gén amplifikálásával történt, hasonló reakció körülmények között.

Első lépésben reverz transzkripció történt 50°C-on 30 percig, majd ezt követően denaturáltuk a DNS-t 95°C-on 15 percig. A kezdő lépés után 40 ciklust futtattunk, 76°C-95°C-56°C váltakozásával, ahol a fluoreszcens detektálás az utolsó lépésben történt. A kapott adatok elemzését a Sequence Detection Software-rel végzetük (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

EREDMÉNYEK

A transzformált DFSP (DFSP-FS, DFSP-MFH) klinikai jellemzői

Öt beteg esetében fibrosarcomatosus transzformáció, három betegnél pedig malignus fibrosus histiocytoma irányú átalakulást észleltünk. A betegek között hat nő és két férfi volt, életkoruk 26 és 62 év között volt (átlagosan 41 év). Valamennyi tumor lassan növvő, fájdalomtalan, felszínes elváltozásként jelentkezett; egyéb szokatlan klinikai jellemző nem került leírásra. Hat esetben a törzsön helyezkedett el az elváltozás, két esetben pedig az alsó végtagon. A daganatok mérete 3.5 cm és 8 cm között volt (átlagosan 4 cm). Hat esetben történt széles lokális kimetszés, két esetben inkomplett eltávolítás történt radioterápiával. A sebészi resectios vonalak természetesen pozitívak voltak az utóbbi két esetben.

A követés időtartama négy és 36 év között mozgott, egy eset kivételével mindig meghaladta az öt évet.

Három esetben figyeltünk meg recidivát: két olyan betegben, ahol a kiírtás radikalitása nem volt kellő, valamint egy olyan betegben, ahol a széles lokális eltávolítást alkalmaztak. Ennek megfelelően a sarcomatosus DFSP teljes kiújulási aránya 37.5%, viszont csak 17% azokban az esetekben, ahol a kezelés széles lokális kimetszés.

A recidivát megelőző időintervallum kilenc hónaptól négy évig terjedt. Egy betegben három recidiva, egy másik betegben két recidiva, valamint egy esetben egy recidiva alakult ki.

A DFSP-MFH esetek közül két esetben észleltünk recidivát, ennek megfelelően a kiújulási arány 66% volt. Mindkét esetben a resectios

vonalak tumorszövetet tartalmaztak.

Egy esetben észleltük a DFSP-FS kiújulását (kiújulási arány 17%), mely esetben a kezelés széles lokális kimetszés volt.

A kontroll csoport jellemzése

20 konvencionális DFSP-t írtunk le. A betegek között 13 nő, valamint hét férfi szerepelt. Életkor tekintetében 23 és 48 év közöttiek voltak (átlagosan 35 év).

10 esetben az elváltozás a törzsön, három esetben az alsó végtagon, két esetben a válltájékon, egy-egy esetben inguinalisan, illetve a felső végtagon helyezkedett el. A daganatok mérete 2 és 5 cm között volt (átlagosan 3.585 cm). Minden esetben széles lokális kimetszést alkalmaztak, a sebészi szélek negatívak voltak.

Három betegnél jelentkezett recidiva (a kiújulási arány 15%), mely az első műtétet követő 14 és 18 hónap között jelentkezett (átlagosan 19 hónap).

Az utánkövetés ideje három és 14 év között váltakozott, átlagosan 8.6 év volt.

Kórszövettani jellemzők

A daganatok szövettani elemzését Weiss és Goldblum leírásai alapján végeztük.

Minden tumorban megfigyelhető volt a DFSP-re jellegzetes orsósejtes, fibroblast karaktert mutató sejtek storiform proliferációja, intercellularisan

némi kollagén depozícióval, valamint igen finom kapilláris hálózattal. A subcutan zsírszövet jellemző, ún. lépesmészzerű infiltratioja ugyancsak karakterisztikus vonás volt. Minimális nuclearis polimorfizmus mellett a mitózisok száma alacsony volt. Myxoid átalakulás egy esetben volt látható. A DFSP komponens a aránya 45% és 75% között mozgott (átlagosan 54%).

A sarcomatosus átalakulás minden esetben de novo jelentkezett.

A fibrosarcomatosus jelleget kifejezett sejtdússág, valamint fascicularis növekedés jellemezte az igen jellemző heringraj mintázattal. A tumorsejtek magja nagyobb, duzzadtabb volt, mint a DFSP-ben megfigyeltek, a kromatin durvábbnak mutatkozott. Bizarr sejtfarmák a fibrosarcomatosus területet nem jellemezték. A fibrosarcomatosus átalakulás a tumorok subcutan területein jelentkezett, a dermis nem volt érintett egyetlen esetben sem. A klasszikus DFSP és a FS határa három esetben éles volt, míg két esetben elmosott. Focalis myxoid átalakulás két esetben jelent meg.

A malignus fibrosus histiocytoma irányban átalakult területeken a tumorsejtek viszonylag nagyok és pleiomorphak voltak. A mitotikus aktivitás fokozódása mellett multinuclearis óriássejtek is megfigyelhetők voltak. Az MFH szintén a daganat subcutan területében jelent meg, ugyanakkor dermalis érintettség is megfigyelhető volt két esetben. Az MFH és a DFSP közötti határ két esetben elmosott, egy esetben éles volt. Focalis myxoid átalakulás két esetet jellemezett.

Általánosságban szólva a mitotikus aktivitás a sarcomatosus területek

magasabbnak bizonyult. A klasszikus DFSP területein a mitotikus aktivitás 1 és 3 között ingadozott 10 nagy nagyítású látótérben (átlagosan 1.875), ugyanakkor a sarcomatosus területeken ugyanez 9 és 16 közötti értéket mutatott (átlagosan 12). Kiterjedt tumor necrosis vagy vérzés egyik esetben sem volt látható.

Az egyik esetben megfigyelt metastaticus tumorban kizárólag malignus fibrosus histiocytomára jellegzetes szerkezet mutatkozott.

A sarcomatosus terület gradusa egy esetben grade 1, hét esetben grade 2 volt.

Immunhisztokémiai jellemzők

Vimentin immunreaktivitás mind a DFSP, mind a sarcomatosus komponensben jelen volt. A konvencionális DFSP területeken erős CD34 reaktivitás mutatkozott, ugyanakkor a fibrosarcomatosus területek csak három esetben mutattak gyenge pozitívítást.

Az MFH területek CD34 negatívnak bizonyultak. FXIIIa reaktivitás csak néhány sejtben volt jelen a DFSP komponensben, ugyanakkor az MFH-n belül diffúz erős pozitívítást mutatkozott. Ez utóbbi sejtekről más tanulmányunkban kimutattuk, hogy nem neoplasticus jellegűek, hanem a daganat stromájához tartoznak.

A FS területek FXIIIa negatívak voltak. A dezmin és simaizom-aktin reakciók minden esetben negatívak voltak.

Molekuláris biológiai jellemzők

Egy esetet kivéve, minden tumorból sikerült amplifikálható RNS-t nyerni, melyet a 36B4 génnel végzett referencia vizsgálat igazolt.

A vizsgálat tanulsága szerint a DFSP-FS esetek az alábbi transzlokációkkal voltak jellemezhetőek: a COL1A1 gén 27, 32, 40, 47 exonjai fúzionáltak a PDGFB 2 exonnal. A DFSP-MFH csoportban kimutatott transzlokációkat a következő COL1A1 exonok jellemezték: exon 32, 34, 40. A kontroll csoport tagjaiban a COL1A1 29, 32, 34, 38, 42 exonjai és a PDGFB 2 exon közötti transzlokáció volt megfigyelhető.

MEGBESZÉLÉS

Vizsgálatunkban a transzformált DFSP klinikopathológiai jellemzését végeztük el hosszú utánkövetési idővel. 87 dermatofibrosarcoma protuberans közül 8 esetben észleltünk sarcomatosus átalakulást.

A sarcomatosus átalakulást mutató eseteket tovább vizsgáltuk. A nyolc tumor közül öt esetben fibrosarcomatosus átalakulást, három esetben pedig malignus fibrosus histiocytoma jellegű átalakulást észleltünk. Kontroll csoportként 20 konvencionális, széles lokális kimetszéssel eltávolított DFSP-t tekintettünk.

Az életkori, valamint anatómiai sajátosságok között nem találtunk eltérést a kontroll csoport valamint a sarcomatosus DFSP-k között. A sarcomatosus átalakulás valamennyi esetünkben de novo keletkezett, nem pedig a recidivák során. Valamennyi konvencionális DFSP széles lokális kimetszéssel volt kezelve, a recidiva arány 15%-nak mutatkozott, amely

kissé alacsonyabb az irodalmi értéknél.

A klinikopathologiai korrelációk érdekében hat sarcomatosusan átalakult, széles lokális kimetszéssel kezelt DFSP mellett, két olyan esetet tanulmányoztunk, melyek inkomplett lokális kimetszés mellett radioterápiában részesültek. A sarcomatosus terület valamennyi esetben a tumorok szignifikáns területét alkotta 25% és 75% között. A klinikopathologiai elemzés szempontjából fontos utánkövetési idő a tanulmányunkban meghaladta a kritikus eltávolítás utáni három évet, amikor a recidivák többsége jelentkezik.

A transzformált DFSP-k között három esetben észleltünk recidivát, ennek megfelelően a DFSP-FS-t, illetve a DFSP-MFH-t jellemző recidiva arány 37.5%. Ezt összehasonlítva a konvencionális DFSP-t jellemző értékkel szignifikáns különbség észlelhető a transzformált esetek javára. Sajnálatos módon csak egyetlen recidiváló transzformált DFSP volt széles helyi kimetszéssel kezelve. Abban az esetben, ha a kezdeti kimetszés nem volt teljes, a recidiva arány 100% volt.

Öt esetben nem észleltünk lokális recidivát vagy metastasisokat. Egy esetben észleltük áttéti tumor kialakulását, mely a tumor aggresszivitását egyértelműen alátámasztja. A széles lokális kimetszéssel kezelt DFSP-k recidiva aránya 17% volt. Ez a megfigyelés leírja, hogy a széles lokális kimetszéssel kezelt sarcomatosusan átalakult DFSP-k esetén hasonló klinikai viselkedésre számíthatunk, mint a konvencionális DFSP kapcsán, de a transzformált DFSP agresszívabb tumor, melyre az általunk észlelt 12.5%-os áttétképzési arány utal.

Az immunhisztokémiailag észlelhető CD34 reaktivitás fontos eszköze a DFSP diagnosztikájának. Valamennyi konvencionális DFSP-ben a tumorsejtek túlnyomó többsége pozitivitást mutatott, míg a sarcomatosus területeken csupán bizonytalan reaktivitást láttunk három esetben.

A recidivakészség, valamint az áttétképzési hajlam nem mutatott összefüggést a tumor mélységi infiltrációjával, a sarcomatosus terület relatív arányával, valamint a sarcomatosus terület szövettani gradusával.

A lokális kezelés alapvetően meghatározó a tumorok kezelésében általában, melyet az alacsony, illetve magas gradusú végtagi sarcomák esetén is demonstráltak. A DFSP esetében a recidiva készség egyértelmű összefüggést mutat a kiirtás radikalitásával. Az újabban leírt micrographicus sebészi eltávolítás a recidiva hajlamot elméletileg nullára csökkenti, azonban a módszer a DFSP esetén a fibroblastszerű morfológia miatt viszonylag nehéz diagnosztikus feladat.

Ha nem jelentkezik recidiva, akkor gyakorlatilag metastasis kialakulásával sem kell számolni, mivel az előzetes kiújulás nélkül szinte soha nem jelentkezik. Ezért, véleményünk szerint a széles lokális kimetszés gyakorlatilag nullára csökkenti, néha teljesen megszünteti a recidiva illetve metastasisok esélyét.

Másrészről újabb cytogenetikai és molekuláris vizsgálatok leírták, hogy a COL1A1 valamint PDGFB gén fúziója jellegzetes DFSP-ben. A COL1A1 gén az I. típusú collagen felépítésében részt vevő fehérjét kódol, míg a PDGFB egy potenciális mitogén számos sejt tekintetében. A COL1A1 génen belüli töréspont variábilis, de mindig az α -helicalis domaint kódoló

területre lokalizált. A COL1A1 gén szegmens törése esetén mindig az adott exon utolsó kodonjánál helyezkedik el a töréspont. A fúziós gén PDGFB szegmense mindig a 2. exonnal kezdődik. Ennek megfelelően in-frame fúziós gén keletkezik, mivel a PDGFB exon 2 a 22. kodon első bázisával kezdődik. A COL1A1 génszakasz mintegy aktív promoter szerepet tölt be a PDGFB tekintetében. A transzlokáció elmozdítja a különböző regulatorikus szekvenciákat a PDGFB gén 5' végéről, ami a protein szintézis fokozódásához vezet.

Wang és munkatársai demonstrálták, hogy a COL1A1-PDGFB fúziós transzkriptum kimutatható a transzformált DFSP fibrosarcomatosus területein hagyományos PCR technikákkal, és arra a következtetésre jutottak, hogy a COL1A1-PDGFB chimericus gén a fibrosarcomatosus transzformáció kialakulásában szerepet játszik, miáltal a deregulált PDGFB, mint növekedési faktor változatlan stimulációs hatást képvisel.

Amellett, hogy a COL1A1-PDGFB fúziós gént már vizsgálták a konvencionális DFSP-ben, óriássejtes fibroblastomában (a DFSP juvenilis formája), a fibrosarcomatosus DFSP-ben, valamint a superficialis fibrosarcomában, nem ismert a gén állapota DFSP-MFH-ban.

Jelen vizsgálatunk során kimutattuk, hogy a COL1A1-PDGFB fúziós gén nemcsak a transzformált DFSP esetek konvencionális DFSP komponensében, hanem a sarcomatosusan átalakult területeken is jelen van, sőt az MFH területeken is megfigyelhető. Az MFH területeken a COL1A1 gén exon 32, exon 34, valamint exon 40 területén volt

kimutatható a töréspont. Ennek megfelelően a COL1A1-PDGFB fúziós gén a DFSP high grade transzformációjában is részt vesz.

Megvizsgáltunk öt fibrosarcomatosusan transzformált DFSP esetet is. Nem volt amplifikálható cDNS egy esetben, valószínűleg a preparatum kora miatt. Négy esetben azonban kimutattuk a fúziót a változó lokalizációjú (exon 27, 32, 40, 47) COL1A1 töréspont és a PDGFB között.

Vizsgálatainkkal nem tudtuk a sarcomatosus transzformációt elősegítő, akár előrejelző transzformációt kimutatni, azonban a fenti módszer bonyolult esetekben segítheti a sarcomatosus DFSP diagnózisát.

Másrészről, a korábbi tanulmányok hagyományos reverz transzkripción alapuló PCR reakciót alkalmaztak, mely szekvencia analízissel kiegészítve bizonyította annak specifikus voltát. Elméletileg a real time PCR kombinálja a fluorescens detekció objektivitását valamint a PCR reakció egyszerűségét, és az így kapott eredmények a genetikai eltérések kimutatásának standardjai. A real time PCR reakció szükségtelenné teszi a PCR reakciót követő vizsgálatokat, ami mind a vizsgálathoz szükséges időt lerövidíti, mind lecsökkenti a reakció kontaminációjának a veszélyét.

Másrészről a hagyományos PCR és real time PCR szenzitivitása eltér egymástól. Utóbbi esetben kisebb mennyiségű cDNS-be átírható RNS-re van szükség. Ez különösen fontos, ha paraffinba ágyazott mintát szeretnénk vizsgálni, ugyanis az ebből izolált RNS gyakran rossz minőségű, a formalin fixálást megelőző RNS degradáció eredményeként. Emellett a formalin fixálás önmagában is keresztkötéseket hoz létre a

nukleinsavak és különböző fehérjék között, mely miatt az RNS extractio és reverz transzkripció problematikus lehet. Ennek megfelelően az esetleges RNS alapú kvantifikálási eljárások paraffinos anyag esetén akadályokba ütközhetnek.

Összefoglalva, vizsgálatainkkal egyrészt tisztáztuk, hogy a sarcomatosus átalakulás a DFSP esetén a tumor progresszió egy részjelensége, és rosszabb prognózissal jár, összehasonlítva a konvencionális DFSP-t jellemző paraméterekkel. A sarcomatosus DFSP-t jellemző agresszivitás összefüggésben lehet a sarcoma típusával. Annak ellenére, hogy a transzformált DFSP agresszívabb tumor, a prognózis kedvezően befolyásolható a lokális eltávolítás radikalitásával, melynek következtében a recidiva arány, illetve az áttétképző készség kicsivel haladja meg a konvencionális DFSP hasonló jellemzőit.

Kimutattuk, hogy a real time PCR alapú genetikai analízis jól használható a DFSP és transzformált DFSP vizsgálatában. Demonstráltuk a COL1A1-PDGFB fúziós gén jelenlétét a sarcomatosus komponensben, mely a clonalis eredetet alátámasztja.

A MUNKA ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

1. **Szollosi Z**, Nemes Z. Transformed dermatofibrosarcoma protuberans: a clinicopathological study of eight cases. *J Clin Pathol* 2005;58:751-756. IF:2.619
2. **Szollosi Z**, Scholtz B, Egervari K, Nemes Z. Transformed dermatofibrosarcoma protuberans: real time PCR detection of COLIA1-PDGFB fusion transcripts in sarcomatous areas. Közlésre elfogadva. *J Clin Pathol*. IF:2.619

EGYÉB, JELEN MUNKÁBAN NEM HASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

1. Szucs-Farkas Z, Toth J, **Szollosi Z**, Peter M, Bartha I. Pseudoaneurysm and ilio-caval fistula caused by malignant fibrous histiocytoma of the aorta-CT diagnosis and angiographic confirmation. *Eur Radiol* 2002;2:450-3. IF: 2.364
2. Antus B, Hamar P, Kokeny G, **Szollosi Z**, Mucsi I, Nemes Z, Rosivall L. Estradiol is nephroprotective in the rat remnant kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:54-61. IF: 2.840
3. **Szollosi Z**, Tarr T, Kiss E. Crohn disease versus systemic lupus erythematosus: an autopsy diagnosis of predominantly extraintestinal Crohn disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:702-3. IF: 3.545
4. **Szollosi Z**, Egervari K, Nemes Z, Kaczur V. Re: Lottner et al. simultaneous detection of HER2/neu gene amplification and protein overexpression in paraffin-embedded breast cancer. *J Pathol*. 2005;207:119-20. IF: 5.333

5. **Szollosi Z**, Nemeth T, Egervari K, Nemes Z. Histiocyte-like cells expressing factor XIIIa do not belong to the neoplastic cell population in malignant fibrous histiocytoma. *Pathol Res Pract.* 2005;201:369-77.
IF: 0.681
6. Egervari K, **Szollosi Z**, Nemes Z, Kaczur V. Comparison of immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization assessment of HER-2 status in routine practice. *Am J Clin Pathol.* 2006;125:155-6.
IF: 2.716
7. Cserni T, Kiss A, Jozsa T, **Szollosi Z**, Nagy B. Extralobar Pulmonary Sequestration in the Right Upper Thoracic Region. *Respiration.*
Accepted for publication. IF: 1.019
8. Keresztes K, Miltenyi Z, Bessenyei B, Beck Z, **Szollosi Z**, Nemes Z, Olah E, Illes A. Epstein-Barr virus in Hodgkin's lymphoma in North-eastern part of Hungary and its impact on therapeutic and survival results. *Acta Hematologica.* Accepted for publication IF: 1.373
9. Egervari K, **Szollosi Z**, Nemes Z. IHC for Her2 with CBE356 antibody is a more accurate predictor of Her2 gene amplification by FISH than HercepTest in breast carcinoma. *J Clin Pathol.* Accepted for publication.
IF: 2.619

A közlemények összesített impact faktora: 27.728

MAGYAR NYELVŰ KÖZLEMÉNYEK:

1. Keresztes K, Miltényi Zs, Bessenyei B, Beck Z, Szöllősi Z, Nemes Z, Oláh É, Illés Á. Epstein-Barr-vírus-asszociáció Hodgkin-lymphomában, hatása a kezelési és túlélési eredményekre. Hematológia. 2005;38:65-75.
2. Keresztes K, Bessenyei B, Szöllősi Z, Beck Z, Miltényi Zs, Nemes Z, Oláh É, Illés Á. Hodgkin-lymphomás betegek Epstein-Barr vírus asszociációjának vizsgálata. Orvosi Hetilap. 2005;146:1575-82.