

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Meningeoma progresszió és kiújulás lehetséges molekuláris markereinek immunhisztokémiai és klinikopatológiai vizsgálata

DR. CSONKA TAMÁS

Témavezető: Dr. Hortobágyi Tibor



**DEBRECENI EGYETEM
IDEGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA
DEBRECEN, 2017.**

Meningeoma progresszió és kiújulás lehetséges molekuláris markereinek immunhisztokémiai és klinikopatológiai vizsgálata

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Csonka Tamás okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Idegtudományi doktori iskolája keretében

Témavezető: Dr. Hortobágyi Tibor, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora
tagok: Dr. Boczán Judit, PhD
Dr. Kopniczky Zsolt, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Pathológiai
Intézet könyvtára,
2018. március 9. 11 óra.

Az értekezés bírálói:

Dr. Francz Mónika, PhD
Dr. Kajtár Béla, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora
tagok: Dr. Boczán Judit, PhD
Dr. Francz Mónika, PhD
Dr. Kopniczky Zsolt, PhD
Dr. Kajtár Béla, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet, A épület
tanterme, 2018. március. 9., 13 óra.

1 Bevezetés és Irodalmi áttekintés

A központi idegrendszeri daganatok a rutin pathológiai munkában speciális ismereteket igényelnek, emiatt számos neuro-onkológiai centrumban tapasztalt neuropathologus vizsgálja e mintákat. Az általuk analizált központi idegrendszeri tumorokon belül az agyhártya kiindulású meningeomák jelentős hányadot tesznek ki. Az esetek döntő többségében e tumorok leletezése nem ütközik nehézségekbe, de sajnálatosan vannak olyan esetek, melyek megnehezítik a neuropathologus napjait. Nyugati, fejlett, gazdag országokban a kiegészítő molekuláris vizsgálatok, epigenetikai elemzések hasznos segítséget nyújthatnak a napi rutin gyakorlatban is, és elérhetőek a mindennapi munka során. Azonban a kelet közép európai országokban, köztük Magyarországon is, az ilyen jellegű vizsgálatok rutin felhasználása még csak álom, sem anyagi, sem technikai feltételek nem adottak jelenleg.

Célkitűzésünk között szerepelt a Debreceni Egyetem Pathológiai Intézet Neuropathológiai Tanszékén olyan, a mindennapi rutin részét képezhető vizsgálatok kidolgozása, melyek segíthetik a neuropathologus munkáját, támpontot adhatnak a kérdéses esetekben, jelenleg is elérhetőek a pathológiai intézetekben, illetve költségigényük sem kiemelkedően magas. Emellett a visszatérő tumorok vizsgálata során olyan fehérjéket kerestünk, melyek segítséget nyújthatnak a veszélyeztetett populáció kiszűrésében, ezáltal a klinikusok mindennapi munkájában.

Munkámban olyan hagyományos immunhisztokémiai módszerekkel kimutatható fehérjéket vizsgáltunk, amelyek segítséget nyújthatnak a meningeomák grádusának meghatározásában, illetve támpontul szolgálhatnak a prognózis megítélésében a relapsus/recurrencia vonatkozásában. Ugyancsak fontos az egyes esetek kiújulása során, hogy ezen második daganatok milyen változáson mentek keresztül, hogyan „fejlődtek” tovább, emiatt vizsgáltuk, hogy ugyanabból a betegből származó mintában hogyan változnak az egyes fehérjék. Alapvetően olyan fehérjéket választottunk melyek egyrészt a DNS hibajavítás révén jelentősen befolyásolhatják a daganatok kialakulását, mint

például a poly(ADP-ribose) polymerase (PARP1). Másodsorban a genom integritásának a megőrzésében jelentősek és számos tumorban kimutatták közreműködésüket (p53); illetve a sejtosztódás aktív fázisában mutathatóak ki (Ki-67, Mib1 antitest). Valamint jómagunk is vizsgáltuk a sokak által elemzett progesteron receptort (PR), ami közismerten fordítottan összefügg a grádussal, de a kiújuláshoz való viszonyáról kevesebbet tudunk.

1.1. Meningeomák

A meningeomák, meningotheiális sejtekből kialakuló daganatok, melyek tipikusan a dura mater belső felszínéhez tapadnak. Általában jóindulatú lefolyásúak, noha ritkán rossz prognózis is előfordulhat.

A meningeomák az egyik leggyakoribb intracranialis daganatok, általában sporadikusak, de lehetnek familiarisak is. Incidenciájuk korral nő, 60-70 éves korban a leggyakoribb; és enyhe női predomanciát mutatnak (1,7:1). A meningeomák teszik ki az intracranialis daganatok csaknem 24-30%-át. Éves incidenciájuk körülbelül 13/100000 lakos.

A meningeomák tipikusan lassan növekvő tumorok, lokalizációtól és mérettől függően klinikailag lehetnek teljesen tünetmentesek, azonban fokalís nyomási tüneteket és következményes neurológiai deficitet, diplopiát, fejfájást vagy epilepsziás epizódokat is okozhatnak. A meningeomák MRI-n tipikusan isodens, kontrasztanyagot egyenletesen halmozó, dura materrel összekapaszkodott terimék. Az esetleges meszesedést CT-vel lehet jól vizsgálni, illetve kontraszt anyag használatával tovább lehet pontosítani a diagnózist.

Etiológiájuk nem teljesen tisztázott. Ám a teljes koponya besugárzás, mint rizikófaktor, jól ismert tény, kifejezetten a skalpot érintő besugárzás, illetve atombomba túlélők körében. A nemi hormonok hatása még kevésbé tisztázott. Azonban a női predomancia, a túlsúlyosság, az endogen/exogen hormon, a

dohányzás kockázat fokozó hatása, valamint az oestrogen, a progesteron és az androgen hormon pozitivitás ezt támasztja alá. A meningeomák az egyik első olyan szolid daganatok voltak, ahol leírtak cytogenetikai eltéréseket, úgymint a 22-es chromosoma monosomiát vagy a hosszú karjának deletióját. A 22-es chromosomán található Neurofibromatosis 2 gén deletioja, insertioja vagy nonsense mutációja megtalálható a sporadikus meningeomák 60%-ban. Emellett epigenetikai eltérések is szerepet játszhatnak a kialakulásukban (promoter hypermetilatio, histon-modificatio, micro-RNS-ek).

Elhelyezkedésüket tekintve lehetnek intracranialis, intraspinalis vagy orbitalis lokalizációjúak. A koponyaűrben legtöbbször a convexitason vagy a parasagittalisán helyezkednek el. Az intraspinalis meningeomák leggyakrabban a mellkasi szakaszon találhatóak. Az anaplasticus meningeomák áttétei főként a csontokban, a tüdőben, a pleurán és a májban találhatóak.

A pathológiai feldolgozás során makroszkóposan a meningeomák rugalmasan tömött, jól körülírt, néha lebenyezett, kerekded göbök. A kapcsolódó agyhártya, valamint duralis sinusok inváziója előfordulhat. Előrehaladott esetben a dura materen áttörve a koponyacsontot is beszűrhetik. A környező agyállományon gyakran benyomatot képeznek, de az agyi invázió ritka, mikroszkóposan gyakran növi körbe az agyi ereket, de érbetörés ritkán látható. Immunhisztokémiai vizsgálatokkal a meningeomák EMA-val, Vimentin és S100 markerrel általában pozitívak, azonban az EMA magasabb grádusokban gyengébben vagy ritkábban jelölődik. A meningeomák számos szöveti variánsa meghatározza a WHO grádust is. A grádus meghatározása a 2007-es *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System* alapján: a kórszövettani altípus, a morphológiai megjelenés és a megnövekedett mitotikus aktivitás alapján történik.

Meningothelialis meningeoma (WHO I. grádus): gyakori, klasszikus variáns, melyben a tumoros sejtek lebenyeket képeznek, vékony kollagénes septumokkal határolva. A tumoros sejtek uniformisok, ovális maggal, finom chromatinszerkezettel rendelkeznek, melyben pseudoinclusiók, felritkulások

megjelenhetnek. A lebenyeken belül a tumorsejtek syncytium-szerű formát képezhetnek, mert a finom, bonyolult formákat képző sejtnyúlványok nem minden esetben különíthetők el fénymikroszkóppal.

Fibrosus meningeoma (WHO I. grádus): orsó alakú sejtekből felépülő tumor, ami párhuzamos és kosárfonat szerű vaskos kötegeket képez a kollagén gazdag extracellularis mátrixban, azonban meningoethelialis meningeomára jellemző magi megjelenések fokalisan megtalálhatóak.

Transitionalis meningeoma (WHO I. grádus): a meningoethelialis és fibrosus altípus megjelenési formája egymás mellett, keveredve található meg.

További ritkább WHO I. grádusú altípusok: angiomasus meningeoma, psammomasus meningeoma, lympho-plasmocyta gazdag meningeoma, metaplasticus meningeoma, microcysticus meningeoma, secretorius meningeoma,

Atypikus meningeoma (WHO II. grádus): azon meningeomák tartoznak ebbe a csoportba, melyek megnövekedett mitotikus aktivitással (több mint 4/10 nagy nagyítású látótér, high power field, hpf), *agy invázióval*, vagy legalább 3 jellemzővel rendelkeznek az alábbiak közül: fokozott sejtdússág, kis sejtek nagy mag:cytoplasma aránnyal, prominens magvacska, mintázat nélküli vagy lapszerű terjedés, focalis vagy „térképszerű” necrosisok. Ezen kritériumoknak megfelelő tumorok nyolcszor nagyobb valószínűséggel újulnak ki, mint a WHO I. grádusú meningeomák.

WHO II. grádusba tartozik még definíció szerint a chordoid meningeoma és a világossejtes meningeoma.

Anaplasticus meningeoma (WHO III. grádus): azon esetek tartoznak ide, melyekben a tumor kifejezett malignus szöveti jelleget mutat, mely hasonlít carcinoma, melanoma vagy magas grádusú sarcoma szöveti megjelenéséhez. Kifejezett magas osztódás jellemzi (>20/10 hpf). A magas osztódási rátán túl

magas Mib1 index, illetve kiterjedt necrosisok is megfigyelhetők. Ezen tumorok kifejezetten agresszívak, az átlagos túlélés 2-5 év.

Ugyancsak WHO III. grádusú a papilláris meningeoma és rhabdoid meningeoma.

2016-ban a WHO revidálta a 2007-es klasszifikációt a központi idegrendszeri tumorokra, köztük a meningeomára is, rögzítették, hogy az agyi invázió szövetszövetileg békés és agresszív tumorokban is előfordulhat és a relapsus aránya az atypusos tumorokéval egyezik meg. Jelenleg a daganat viselkedését a klinikai faktorok valamint a szövetszöveti paraméterei jelzik. Agyi invázió esetén a daganatsejtek szabálytalan, nyelvszerű nyúlványokat képeznek az agy állományában, mely körül reaktív astrocytosis látható. Az extracranialis áttétek rendkívül ritkák (1/1000 meningeoma).

A recurrencia arány eltérő az egyes grádusokban: 7-25% WHO I. grádusban, 30-50% WHO II. grádusban és 50-95% WHO III. grádusban. A meningeomák esetében mind a progresszió mentes túlélés, az átlagos túlélés szoros összefüggést mutat a WHO grádussal. A klinikai gyakorlatban szükség lenne a meningeomák esetében egy vagy több „atypusos” illetve „malignus” markerre, valamint a relapsus/recurrencia megítélésére, mely használható a rutin diagnosztikában. Ilyen jelölt lehet a DNS hibajavító gén, mint a p53 vagy a PARP1, illetve a Mib1 és a PR.

1.2. PARP fehérjecsalád

A PARP (Poly(ADP-ribose) polymerase) fehérjecsalád 17 tagból áll, melyek részben eltérnek egymástól, de általánosan elmondható, hogy fő feladatuk az egyszerű DNS hibajavítás és a programozott sejthalálban való részvétel. DNS hiba észlelése esetén a DNS kötő domain bekapcsolódik a hibás DNS-hez, ami konformációváltozást okoz a fehérjében. A programozott sejthalálba való becsatlakozáshoz a caspase-hasító domain szükséges.

A PARP1 (más néven ADP-ribosyltransferase D-type 1, ARTD1) a PARP aktivitás mintegy 90%-áért felelős fehérje egy 116 kDa tömegű fehérje, ami a sejtmagban található. Génje az 1-es chromosoma hosszú karján helyezkedik el (1q42.12). Exogén és endogén genotoxikus hatások aktiválhatják, pl.: kémiai (oxigén és nitrogén szabadgyökök), fizikai (sugár, hő), metabolikus (hypoxia, megnövekedett extracelluláris glucose koncentráció, hormon, steroid) hatásra az enzim aktiválódik és kötődik a DNS-hez, és poly(ADP-ribose)-t (PAR) állít elő. PAR hatására más fehérjék (DNS ligase III, DNS polymerase beta, XRCC1) aktiválódnak és elindul a báziskivágó javítás. Ezt követően a polymert a PARG bontja le. Az aktiválódott PARP1 képes poly(ADP-ribosil)-alni más nuclearis enzimeket, ezáltal növelni a negatív töltésüket, megakadályozva az interakciót más anionos molekulákkal, mint pl. a DNS-sel. A DNS hibajavító funkción túl, az aktivált PARP1-nek fontos szerepe van az apoptózisban azáltal, hogy a 'caspase' út aktiválása mellett, az apoptózis indukáló faktor mitokondriumból a sejtmagba vándorlását idézi elő. Azonban nagyfokú DNS károsodás során ATP hiányon necrosist okozhat. Mindezekon felül a PARP1 'knock out' sejtekben csökkent egyszálú DNS törés javítása miatt a DNS replicatio villa megáll és duplas szálú DNS törések jönnek létre, amik homolog recombatio útján javítódnak ki. Emiatt a PARP1 hiányos sejtek hyper-recombinatio phenotypust mutatnak.

Korábbi kutatások igazolták, hogy a PARP1 szerepet játszik a BRCA1/BRCA2 mutáns emlődagatokban. A PARP inhibitor szerek képesek a chemoterapetikumok hatását fokozni azzal, hogy gátolják az egyszálú DNS hibajavítást, mialatt a dupla szálú DNS törések javítása szintén károsodott a BRCA mutáció miatt. A PARP1 szerepét számos szolid tumorban kutatták, de eddigi ismereteink szerint rajtunk kívül meningeomákban nem vizsgálták rendeltetését.

1.3. p53 fehérje

A 43,7 kDa tömegű p53 fehérje különböző homológja minden többsejtű élőlényben fontos fehérje, mely a daganatok kialakulását gátolja. A TP53 gén által, az emberben a 17 chromosoma rövid karján (17p13.1) kódolt p53 az egyik legfontosabb tumorsupressor fehérje. A fiziológias funkciója a p53-nak a sejtciklus szabályozása, a genom stabilitásának a megőrzése, a mutációk megelőzése. A p53 aktiválódhat DNS károsodás, oxidatív stressz, ozmotikus sokk, ultraibolya fény, ionizáló sugárzás, ribonucleotid depletio vagy oncogen expressio következtében. Az aktiváció hatására a fehérje fél-életideje jelentősen megnő és a conformatioja is megváltozik. Normál körülmények között az Mdm2 felelős a p53 alacsony szintjéért: gátolja a funkciót, és a lebontásáért is felel.

A p53 daganat-ellenes hatása számos úton mehet végbe: aktiválja a DNS javító enzimeket; sejt-proliferációs gátat képez a G1/S szabályozó ponton, ezáltal elegendő időt biztosít a javító enzimeknek, hogy kijavítsák a DNS hibát; vagy apoptosist indukál, ha a DNS hiba irreverzibilis. A TP53 humán daganatokban a leggyakrabban mutálódó gén (50%-ban kimutatható, recesszív jellegű). A genetikai változás hatására felhalmozódó p53-at immunhisztokémiai módszerekkel ki lehet mutatni, mely jó korrelációt mutat a mutációs státusszal. Azonban fiziológias körülmények között megnövekedett p53 szint esetében fals pozitív eredményt kaphatunk. A veleszületett p53 mutáció esetén (Li-Fraumeni szindróma), gyakran alakulnak ki daganatok korai felnőttkorban (sarcoma, emlő daganat, glioblastoma, mellékvese daganat, haematologiai daganatok).

A p53 szerepét korábban vizsgálták meningeomákban: számos kutatás negatív vagy bizonytalan eredményt adott, míg mások szignifikáns összefüggéseket találtak a p53 státusz és a tumor grádus vagy kiújulás között.

Számos publikáció jelent meg a PARP1 és a p53 fehérje kapcsolatáról, ezek alapján a PARP1 szabályozza a p53 funkcióját, közvetlenül és közvetve is a polymereken illetve MTA1 promoterén keresztül.

1.4. Progesteron receptor

A progesteron receptor (PR) egy steroid receptor. A PR-t a PGR gén kódolja, ami a 11 chromosoma hosszú karján helyezkedik el (11q22). A PR-nak két isoformája van: a PR-A és a PR-B, melyek identikusak, leszámítva a PR-B 'N-terminalis 165 aminosavból álló részét, mely a transcriptio aktiváló funkcióval bír.

Amikor a progesteron hormon kötődik a receptorához, az dimerisalodik és a sejtmagba jut, ahol DNS-hez kötődve transcriptiot indukál. A létrejött mRNS a ribosomákba vándorolva beindítja a fehérjespecifikus translatiot. Fiziológiás szerepe a női hormonális ciklus szabályozás, az ovulatio és a terhesség fenntartása mellett, az emlőállomány fejlődésében és pubertás alatti átalakulásában van. A progesteron hormon az emlő carcinogenezisben is szerepet tölt be. A szintetikus progesteron analógok és az elnyújtott petefészek aktivitás növelik az emlőrák esélyét, ellenben a kétoldali petefészek eltávolítás 50%-kal is csökkentheti az emlődaganat kockázatot.

Ismert tény, hogy a meningeomák pozitívak a PR ellenes antitestekkel, és a pozitív sejtek aránya fordított a WHO grádussal, ami így kérdéses esetekben segíthet a grádus meghatározásában. Korábbi kutatások feltárták azt is, hogy a meningeomák esetében a PR celluláris bioszintézise nem oestrogen által szabályozott folyamat, mint más sexhormon-függő szövetekben, csak néhány esetben látható oestrogen pozitivitás.

1.5. Ki-67 fehérje, Mib1 antitest

A Ki-67 nuclearis elhelyezkedésű fehérje, melyet a 10-es chromosomán (10q25-ter) elhelyezkedő MKI67 gén kódol. A Ki-67 két isoformával rendelkező óriási, 395 kDa és 345 kDa tömegű fehérje, melyet 30 ezer bázispár kódol az emberi genomban. Pontos funkciója mai napig nem ismert. Azt biztosan tudjuk, hogy a Ki-67 protein elengedhetetlen a sejtsztódásban, a

sejtciklus minden aktív fázisában (G1, S, G2, M) megtalálható, azonban nem mutatható ki a G₀ fázisú sejtekben. Továbbá a ribosomális RNS transcripchiohoz is elengedhetetlen. Interfázisban csak a sejtmagban található, azonban a mitosis során a fehérje a chromosomák felszínéhez kötődik. A mitosis során phosphorylation és dephosphorylation esik át. Egyes kutatók azt gondolják, hogy a Ki-67 protein a DNS szervezésében vesz részt. Míg mások úgy tartják, hogy komplexeket képezve más fehérjékkel kötődik a DNS-hez vagy RNS-hez, mindemellett részt vesz a ribosomák szintézisében a sejtsztódás során.

Mib1 (Molecular Immunology Borstel 1), mint proliferációs marker a rutin gyakorlatban leggyakrabban használt Ki-67 fehérje ellenes monoclonális antitest. Azonban a Mib1 antitest már formalin fixált és paraffinba ágyazott mintán is használható előzetes mikrohullámú kezelés vagy hő indukálta antigén visszanyerés után. A rutin pathológiai diagnosztikában a Mib1 kifejezetten fontos a lymphomákban, a melanocytás tumorok, cervicalis intraepithelialis neoplasia esetén, colitis ulcerosában a dysplasia megítélésére, basaloid carcinoma elkülönítésére a basal sejtes hyperplasiától prostatában. A Mib1 jelölődési index (labelling index, Li) erős összefüggést mutat a tumor növekedésének ütemével, a relapsus/recurrencia esélyével és a túléléssel, azaz a prognózissal számos haematológiai és szolid daganattípusban, beleértve a meningeomákat is. Egyes szerzők arra az eredményre jutottak, hogy a jóindulatúnak tűnő szövettannal rendelkező esetekben is p53 pozitivitás és a magas proliferációs index rosszabb klinikai viselkedést jelez. Ma már ismert az is, hogy a proliferációs frakció aránya fordított a relapsus/recurrencia mentes idővel is.

2. Anyagok és módszerek

A rutin pathológiai feldolgozás során a 10 %-os pufferelt formalinban legalább 24 óráig, de nem több, mint 168 óráig fixált idegsebészeti minták makroszkópos leírását követően műanyag dobozokba, 'kazettákba' raktuk a mikroszkóposan megvizsgálni kívánt területekből származó részeket. Ezt követően a minták automata segítségével elvégzett víztelenítése következett *Shandon Pathcentre Tissue Processor automatán* (Thermo Fisher Scientific Waltham, Massachusetts, USA).

A víztelenített szövetmintákat a kiöntő állomásokon paraffinba ágyasztuk, 'paraffinos blokkokat' állítottunk elő. Ezekből 'kerekes microtome'-mal (Leica RM2245 - Semi-Motorized Rotary Microtome, Leica Biosystems, Wetzlar, Németország) 4µm vastag metszetek készültek silanisalt tárgylemezre fektetve, majd rehidráálás után, automatizált és standardizált körülmények között hematoxin-eosin festést (H&E) alkalmaztunk a *Leica ST 5020* automatán (Leica Biosystems, Wetzlar, Németország). A H&E festett metszetekből kiadott kórszövettani leleteket a *MedSolution* (T-systems Magyarország Zrt. Debreceni Támogató Központ) egészségügyi adatbázisban, valamint az intézeti archívumban tároltuk el.

A vizsgálatainkhoz szükséges minták retrospektív előkeresése a korábban leletezett, *MedSolution* adatbázisban meglévő adatok alapján történtek. A kiválasztott esetek FFPE blokkjait kikerestük az intézeti archívumból. Minden esetben a 2007-es '*WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*' alapján neuropathologus segítségével átvizsgáltuk, szövettani altípusba és a releváns WHO grádusba soroltuk.

Az immunhisztokémiai vizsgálatok minden esetben ugyancsak automatizált és standardizált körülmények között zajlottak. Az FFPE metszetekből 4 µm-es metszetek készültek, manuális módszerrel beállítottuk az antigén feltárás módját, valamint az antitest hígítást. A következő lépésként automatizált módszerrel végeztük az immunfestést *Leica Bond Max™* immunhisztokémiai

automatán a *Bond™ Polymer Refine Detection* kittel. Az immunhisztokémiai reakció minden esetben a gyártók protokollja alapján történt, standardizált körülmények között, negatív kontrollok mellett. A 4 mikrométeres metszeteket PARP1 polyclonalis nyúl antitesttel, p53 monoclonalis egér antitesttel, progesteron receptor monoclonalis antitesttel és monoclonalis anti-Ki67 antitesttel jelöltük. Az antitestek hígítása 1:500 volt a PARP1, 1:100 a p53 esetében, 1:100 a PR, valamint 1:200 a Mib1 esetében.

Vizsgálatainkat két lépésben végeztük.

2.1 Első körben végzett vizsgálataink

Először egy kisebb betegcsoporton, 31 meningeomás páciens 41 mintáján végeztük el a PARP1 és a p53 immunhisztokémiai reakciókat. A számolás során 100 random módon kiválasztott sejtet számoltunk le 10 látótérben, 400X nagyítás mellett; melynek során mértük a festődés intenzitását: negatív (0), gyenge (1+), közepes (2+), erős (3+) nuclearis festődés.

A festődés alapján két paramétert számoltunk minden esetben (staining intensity, Si): az 1+, 2+ és 3+-es esetek arányát (Si1-3), valamint az erősen festődő 2+ és 3+-es esetek arányát (Si2-3) az összes számolt sejthez viszonyítva.

Az eredményeket *SPSS 19.0 for Windows* statisztikai programmal elemeztük. Mivel a minták nem mutattak normál eloszlást, ezért nem parametricus statisztikai tesztek alkalmaztunk. A *Kruskall-Wallis H* teszttel a 3 vagy több eltérő csoport összehasonlítása végezhető el; a *Mann-Whitney U* teszt pedig két nem normál eloszlású csoport összehasonlítására alkalmas. Ezen statisztikai próbák segítségével azt vizsgáltuk, hogy az adott minták származhatnak-e ugyanabból a populációból. Ott ahol a szignifikancia szint

kellően alacsony volt ($<0,5$; $<0,1$; $<0,01$) kimondhattuk, hogy a minták eltérő populációból származtak, azaz statisztikailag különböztek. A szintén nem parametrikus Spearman's rank order korrelációs vizsgálat feltárja, hogy a két paraméter közötti kapcsolat leírható-e egy monoton függvénnyel (minden X értékhez csak egyetlen Y érték tartozik a koordináta rendszerben és fordítva). Amennyiben igen, elmondható, hogy az egyik érték változása alapján a másik érték változását is meg lehet határozni, azaz a változások összefüggnek egymással.

Mindkét fehérje esetén (p53 és PARP1) először *Kruskall-Wallis H* tesztel vizsgálatuk mind az Si1-3, mind az Si2-3 értékeket a három WHO grádus vonatkozásában. Ezt követően *Mann-Withney U* tesztel hasonlítottuk össze az egyes WHO grádus párokat (I.-II. grádus, I.-III. grádus, II.-III. grádus). Majd két csoportot készítettünk a WHO grádus alapján: alacsony grádusú (I. grádus) és magas grádusú (II. és III. grádus) csoport és ezen értékeket hasonlítottuk össze *Mann-Whitney U* tesztel. A PARP1 és a p53 fehérje immunhisztokémiai jelölődés függetlenségének eldöntésére *Spearman's rank order* korrelációs vizsgálatot végeztünk.

2.2 Második körben végzett vizsgálataink

Második lépésben nagyobb betegcsoporton, összesen 70 beteg 114 különböző sebészi mintáján végeztünk vizsgálatokat. A minták 16 éves intervallumon belül retrospektív módon lettek kiválasztva. Azon betegeket, akiknél egy vagy több relapsus/recurrencia volt, az R/R csoportba soroltuk. A non-R/R csoport betegeinek nem volt sem radiológiai, sem boncolás során kimutatható relapsusos/recurrens daganata.

Minden egyes esetből egy vagy két reprezentatív blokkot kiválasztva az adott szöveti minta morfológiája alapján legjellemzőbb területekből származó hengerekből TMA-t építettünk (tissue micro array). Minden egyes TMA 10 recipiens blokkból származó mintát tartalmazott: mintánként 3-3 hengert;

valamint 2 jelölő hengert. Így összesen 12 TMA épült, mely tartalmazta mind a 114 különböző szövetszövetmintát. Az így elkészített TMA-kon hematoxilin&eosin (H&E) festést és immunhisztokémiai (IHC) reakciókat végeztünk.

Minden egyes H&E és IHC metszet digitalizálva lett a *Pannoramic Scanner* gépen, minden egyes digitális mintából 6 db 400x nagyítású képet fotóztunk ki (2-2 minden egyes henger-keresztmetszetből). A pozitív sejtmagok intenzitása alapján 4 csoportot készítettünk: 0, 1+, 2+ és 3+.

A vizsgálataink elején számos esetben az összes képen *ImageJ* program *Cell Counter* funkciójával pontosan kiszámoltuk a pozitívan festődő sejtek számát, arányát, a későbbiekben, pedig e képekhez hasonlítva állapítottuk meg az egyes minták festődési arányát (Labelling index, Li). Ezt követően a Histoscore-hoz hasonlóan a festődő sejtek arányát és erősségét megszorozva egy arányszámot rendeltünk minden egyes szövetszöveti mintához.

Az eredményeket az *SPSS 22.0 for Windows* statisztikai programmal elemeztük. Mivel nem normál eloszlást mutattak a minták, ezért nem parametricus tesztek használtunk: *Kruskall-Wallis H* tesztet, *Mann-Whitney U* tesztet és *Wilcoxon signed rank* tesztet. *Wilcoxon signed rank* teszt a *kétszámítás t próba* nem parametricus megfelelője az egymással összefüggő minták vizsgálatára. E módszerrel ugyanannak a betegnek két különböző műtéti időpontban vett mintájának, egymástól való eltérését vizsgáltuk.

Az etikai engedély száma: DEOEC RKEB: 2437-2005

3. Eredmények

3.1 Első körben végzett vizsgálataink eredménye

Mind a 41 megvizsgált minta festődött PARP1 és p53. Szignifikáns korreláció volt a tumor grádus és a PARP1 expressio közt (Si1-3, $p=0,001$), valamint a p53 intenzív jelölődés között (Si2-3, $p=0,012$) *Kruskall-Wallis H* teszttel. Ezzel szemben nem volt statisztikailag jelentős összefüggés az Si2-3 PARP1 ($p=0,523$), az Si1-3 p53 ($p=0,141$) immunjelölődés és a tumor grádus tekintetében.

A *Mann-Whitney U* teszt PARP1 esetében az Si1-3 szignifikáns összefüggést mutatott WHO I.-II. grádus ($p=0,001$) és WHO II.-III. grádus ($p=0,005$) között. Továbbá a p53 esetében az Si2-3 mutatott szignifikáns összefüggést a WHO I.-III. grádus ($p=0,002$) közt. A PARP1 esetében a WHO II. grádusú daganatok, míg a p53-nála WHO III. grádusú daganatok mutatták a legintenzívebb jelölődést.

Az alacsony (I. grádus) és magas (II.-III. grádus) malignitású daganatok összehasonlítása során szignifikáns összefüggés mutatkozott a PARP1 esetében a jelölődés (Si1-3, $p=0,028$), míg a p53 esetén az intenzív jelölődés (Si2-3, $p=0,018$) kapcsán. A tumorok szövettani alcsoport megoszlása a következő volt: I. grádusúak közül 11 meningotheiális, 8 transitionális, 1 secretoros, 1 fibrosus és 1 microcysticus; a II. grádusúak közül 8 atypusos és 3 világos sejtes; a III. grádusúak közül mind anaplasticus volt. Nem volt szignifikáns különbség az egyes szövettani altípusok között, sem a PARP1, sem a p53 esetében. *Spearman's rank order* korrelációs vizsgálattal nem állt fenn kapcsolat a PARP1 és a p53 immunjelölődés között.

3.2. Második körben végzett vizsgálataink eredménye

16 olyan beteg volt (3 férfi, 13 nő, átlagéletkor 54 év), akinek nem tért vissza a daganata legalább 5 évvel az első operációt követően (non-R/R csoport). 31 beteg esetében (8 férfi, 23 nő, átlagéletkor 53 év, átlagos recurrencia idő 19,6 hónap) képalkotókkal vagy kórboncolással daganat kiújulást igazoltak (R/R csoport). 23 olyan beteg volt (5 férfi, 18 nő, átlagéletkor 59 év), akiknél a vizsgálataink befejezése előtt 5 évvel történt az egyetlen operáció meningealis tumor miatt és nem volt recidíva igazolható, de az időablak rövideje miatt e betegek kikerültek a non-R/R csoportból.

A vizsgált minták közül 65 WHO I. grádusúnak, 33 WHO II. grádusúnak és 16 WHO III. grádusúnak bizonyult. Az összes non-R/R eset WHO I. grádusba tartozott. Az R/R grádusban volt 19 WHO I. grádus, 9 WHO II. és 3 WHO III. grádus az első neuropathologiai szövettani vizsgálat során. Ezen betegek közül 8 mutatott grádusbeli progressziót, valamint 15, akiknek az első és utolsó szövettani mintájuk azonos grádusú volt. 6 olyan beteg került az R/R csoportban, akik csak egy szövettani mintával rendelkeztek. Esetükben a relapsust a képalkotó igazolta, szöveti mintavétel nélkül. Szöveti altípusok között nem volt szignifikáns különbség az egyes csoportokban: 6 meningotheiális, 5 transitionális, 3 fibrosus és 2 psammomatosus volt a non-R/R csoportban; míg 9 meningotheialist, 6 transitionalist, 3 fibrosust, 1 psammomatosust, 1 clear cellt, 8 atypusost és 3 anaplasticust találtunk az R/R csoportban. Relapsust tekintve, nem volt egyik szöveti altípus sem kiemelkedő a WHO I. grádusú daganatokból. Ugyancsak nem rögzítettünk a WHO II., WHO III. csoporton belül kiemelkedő recurrencia hajlammal rendelkező altípust sem (megjegyzendő, hogy az egyes altípusokra vonatkoztatva a vizsgálati mintaszám alacsony volt).

Az egyes WHO grádusokat *Kruskall-Wallis H* teszttel összehasonlítva szignifikáns összefüggést fedeztünk fel a Mib1 százalék, intenzitás és Histoscore; a p53 intenzitás és Histoscore; a PR százalék, intenzitás és Histoscore esetében. A WHO I. és WHO II. csoportok *Mann-Whitney U* teszttel

összehasonlítva szignifikáns összefüggésre bukkantunk a Mib1 százalék, intenzitás és Histoscore; a p53 intenzitás; a PR százalék, intenzitás és Histoscore között. A WHO II. és WHO III. grádusú összehasonlítása során pedig a p53 intenzitás; a PR százalék, intenzitás és Histoscore mutatott szignifikáns eltérést. A WHO I. grádus és WHO III. grádus közt pedig a Mib1 százalék és Histoscore; a p53 intenzitás és Histoscore; a PR százalék, intenzitás és Histoscore esetén vettünk észre jelentős összefüggést.

Az R/R és non-R/R csoport összehasonlítása során jelentős korreláció volt a Mib1 százalék, intenzitás és Histoscore; a p53 százalék és a WHO grádus között. Azonban amikor az R/R csoport WHO I. grádusba tartozó tagjait hasonlítottuk össze a non-R/R csoport tagjaival (mindegyik eset WHO I. grádusú volt) azt találtuk, hogy a Mib1 százalék, Histoscore; a p53 százalék és Histoscore között van szignifikáns összefüggés.

Végezetül az R/R csoport első és utolsó szövettani minták csoportjainak összehasonlítása következett: ekkor szignifikáns összefüggést találtunk a Mib1 százalék, Histoscore; a p53 intenzitás és a WHO grádus között. A *Wilcoxon signed rank* teszttel minden egyes beteghez tartozó első és utolsó szövettani minta összehasonlítása során szignifikáns különbség adódott a WHO grádus, a Mib1 százalék és Histoscore, valamint a p53 százalék között.

4. Megbeszélés

Az egyik leggyakoribb intracranialis tumornak, a meningeomának, számos morphologiai variánsa ismert. Az aktuális (2016-os) WHO klasszifikáció szerint 13 szövettani variáns különböztethető meg. Kilenc közülük az I. grádusúak közé tartozik, 2-2 tartozik a II. és a III. grádusba. Az atypusos és az anaplasticus definiált WHO morphologiai kritériumok alapján diagnosztizálható (szöveti megjelenés, mitosis szám, agyi invázió), habár olykor nehézségekbe ütközik. Mostanáig nem sikerült olyan megbízható immunhisztokémiai markert találni, amely segítene a grádusok elkülönítésében. Ugyanakkor igaz, hogy a Simpson (sebészi) grádus valóban segítséget nyújthat a recurrencia megítélésében. A meningeomák alapvetően nem-infiltráló daganatok, ezáltal a sebészi eltávolítás általában kuratív. Azonban kis tumor-fészkek jelenhetnek meg a dura mater mentén, melyek recurrencia forrásai lehetnek. Mivel ilyen esetekben sem hatékony a chemoterapia, a radiotherapia pedig növeli a malignus transzformáció esélyét, ez további nyomós érv olyan egyszerű markerek keresése mellett, melyek segítenek a tumor progressziójának és recurrencia hajlamának megítélésében. A mai képalkotó vizsgálatok számos értékes információval bírnak, melyek egyrészt a sebész munkáját segítik (lokalizáció, anatómiai képletekhez való viszony, érezettség, peritumoralis vizenyő mértéke), de prognosztikai szempontból is jelentősek: dura farok, esetleges már meglévő tumor-fészkek a dura mentén. Jelenleg a Debreceni Egyetem, a nemzetközi irányelvekkel összhangban, a meningeomás betegeket utánköveti: egy post-operatív képalkotó vizsgálat elvégzését követően – az esetleges rezidualis tumor vizsgálatára – 1 évig félévente, majd 4 évig évente MRI vizsgálatot végeznek az esetleges relapsus kimutatására. Amennyiben nem diagnosztizálható kiújulás, akkor gyógyultnak minősítik a beteget.

Vizsgálataink során retrospektív elemzésnek vetettük alá a Debreceni Egyetem Általános Orvostudomány Kar Pathológiai Intézetében fellelhető, elmúlt 16 év során „meningeoma” szövettani diagnózist nyert betegek idegsebészeti műtétek során adott szövettani anyagait. A rendelkezésre álló anyagot klasszikus módon, a WHO 2007-es ajánlását követve osztályoztuk.

Vizsgálataink során részben a DNS hibajavításban és a genom integritásának megőrzésében szerepet játszó két fehérje a PARP és a p53 szerepét vizsgáltuk, illetve e fehérjék kapcsolatát a WHO grádussal. Emellett analizáltuk a visszatérő meningeomás eseteket, és olyan fehérje markereket kerestünk a rutin pathológiai gyakorlatból, mint például a Ki-67, a progesteron receptor, a p53 melyek segítséget nyújthatnak a recurrencia megítélésben.

A PARP család 17 eleméből talán a legfontosabb és legtöbbet vizsgált fehérje a PARP1, aminek a DNS hibajavításban betöltött szerepe jól ismert és fontos funkciója van a caspase független apoptoticus útvonalban és a necroticus sejthalálban is. A PARP1 rendeltetését számos tumorban vizsgálták: az emlő daganatokon kívül, petefészek, endometrium, hasnyálmirigy tumorok, gyomor daganatok, egyes vastagbél eredetű daganatok, germinális eredetű tumorok, prosztata carcinomák, melanomák, Ewing sarcoma, neuroblastomák, glioblastomák esetében; azonban ismereteink szerint meningeomákban szerepét még nem kutatták.

A p53 az egyik legfontosobban tumorsupressor fehérje, a humán tumorok mintegy felében írták le eltérését. Számos tanulmány született a p53 markerről meningeomákban, de ezek kétséges eredményt adtak. Volt, amelyik negatív eredménnyel zárult és volt, amely összefüggést mutatott ki a p53 státusz és a grádus vagy a recurrencia között.

Az első körben végzett vizsgálataink során megvizsgált 41 minta immun-pozitivitást eredményezett, mind PARP1, mind p53 antitestekkel. PARP1 esetében a pozitív sejtek aránya (Si1-3) a II. grádusban volt a legtöbb; p53 esetében az immuno-pozitivitás (Si2-3) fokozatos emelkedést mutatott, és a III. grádusú daganatokban bizonyult a legmagasabbnak. Összehasonlítva az alacsony grádusú (I. grádus) és magas grádusú (II. és III. grádus) meningeomákat, PARP1 vonatkozásában magasabb Si1-3 érték volt kimutatható, míg p53 esetében a Si2-3 értéket ítéltük magasabbnak. *Spearman's rank order* korreláció vizsgálattal és lineáris regressziós analízissel nem volt

statisztikai korreláció a PARP1 és a p53 immunjelölődés között, igazolva, hogy ez a két marker nem függ egymástól.

Feltételezésünk szerint PARP1 aktiváció emelkedés a WHO II. grádusú daganatokban azért következhet be, mert a sejtek próbálnak megküzdeni a DNS hibákkal, míg a III. grádusú daganatokban a PARP1 aktivitás csökkenés az apoptoticus/necroticus sejthalál és a fehérje substratok hiánya miatt lehet. Eredményeink szerint a p53 fehérje szerepet játszik a meningeomák kialakulásában, és ez feltehetően a meningealis tumorok progressziójának kései történése lehet. Tapasztalataink alapján a p53 fehérje jelenléte folyamatos emelkedést mutatott és a legmagasabb értékeket a WHO III. grádusú csoportban érte el. Érdekesség, hogy PARP1 esetében a szignifikáns összefüggés a bármilyen jelölődést mutató sejtek arányában volt látható, míg a p53 esetében csak az intenzív 2+-es és 3+-es sejtek arányában. Ennek okaként azt feltételezzük, hogy míg a PARP1 esetében a fehérje gyakorlatilag nem detektálható ép durasejtekben, addig a p53-nak a vad típusa, mely ugyancsak jelölődik az antitesttel, gyenge reakciót (1+) tud produkálni. Ez szintén a hipotézisünket támasztja alá, hogy az intenzívebb jelölődésű mutáns p53 függ össze a tumor grádussal, és ezt a vad típusú fehérje esetleges fiziológiás felhalmozódása nem befolyásolja. Mivel mindkét fehérje magasabb jelölődést mutatott a 'high grade' (WHO II. és WHO III.) grádusú tumorok összesített vizsgálata során, mindkét fehérje szerepe feltételezhető a rosszabb prognózissal bíró esetek kialakulásában. Habár további vizsgálatok szükségesek, eddigi eredményeink szerint a PARP1 és a p53 segítséget nyújthat a meningeomák diagnózisa és grádusának meghatározása vonatkozásában.

Kutatásaink második felében egy egyszerűen használható immunhisztokémiai panelt kerestünk a mindennapi neuropathologiai gyakorlat számára, mely alapján a meningeoma relapsus/recurrencia valószínűsége jobban megítélhető. Ez nagy segítséget nyújthat problémás lokalizációjú, (mint pl. falx cerebri) meningeomák esetén.

Úgy véljük, hogy a Mib1 marker jelölődési indexe eltérő lehet az egyes laborokban, azonban standardizált metodika mellett segíthet az esetek összehasonlításában is, mind tudományos, mind rutin diagnosztikus vizsgálat esetén. Korábbi kutatások leírták, hogy magasabb kezdeti Mib1 index agresszívebb viselkedést, gyorsabb növekedést, megnövekedett recurrencia hajlamot, rosszabb prognózist jelez számos daganat típusban, köztük a meningeomákban is, valamint fordítottan arányos a recurrencia mentes idővel. Vizsgálataink során mi magunk is azt tapasztaltuk, hogy a Mib1 arány, illetve Histoscore a WHO grádussal összhangban növekszik. A recurrens esetekben magasabb Mib1 értékek tapasztalhatók. Ezen értékeket nem csak az összes WHO grádusba sorolt tumorok vizsgálata során tudtuk kimutatni, hanem a csak WHO I. grádusba sorolt esetek vizsgálata során is. Ennek értelmében azon WHO I. grádusba sorolt tumorok, melyek emelkedett Mib1 értékkel rendelkeznek, de nem merítik a WHO II. grádus kritériumait, nagyobb valószínűséggel mutathatnak kiújulást. Emellett feltártuk, hogy a recurrens esetek időbeli lefolyása során konzisztens Mib1 index emelkedés látható, ami összecseng a tumor progresszióval és a magasabb WHO grádusú tumorok megnövekedett proliferációs potenciáljával.

A p53 esetén ugyancsak magasabb értékek voltak megfigyelhetők magasabb WHO grádusokban. Azonban érdekességgé azt találtunk, hogy a p53 esetében magasabb arány volt kimutatható a nem recurrens esetekben. Ennek a korábban már említett oka feltehetően az, hogy a klinikai rutinban (és a mi vizsgálatainkban is) használt p53 antitest nem tesz különbséget a vad típus és a mutáns fehérje között. Azt feltételezzük, hogy a kiújulást nem mutató esetekben a megemelkedett normál p53 szint előnyösen hat a DNS károsodás kijavítására. Ezzel szemben a magasabb grádusú esetekben a mutáns p53 jelenlétét láttuk, ami nem effektív, hozzájárulva a tumor növekedéséhez. Erre a kérdésre mutáció analízis tudná megadni a választ, de jelen munkánkban a mindennapi klinikai gyakorlatban használható immunhisztokémiai markerekre azonosítására és nem a mechanizmus feltárására fókuszáltunk. A p53 fehérje intenzitása növekedett az ugyanabból a recurrens lefolyást mutató betegből

származó minták időbeli lefolyása során, melynek oka a kisselektálódó mutáns p53 fehérjével rendelkező tumorsejtek lehetnek.

A mi eredményeinkhez hasonlóan, korábbi kutatások is leírták, hogy meningeomákban a progeszteron receptor expresszió fordítottan arányos a grádussal, ami a grádus meghatározásában nyújthat segítséget. Eredményeinkkel szintén összhangban más kutatók is arra jutottak, hogy habár a PR immunfestődés arányos a grádussal, a relapsus/recurrencia valószínűségének meghatározásában nem nyújt segítséget. Jelen vizsgálatainkban nem volt szignifikáns összefüggés a PR esetében, a recurrencia vonatkozásában, és ugyancsak nem mutattak eltérést egyazon betegből származó különböző tumorok alkalmával sem. Ugyanakkor a progesteron receptor meghatározásnak therapias lehetősége is lehet. Az az ismert tény, hogy e tumorok hormon-receptorral rendelkeznek, felveti a lehetőségét hormontherapiának.

Röviden összefoglalva:

- A vizsgált tumormarkerek (PARP1, p53, Mib1 és PR) kimutathatósága és a meningeomák viselkedés szerint csoportjai között szignifikáns összefüggés van.
- A PARP1 és a p53 jelenléte és változásai azonban egymástól függetlenek.
- A PARP1, a p53 és a Mib1 a WHO grádussal egyenesen arányosan nő.
- Ellenben a PR fordított arányban mutatható ki a WHO gradus növekedésével.
- A R/R és a non-R/R betegcsoportok szövettani anyagát összehasonlítva az összes WHO grádusú beteg anyagát vizsgálva: mind a Mib1 index, mind a p53 fehérje expressziója tekintetében meg tudtuk erősíteni azt a korábbi kutatási eredményt, miszerint a tumor agresszív viselkedését a fenti markerek jelzik, és előre vetítik.

- A csak WHO I-es grádusú meningeomák viselkedését és marker jellemzőit vizsgálva: a Mib1 egyértelműen előrejelzi a relapsus/recurrencia nagyobb valószínűségét – míg a p53 esetében ez az összefüggés nem áll fenn, sőt fordított arányt mutat (ez a vad és mutáns fehérje változat funkcióbeli különbözőségével magyarázható).
- Recidiváló esetek ugyanabból a betegből származó mintáinak összehasonlítása során megállapítottuk, hogy a WHO grádus, a Mib1%, a Histoscore, és a p53% szignifikáns eltérést és növekedést mutat az idő előrehaladásával

Eredményeinket a közeli jövőben a digitális képanalízis és automatizálás tovább finomíthatja, mert ezekkel a módszerekkel standardizált eredmények kaphatóak, melyet napjainkban már a kutatók rendszeresen használnak. A közeli jövőben pedig a mindennapi rutin pathológiai munka részévé válhatnak.

Összességében egy egyszerű, a mindennapi munkában használható immunhisztokémiai panelt állítottunk össze, melynek segítségével a meningeomákat pontosabban tudjuk diagnosztizálni, gradálni, és nagyobb recurrencia valószínűsége esetén kiszűrni azon betegeket, akiknek szorosabb utánkövetésre van szükségük.

5. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönet témavezetőmnek, Dr. Hortobágyi Tibornak a szakmai tanácsokért, útmutatásért, a vizsgához és fokozatszerzéshez szükséges feltételek előteremtéséért.

Köszönöm Prof. Dr. Méhes Gábornak a DE AOK Pathológiai Intézet vezetőjének tudományos munkáim során nyújtott támogatását és türelmét.

Külön köszönet Murnyák Balázsnak a szakmai tanácsokért és Beke Líviának a laboratóriumi munkában nyújtott nagy segítségéért.

Köszönöm a szakértői segítséget az értekezés alapjául szolgáló közlemények társszerzőinek a munkák elvégzésében.

És végül, de nem utolsó sorban a DE AOK Pathológiai Intézet valamennyi dolgozójának köszönöm a kisebb nagyobb segítségét az eddigi szakmai életemben.

Hálás vagyok, hogy a munkám a Nemzeti Agykutatási Program (KTIA_13_NAP-A-II/7.; KTIA_13_NAP-A-V/3.) és a Gazdaságfejlesztési és Innovációs Operatív Program (GINOP-2.3.2-15-2016-00043) támogatásával valósult meg.

6. Összefoglalás

A meningeomák, mint az egyik leggyakoribb intracranialis daganatok, a neuropathológiai gyakorlatban jelentős számban előfordulnak. Általában jóindulatúak, de előfordulhatnak recidívák. A WHO kritériumok alapján 3 grádust különítünk el, melyek a tumor agresszivitását is jellemzik. Számos olyan eset van, ahol a grádus meghatározás nehézségekbe ütközik és szükséges lehet egy vagy több immunhisztokémiai markerre, mely segíthet ezen esetekben. Erre lehet alkalmas a DNS hibajavításban szerepet játszó PARP1, a „genom őrzőjének” is nevezett p53, az intranuclearis progesteron receptor, valamint a Mib1 (anti-Ki67 antitest) proliferációs marker.

Vizsgálatainkat két körben végeztük: először egy kisebb betegcsoporton (31 beteg 41 mintája), majd egy nagyobb beteganyagon (70 beteg 114 mintája). Az első körben a DE KK Pathológiai Intézetében a napi rutinban alkalmazott automatizált immunhisztokémiai reakciókat értékeltük ki. Második körben pedig szöveti multiblokkokat készítettünk és ezeken nagyobb esetszámot vizsgáltunk. Az elkészült immunfestéseket digitalizáltuk és megszámláltuk a festődő sejteket (%), az átlagos festődési intenzitást, valamint meghatároztuk az ezek szorzatából létrejött 'Histoscore'-t. A mintákat részben a WHO grádus, részben az 5 éves intervallumban bekövetkezett relapsus/recurrencia megléte vagy hiánya alapján csoportosítottuk, és matematikai elemzésnek vetettük alá (Kruskall-Wallis H, Mann-Whitney U, Wilcoxon signed rank teszt, Spearman's rank order korreláció).

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy szignifikáns összefüggés van a WHO grádus és a PARP1 festődés, a p53, a Mib1 és a PR jelölődés között. Azonban a PARP1 a WHO II. grádusban, míg a p53 a WHO III. grádusban mutatta a legmagasabb értéket. A két marker (PARP1 és p53) változása egymással nem függ össze. A PARP1, a p53, a Mib1 egyenes arányos, míg a PR fordított arányosságot mutat a WHO grádussal. Recurrencia tekintetében a Mib1 és a p53 mutat szignifikáns eltérést.

Eredményeink segíthetik a rutin neuropathologiai gyakorlatban a meningeomák leletezését és jelezhetik a klinikusoknak a relapsusra hajlamos betegeket, akik szoros utánkövetése indokolt.



Jelölt: Csonka Tamás
Neptun kód: Q374RS
Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10036806

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Csonka, T.**, Murtyák, B., Szepesi, R., Bencze, J., Bognár, L., Klekner, Á., Hortobágyi, T.:
Assessment of candidate immunohistochemical prognostic markers of meningioma
recurrence.
Folia Neuropathol. 54 (2), 114-126, 2016.
IF: 1.233 (2015)
2. **Csonka, T.**, Murtyák, B., Szepesi, R., Kurucz, A., Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Poly(ADP-ribose)
polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas.
Folia Neuropathol. 52 (2), 111-120, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5114/fn.2014.43782>
IF: 1.568

További közlemények

3. Murtyák, B., **Csonka, T.**, Hortobágyi, T.: A meningiomák molekuláris patológiája.
Időgyógy. Szle. 68 (9-10), 292-300, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18071/isz.68.0292>
IF: 0.378
4. Murtyák, B., Bodóki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Szepesi, R., Kurucz, A., Dankó,
K., Hortobágyi, T.: Inclusion body myositis: pathomechanism and lessons from genetics.
Open Med. 10, 188-193, 2015.
IF: 0.19





5. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Dankó, K., Hortobágyi, T.: Záróvnyteszt myositis.
Időgyógy. Szle. 68 (1-2), 59-67, 2015.
IF: 0.376
6. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Murányi, B., Kurucz, A., Dankó, K., Hortobágyi, T.: Inclusion body myositis - a case based clinicopathological update.
Cent. Eur. J. Med. 9 (1), 80-85, 2014.
IF: 0.153
7. Csizsik, A., László, I., Palatka, K., Szabó, K., Kanyári, Z., Bidga, L., **Csonka, T.**, Damjanovich, L., Szentkereszty, Z.: Primary angiosarcoma of the pancreas mimicking severe acute pancreatitis: case report.
Pancreatology. 15 (1), 84-87, 2014.
IF: 2.837
8. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Hortobágyi, T., Griger, Z., **Csonka, T.**, Dankó, K.: Szignálfelsimerőnszecske-ellenes autoantitest-pozitív myopathia.
Időgyógy. Szle. 67 (9-10), 347-353, 2014.
IF: 0.386
9. Huttner, H. B., Bergmann, O., Salehpour, M., Rácz, A., Tatarishvili, J., Lindgren, E., **Csonka, T.**, Csiba, L., Hortobágyi, T., Méhes, G., Englund, E., Solnestam, B. W., Zdunek, S., Scharenberg, C., Ström, L., Ståhl, P., Sturgeonsson, B., Dahl, A., Schwab, S., Possner, G., Bernard, S., Kokaia, Z., Lindvall, O., Lundberg, J., Frisén, J.: The age and genomic integrity of neurons after cortical stroke in humans.
Nat. Neurosci. 17 (6), 801-803, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3706>
IF: 18.095
10. **Csonka, T.**, Szepesi, R., Bidga, L., Péter, M., Klekner, Á., Hufőczki, G., Csiba, L., Méhes, G., Hortobágyi, T.: A herpesencephalitis diagnosztikájáról egy esetsimertetés kapcsán.
Időgyógy. Szle. 66 (9-10), 337-342, 2013.
IF: 0.343
11. Murányi, B., **Csonka, T.**, Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Alacsony bradusú gliás daganatok előfordulása és molekuláris patológiája.
Időgyógy. Szle. 66 (9-10), 305-311, 2013.
IF: 0.343
12. Murányi, B., **Csonka, T.**, Hegyi, K., Méhes, G., Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Magas bradusú gliómák előfordulása és molekuláris patológiája.
Időgyógy. Szle. 66 (9-10), 312-321, 2013.
IF: 0.343





13. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Cseri, K., Hortobágyi, T., Dankó, K.:
Rituximabkezelés idiopathiás inflammatorikus myopathiákban.
LAM. 23 (1), 16-21, 2013.
14. Méhes, G., Hegyi, K., **Csonka, T.**, Fazakas, F., Kocsis, Z., Radványi, G., Vadnay, I., Bagdi, E.,
Krenács, L.: Primary uterine NK-cell lymphoma, nasal-type: a unique malignancy of a
prominent cell type of the endometrium.
Pathol. Oncol. Res. 18 (2), 519-522, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-011-9360-4>
IF: 1.555
15. Nagy, E., Eaton, J. W., Jeney, V., Soares, M. P., Varga, Z., Galajda, Z., Szentmiklósi, J. A.,
Méhes, G., **Csonka, T.**, Smith, A., Vercellotti, G. M., Balla, G., Balla, J.: Red cells,
hemoglobin, heme, iron, and atherogenesis.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 30 (7), 1347-1353, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.208433>
IF: 7.215

A közlő folyóiratok összesített impact faktora: 33,013

A közlő folyóiratok összesített impact faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
2,801

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján
elvégezte.

Debrecen, 2017.01.19.

