

Klinikopatológiai szemléletű emlőrákkutatások

*Kulka Janina, Tőkés Anna-Mária, Madaras Lilla, Kovács Attila, Ács Balázs,
Illyés Ildikó, Kiss Orsolya, Székely Borbála, Lotz Gábor, Szász A. Marcell*

Semmelweis Egyetem II. Sz. Patológiai Intézet, Budapest

A vizsgálatokat finanszírozó jelentősebb pályázatok adatai:

AVON-EAGC 2005, OTKA-49559/2005, ETT-049/2006, ETT-029/2009, ETT-088/2009, MKOT-GSK 2006, 2008, 2010, MKOT-Roche 2010, TÁMOP-4.2.1.B-09/1/KMR-2010-0001, MKOT 2014, Semmelweis Egyetem OTKA Kiegészítő Pályázat 2008-2009 és 2014-2015.

Az emlőrákkal kapcsolatos klinikopatológiai kutatások egyetemünkön a XX. század második felében a II. Sz. Patológiai Intézethez köthetők. Napjainkban, az onkológiai ellátás fejlődését követve, egyre inkább arra törekszünk, hogy olyan prediktív és prognosztikus markerek meghatározását végezzük el, amelyek lehetővé teszik/tehetik az egyre inkább személyre szabott terápiás megközelítést. A mai molekuláris patológiai eljárások képesek lehetnek a tumor biológiai viselkedésének pontosabb felmérésére, lehetővé téve a hatékonyabb terápiás választást mind neoadjuváns/adjuváns kezelés esetén, mind metasztatikus betegség esetén. Összefoglaló közleményünkben áttekintést nyújtunk a Semmelweis Egyetem II. Sz. Patológiai Intézetben elvégzett emlőrákkutatások fontosabb eredményeiről a 2000–2015 periódusban. Magyar Onkológia 59:286–291, 2015

Kulcsszavak: emlőrák, prediktív/prognosztikus markerek, neoadjuváns kezelés, célzott terápia, metasztatikus emlőrák

In the second half of the 20th century research focusing to breast carcinomas at the Semmelweis University had been mostly linked to the 2nd Department of Pathology. Nowadays, following the rapidly improving treatment modalities in breast cancer there is an increasing need for defining new predictive and prognostic markers. The modern molecular pathological approach helps tremendously in mapping the biological behavior of individual cases of breast cancers and meanwhile, it is one of the prerequisites of a more efficient treatment both in neoadjuvant and adjuvant settings, as well as in metastatic disease. We provide a brief review of the relevant results we have obtained in breast cancer research between 2000 and 2015.

Kulka J, Tőkés AM, Madaras L, Kovács A, Ács B, Illyés I, Kiss O, Székely B, Lotz G, Szász AM. Clinico-pathologically focused breast cancer research. Hungarian Oncology 59:286–291, 2015

Keywords: breast carcinoma, predictive/prognostic markers, neoadjuvant and adjuvant treatment, metastatic breast cancer

Levelezési cím: Dr. Kulka Janina, Semmelweis Egyetem II. Sz. Patológiai Intézet, 1091 Budapest, Üllői út 93.
Tel.: 0036-1-215-7300/53430, e-mail: kulka.janina@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett: 2015. szeptember 29. • Elfogadva: 2015. október 12.

VISSZATEKINTÉS

A Semmelweis Egyetemen a daganatkutatás nagy hagyományokkal rendelkezik, és ezen belül az emlőrák és az emlő betegségeinek kutatása több évtizedes múltra tekinthet vissza. Már a XX. század elején a Patológiai Intézet egykori igazgatója, a később világhírűvé vált Krompecher Ödön is foglalkozott az emlő betegségeivel: az emlő „tömlős betegségeiről” tartotta akadémiai székfoglaló előadását 1915-ben.

Az emlőrákkal kapcsolatos klinikopatológiai kutatások egyetemünkön a XX. század második felében a II. Sz. Patológiai Intézethez köthetők: Mohácsy Judit hazánkban az elsők között volt, aki meghonosította az emlőrákesetek szteroidhormonreceptor-meghatározását, az első években biokémiai módszereket alkalmazva, majd később a ma már mindenhol rutineljárásnak számító immunhisztokémiai módszerrel (1). Kádár Annával együtt végeztek tanulmányokat a stromális elasztózis és a betegség prognózisa közötti összefüggés feltárására. A klinikopatológiai szemléletű kutatás fennmaradt a II. Sz. Patológiai Intézetben, szoros együttműködésben a Radiológiai és az I. Sz. Sebészeti Klinikával, és az Egyetem – jelenleg az I. Sz. Belgyógyászati Klinikához tartozó – Onkológiai részlegével, amit évek óta Dank Magdolna vezet. A II. Sz. Patológiai Intézet a Semmelweis Egyetemen a 2000-es évek elején megindult mammográfiás emlőszűrés patológiai hátterét teremtette meg: a felfedezett elváltozások citológiai diagnosztikája és a műtetre került esetek korszerű szövettani diagnosztikája, beleértve az intraoperatív speciménmammográfiás vizsgálatokat is, nagy segítséget jelentett a multidiszciplináris team színvonalas és eredményes működéséhez.

A II. Sz. Patológiai Intézet hagyományai között az extracelluláris mátrix kutatása elsősorban Kádár Anna nevéhez fűződik. Ebbe a munkába kapcsolódott be Tőkés Anna-Mária biológus, aki az emlőrákok stromájának változásait, a stroma fehérje-összetételét vizsgálta (2–5). Ezekben a kutatásaikban már korán rámutattak a tenascin fehérje jelentőségére a daganatos stromában, amelynek szerepét azóta más kutatócsoportok is megerősítették.

Az emlő munkacsoport jelenlegi vezetője 2002-től az Európai Emlőszűrő Patológus Munkacsoport (European Working Group for Breast Screening Pathology, EWGBSP) Cserni Gábor mellett másik magyar tagjaként az emlőszűréshez kapcsolódó (európai) patológiai irányelvek kidolgozásában, e nemzetközi munkacsoport közös tanulmányaiban aktívan vett és vesz részt (6–16). A magyar mammográfiás emlőszűrés szakmai bizottságának tagjaként a hazai irányelvek kidolgozását szorgalmazta (17). A jelenleg még érvényben lévő módszertani levél/szakmai protokoll az emlőbetegségek diagnosztikájáról és kezeléséről kidolgozásában részt vállalt, és a jelenleg átdolgozás alatt

álló dokumentum egyik szerzője (18, 19). A II. Sz. Patológiai Intézetben a munkacsoport tagjaival közösen számos klinikopatológiai szemléletű kutatás indult el, az évek alatt számos tudományos diákköri hallgató is bekapcsolódott a munkába. Egyre szélesebb körű nemzetközi együttműködések is kialakultak, melyek az emlőrák kutatásába bekapcsolódó Ph.D. hallgatók számára jelentettek és jelentenek jó lehetőségeket.

HER2

Az emlőrák prognózisát és a megfelelő kezelési indikáció felállítását alapvetően befolyásoló tényezők tanulmányozása retrospektív kutatásokban zajlik. A HER2 elleni célzott terápia lehetősége megköveteli a patológusoktól az emlőrák HER2-státuszának pontos meghatározását (20). A kezdeti útkeresés egyik állomása a qRT-PCR alkalmazhatóságának kipróbálása volt (21). Vizsgálataink eredményét az utóbbi néhány évben látjuk megerősítve, amikor a multigénis prediktív tesztek némelyikében pl. ezt a módszert alkalmazzák a HER2-státusz megítélésére, vagy azokban a tanulmányokban, ahol ezt a módszert ajánlják olcsósága, pontossága és gyorsasága miatt. A HER2-státusz rutin meghatározásának minőségbiztosítása is hozzátartozik a diagnosztikához. A hazai patológiai külső minőségbiztosítási rendszer kidolgozásában Krenács Tibor (Semmelweis Egyetem I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet) végzett úttörő munkát, és működtetésében ma is kulcsszerepet vállal (22).

AZ EMLŐRÁK IMMUNHISZTOKÉMIAI FENOTÍPUS ALAPÚ OSZTÁLYOZÁSA, A „SURROGATE” ALTÍPUSOKKAL KAPCSOLATOS TANULMÁNYOK

Az ezredfordulón látott napvilágot az emlőrákok korábbtól teljesen eltérő, génexpressziós mintázaton alapuló felosztása (23). Ezt a felosztást próbálja visszatükrözni az az immunhisztokémiai panel, ami az ösztrogénreceptor (ER), progesteronreceptor (PgR), HER2 és Ki67 fehérjék expressziója alapján ad információt egy-egy emlőrákesetről. A nagy csoportok ezzel a mindennap alkalmazott módszerrel is elkülöníthetők, eltérő prognózissal rendelkeznek, eltérő kezelést igényelnek. A PgR-expresszió prognosztikai szerepére egy közelmúltban magyarul megjelent közleményben mutatunk rá saját eseteink retrospektív elemzésének eredményei alapján (24).

A rutin diagnosztikus munkánk során az immunhisztokémiai fenotípus alapján megállapított emlőrákcsoportokban (luminalis A, luminalis B, HER2-pozitív és tripla-negatív – TN) vizsgáltuk, hogy a sejtkapcsoló struktúrák bizonyos fehérjei milyen prognosztikai szerepet ját-

szanak. Részben *in silico* génexpressziós, részben szöveti mikrosorozatokon végzett fehérjeexpressziós vizsgálati eredmények alapján egy score-t hoztunk létre (CURIO), amely a claudin 4 és E-cadherin expressziójának mértékét mutatja. A CURIO magas értéke a luminalis A tumorokban rossz, a luminalis B tumorokban kedvezőbb prognózist jelzett, a TN carcinomák esetében alacsony értéke jobb prognózisú esetekben volt megfigyelhető. HER2-pozitív daganatok esetében ez a score nem volt használható a prognózis eldöntésében (25).

Korábban a claudin 4 fehérje expresszióját vizsgáltuk különböző típusú emlőrákesetekben, és megállapítottuk, hogy a TN carcinomák csoportján belül a magas molekulású citokeratin 5/6 expressziójával jellemezhető, főként hisztológiai grade 3 eseteket magában foglaló ún. bazális alcsoportban a legmagasabb az expressziója, míg a főként ER-pozitív grade 1-es tumorokban a legalacsonyabb (26).

PROGNOSZTIKAI VIZSGÁLATOK GRADE 2-ES EMLŐRÁK ESETEIBEN

Az emlőcarcinomák szövettani grade-je szorosan korrelál a prognózissal (27), azonban a grade 2 differenciáltságú tumorok esetében (amelyek az összes emlőrak kb. 40-50%-át teszik ki) sokkal körütekintőbb megfontolások szükségesek pl. a műtétet követő onkológiai kezelés tervezésekor. A grade 2 tumoroknak a legkevésbé kiszámítható a hosszabb távú prognózisa, különösen, ha korai stádiumú daganatról van szó. A genomikai grade (28) leírása erre a kiszámíthatatlanságra megfelelő magyarázatot adott: a grade-re jellemző génexpressziós mintázat alapján csak két, jelentősen különböző prognózisú betegcsoport különíthető el, és meggyőzően bebizonyosodott, hogy a szövettani tulajdonságaik alapján grade 2-ként meghatározott emlőcarcinomákat a génexpressziós mintázatuk alapján szét lehet választani genomikai grade „1” és genomikai grade „3” – azaz jó és rossz prognózisú – tumorokra. A SE II. Sz. Patológiai Intézetében erre a kérdésre koncentráva *in silico* elemzések-ből kiindulva egy jelentősen szűkített génlistával saját esetekben igazolni tudtuk, hogy akár három gén expressziója (TOP2A, FOXM1, CLDN4) alapján is elkülöníthetőek a jó és rossz prognózisú, ER-pozitív grade 2-es daganatok (29). A TOP2A és FOXM1 expresszióját az MKI67 expressziójával együtt vizsgálva, négy független, ER-pozitív, grade 2 tumorral diagnosztizált betegpopulációban (TRANSBIG, Mainz, JBI, MDACC-SET), *in silico* elemzés során kimutattuk, hogy módszerünkkel a Genomikai Grade Indexszel egyenértékű prognosztikai információt lehet adni (30). A CIN4 mintázat (kromoszomális instabilitást tükröző génexpresszió) ugyancsak *in silico* elemzéseinkből adódott, a CIN70 génlista szűkítésével (31). Az *in silico* elemzés eredményei azt mutatták,

hogy a TOP2A, AURKA, FOXM1 és TPX2 expressziója szoros összefüggést mutatott a tumorgrade-del. 185 saját, ER-pozitív, HER2-negatív, ismert betegségmentes túlélési adatokkal rendelkező betegünk tumormintáin vizsgáltuk e 4 gén expresszióját, és megállapítottuk, hogy a CIN4 expressziós mintázat a grade 2-es tumorokat két eltérő prognózisú csoportra képes osztani (32).

Ki67

A Ki67 szerepével kapcsolatban az irodalomban viták zajlanak, abban azonban a szerzők egyetértenek, hogy a sok nyitott kérdés ellenére a Ki67 meghatározása fontos és hasznos az emlőrak rutindiagnosztikájában, bár éppen az ellentmondások miatt sokan vitatják, hogy lehet-e használni a terápiás döntéshozatalban. Munkacsoportunk a Ki67-expresszió mértékének eltéréseit a kereskedelmi forgalomban kapható Ki67-ellenes antitestek függvényében vizsgálta. Öt antitestet használtunk, és megállapítottuk, hogy ezek eltérő prediktív potenciállal rendelkeznek a betegségmentes túlélés előrejelzésében, valamint meglepő módon adjuváns kemoterápiával nem kezelt betegek betegségmentes túlélésére éppen a MIB1 antitest (a legelterjedtebben használt Ki67 antitest) nem mutatott kellő prediktív potenciált (33).

ŐRSZEM NYIROKCSOMÓK

Az axilláris nyirokcsomóstátusz az egyik legfontosabb prognosztikai tényező. A szűrően kiemelt (de ma már szinte az összes) emlőrákesetekben erről az őrszem nyirokcsomó vizsgálata alapján tájékozódunk. Sokáig tartotta magát az a nézet, hogy mikrometasztázist tartalmazó őrszem nyirokcsomó esetén axilláris blokkdisszekciót (ABD) kell végezni, azonban az utóbbi évek nagy randomizált vizsgálatainak eredményei ennek ellentmondani látszanak, és ma már egyre inkább amellett foglalnak állást, hogy amennyiben posztoperatív besugárzás is része a kezelési tervnek, makrometasztázist tartalmazó őrszem nyirokcsomók (pN1a(sn): 1–3 áttét) esetén sem javítja a túlélést az ABD (34). Saját vizsgálataink mellett szólnak, hogy metasztatikus őrszem nyirokcsomó mellett a további hónalji nyirokcsomó-áttétek csak 6 mm-nél nagyobb áttétek esetén válnak szignifikánsan gyakoribbá (35). Ezt megerősíteni látszik egy több nagy európai intézmény anyagát feldolgozó vizsgálat, amelyben ugyancsak 6 mm-es őrszemnyirokcsomó-áttétet találtak kritikusnak a további axilláris nyirokcsomó-érintettség előrejelzésére (Foschini MP, szóbeli kommunikáció).

Pozitív axilláris nyirokcsomóstátuszú emlőrakos betegcsoportban a tight junction sejtkepcsoló struktúrákban található fehérjék egy különleges csoportjával, a claudinok expressziójával foglalkozó munkánkban e fehérjék prog-

nosztikai szerepét vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatták, hogy a nyirokcsomóáttétekben a claudin 1-expresszió csökkent és a claudin 4-expresszió fokozott mértéke rosszabb prognózist (rövidebb betegségmentes túlélést) jelez (36).

FIATALKORI ÉS TERHESSÉGI EMLŐRÁK

A fiatalkori emlőrák sajátosságait és az időskori tumorokhoz képest tapasztalt eltéréseit összehasonlító vizsgálatunkban tanulmányoztuk (37, 38). Többek között megállapítottuk, hogy a fiatalkori emlőrákok intratumorális morfológiai heterogenitása nagyobb mértékű, és ez a heterogenitás a prediktív faktorok (ER/PgR/HER2) expressziójában is megnyilvánul (39). A sok szempontból nagyon speciális terhességi emlőrákesetek elemzését is kontrollcsoport vizsgálatával kiegészítve végeztük el. Megállapítottuk, hogy terhességgel összefüggő emlőrákesetekben gyakoribbak a magas Ki67-indexű, hormonreceptor-pozitív (LUMB proliferáló) és a TN altípusú daganatok, gyakoribb a PgR-negativitás, az extenzív high grade DCIS komponens és a NPI szignifikánsan magasabb értéke pedig rosszabb prognózist jelez. A terhességi és nem terhességi emlőrákeseteink halálzási adatai ezt messzemenően alátámasztották (40). Nemzetközi együttműködésben vizsgáltunk olyan emlőrákos betegekből származó daganatmintákat, akiknek ismert volt a BRCA-mutációs státusza. Ebben a tanulmányunkban – fehérjeexpressziós szinten – nem tudtuk alátámasztani azt a feltételezést, hogy a BRCA-mutációkhoz asszociált tumorok rokonságban állnának az emlőrákössejt-tulajdonságokat hordozó – génexpressziós mintázat alapján a Perou-munkacsoport által azonosított – claudin-low tumortípussal (41).

A NEOADJUVÁNS ONKOLÓGIAI KEZELÉS EGYES PATOLÓGIAI VONATKOZÁSAI

Az emlőcarcinomák onkológiai kezelésében az utóbbi időben nem csak a megfelelő gyógyszerek megválasztása, hanem a terápia időzítése is előtérbe került, mint a személyre szabott kezelés egyik eszköze. A korábban csak primeren inoperábilis előrehaladott emlőrákesetekben alkalmazott „neoadjuváns” onkológiai kezelést napjainkban kiterjesztettebb indikációval alkalmazzák. E kezelési mód hazai alkalmazásának kezdeti időszakában végeztünk egy vizsgálatot arra vonatkozóan, hogy az egyes emlőráktípusok vajon milyen mértékben reagálnak a műtét előtt alkalmazott kemoterápiára. Eredményeink egybeesnek az azóta eltelt időben már nagyobb számú betegen is bizonyított eredményekkel, nevezetesen, a TN és HER2-pozitív emlőrákesetekben várható a legkedvezőbb eredmény ettől a kezelési módtól: a tumor a kezelés hatására komplett remissziót mutathat

(42). Primer szisztémás (neoadjuváns) kemoterápiára (PST vagy NAT) adott válasz szempontjából eseteinket PET/CT-aktivitásmérések és Ki67, valamint egyéb sejtproliferációs markerek expressziója mértékének összehasonlításával is vizsgáltuk (43, 44). Nemzetközi együttműködésben, nagyszámú beteg mintáit elemezve a „pathological non-response” előrejelezhetőségét vizsgáltuk (45).

A PST (NAT) során bekövetkező stromális változások vizsgálata során rámutattunk arra, hogy a patológiai választ mutató esetekben a stromális kollagén IV mennyiségének jelentős növekedése jellemző, míg a kezelésre nem reagáló progrediáló esetekben a tenascin fehérje van jelen nagy mennyiségben a tumor stromájában (46).

A Zürichi Egyetemen és a SE I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézzel együttműködésben a connexin (Cx) sejtkapcsoló fehérjék expressziójának vizsgálata történt PST előtt vett core biopsziás mintákból és a reziduális tumor reprezentatív mintáiból készült szöveti mikrosorozatokon. Mindegyik beteg esetében ismert volt a kezelés kimenetel (tumorregresszió mértéke) és a túlélési adatok. A kezelés utáni műteti anyagban a daganatsejtek csökkent Cx26-expressziója szignifikánsan jobb túléléssel társult. A kezelés előtti core biopsziában észlelt magasabb Cx46-expresszió a részleges regressziót mutató esetekben szignifikánsan jobb prognózisra utalt (47).

PRIMER EMLŐRÁK ÉS METASZTÁZIS – ÖSSZEHASONLÍTÓ TANULMÁNYOK

A metasztatikus emlőrák, mint gyógyíthatatlan betegség, régóta az emlőrákkal foglalkozó szakemberek vizsgálatának előtérében áll. Hosszú évtizedekig a metasztatikus betegség kapcsán nem merült fel, hogy az áttét a primer tumortól eltérő tulajdonságokkal rendelkezhet. Az utóbbi évtizedben azonban egyre több kutatás eredménye bizonyítja, hogy az esetek mintegy harmadában a metasztázis más tulajdonságokkal rendelkezik, mint a korábban sebészi beavatkozással és gyógyszeresen kezelt daganat. Ez a felismerés maga után vonja azt a következtetést, hogy célszerű a metasztázisokból is mintát venni – ha lehetséges –, és ebből a kezelést befolyásoló prediktív faktorokat újra meghatározni. Munkacsoportunk klinikai beteganyag-vizsgálata során már 2007-ben felvetette ezt a problémát, és primer tumorokból, valamint párosított csont-, agy- és tüdőáttétekből álló betegcsoportot állított össze, igaz, eredményeinket akkoriban csupán immunhisztokémiai vizsgálatokra alapoztuk (48). A közelmúltban egy részletes autopsziás anyagot elemző immunhisztokémiai tanulmányban arra is rámutattunk, hogy nemcsak a primer tumor és annak egyetlen áttéte között lehet eltérés, hanem a különböző lokalizációjú áttétek is különbözhetnek egymástól (49).

A legújabb molekuláris technikák alkalmazásával (nukleinsavszekekvencia-analízissel) genomikai szinten is észlelhetők a jelentős különbségek, és a metasztázizálás folyamata időben is rekonstruálható (50).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hazai és külföldi kollaborációink felsorolásával szeretnénk köszönetet mondani a velünk együttműködő intézeteknek, kórházaknak és munkacsoportoknak, de mindenekelőtt folyamatos támogatásukért a SE II. Sz. Patológiai Intézet jelenlegi és korábbi tanszékvezetőinek: Dr. Tímár Józsefnek, Dr. Schaff Zsuzsánának, Dr. Kádár Annának.

MTA-SE Daganatprogresszió Kutatócsoport; Semmelweis Egyetem I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet; Semmelweis Egyetem I. Sz. Sebészeti Klinika; Semmelweis Egyetem I. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika Molekuláris Kutatólaboratórium és MTA-TTK Lendület Onkológiai Biomarker Kutatócsoport; Semmelweis Egyetem I. Sz. Belgyógyászati Klinika, Onkológiai Részleg; Semmelweis Egyetem Ortopédiai Klinika; Országos Idegsebészeti Tudományos Intézet; Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet; Országos Onkológiai Intézet; Budai MÁV Kórház Patológiai Osztály; Bács-Kiskun Megyei Kórház Patológiai Osztály és Szentgyörgyi Albert Tudományegyetem Patológiai Intézet; Uzsoki utcai Kórház Sebészeti és Érsebészeti Osztály, valamint Patológiai Osztály; Flór Ferenc Kórház Patológiai Osztály; EWGBSP; University of Torino, Department of Pathology; Jules Bordet Institute; M.D. Anderson Cancer Center és Yale Cancer Center Genetics and Genomics Program; Center for Health Informatics and Bioinformatics, New York University és Department of Pathology and Yale Cancer Center, Yale University School of Medicine; Children's Hospital Boston és Harvard Medical School; Technical University of Denmark; Cancer Research UK, London Research Institute & University College London Hospitals & Cancer Institute; Institute of Surgical Pathology, University Hospital Zurich; Department of Pathology, University Hospital Center „Sestre milosrdnice”; Department of Pathology, Sackler School of Medicine, Tel Aviv University és Chaim Sheba Medical Center.

IRODALOM

1. Mohácsy J, Kádár A, Vallent K, et al. Comparison of histochemical and biochemical methods in the evaluation of estrogen and progesterone receptor level in human breast cancer. A study of 118 cases. *Acta Chir Hung* 29:95–105, 1988
2. Kadar A, Tökés AM, Kulka J, et al. Extracellular matrix components in breast carcinomas. *Semin Cancer Biol* 12:243–257, 2002
3. Tökés AM, Paku S, Tóth S, et al. Tenascin expression in primary and recurrent breast carcinomas and the effect of tenascin on breast tumor cell cultures. *Pathol Oncol Res* 6:202–209, 2000
4. Tökés AM, Hortoványi E, Kulka J, et al. Tenascin expression and angiogenesis in breast cancers. *Pathol Res Pract* 195:821–828, 1999
5. Tökés AM, Hortoványi E, Csordás G, et al. Immunohistochemical localisation of tenascin in invasive ductal carcinoma of the breast. *Anticancer Res* 19:175–179, 1999
6. Cserni G, Amendoeira I, Bianchi S, et al. Distinction of isolated tumour cells and micrometastasis in lymph nodes of breast cancer patients according to the new Tumour Node Metastasis (TNM) definitions. *Eur J Cancer* 47:887–894, 2011
7. van Deurzen CHM, Cserni G, Bianchi S, et al. Nodal-stage classification in invasive lobular breast carcinoma: Influence of different interpretations of the pTNM classification. *J Clin Oncol* 28:999–1004, 2010

8. Cserni G, Bianchi S, Vezzosi V, et al. Variations in sentinel node isolated tumour cells/micrometastasis and non-sentinel node involvement rates according to different interpretations of the TNM definitions. *Eur J Cancer* 44:2185–2191, 2008
9. Cserni G, Bianchi S, Vezzosi V, et al. Validation of clinical prediction rules for a low probability of nonsentinel and extensive lymph node involvement in breast cancer patients. *Am J Surg* 194:288–293, 2007
10. Cserni G, Bianchi S, Vezzosi V, et al. Sentinel lymph node biopsy in staging small (up to 15 mm) breast carcinomas. Results from a European multi-institutional study. *Pathol Oncol Res* 13:5–14, 2007
11. Cserni G, Bianchi S, Vezzosi V, et al. Sentinel lymph node biopsy and non-sentinel node involvement in special type breast carcinomas with a good prognosis. *Eur J Cancer* 43:1407–1414, 2007
12. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, et al. Discrepancies in current practice of pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. Results of a questionnaire based survey by the European Working Group for Breast Screening Pathology. *J Clin Pathol* 57:695–701, 2004
13. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, et al. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines. *Eur J Cancer* 39:1654–1667, 2003
14. Wells CA, Sloane JP, Coleman D, et al. Consistency of staining and reporting of oestrogen receptor immunocytochemistry within the European Union – an inter-laboratory study. *Virchows Arch* 445:119–128, 2004
15. European Guideline for Quality Assurance in Breast Cancer Screening and Diagnosis. Fourth Edition. European Communities, 2006
16. European Guideline for Quality Assurance in Breast Cancer Screening and Diagnosis. Fourth Edition – Supplements. European Union, 2013
17. A mammográfias emlőszűrés és a korai emlőrák diagnosztikájára és terápiájára vonatkozó irányelvek gyűjteménye. Nemzeti Népegészségügyi Program. Szervezett Lakossági Emlőszűrés. Készítette: Országos Mammográfias Szűrés Munkabizottság (02. verzió) Budapest, 2004
18. Az Egészségügyi Minisztérium módszertani levele az emlőrák patológiai diagnosztikájáról (2. módosított változat). Készítette: a Patológiai Szakmai Kollégium. *Egészségügyi Közlöny* 2010, 10. szám
19. Cserni G, Francz M, Járay B, et al. Az emlőrák patológiai diagnosztikája, feldolgozása és kórszöveti leletezése. *Magyar Onkológia* 54:217–226, 2010
20. Kulka J. A Her2/neu-receptor meghatározás: a betegre szabott terápia egyik alapja emlőrákban. *Orvosi Hetilap* 146:785–790, 2005
21. Kulka J, Tökés AM, Kaposi Novák P, et al. Detection of HER-2/neu gene amplification in breast carcinomas using quantitative real-time PCR. A comparison with immunohistochemical and FISH results. *Pathol Oncol Res* 12:197–204, 2006
22. Cserni G, Kálmán E, Kulka J, et al. HER2 immunhisztokémiai vizsgálatok minőség-ellenőrzése. Egy magyarországi körvizsgálat eredményei. *Magy Onkol* 51:23–29, 2007
23. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406:747–752, 2000
24. Selmeci T, Tökés A-M, Róna Á, et al. A progesteronreceptor-expresszió prognosztikai szerepe HER2-negatív Luminalis B altípusú emlődaganatokban. *Nőgyógy Onkol* 19:47–49, 2014
25. Szasz AM, Nemeth Z, Gyorffy B, et al. Identification of a claudin-4 and E-cadherin score to predict prognosis in breast cancer. *Cancer Sci* 102:2248–2254, 2011
26. Kulka J, Szasz AM, Németh Z, et al. Expression of tight junction protein claudin-4 in basal-like breast carcinomas. *Pathol Oncol Res* 15:59–64, 2009
27. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res* 12:207, 2010
28. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, et al. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J Natl Cancer Inst* 98:262–272, 2006

29. Szász AM, Ács B, Ágoston E, et al. Egyszerűsített, alacsony költségű gén-expressziós teszt az emlődaganatos betegségek kimenetelének előrejelzésére rutin patológiai blokkok felhasználásával. *Orv Hetil* 154:627–632, 2013
30. Székely B, Iwamoto T, Szasz AM, et al. A 3-gene proliferation score (TOP-FOX-67) can re-classify histological grade-2, ER-positive breast cancers into low- and high-risk prognostic categories. *Breast Cancer Res Treat* 138:691–698, 2013
31. Carter SL, Eklund AC, Kohane IS, et al. A signature of chromosomal instability inferred from gene expression profiles predicts clinical outcome in multiple human cancers. *Nat Genet* 38:1043–1048, 2006
32. Szász AM, Li Q, Eklund AC, et al. The CIN4 chromosomal instability qPCR classifier defines tumor aneuploidy and stratifies outcome in grade 2 breast cancer. *PLoS One* 8:e56707, 2013
33. Kulka J, Kovács A, Madaras L, et al. Comparison of Ki67 labelling index of five antibodies in breast cancer and their prediction capacity of disease free survival. *Virchows Arch* 461(Suppl 1):S5, 2012
34. Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis. *JAMA* 305:569–575, 2011
35. Illyes I, Tokes AM, Kovacs A, et al. In breast cancer patients sentinel lymph node metastasis characteristics predict further axillary involvement. *Virchows Arch* 465:15–24, 2014
36. Szasz AM, Tokes AM, Micsinai M, et al. Prognostic significance of claudin expression changes in breast cancer with regional lymph node metastasis. *Clin Exp Metastasis* 28:55–63, 2011
37. Madaras L, Baranyák Z, Kulka J, et al. Retrospective analysis of clinicopathological characteristics and family history data of early-onset breast cancer: a single-institutional study of Hungarian patients. *Pathol Oncol Res* 19:723–729, 2013
38. Székely B, Madaras L, Szentmártoni Gy, et al. A fiatal- és időskori emlőrák összehasonlítása klinikopatológiai jellemzők alapján. *Magy Onkol* 54:19–26, 2010
39. Madaras L, Szász AM, Baranyák Zs, et al. Fiatal- és időskori emlődaganatok morfológiai és molekuláris sajátosságai közötti összefüggések. *Magy Onkol* 56:75–78, 2012
40. Madaras L, Kovács KA, Szász AM, et al. Clinicopathological features and prognosis of pregnancy associated breast cancer – a matched case control study. *Pathol Oncol Res* 20:581–590, 2014
41. Madaras L, Gyorffy B, Balint N, et al. BRCA mutation related and claudin-low breast cancer: blood relatives or stepsisters? *Pathobiology* 83:1-12, 2015
42. Kulka J, Tőkés AM, Tóth AI, et al. Az emlődaganatok primer szisztémás kemoterápiára adott válasza az immunhisztokémiai fenotípus tükrében. *Magy Onkol* 53:335–343, 2009
43. Tőkés T, Somlai K, Székely B, et al. Az FDG-PET-CT szerepe az emlőrák primer szisztémás kezelése során: a metabolikus változások és a patológiai remisszió összefüggései. *Orv Hetil* 153:1958–1964, 2012
44. Tőkés T, Tőkés AM, Szentmártoni G, et al. Diagnostic agreement between computer assisted and routine visual assessment of proliferation markers before initiation of primary systemic therapy of locally advanced breast cancer. *Virchows Arch* in press
45. Balmativala D, Marchio C, Maule M, et al. Pathological non-response to chemotherapy in a neoadjuvant setting of breast cancer: an inter-institutional study. *Breast Cancer Res Treat* 148:511–523, 2014
46. Tokes AM, Szasz AM, Farkas A, et al. Stromal matrix protein expression following preoperative systemic therapy in breast cancer. *Clin Cancer Res* 15:731–739, 2009
47. Teleki I, Krenacs T, Szasz MA, et al. The potential prognostic value of connexin 26 and 46 expression in neoadjuvant-treated breast cancer. *BMC Cancer* 13:50–63, 2013
48. Szász AM, Lukács L, Tőkés AM, et al. Immunoprofiling of primary breast carcinomas and consecutive distant metastases. *Virchows Arch* 455(Suppl 1):S100–S101, 2009
49. Székely B, Nagy ZI, Farago ZO, et al. Comparison of immunophenotypes of primary breast carcinomas and corresponding multiple distant metastases: An autopsy study of 25 patients. *Virchows Arch* 467(Suppl 1):S13, 2015
50. Desmedt C, Brown D, Székely B, et al. Unraveling breast cancer progression through geographical and temporal sequencing. *Cancer Res* 74(19 Suppl): Abstr No 986, 2014