

Az érképződés, az angiogén tirozin-kináz receptorok és a claudin-5 fehérje kifejeződése gyermekkori agydaganatokban

Doktori tézisek

Dr. Virág József

Semmelweis Egyetem
Patológiai Orvostudományok Doktori Iskola



PhD Konzulensek: Dr. Garami Miklós Ph.D., egyetemi docens
Dr. Hegedűs Balázs Ph.D., tudományos munkatárs

Opponensek:

Dr. Várbíró Szabolcs Ph.D., egyetemi docens
Dr. Harisi Revekka Ph.D., adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Sótonyi Péter, az MTA tagja, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Polgár Csaba Ph.D., egyetemi tanár Dr.
Dr. Rubovszky Gábor Ph.D., oszt. vez. főorvos

Budapest
2016

BEVEZETÉS

A központi idegrendszer daganatai a második helyett foglalják el a leggyakoribb gyermekkori rosszindulatú megbetegedések között. Ennek alapvetően 3 fő típusát különböztethetjük meg, az ependymomát, az astrocytomát és a medulloblastomát. Bár ezek kezelésében számos fontos előrelépés történt, ugyanakkor a molekuláris biológia fejlődése által lehetővé tett új célzott terápiás lehetőségek - amelyek a felnőttkori daganatos megbetegedéseknél már évek óta rendelkezésre állnak (bevacizumab, cetuximab, sunitinib, sorafenib, stb.) - azonban a gyermekonkológiában még csak korlátozott mértékben kerültek bevezetésre.

A gyermekkori agytumороk közül az astrocytomák gliális eredetű daganatok, gyakran jól differenciáltak és általában jól kezelhetőek. Ritkábban fordulnak elő gyerekkorban a rossz prognózisú glioblastomák. A medulloblastomák csírasejtes eredetű tumороk, a leggyakrabban a kisagyban helyezkednek el, és a kemoterápiás kezelésre rendszerint jól reagálnak. Az ependymomák az agykamra ependymális sejtjeiből alakulnak ki, és gyakran rosszul differenciáltak és sok esetben rossz prognózissal társulnak. A gyermekkori daganatok terápiájában is a kombinált kezelések játsszák a legfontosabb szerepet. A daganat időben történő sebészeti eltávolítása teljes gyógyulást jelenthet. A kemoterápiás kezelés elsősorban az astrocytomáknál és a medulloblastomáknál kerül alkalmazásra és a modern sugárkezelési eljárások is fontos részét képezik a komplex terápiának. Az elmúlt években a molekuláris onkológia fejlődése új lehetőségeket teremtett a daganatok kezelésében. A gyermekkori agytumороknál is számos vizsgálat történt új molekuláris célpontok azonosítására, így a célzott terápia alkalmazására, amely hatékonyabb terápiát eredményezhet kisebb toxicitás mellett.

Az érképződésnek fontos szerepe van a daganatos betegség progressziójában, mivel a növekedő tumor így képes biztosítani a vérellátást saját maga számára. Számos esetben az érképződés gátlása már a klinikai gyakorlatban is bevezetésre került (vastagbélrák, veserák, tüdőrák, glioblastoma). A tumorszövet vérellátásának kialakulásában számos mechanizmus ismert, mint például az érújdonképződés, az ér-inkorporáció, az intusszuszeptív angiogenesis vagy a vaszkuláris mimikri. Egyes agydaganatokban gyakran fordulnak elő úgynevezett glomeruloid képződmények. Valamennyi vaszkularizációs formát egyedülálló angiogén tirozin-kináz receptor kifejeződési mintázat jellemez.

Az integráns membránfehérjék csoportjába tartozó tirozin-kináz receptoroknak (TKR) fontos szerepük van a legtöbb rosszindulatú daganat kialakulásában és progressziójában. A 17 különböző családba osztható TKR gének mintegy 58 fehérjét kódolnak. A sejtmembránban találhatóak, komplexet alkotnak, kináz aktivitással rendelkeznek, illetve számos jeláltviteli folyamatot szabályoznak. A VEGFR1 fehérje nem rendelkezik kináz aktivitással és elsősorban, mint decoy-receptor működik, a VEGFR2 a VEGF-A ligand legfontosabb receptora, az érképződés egyik meghatározó szabályozója és kináz aktivitással rendelkezik. A VEGFR3 elsősorban a VEGF-C és -D fehérjéket köti és a nyirokérképződés egyik legfontosabb molekuláris szabályozója. A VEGFR2 autokrin folyamatokon keresztül végső soron a tumor növekedését közvetlenül is támogatni képes és már a VEGFR és az EGFR egyfajta szinergista hatáson keresztül is elősegíthetik a tumor növekedését. A PDGF fehérjecsaldba tartozó monomer fehérjék dimereket alkotva fejtik ki hatásukat. Ezeket a ligandokat két PDGF receptor, a PDGFR α és PDGFR β képes megkötni. A PDGF/PDGFR rendszer az embrionális fejlődés során a vese, a tüdő, a vérkeringés és vérképzés differenciációs folyamatainak egyik meghatározó szabályozója, az

idegrendszerben pedig a neurogliális progenitorok differenciációját szabályozzák. Ugyancsak angiogén tirozin-kináz receptor a növekedési/össejt receptor c-Kit is, amely az endotél progenitor sejteken is kifejeződik. A különböző ereződési mechanizmusok közül az érujdonképződést a VEGFR2, a vaszkuláris mimikrit az EphA és FAK, a glomeruloid érképződést a VEGFR2 és PDGFR fehérjék támogatják. Számos tanulmányban vizsgálták már eme fehérjék jelenlétét gyermekkori agytumorokban és felmerült annak a lehetősége, hogy ezen angiogén kinázok gátlásán keresztül a vaszkularizáció mértékének csökkentésével a daganat regressziója idézhető elő. Az érképződés folyamatában számos további fehérje vesz részt, mint például a receptorok ligandumai, a mátrix metalloproteázok vagy különböző sejtadhéziós molekulák. Az érettebb ereknél megfigyelhető perivaszkuláris elemek szabályozásában fontosak a PDGF fehérjék és receptoraik. Az endotél sejtek által termelt PDGF- β képes serkenteni az ereket borító periciták és vaszkuláris simaizom sejtek proliferációját és mozgását.

A daganatos sejtek felszínén elhelyezkedő tirozin-kináz receptorok specifikus gátlásával felmerül annak a lehetősége, hogy azokat a tumorokat, amelyek az adott jelátviteli folyamat aktivitását felhasználják a növekedésük biztosításához elpusztítsuk. Ezen receptorokra ható specifikus inhibitor gyógyszerek megjelenése egy új paradigmát jelentenek a molekuláris célpontú terápiák között. A jelátviteli hálózat gátlása a tumorsejt növekedésének gátlásához, egyes esetekben apoptózisához is vezethet. A nagy molekulásúlyú antitestek szelektíven a tirozin-kináz receptorokhoz kapcsolódva fejtik ki hatásukat, mint például a cetuximab. A kis molekulásúlyú gátlószerek a sejtmembránon átjutva intracellulárisan kapcsolódnak a receptorokhoz és gátolják meg azok enzimatis müködését.

Az érképződés mellett a sejt-sejt kapcsolatokért felelős fehérjék is fontos szerepet játszanak a daganatok progressziójában. Ezen fehérjék között meghatározó szerepük van a claudin fehérjecsalád tagjainak, amelyek alapvető összetevői a sejtek közötti szoros kapcsolatokat (tight junctio) alkotó fehérjekomplexeknek. Eddig 24 különböző claudin gént azonosítottak az emberi szervezetben. Szerepet játszanak a sejtek közötti adhézióban, illetve a szervek fejlődésében. A claudin fehérjék valamennyi szövetben megtalálhatóak és kifejeződésük nagymértékben szövet- és szervspecifikus. A központi idegrendszerben leírásra kerültek a claudin-1, -2, -3, -5, -7, -11 és -12 proteinek. A claudin-2 megtalálható a plexus choroideusban, a claudin-3 -5, és -12 az agyi kapilláris endotéliumban, a claudin-11 a Schwann-sejteken. A claudin-5 és a claudin-12 jellemzi azon agyi endotél sejteket, amelyek részt vesznek a vér-agy gát felépítésében. Számos claudin szerepet játszhat a központi idegrendszeri daganatok kialakulásában, beleértve a claudin-1 és a claudin-3 fehérjéket. Ependymomákban eddig elsősorban a claudin-2, -5 és -7 fokozott expressziója volt kimutatható.

CÉLKITŰZÉS

1. ***Vannak-e alapvető különbségek a gyermekkori agydaganatokban a mikrovaszkuláris denzitás és az érképződési mechanizmusok tekintetében?***

A kérdés megválaszolása céljából összegyűjtöttünk a három leggyakoribb gyermekkori agydaganat (astrocytoma, ependymoma, medulloblastoma) összesen 44 esetét. CD34 és simaizom aktin immunhisztokémia után meghatároztuk a mikrovaszkuláris denzitást, a glomeruloid érformációk gyakoriságát, valamint a pericita borítással rendelkező erek arányát.

2. ***Mely angiogén tirozin-kináz receptorok vannak jelen a gyermekkori agydaganatok erein, illetve a tumorsejteken?***

Meghatároztuk a VEGFR, PDGFR és c-kit tirozin-kináz receptorok kifejeződési mintázatát a negyvennégy gyermekkori astrocytoma, medulloblastoma és ependymoma daganatos ereiben, illetve a tumor sejtjeiben. Megvizsgáltuk továbbá ezen mintázat és az érkepződési mechanizmusok közötti összefüggést. Ezek a vizsgálatok hozzájárulnak, ahhoz hogy megállapítsuk, mely tirozin-kináz receptorok lehetnek esetleg lehetséges terápiás célpontok az egyes daganatokban.

3. ***Mi az ependymoma sejtek claudin-5 expressziójának klinikai jelentősége?***

A gyermekkori agydaganatok ereinek claudin-5 jelölése során vettük észre, hogy az ependymomák egy részében a tumorsejtek plazmamembránjában is megtalálható a fehérje. Ezért egyrészt jellemeztük az egészséges ependyma és a plexus choroideus claudin-5 kifejeződését, illetve összehasonlítottuk a sejtkapcsoló

elemek ultrastrukturális szerkezetét. Másrészt nemzetközi együttműködés keretében összegyűjtöttünk 54 intracranialis gyermekkori ependymoma esetet és jellemeztük a claudin-5 kifejeződés összefüggését a klinikopatológiai paraméterekkel és megvizsgáltuk a lehetséges prognosztikai jelentőségét.

MÓDSZEREK

Betegcsoportok

A tirozin-kináz receptorok vizsgálatánál 14 astrocytoma, 16 ependymoma és 14 medulloblastoma, míg a claudin-5 fehérje vizsgálatánál összesen 54 ependymomás beteg esetét vizsgáltuk meg.

Humán autopsziás ependyma minták

A rutin autopszia során a 35. és a 40. gesztációs hét között elhalálozott újszülöttek központi idegrendszeréből eltávolított ependyma szövetminták (kamrák és a plexus choroideus) kerültek feldolgozásra.

Érdenítés meghatározásának módszere

Immunhisztokémiai eljárást alkalmaztunk az érdenítés kimutatására az SMA és a CD34 antitestek segítségével.

Tirozin-kináz receptorok kifejeződésének meghatározása

Az immunhisztokémiai jelöléshez VEGFR1, VEGFR2, PDGFR α , PDGFR β , c-Kit antitesteket alkalmaztunk a tirozin-kináz receptorok kimutatására.

Sejtkapcsoló struktúrák kifejeződésének vizsgálata

Az immunhisztokémiai reakció által a sejtkapcsoló fehérjék kimutatására és az ependymális sejtek azonosítására a következő antitesteket használtuk: claudin-1, claudin-2, claudin-5, claudin-7, E-cadherin, occludin és vimentin.

Kvantitatív valós idejű PCR

RNS-t izoláltuk 10 paraffinba ágyazott tumormintából, majd reverz transzkripciót követően kvantitatív real-time PCR módszerrel mutattuk ki a claudin-5 hirtívő RNS szintjét.

Elektron mikroszkópos vizsgálatok

Az ultrastrukturális vizsgálatokhoz összegyűjtött minták (ependyma, choroid plexus) analíziséhez transzmissziós elektronmikroszkópot alkalmaztunk.

Statisztikai Módszerek

A betegcsoportok statisztikai összehasonlítása Mann-Whitney és χ^2 -módszer segítségével történt. A pozitív tumor sejtek százalékos arányát a Kruskal-Wallis és ezt követően a Dunn's többszörös összehasonlító módszerekkel számoltuk ki. A teljes túlélési analízist Kaplan-Meier módszerrel készítettük el. A különböző túlélési görbéket log-rank statisztikával vetettük össze. Minden statisztikai analízishez a GraphPad Prism 5 programot használtunk. A $P < 0,05$ szignifikanciával jellemezhető különbségeket tekintettük statisztikailag szignifikáns eltérésnek.

EREDMÉNYEK

A vaszkularizáció mértéke gyerekkori agydaganatokban

Minden tumortípusban az erek egyértelműen festődtek anti-CD34 ellenanyaggal. A CD34 és SMA pozitív erek szignifikánsabban nagyobb számban fordulnak elő ependymomában, mint astrocytomában vagy medulloblastomában. Megfigyelhető, hogy mindhárom tumor típusnál a anti-CD34 ellenanyaggal jelölt erek gyakrabban fordultak elő, mint az SMA pozitív struktúrák. Érdeemes megjegyezni, hogy az SMA pozitív erek is szignifikánsabban gyakoribbak voltak az ependymomában, mint az astrocytomában vagy a medulloblastomában. A legmagasabb SMA/CD34 arányt medulloblastomában figyeltük meg, amely szignifikánsan nagyobb volt, mint az astrocytomában megfigyelhető arány. Ugyanakkor nem találtunk az erezettségben különbséget a 10 pilocitikus astrocytoma és a négy gyerekkori glioblastoma eset között.

Glomeruloid érékelemek gyerekkori agydaganatokban

CD34 pozitív glomeruloid típusú ereket találtunk minden egyes medulloblastomában, míg szignifikánsan alacsonyabb számú astrocytoma eset tartalmazott glomeruloid struktúrákat, és csaknem hiányoztak az ependymoma esetekben. Minden gyerekkori glioblastoma esetben előfordultak ilyen erek. Ezzel szemben az SMA-val jelölt glomeruloid struktúrák ritkább számban fordultak elő, mint a CD34 pozitívak, de ezek fokozott gyakorisága is megfigyelhető volt a medulloblastoma esetek nagy részében.

Tirozin-kináz receptor kifejeződése a tumorhoz asszociált erekben

Közel az összes (93%) medulloblastománál erősen PDGFR α pozitív erek voltak megfigyelhetőek, ellenben a PDGFR β

csupán csak gyengén és alacsony mértékű érexpressziót mutatott minden egyes tumor típusnál. Astrocytomában az ér-specifikus PDGFR α expresszió szignifikánsan magasabb volt, mint az ependymoma vagy medulloblastoma esetében. C-Kit jelölt erek a legmagasabb arányban ependymoma esetekben voltak jelen, és a jelölődés mértéke szignifikánsan magasabb volt mind a medulloblastomához, mind az astrocytomákhoz viszonyítva, amelyek alig mutattak pozitivitást. Néhány ependymoma esetében erős VEGFR2 és c-Kit kifejeződés volt jelen a tumoros ereken. Medulloblastoma esetében VEGFR2 receptor pozitív erek nem voltak kimutathatóak. Érdekes módon az esetek túlnyomó többségében az erek VEGFR1 jelölődést mutattak függetlenül a daganat típusától.

Tirozin-kináz receptor kifejeződése a tumorsejtekben

A PDGFR α intenzív festődése mindhárom tumor típusnál megfigyelhető volt. A PDGFR β receptor a legnagyobb számban a medulloblastománál fordult elő a daganatos sejtekben (71%), az ependymoma vagy astrocytoma eseteknek pedig csak kevesebb, mint a felében. Három medulloblastoma mintában volt jelen erős c-Kit festődés a tumoros sejtek plazmamembránjában. Alacsony intenzitású tumorsejt-specifikus c-Kit kifejeződés mindösszesen 2 astrocytoma és 5 ependymoma esetében volt jelen. Erős VEGFR1 jelölődés volt (az összes eset 66%-ban) gyermekkori agydaganatok tumorsejtjeiben a tumor típusától függetlenül, míg VEGFR2 expresszió egyik tumornál sem volt megfigyelhető a tumorsejtekben.

Nem-endotelialis claudin-5 expresszió gyermekkori ependymomában

Bizonyos ependymoma tumorokban a tumorsejteken is egyértelmű, a sejtmembránra korlátozódó claudin-5 jelölés volt látható. A tumorsejt specifikus claudin-5 kifejeződés csak

egyed szupratentoriális daganatokban fordult elő, sem infratentoriális, sem spinális elhelyezkedésű daganatok esetében nem volt jelen. 20 szupratentoriális elhelyezkedésű ependymoma közül 9-nél (45%) a daganatos sejtek plazmamembránja erősen festődött anti-claudin-5 ellenanyaggal. Ezzel szemben az infratentoriális tumorokban a claudin-5 az agyi endotél sejtekre korlátozódott. 6 darab claudin-5 pozitív ependymomában a claudin-5 transzkripció szignifikánsan magasabb volt az 5 claudin-5 negatív mintához képest. Fontos megjegyezni, hogy az endotél sejtek magas claudin-5 mRNS szintje miatt még a tumorsejt-specifikus claudin-5 negatív ependymoma minták is magas transzkripciót mutattak.

Prognosztikus faktorok a gyermekkori ependymomában

A vizsgált 54 ependymoma közül 20 szupratentoriális (37%), míg 34 infratentoriális (63%) elhelyezkedésű volt. A szupratentoriális betegcsoportnak magasabb volt az átlagos életkora. A betegek átlagos és medián életkora az operáció időpontjában 6,3 és 6,4 életév volt, a legfiatalabb beteg a diagnózis felállításakor 2 hónapos a legidősebb pedig 17 éves volt. Az 54 betegből 33 (61,1%) teljes tumor eltávolításon esett át a diagnózis felállítása után, míg 21 esetben (38,9%) csupán részleges reszekciót tudtak elvégezni. A Kaplan-Meier analízissel erős tendencia volt megfigyelhető a megnövekedett túlélés tekintetében a teljes tumor reszekción átesett csoportnál. 27 esetben (50%) a tumor differenciáltsága grade 2, míg ugyancsak 27 betegnél (50%) grade 3 volt. Nem volt szignifikáns különbség a túlélésben a tumor differenciáltsága alapján. A tumor elhelyezkedése szempontjából a szupratentoriális lokalizáció szignifikánsan magasabb teljes túléléssel párosult.

Nem-endothelialis claudin-5 expresszió a fejlődő központi idegrendszerben

Az újszülött kamrarendszerben az ependyma és a choroid plexus epithelium vimentin jelöléssel volt azonosítható. A subependymális erek endotél sejtjei claudin-5 pozitívak voltak szemben az ependyma sejtekkel. A choroid plexus epithelium azonban intenzív plazmamembránhoz kötődő claudin-5 festődést mutatott.

További sejt-sejt adhéziós fehérjék kifejeződése

Az újszülött plexus choroideusban intenzív claudin-1, -2 és occludin festődés volt megfigyelhető a plazmamembránban és a citoplazmában. Az E-cadherin jelölődés egyértelműen a plazmamembránra korlátozódott.

Az ependyma és choroid plexus epithelium sejtkapcsolatainak finomszerkezete

Az újszülöttkori ependymánál és plexus choroideus epitheliuma tekintetében a claudinok kifejeződésének hiányával párhuzamosan nem voltak szoros kapcsolatok az ependyma sejtek között, ugyanakkor fejlett adherens junctionok voltak kimutathatóak. Mindkét sejtípus mikrovillusokkal rendelkezett az apikális felszínen. Ezzel szemben csak az ependyma sejtek hordoztak a csillókat.

Az ependymomasejtek claudin-5 expressziójának klinikai jelentősége

A claudin-5 fehérjét tumorsejteken expresszáló intracranialis ependymoma csoport medián túlélése hosszabb volt (126 hónap), mint a claudin-5 negatív eseteké (55 hónap). A szupratentoriális eseteket felbontva tumorsejt-specifikus claudin-5 expresszió szerint a negatív esetek lefolyása jobban hasonlított az infratentoriális esetekre, mint a claudin-5 pozitív ependymomára.

KÖVETKEZTETÉSEK

1. A három leggyakoribb gyermekkori agydaganat típus erezettségének összehasonlítása során a legmagasabb érdenzitást az ependymoma esetében találtuk, míg a legtöbb glomeruloid érképlet a medulloblastomában fordult elő és legnagyobb arányban pericyta vagy vaszkuláris simaizom által nem borított ereket az astrocytomában azonosítottunk.
2. Az agydaganatokban található erekben az egyes daganattípusokra jellemző angiogén tirozin-kináz receptor mintázatot találtunk, a VEGFR2 és c-Kit pozitív erek az ependymomában, a PDGFR α jelölt erek pedig a medulloblastomában voltak a leggyakoribbak.
3. A daganat típusától függetlenül jelentős PDGFR α és VEGFR1 jelölődést találtunk az tumorsejteken is. A tumorsejteken PDGFR β és c-Kit fehérjéket pedig elsősorban egyes medulloblastoma daganatokban azonosítottunk. Ezen eredmények arra utalnak, hogy bizonyos gyermekkori agydaganatok esetében az angiogén tirozin-kináz receptorok specifikus gátlószerei mind antiangiogén mind direkt antitumor hatásuk révén szerepet játszhatnak majd a terápiában.
4. Az agyi endotél sejt marker claudin-5 fehérjének a tumorsejt specifikus kifejeződését igazoltuk a supratentorialis esetek egy részében, de nem az infratentorialis vagy spinalis esetekben. Ez a claudin-5 expresszió, hasonlóan a teljes reszekcióhoz és a supratentorialis lokalizációhoz pozitív prognosztikus értékkel bírt a vizsgált betegcsoportban.
5. Ennek a regionális eloszlásnak megfelelően claudin-5 expressziót csak a choroid plexus epitheliumban, de nem a kamrarendszer vagy a gerincvelő központi csatornájának ependyma sejtjeiben azonosítottunk. A

claudin-5 jelenlétével összhangban a sejtkapcsoló struktúrák elektronmikroszkópos vizsgálata során szoros kapcsolatokat csak a choroid plexus epitel sejtjeiben találtunk.

PUBLIKÁCIÓK

1. Virág J, Kenessey I, Haberler C, Piurkó V, Bálint K, Döme B, Tímár J, Garami M, Hegedűs B: Angiogenesis and angiogenic tyrosine kinase receptor expression in pediatric brain tumors. *Pathol Oncol Res.* 2014;20(2):417-26 (impakt faktor: 1,855)
2. Virág J, Kenessey I, Haberler C, Piurkó V, Bálint K, Döme B, Tímár J, Garami M, Hegedűs B: Region specific differences of claudin-5 expression in pediatric intracranial ependymomas: potential prognostic role in supratentorial cases. Elfogadva: *Pathol Oncol Res* (impakt faktor: 1,940), 2016

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Elsőként szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, akik mindvégig segítettek a munkámat:

A legnagyobb köszönettel Dr. Garami Miklós docens úrnak tartozom, aki a tanulmányaim alatt fogta a kezemet és az utamat nagy figyelemmel és támogatással kísérte végig. Rendkívül nagy hálával tartozom Dr. Hegedüs Balázs doktor úrnak, aki az alapos szakmai tudásával, idejét nem kímélve megismertette és megszeretette velem a molekuláris onkológia rejtelmeit és a folyamatos kritikus hozzáállásával segítette a publikációim és a disszertációm elkészítését.

Nagy hálával tartozom Tímár József professzor úrnak és Schuler Dezső professzor úrnak, akik mindvégig szakmailag hozzájárultak munkámhoz, és akiknek szigorúan lényegretörő, de mindig egyenes, emberséges, biztató szavai és tettei nélkül a dolgozatom nem jöhetett volna létre.

Köszönöm Schaff Zsuzsa professzor asszonynak és Kiss András, valamint Lotz Gábor docens uraknak a claudinok vizsgálata kapcsán nyújtott segítséget. Köszönettel tartozom Glatz Tibor docens úrnak és Baksa Gábor doktor úrnak az ependyma minták gyűjtéséért. Köszönet illeti Kalocsáné Piurkó Violetta, Pekár Zoltánné és Hegedüs Zita, akik a méréseim elkészítésében nyújtottak pótolhatatlan segítséget és biztató, optimista szavaikkal támogattak. Köszönetemet szeretném kifejezni Kenessey István doktor úrnak, aki az immunhisztokémiai vizsgálatok értékelésében volt segítségemre.

Köszönet illeti meg Christine Haberler professzor asszonyt a Bécsi Orvostudományi Egyetemről származó mintákért és a dolgozatban szereplő valamennyi szövettani diagnózis ellenőrzésért.

Köszönettel tartozom Kopper László professzor úrnak és Kovalszky Ilona professzor asszonynak, akik, mint Patológiai Iskolának, illetve programvezetőként lehetővé tették számomra a tudományos munkám elvégzését.

Nagy szeretettel gondolok Nagy Péter és Zalatnai Attila tanár urakra, akiknek a patológia tantárgy iránti tiszteletet és elsajátítását köszönhetem.

Hálával tartozom Fodor János tanár úrnak, aki bölcsességével mind szakmailag, mind emberileg rendkívül sokat tanított nekem az elmúlt évek során.

Végezetül hálás szívvel és örök szeretettel gondolok a drága szüleimre, akik sajnos már nem lehetnek velem, azonban az utamon való legnagyobb segítséget Nekik köszönhetem.