

# Claudinok szerepe az emlőrák prognózisának meghatározásában

Doktori tézisek

**Dr. Szász A. Marcell**

Semmelweis Egyetem  
Patológiai Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kulka Janina, egyetemi tanár, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Boér Katalin, osztályvezető főorvos, Ph.D.  
Dr. Molnár Béla, az orvostudományok doktora, Ph.D. D.Sc.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Bodoky György, egyetemi magántanár, Ph.D.  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nagy Péter, egyetemi tanár, Ph.D. és  
Dr. Lászik András, egyetemi adjunktus, Ph.D.

Budapest  
2011

## 1. BEVEZETÉS

Az emlőrák a leggyakrabban diagnosztizált rosszindulatú daganat a nők körében, Magyarországon csakúgy, mint az egész világon. Csaknem minden harmadik daganat emlőrák. Minden évben körülbelül egy millió nő betegszik meg emlőrákban világszerte. Az emlőrák miatti halálozás növekedése a 90-es években megfordult: a mortalitás csökkenni kezdett, amely a korai felismerésnek és a javuló terápiás eredményeknek tulajdonítható.

A szűrésen kiemelt vagy tapintható daganatok korunk szakmai elveinek megfelelően biopsziás mintavétellel diagnosztizálhatók. Ennek eredményétől függően onkológus szakorvos vezetésével, ún. onkoteam állítja fel a legelőnyösebb terápiás sémát. Az emlőrák terápiájának tervezése több szakember szoros együttműködését igényli, akiknek elmélyülten kell foglalkozniuk a beteg állapotával, és értelmezniük kell a patológiai és molekuláris diagnosztikai vizsgálatok eredményét.

A betegség lefolyásának minél pontosabb megítélése a betegeket kezelő szakembereket is régóta foglalkoztatja. Az emlő rosszindulatú daganatai döntő többségükben hám eredetűek. A tumor kialakulásának időpontja a beteg élete során ugyancsak prognosztikus jelentőséggel bír, a fiatalkori daganatos megbetegedés rosszabb prognózisú. A rosszindulatú emlődaganatok kimenetelét alapvető mértékben meghatározhatja a daganat nagysága. A nyirokcsomóáttét hiánya vagy jelenléte nagyon erős előrejelző képességgel rendelkező tényező. A szövettani megjelenés alapján meghatározható szövettani grade, nyirokér- és érbetörés, axillaris nyirokcsomó status, Nottingham Prognostic Index a mindennapokban jól alkalmazható, azonban korlátozott prognosztikus információval bíró faktorok. A diagnózis időpontjában felállított klinikai és patológiai stage ma is elfogadott kezelési útmutató. Proliferációs index, S-fázis frakció, és Ki-67 kifejeződés ugyancsak további információt szolgáltat.

A hormonreceptor-kifejeződés terápiás prediktív értéke a tumorok ösztrogén-receptor pozitív (ER+) és negatív (ER-) csoportjait képes elkülöníteni. Ezen altípusok biológiai viselkedése igen különböző lehet, amelyet az elmúlt évtizedben genetikai vizsgálatokkal is alátámasztottak. Perou munkacsoportja cDNS-microarray profil alapján különböztette meg az egyes altípusokat, amelyek a mai kezelési csoportok meghatározásának alapját képezték.

Egyes génmutációk (p53, BRCA1/2, CHEK2, KIP) oki szerepe is felmerült a daganatok kialakulásában és biológiai viselkedésének előrejelzésében, azonban az egyénre szabott terápia és a genomika térhódításával ma már elérhetőek további genetikai alapú eszközök is, amelyek a döntéshozásban nyújthatnak támpontot: Agendia MammaPrint, Genomic Health Oncotype DX, Ipsogen Mapquant DX. Hátrányuk, hogy némelyikük fagyasztott tumorszövetet igényel, sokgyenes eljárások, így csak igen drágán elérhetők.

<b>Technika</b>	<b>Eljárás</b>
<b>Szekvenálás (DNS)</b>	BRCA1/2
<b>FISH (DNS)</b>	HER2
	3-génes (CYP24, PDCD6IP, and BIRC5)
<b>Expressziós Array (RNS)</b>	70-génes Amsterdam
	76-génes Rotterdam
	97-génes Genomic Grade Index
	163-génes Stroma-derived Prognostic Predictor
	459-génes Wound-response signature
<b>qPCR (RNS)</b>	21-génes (Recurrence Score)
	4-génes (MYBL2, KPNA2, CDC2, CDC20)
	5-génes (HOXB13, IL17BR, CHDH, MIB1, MKI67)
	8-génes (TOPFOX)
	14-génes (Metastasis Teszt)
<b>Nanostring (RNS)</b>	50-génes (PAM50)
<b>IHC (Protein)</b>	HER2
	Ki67
	IHC4 (ER, PgR, HER2, Ki67)
	5-marker (p53, NDRG1, CEACAM5, SLC7A5, HTF9C)

A sejtkapcsoló struktúrák fontosságát hangsúlyozza, hogy a genetikai állomány 10%-a ún. adhesiós molekulákat kódol. A sejt-extracelluláris mátrix és a sejt-sejt kapcsolatok alapvető fontosságúak a szöveti szerveződés kialakulásában és fenntartásában. Az epiteliális sejtekben a szoros kapcsolati struktúra molekulái a sejtek apicalis/basolateralis részén helyezkednek el; elsődleges szerepet játszanak az intercellularis rések lezárásában, és a paracellularis szelektív diffúzió irányításában („gate function”). Fenntartják az apicalis és basolateralis membrán közötti fehérjék és lipidek eltérő összetételét („fence function”). Továbbá szerepük van a sejtek növekedésének és differenciációjának szabályozásában.

A junctionalis fehérjék előfordulásáról, valamint a junctionalis fehérjék és adhesiós fehérjék közötti kapcsolatról kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre. Továbbá kevésbé ismert a junctionalis fehérjék expressziója sem a tumorok regionális (nyirokcsomó), sem a távoli metasztázisaiban.

A claudin család első tagjainak leírására 1998-ban került sor. Négy transzmembrán domént tartalmaznak. Funkciójuk csak részben ismert, a legjobban vizsgált claudinok az 1-es, 2-es, 3-as, 4-es, 5-ös és 7-es.

A claudinok vizsgálata emlődaganatokban röviddel leírásuk után megkezdődött. Kramer és munkacsoportja 2000-ben 96 emlőmintát vizsgált, és a claudin-1 fehérje csökkent kifejeződését találták carcinomában. Kominsky 2004-ben, 21 emlőtumor vizsgálata után a claudin-3 és -4 fokozott kifejeződését írta le, egyidejűleg a *Clostridium perfringens*

enterotoxin terápiás alkalmazásának lehetőségére is rámutatott. Tökés 56 emlőmintá RNS- és fehérje expressziós vizsgálatai alapján claudin-1, -3 és -4 összefüggését látta a szövettani grade-del. 2006-ban Hewitt 47 emlőmintá elemzése során claudinok kifejeződésének mintázatát írta le, és ugyancsak a claudin-3 és -4 fokozott, valamint a claudin-7 enyhén emelkedett kifejeződését találta.

A pusztán leíró jellegű elemzések mellett megjelennek a claudinok oki szerepét, illetve kifejeződésükben a következményes eltéréseket strukturáltan vizsgáló közlemények. A claudin-2 megemelkedett kifejeződése elősegíti a májmetasztázisok kialakulását. Herschkowitz alkalmazta első ízben a “claudin-low” típus megjelölést 2007-ben az emlődaganatok új csoportjának azonosítására, amelyet terápia rezisztens populációként azonosítottak. A prognosztikus információ kinyerésére törekvő elemzések eddig kis esetszámúak voltak, és előzetes megállapításokat tettek.

A cadherineknél az adherens kapcsolatok felépítésében résztvevő molekulacsalád, amelyek mindegyike Ca-ion-dependens módon működik. Előtagjaik szerint csoportosíthatóak, attól függően, hogy milyen sejtekben és szervben fordulnak elő. Az emlőben és daganataiban az E-cadherin fordul elő, génjében vagy funkciójában bekövetkező károsodást a carcinogenezisben és a tumor progresszióban is leírták. A patológiai diagnosztikában a ductalis és lobularis emlődaganat csoportok rutinszerű elkülönítésére használatos. Szerepét leírták az epithelialis-mesenchymalis transitio folyamatában, amikor a feltételezések szerint az E-cadherin kifejeződése (is) csökken, így fokozódik a sejtek mobilitása és metasztatizáló képessége.

## 2. KÉRDÉSEK, CÉLKITŰZÉSEK

1. A claudinok és E-cadherin protein szintű kifejeződése eltér-e a különböző szövettani típusú emlődaganatokban?
2. Az emlődaganatok dedifferenciálódása során protein szinten eltérnek-e a különböző grádusú tumorokban kifejeződő claudinok?
3. A claudinok és E-cadherin fehérjék kifejeződése változik-e a rutin gyakorlatban alkalmazható immunhisztokémiai profil által tükrözött emlődaganat altípusokban?
4. A nyirokcsomó-áttétek immunhisztokémiai módszerrel detektálható claudin kifejeződése eltér-e a primer emlődaganatokétól?
5. Nyilvános genomikai adatbázisok vizsgálata során a claudinok és E-cadherin mRNS-szinten önmagukban vagy együttes mintázatként nyújtanak-e prognosztikus információt?
6. Rejt-e a claudinok és E-cadherin fehérjeszintű kifejeződése prognosztikus információt primer emlőtumorokban?
7. A nyirokcsomó-áttétek claudin fehérje kifejeződése hordoz-e prognosztikus információt emlődaganatos megbetegedésben?
8. A genomikai adatbázisok vizsgálatából, mRNS kifejeződési adatokból származó eredmény validálható-e független betegcsoporton a mindennapi gyakorlatban alkalmazható immunhisztokémiai technikával?
9. Ad-e a claudin- és E-cadherin expresszió további prognosztikus információt a rutinszerűen alkalmazható faktorok mellett?

### 3. MÓDSZEREK

*Betegek és adatbázisok.* A szöveti vizsgálatokhoz két különböző, átfedés nélküli beteganyag - összesen 636 beteg tumormintája - került bevonásra 1) 249 emlődaganatos beteg mintája a II. sz. Patológiai Intézet archivumából (1981-2008), átlagosan 111 hónapos követési adatokkal. 2) 387 beteg a Budai MÁV kórház anyagából (1999-2002), átlagosan 102 hónapos követési adatokkal. A vizsgálatot a Semmelweis Egyetem Tudományos Kutatási és Etikai Bizottság hagyta jóvá (#85/2007, #185/2007 és #7/2008). Bioinformatikai elemzéseinkhez tizenhárom nyilvánosan elérhető internetes adatbázisban található, összesen 1809 emlődaganatos beteg tumoráról és túléléséről megadott információt használtuk. Az egyes adatbázisok Affymetrix HGU133A vagy HGU133Aplus2 microarray-k alapján készültek, amelyek próbaszettjei jelentős átfedést mutatnak.

*Szöveti multiblokkok készítése.* A daganatokat tartalmazó, formalinban fixált és paraffinba ágyazott (FFPE) blokkokból tumoros szövethengereket egy erre a célra fejlesztett eszköz segítségével emeltük ki, és az előkészített TMA-blokkokba helyeztük. Minden beteghez tartozó rezekciós preparátumból 2 darab 2 mm átmérőjű szövethengert ültettünk át.

*Immunhisztokémia.* Az altípusok pontos meghatározásához ösztrogén-, progeszteron-receptor, HER2, Ki67 reakciókat végeztünk a metszeteken Ventana Benchmark készülékben. A sejtkapcsoló struktúrák immunhisztokémiai vizsgálatához 5 µm vastagságú metszeteket készítettünk a paraffinos TMA-blokkokból. A deparaffináló lépések után mikrohullámú sütőben feltárást végeztünk. Az immunhisztokémiai reakciókat Ventana ES immunfestő automatában futtattuk.

*Fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH).* A FISH-t HER2 és CE17 próbákat tartalmazó Poseidon kit felhasználásával végeztük.

*A metszetek digitalizálása és értékelése.* Az elkészült metszeteket Mirax MIDI metszet szkennelrel digitalizáltuk. A tumorokat két vizsgáló értékelte (SzAM, KJ) konszenzus eléréséig. Az ER, PgR, és Ki67 reakciókat a magokban látható pozitív reakciók alapján, százalékos skálán értékeltük. A HER2 kifejeződését 0-3 kategóriákba soroltuk. A FISH esetében a tumorokból 50 sejtet értékeltünk Leica DM RXA mikroszkóp segítségével, a génamplifikáció megállapításánál a HER2 és CE17 arányát tekintettük referenciapontnak (pozitív, amplifikált: 2.2 feletti HER2/CE17 arány; bizonytalan: 1,8–2,2 közötti HER2/CE17 arány; negatív: 1,8 alatti HER2/CE17 arány). A sejtkapcsoló struktúrák vizsgált molekuláinak értékeléshez a TMA-modul szoftvert használtuk, és 2 dimenzióban értékeltük az egyes reakciókat, amelyek összege képezte a végső score-t (0-11), az ábrán látható séma szerint (1. ábra).

Eloszlás	Intenzitás
Értékelhetetlen (-1)	
Nincs reakció (0)	
0-1% (1)	+1 (1)
1-5% (2)	+2 (2)
5-10% (3)	+3 (3)
10-33% (4)	
33-50% (5)	
50-66% (6)	
66-80% (7)	
80-100% (8)	

1. ábra. A TMA-modul szoftverben alkalmazott beállítások a tumorok immunhisztokémiai reakcióinak értékelésére: 0-8 skálán az eloszlás, 0-3 skálán az intenzitás került rögzítésre. Az értékelhetetlen reakciókat külön osztályoztuk.

*RNS-kinyerés és cDNS-re átírás.* Az RNS-eket Qiagen RNeasy FFPE kit felhasználásával izoláltuk a gyári protokollnak megfelelően. Nanodrop ND-1000 készülékkel mértük koncentrációjukat. Az átíráshoz 1 µg RNS-t használtunk fel, a reakciót High Capacity RNA-to-cDNA Transcription kit segítségével végeztük gyári protokoll szerint.

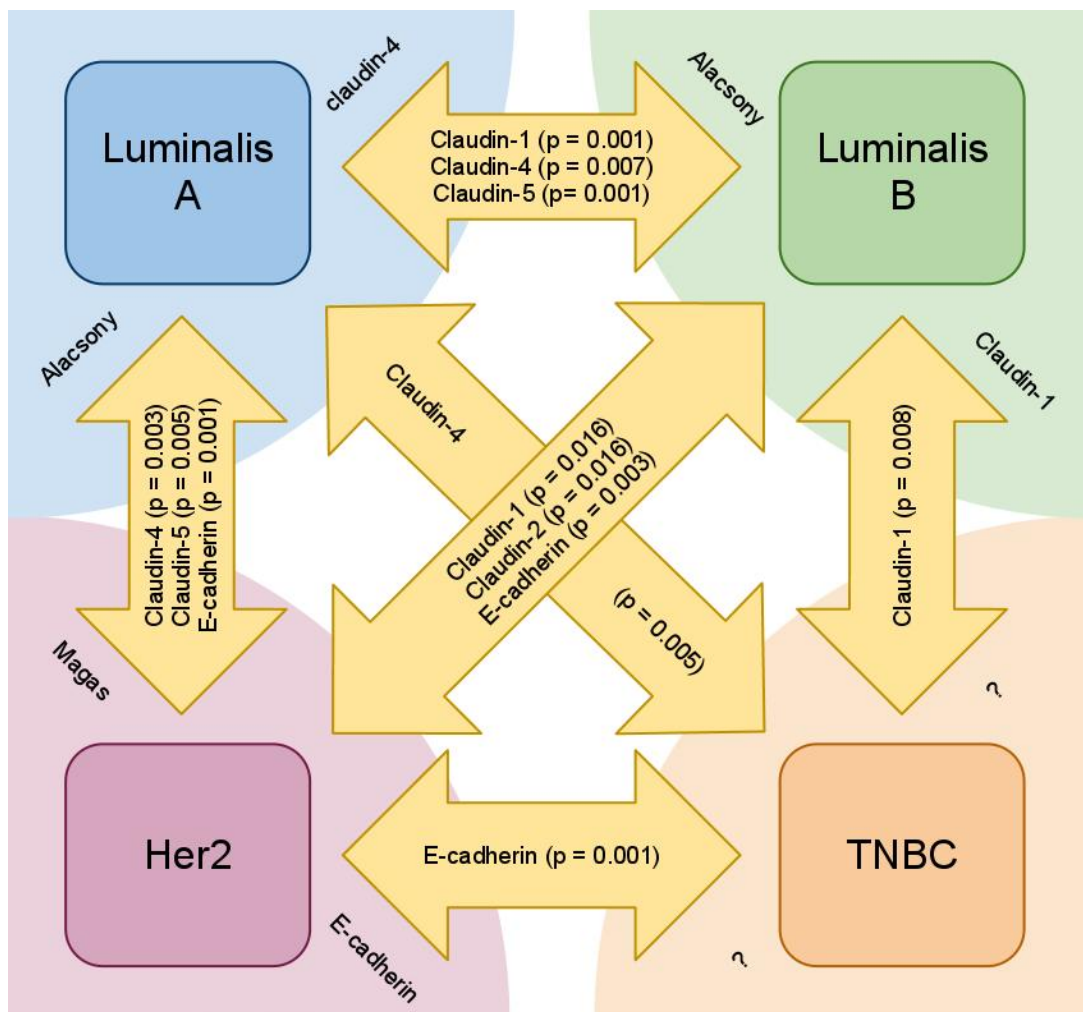
*Valós-idejű polimeráz láncreakció (PCR).* A PCR reakciókat 25 µl-es térfogatban ABI Power SYBR® Green PCR Master Mix felhasználásával ABI 7000 rendszerben futtattuk. A CLDN4 génexpresszióját vizsgáltuk, kontrollként pedig GAPDH97-et alkalmaztunk.

*Adatbázisok elemzése, statisztikai értékelés.* Az adatbázisok értékelését R statisztikai környezetben (R 2.10.1) Prediction Analysis of Microarrays (PAM v.2.19) segítségével végeztük. A nyers immunhisztokémiai és PCR adatokat SPSS 15.0 statisztikai programmal értékeltük.

#### 4. EREDMÉNYEK

Munkánk során az alábbi új megállapításokat tettük:

1. A claudinok kifejeződése eltér a különböző szövettani típusú emlődaganatokban.
2. Az emlődaganatok dedifferenciálódása során eltérnek a különböző grádusú tumorokban kifejeződő claudinok: legjellemzőbb a claudin-1 és -2 csökkenése, és a claudin-4 és -7 emelkedése.



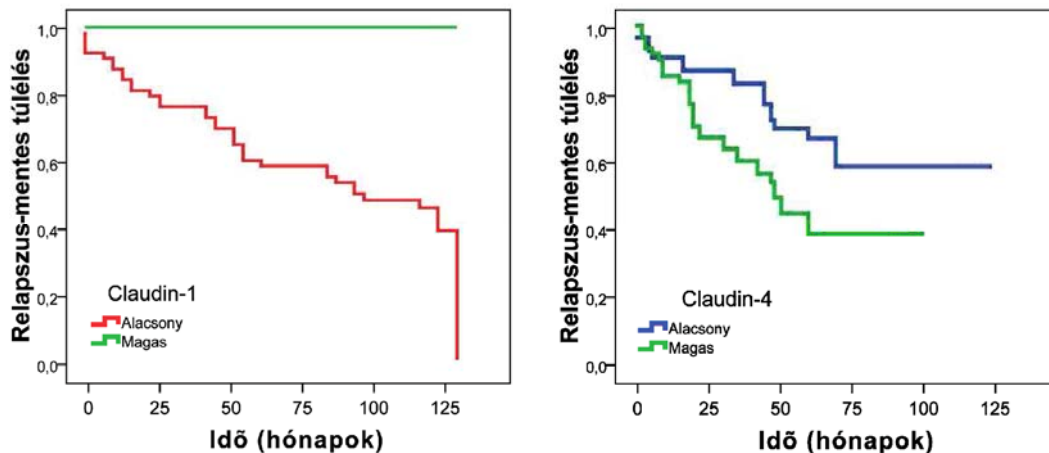
2. ábra. Az egyes immunfenotípus csoportok között jelentős kifejeződésbeli különbséget mutató, általunk vizsgált claudinok és E-cadherin. A kétirányú nyilak a csoportok között szignifikánsan eltérő claudin és E-cadherin kifejeződés konkrét adatait mutatják.

3. A claudinok és E-cadherin kifejeződése eltér az immunhisztokémiai profil által tükrözött emlődaganat altípusokban: a luminális A típust az alacsonyabb claudin-4, a luminális B típust az alacsonyabb claudin-1, a Her2 csoportot a kifejezett E-cadherin,



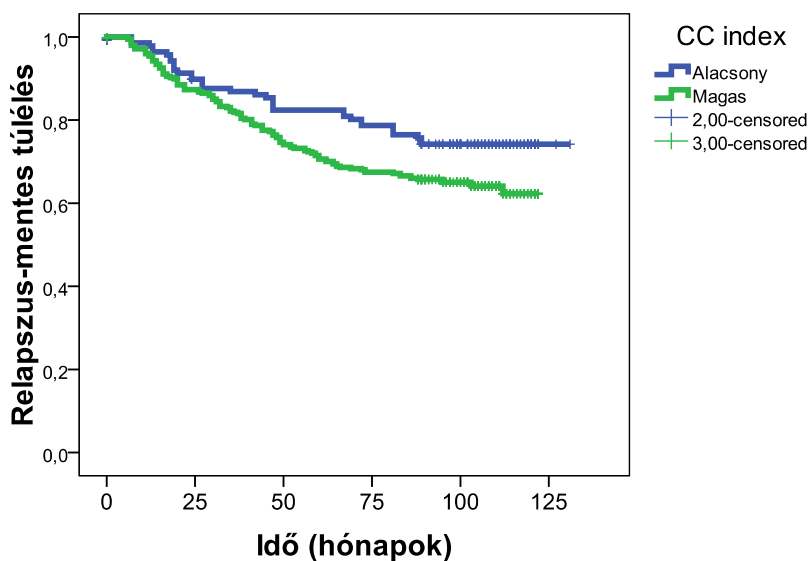
míg a tripla negatív tumorokat elsősorban az emelkedett claudin-4 expresszió jellemzi (2. ábra).

4. A nyirokcsomó-áttétek claudin kifejeződése eltér a primer emlődagánatokétól, jellemzően a claudin-5 magasabban, a claudin-3,-4 és -7 alacsonyabban fejeződik ki.
5. Nyilvános genomikai adatbázisok vizsgálata során a claudinok és E-cadherin mRNS-szinten önmagukban is, azonban együttes mintázatként (claudin-3, -4, -7 és E-cadherin) kifejezetten robosztus prognosztikus információt nyújtanak.
6. A claudinok és E-cadherin fehérjeszintű kifejeződése prognosztikus információt hordoz primer emlőtumorokban: a claudin-2, -4 és E-cadherin rendelkezik legerősebb előrejelző képességgel a relapszus-mentes túlélést tekintve.
7. A nyirokcsomó-áttétek claudin kifejeződése prognosztikus információval bír emlődagánatos megbetegedésben, mert az áttétben a claudin-1 alacsonyabb kifejeződése és a claudin-4 fokozott kifejeződése kedvezőtlenebb kimenetelt sugall (3. ábra).



3. ábra. Claudin-1 (bal) és -4 (jobb) nyirokcsomó-áttétben való kifejeződése, és prognosztikus csoportjai a median érték mentén felezve.

8. A genomikai adatbázisok és a tréning szett vizsgálatából származó CC indexet immunhisztokémiai technikával validáltuk független betegcsoporton: uni- és multivariáns összehasonlításban is megállja a helyét (2. táblázat).
9. A claudin és E-cadherin expressziója további prognosztikus információt nyújt a rutinszerűen alkalmazható faktorok mellett, prospektív vizsgálata megfontolandó.



4. ábra. A CC index által meghatározott csoportok relapszus-mentes túlélése a validációs csoportban (n=387).

2. táblázat. A Cox regressziós multivariáns analízis eredményei a különböző összehasonlítható faktorok között.

Paraméter	p	HR	95%CI	
			Alsó	Felső
<b>CC index</b>	<b>0.040</b>	<b>1.503</b>	<b>1.02</b>	<b>2.216</b>
<b>Immunfenotípus</b>	<b>0.001</b>	<b>1.064</b>	<b>0.59</b>	<b>1.918</b>
<b>Érbetörés</b>	<b>0.011</b>	<b>0.704</b>	<b>0.31</b>	<b>1.808</b>
Nyirokcsomó-áttétek száma	0.091	0.791	0.6	1.038
Grade	0.767	1.037	0.82	1.32
Necrosis	0.232	2.233	0.72	8.435

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK

A claudinok és E-cadherin kifejeződésének változása számos malignus folyamatban eltér. Szerepük a prognózis predikciójában egyre inkább előtérbe került mind emlő-, mind gasztrointestinalis, nőgyógyászati és urológiai daganatokban (80, 89, 91, 182).

Ebben a vizsgálatsorozatban igazoltuk, hogy a claudin-kifejeződés önmagában is hordoz prognosztikus információt. Bioinformatikai elemzés során az egyes sejtkapcsoló molekulák kifejeződése prognosztikus besorolás alapját képezheti, kombinációjukkal jelentősen növelhető a pontosság. A claudin-3, -4, -7 és E-cadherin mutatkozott a legerősebb tényezőnek, valamint ezek kombinációja messze meghaladta az alkotórészek és az összes vizsgált sejtkapcsoló molekula segítségével kialakított profil prognosztikus előrejelző képességét. Ezen eredmény validálható a mindennapi gyakorlatban alkalmazható immunhisztokémiai technikával, azonban a fehérjeszintű eredmények csak részben fednek át az mRNS-alapú profillal. A szöveti kifejeződés szintjén a claudin-2, -4 és E-cadherin bizonyult megbízhatónak. Így a kettő átfedéséből kialakított CC index (amely a claudin-4 és E-cadherin kettőséből áll) erőteljes prognosztikus információt hordoz, amely az összetevőinél jelentősen erősebb.

Független validációs vizsgálatban ezt megerősítettük, és a CC index multivariáns analízisben is elég erősen teljesített a prognózis előrejelzésében az immunfenotípus és érinvázio jelenléte vagy hiánya mellett. Ugyanakkor a CC index által meghatározott csoportok tovább finomították az altípusok által meghatározott prognosztikus alcsoportokat. Tehát a claudin-cadherin index a rutinszerűen alkalmazható faktorok *mellett* további lehetőséget nyújt a rendszerezés pontosítására, a kimenetel megjósolására.

A claudin-low daganatok pontos meghatározása egyelőre további tényezők (pl. őssejt markerek) figyelembevételével lehetséges. Ezen tumorok további karakterizálása csak igen nagy esetszámú vizsgálatban lesz lehetséges.

Nyirokcsomó-áttétek claudin kifejeződése további prognosztikus információt hordoz emlődaganatos megbetegedésben, a claudin-1 csökkent és a claudin-4 emelkedett expressziója jelenti a rosszabb kimenetelt. Távoli áttétek vizsgálata jelenleg még a primer tumor és a hozzá tartozó metasztázis altípusának összehasonlításával több munkacsoportban folyik, a claudin kifejeződési mintázat elemzése ebben is további lehetőségeket hordozhat.

#### A DISSZERTÁCIÓHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

- 1) Kulka J\*, Szász AM\*, Németh Zs, Madaras L, Schaff Zs, Molnár IA, Tőkés AM: Expression of tight junction protein claudin-4 in basal-like breast carcinomas. *Pathol Oncol Res* 2009;15:59-64. IF=1.152
- 2) Szász AM, Tokes AM, Micsinai M, Krenacs T, Jakab Cs, Lukacs L, Nemeth Zs, Baranyai Zs, Dede K, Madaras L, Kulka J: Prognostic significance of claudin expression changes in breast cancer with regional lymph node metastasis. *Clin Exp Metast* 2011;28:55-63. IF=4.113
- 3) Szász AM, Nemeth Zs, Gyorffy B, Micsinai M, Krenács T, Baranyai Zs, Harsanyi L, Kiss A, Schaff Zs, Tokes AM, Kulka J: Identification of a claudin-4/E-cadherin score (CURIO) to predict prognosis in breast cancer. *Cancer Sci. ELFOGADVA*, doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02085.x. IF=3.846

#### A DISSZERTÁCIÓHOZ KAPCSOLÓDÓ ABSZTRAKTOK

- 1) Szász AM, Tokes A-M, Lukacs LV, Nemeth Z, Krenacs T, Kulka J.(2008) Expression of tight junction molecules in breast carcinomas of different histological types and their corresponding lymph node metastases. *Technology Transfer in Diagnostic Pathology, 3<sup>rd</sup> Central European Regional Meeting, BREAST PATHOLOGY, Proceedings*: 163.
- 2) Szász AM, Micsinai M, Tokes A-M, Madaras L, Baranyai Z, Dede K, Mersich T, Salamon F, Kulka J.(2009) Tripla-negatív emlőrákok alcsoportjainak azonosítása claudin kifejeződés alapján. *Magy Onkol*,53: 119-120.
- 3) Szász AM, Micsinai M, Tokes A, Madaras L, Baranyai Z, Kulka J.(2009) Profiling of triple-negative breast carcinomas based on claudin expression pattern. *ASCO Breast Cancer Symposium Proceedings* 2009.
- 4) Szász AM, Micsinai M, Tokes A, Madaras L, Krenacs T, Kulka J.(2009) Proteomic Profiling of Breast Carcinomas Based on Claudin Expression Pattern. *Cancer Res*, 69: 6123. (IF=7.543)
- 5) Szász AM, Gyorffy B, Nemeth Z, Krenacs T, Baranyai Zs, Harsanyi L, Dank M, Madaras L, Tokes AM, Kulka J.(2011) Claudin-4/E-cadherin index to predict prognosis in breast cancer. *Eur J Cancer*,47:S181 (IF=4.944)

## A DISSZERTÁCIÓTÓL FÜGGETLEN KÖZLEMÉNYEK

- 1) Jakab Cs, Halasz J, Szasz AM, Batmunkh E, Kiss A, Schaff Zs, Rusvai M, Galfi P, Kulka J: Claudin-1, -2, -3, -4, -5, -7 and -10 proteins expression and localization in the normal canine mammary gland. *Acta Vet Hung* 2007;56:341-52; IF=0.624
- 2) Stangl R, Szijártó A, Ónody P, Tamás J, Tátrai M, Hegedus V, Blázovics A, Lotz G, Szász M, Kiss A, Gero D, Szabó Cs, Kupcsulik P, Darvas K, Harsányi L: Hosszú latenciájú preoperatív glutamin előkezelés vizsgálata patkány ischaemia-reperfúziós modellben. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia* 2008; 8:179-87.
- 3) Jakab Cs, Arany-Tóth A, Csébi P, Szász AM, Rusvai M, Gálfi P, Kulka J: Kutya nervus hypoglossusból kiinduló, rosszindulatú perifériás ideghüvely daganata (MPNST) : Esetismertetés. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2008; 130:671-9.
- 4) Jakab Cs, Szász AM, Kulka J, Baska F, Rusvai M, Gálfi P, Németh T: Secondary tumoural valvulopathy in dog. Case report. *Acta Vet Hung* 2009;57:63-7 IF=0.624
- 5) Tökés AM\*, Szász AM\*, Tóth AI, Farkas A, Dank M, Harsanyi L, Molnar IA, Molnar BA, Laszlo Zs, Ruzs Z, Kulka J: Stromal protein expression following preoperative systemic therapy in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15:731-9; IF=6.747
- 6) Jakab Cs, Halász J, Kiss A, Szász AM, Schaff Zs, Rusvai M, Kulka J: Külső pozitív kontrollok alkalmazása claudin-expressziós immunhisztokémiai vizsgálatokban. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2008;130:433-8.
- 7) Kovacs K, Jakab Cs, Szasz AM: Laser-assisted removal of a feline eosinophilic granuloma from the back of the tongue - case report. *Acta Vet Hung* 2009;57:417-26 IF=0.624
- 8) Jakab Cs, Szász AM, Kulka J, Rusvai M, Gálfi P, Németh T: Cutaneous mast cell tumour within a lipoma in a Boxer. *Acta Vet Hung* 2009;57:263-74. IF=0.624
- 9) Jakab Cs, Szasz AM, Kiss A, Schaff Z, Rusvai M, Szabara A, Kulka J: Claudin-expression studies in lung metastases of canine solid mammary gland carcinomas. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2009;131:33-41
- 10) Jakab Cs, Halász J, Kiss A, Schaff Zs, Szász AM, Rusvai M, Abonyi-Tóth Zs, Kulka J: Evaluation of microvessel density (MVD) in canine mammary tumours by quantitative claudin-5 molecule immunohistochemistry. *Acta Vet Hung.* 2008;56:495-510. IF=0.624
- 11) Jakab Cs, Halász J, Szász AM, Kiss A, Schaff Zs, Rusvai M, Gálfi P, Kulka J: Expression of Claudin-1, -2, -3, -4, -5 and -7 Proteins in Benign and Malignant Canine Mammary Gland Epithelial Tumours. *J Comp Pathol.* 2008;139:238-45. IF=1.398
- 12) Németh Z, Szász AM, Tátrai P, Németh J, Gyorffy H, Somorác A, Szijártó A, Kupcsulik P, Kiss A, Schaff Z: Claudin-1, -2, -3, -4, -7, -8, and -10 Protein Expression in Biliary Tract Cancers. *J Histochem Cytochem.* 2009;57:113-21. IF=2.372

- 13) Valastyan S, Reinhardt F, Benaich N, Calogrias D, Szász AM, Wang ZC, Brock JE, Richardson AL, Weinberg RA: A Pleiotropically Acting microRNA, miR-31, Inhibits Breast Cancer Metastasis. *Cell*. 2009;137:1032-46. IF=31.152
- 14) Németh J, Németh Z, Tátrai P, Péter I, Somorác Á, Szász AM, Kiss A, Schaff Zs: High expression of claudin-1 protein in papillary thyroid tumor and its regional lymph node metastasis. *Pathol Oncol Res*. 2010;16:19-27. IF=1.483
- 15) Szász AM\*, Nyirády P\*, Majoros A, Szendrői A, Szűcs M, Székely EJ, Tökés AM, Romics I, Kulka J: Beta-catenin expression and claudin expression pattern as prognostic factors of prostatic cancer progression. *BJU Int* 2010;105:716-22. IF=3.190
- 16) Németh Z, Szász AM, Somorác A, Tátrai P, Németh J, Györffy H, Szijártó A, Kupcsulik P, Kiss A, Schaff Z: Zonula Occludens-1, Occludin, and E-cadherin Protein Expression in Biliary Tract Cancers. *Pathol Oncol Res* 2010;16:19-27 IF=1.152
- 17) Szendrői A, Dinya E, Kardos M, Szasz AM, Nemeth Z, Ats K, Kiss J, Antal I, Romics I, Szendrői M: Prognostic Factors and Survival of Renal Clear Cell Carcinoma Patients with Bone Metastases. *Pathol Oncol Res*. 2010;16:29-38. IF=1.483
- 18) Baranyai Zs, Josa V, Szasz AM: A műtői hatékonyság javítása (Improving operating room efficiency). *IME* 2009;9:15-21
- 19) Kulka J, Tökés AM, Tóth AI, Szász AM, Farkas A, Borka K, Járay B, Székely E, Istók R, Lotz G, Madaras L, Korompay A, Harsányi L, László Zs, Rusz Z, Molnár BA, Molnár IA, Kenessey I, Szentmártoni G, Székely B, Dank M: Az emlődaganatok primer szisztémás kemoterápiára adott válasza az immunhisztokémiai fenotípus tükrében. *Magy Onkol*. 2009; 53:335-43
- 20) Székely B, Madaras L, Szentmártoni G, Szász AM, Baranyák Z, Szittyá L, Torgyík L, Zergényi E, Borbényi E, Kenessey I, Korompay A, Langmár Z, Bánhidly F, Kulka J, Dank M: Comparison of breast cancer in young and old women based on clinicopathological features. *Magy Onkol*. 2010;54:19-26.
- 21) Székely B, Langmár Z, Somlai K, Szentmártoni Gy, Szalay K, Korompay A, Szász AM, Kulka J, Bánhidly F, Dank M: A várandósság alatti emlőrák kezelése - Treatment of pregnancy associated breast cancer. *Orv Hetil*. 2010;151:1299-303.
- 22) Tung N, Miron A, Schnitt SJ, Gautam S, Fette K, Kaplan J, Yassin Y, Buraimoh A, Kim J, Szász AM, Tian R, Wang ZC, Collins LC, Krag K, Legare RD, Sgroi D, Ryan PD, Silver D, Garber JE, Richardson AL: Prevalence and Predictors of Loss of wild type BRCA1 in Estrogen Receptor Positive and Negative BRCA1-associated Breast Cancer. *Breast Cancer Res* 2010;12:R95. IF=5.785
- 23) Szász AM, Szendrői A, Szucs M, Idan R, Tokes AM, Kardos M, Szekely B, Szabo Gy, Kulka J, Szendrői M, Romics I, Timar J: A hypoxia hatása a gének kifejeződésére és azok prognosztikus szerepe veserákban. *Uroonkológia* 2010;3:74-81
- 24) Kulka J, Szirtes I, Szász AM, Kupcsulik P, Kenessey I, Lotz G, Timár J: II. rész. A gyógyszeres kezelés patológiai alapjai és háttere, minőségbiztosítás a patológiában *Magy Onkol*. 2010;54:343-50.

- 25) Kiss A, Sulya B, Szász AM, Romics I, Kelemen Z, Tóth J, Merksz M, Kemény S, Nyirády P: Long-term psychosexual consequences of hypospadias repair. J Sex Med 2011;8:1529-39. IF= 3.957
- 26) Baranyai Zs, Mersich T, Dede K, Besznyak I, Zarand A, Teknos D, Nagy P, Salamon F, Nagy P, Nagy Zs, Kotai Zs, Szasz AM, Lukacs LV, Szallasi Z, Josa V, Jakab F: Projektalapú mintagyűjtéstől a biobankig. Orv Hetil. 2011;152:606-9.