

A Ki67 proliferációs index klinikopatológiai jelentősége emlőrákban

Doktori tézisek

Dr. Ács Balázs

Patológiai Tudományok Doktori Iskola
Semmelweis Egyetem



Témavezető: Dr. Szász Attila Marcell Ph.D., szakorvos

Hivatalos bírálók: Dr. Reiniger Lilla Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Kovács Ilona Ph.D., osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Nagy Péter D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Dezső Katalin Ph.D., egyetemi tanársegéd
Dr. Landherr László Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest
2017

BEVEZETÉS

Napjainkban a Ki67 az egyik legígéretesebb, ugyanakkor ellentmondásos biomarker emlőrákban. Régóta ismert, – és számos tanulmány igazolta – hogy az immunhisztokémiai (IHC) módszerrel kimutatott Ki67 pozitív tumorsejtek százalékos aránya (Ki67 Labeling Index, Ki67 LI) prognosztikus információt hordoz emlőrákban. A 2015. évi St. Gallen Konszenzus Konferencia ajánlásai tartalmazzák a Ki67 LI meghatározásának szükségességét a luminális A-szerű és a HER2 negatív luminális B-szerű emlőtumorerők elkülönítésére. Ugyanakkor az International Ki67 in Breast Cancer Working Group óvatosabb a Ki67 mindennapi diagnosztika számára történő ajánlását illetően. A The European Society for Medical Oncology (ESMO) irányelvei szerint a Ki67 klinikailag használható marker lehet emlőrákban, amennyiben a meghatározásának módszere sztenderdizálható. The American Society of Clinical Oncology (ASCO) azonban nem javasolja Ki67 használatát a prognózis előrejelzésére emlőrákban, az egyes intézetek és laborok közötti alacsony reprodukálhatóságra hivatkozva.

A prognosztikai használhatósága mellett a Ki67 prediktív jelentősége is vita tárgyát képezi. Egy nemrégiben megjelent, 506 emlőrákban szenvedő beteget vizsgáló kutatás eredményei szerint a Ki67 LI nem mutat független összefüggést a neoadjuváns kemoterápiára adott válasszal. Ezzel ellentétben, Luporsi és munkatársai szisztematikus összefoglaló közleménye II-B evidenciát állapít meg a Ki67 LI prediktív jelentőségét illetően a neoadjuváns kezelésre vonatkozóan.

A Ki67 LI az emlőrák napi diagnosztikában használható prognosztikus és prediktív marker ígéretével kecsegtet, az ellentmondások a klinikai gyakorlatban történő meghatározásban rejlenek. Ezért mielőbb szükség van reprodukálható kimutatására és a reakció konzisztens értékelésére. A probléma megoldására az International Ki67 in Breast Cancer Working Group ajánlást fogalmazott meg a patológiai diagnosztika számára, miszerint a Ki67 IHC meghatározását leginkább befolyásoló tényezők pre-analitikai (biopszia típusa, szövet patológiai feldolgozása), analitikai (IHC protokoll), értékelés, illetve adat-elemzés paraméterekre oszthatók fel. Komoly erőfeszítéseket tettek a Ki67 IHC pre-analitikai és analitikai validitásának javítása érdekében. Azonban kevés hangsúlyt kapott egy evidens technikai kérdés: vajon valamennyi kereskedelmi forgalomban elérhető Ki67 antitest megközelítőleg ugyanannyi proliferáló tumorsejt kimutatására képes egy adott esetben? Vajon a különböző antitestek egyenértékűen használhatóak a gyakorlatban? Az e témában publikált vizsgálatok arra a következtetésre jutottak, hogy valóban különbség van az egyes antitestek között a kimutatott Ki67 kifejeződést illetően, habár a különböző eredményeket nem hozták összefüggésbe a prognózissal.

A Ki67 IHC reakciók értékelésének nehézségei szintén felelősek lehetnek az alacsony reprodukálhatóságért. Az egyik legelterjedtebb értékelési módszer során a patológus 3 és 10 közötti nagy nagyítású látótérben leszámol legalább 500-1000 tumorsejtet, majd ez alapján megadja a pozitív tumorsejtek százalékos arányát. A másik gyakori

értékelési metódus során a vizsgáló megbecsüli a Ki67 LI-et az egész tumorra vonatkozóan. Mindkét értékelési módszer monoton, időigényes és nagy hibalehetőséggel jár együtt, ami csökkentheti az eredmény reprodukálhatóságát. Bár az International Ki67 in Breast Cancer Working Group a tumorsejtek számolásával járó értékelését javasolja, több kutatás is igazolta a becslést alkalmazó értékelés hasonló eredményességét az előbbi módszerhez viszonyítva. A 2011-ben publikált ajánlások kiváló támpontot adnak a Ki67 meghatározás validitásának növelésére vonatkozóan. Ennek ellenére a klinikumban használt protokollok nagy változatosságot és alacsony reprodukálhatóságot mutatnak, amelyek leginkább az eltérő mintavételi módszerekhez, fixáláshoz, antigén feltáráshoz, festési eljáráshoz, illetve az értékeléshez köthetőek.

A digitális mikroszkópia fejlődése lehetővé tette a szövettani metszetek nagy felbontású és gyors digitalizálását, ami nagymértékben mozdította elő az oktatás, kutatás és diagnosztika fejlődését a patológiában. A digitális kép-elemző (DIA) szoftverek megjelenése megnövelte a kapacitást, precíziót és reprodukálhatóságot az in situ biomarker értékelésben. Habár e jellemzők önmagukban nem helyettesítik a diagnosztikus pontosságot, ami a pontos szöveti mintázat-felismerésen, és releváns IHC reakciók értékelésén alapszik. A DIA szoftverek képesek a Ki67 LI mérésére, de még nem tisztázott, hogy megfelelnek-e a klinikum követelményeinek és képesek-e csökkenteni a Ki67 LI értékelés variabilitását.

CÉLKITŰZÉS

A Ki67 LI klinikai validitásának három aspektusát vizsgáltuk: i) napi rutinban használt, különböző Ki67 antitestek összehasonlítása. ii) A patológusok Ki67 LI értékelései közötti reprodukálhatóság és a DIA jelentősége a Ki67 értékelésben. iii) A Ki67 LI szerepe a neoadjuváns terápia előrejelzésében. Célul tűztük ki, hogy:

1, Összehasonlítunk öt, kereskedelmi forgalomban elérhető IHC Ki67 antitestet a szemi-kvantitatív módon meghatározott Ki67 LI szerint egy konszekutív emlőrák kohorszban.

2, Összevetjük az egyes Ki67 antitesteket a klinikopatológiai faktorokkal, a prognosztikai jelentőség tekintetében univariáns és multivariáns elemzésekben.

3, Megvizsgáljuk a Ki67 LI értékelésének reprodukálhatóságát, három patológus vizuális becsléssel meghatározott Ki67 indexe alapján.

4, Megvizsgáljuk a szemi-kvantitatív és DIA Ki67 értékelések közötti egyezés mértékét.

5, Összevetjük a szemi-kvantitatív és DIA Ki67 értékeléseket a klinikopatológiai faktorokkal, prognosztikai jelentőség tekintetében.

6, Meghatározzuk a Ki67 LI vágópontokat, amelyek a legjobb korrelációt mutatják a neoadjuváns kezelésre adott válasszal.

7, Megvizsgáljuk a Ki67 LI, az emlőrák szubttípusok és a patológiai válasz közötti kapcsolatot.

8, Megvizsgáljuk a Ki67 LI prognosztikus jelentőségét neoadjuvánsan kezelt, emlőrákban szenvedő betegcsoportban.

MÓDSZEREK

Két különálló emlőrákban szenvedő betegcsoportot vontunk be vizsgálatainkba retrospektív módon, amelyek összesen 498 beteget tartalmaznak, átfedés nélkül: 1) 378 konszekutív emlőrákos beteg, akiket a Budai MÁV Kórház Patológiai Osztályán (Budapest) diagnosztizáltak 1999 és 2002 között (etikai engedély: TUKEB, #7-1/20), 99,8 hónap medián követési idővel (betegség-mentes túlélés, disease-free survival, DFS), 2) 120 beteg, akiket a Semmelweis Egyetemen diagnosztizáltak invazív emlőrákkal és neoadjuváns kemoterápiával (neoadjuvant chemotherapy, NAC) kezeltek 2002 és 2013 között (etikai engedély: TUKEB 120/2013). A medián követési idő a teljes túlélésre (overall survival, OS) 60,5, míg a távoli metasztázis-mentes túlélésre (distant metastases-free survival, DMFS) 59 hónap volt. A NAC-ra adott válasz mértékét Pinder és munkatársai szerint kategorizáltuk: patológiai teljes válasz (pathologic complete response, pCR), parciális válasz (partial response, pPR) és nincs válasz a neoadjuváns kezelésre (no response to therapy, pNR).

Az emlőrák helyettesítő molekuláris szubtypusait a 2013. évi St. Gallen irányelvei szerint definiáltuk, ami 5 kategóriát különböztet meg (luminális A, luminális B/HER2-, luminális B/HER2+, HER2+ és tripla negatív).

A 378 konszekutív eset reprezentatív, 10%-os formalinban fixált, paraffinba ágyazott tumor blokkjaiból szöveti multiblokkokat készítettünk (TMA). Minden eset legalább két hengerrel (átmérő: 2mm)

szerepelt a TMA-ban (TMA Master, 3DHISTECH Ltd., Budapest, Magyarország), összesen 10 TMA-t eredményezve. A neoadjuváns kohorsz 120 betegét illetően, a kezelést megelőző vastagtű biopszia mintáit, pNR betegek esetén a műtéti preparátum mintáit is vizsgáltuk.

A TMA blokkok lemetzése 3 μ m vastagságban történt. A Ki67 detektálásra a következő öt, kromogén jelölésű antitestet használtuk a TMA metszeteken: SP6 (Histopathology), 30-9 (Ventana), N1574-poly (DAKO), B56 (Histopathology), MIB1 (Immunotech). Emellett immunfluoreszcensen jelölt MIB1 antitesttel is elvégeztük a Ki67 kimutatását (MIB1-IF, IR 626 DAKO). Az IHC reakciókat immunfestő automatában végeztük a gyártó protokollja szerint (Ventana Benchmark XT, Roche, Basel, Svájc). A neoadjuváns kohorszban a Ki67 kimutatására kromogénnel jelölt MIB1 antitestet használtunk.

A 378 konszekutív eset Ki67 IHC értékelése digitalizált metszeteken történt, szemi-kvantitatív módon (SQ), a Panoramic Viewer platform, TMA modul szoftver segítségével. A Ki67 LI-et a pozitív magi reakciót mutató tumorsejtek százalékos aránya szerint definiáltuk, megbecsülve 3-10 nagy nagyítású látótérben, minden egyes TMA hengeren. A TMA hengereket legalább 100-500 tumorsejt megléte esetén értékeltük, bármilyen magi reakciót pozitívnak tekintettünk. A duplikátum hengereket külön értékeltük és az átlag Ki67 LI értéküket vettük figyelembe.

Az öt Ki67 antitest összehasonlításakor, az IHC reakciókat 2 patológus egymástól függetlenül értékelték. Amennyiben az értékeléseik között

eltérés igazolódott, az inkonzisztens eseteket újraértékeltek a konszenzus eléréséig.

Amikor az egyes vizsgálók értékelése közötti reprodukálhatóságot vizsgáltuk, a MIB-1 IHC reakcióit 3 patológus értékelte (SQ-1, SQ-2, SQ-3) egymástól függetlenül. A három patológus figyelemre méltó, de eltérő tapasztalattal bírt az emlőrák Ki67 LI értékelésében. SQ1 egy éve rendelkező patológus szakorvosi státusszal. SQ-2 és SQ-3 konzulens patológus szakorvosok, számottevő tapasztalattal a rutin diagnosztikában, különös tekintettel az emlő patológiájára. A neoadjuváns kohorsz esetében, a MIB-1 IHC reakciókat 2 patológus egymástól függetlenül értékelte konszenzus eléréséig.

A TMA metszeteket Panoramic Flash II metszet szkennelvel digitalizáltuk x20 objektívet használva (NA=0.83). A DIA-t a MIB-1 IHC reakcióin végeztük, PatternQuant (PQ) modult használva, amely az automatikus szöveti mintázat felismeréssel lehetővé tette a tumorsejtek elkülönítését a strómától. A vizsgálat során a 3DHISTECH Ltd. (Budapest, Magyarország) digitális hardver és szoftver eszközeit használtuk. A felismerendő szöveti mintázatokat és a szoftverek kalibrációját egy patológus és egy IT szakértő közösen végézte a legjobb felismerési mintázat elérése érdekében, amely a következő beállításokon történt: PQ training magnification: 1.5x; a gamma level: 1; dilution: 3; contour: 0. A tumorsejtek detektálása és kvantifikálása hasonlóképpen történt a NuclearQuant (NQ) szoftverrel (blur: 15; radius minimum: 1.5; radius maximum: 8; area minimum: 15; intensity

minimum: 30; contrast minimum 30). A PQ és NQ előbbi beállítása alapján, automatikus KI67 LI értékelést végeztünk minden egyes TMA hengeren (DIA-1 analízis). A másik DIA tesztben, az automatikus annotációkat egy patológus értékelte minden hengeren, és amennyiben szükségesnek vélte, függetlenül módosította a DIA beállításokat a műtermékek, fals detekciók, alul- és túlbecslések kizárása érdekében (DIA-2 analízis).

Az egyes Ki67 antitestek közötti egyezés mértékét, valamint a különböző Ki67 LI értékelések közötti reprodukálhatóságot intra-class korrelációval (ICC), konkordancia korrelációs koefficienssel (CCC), Cohen kappa teszttel, és Bland-Altman ábrával vizsgáltuk (MedCalc 13.3.3.0, Ostend, Belgium). Az egyes antitestek és az egyes értékelők közötti statisztikai különbség megállapítására Wilcoxon-féle előjeles rangpróbát és McNemar tesztet alkalmaztunk, mivel az adataink nem mutattak normál eloszlást a logaritmikus transzformáció után sem (Shapiro-Wilk – és Kolmogorov-Smirnov próba). A terápiára reagáló eseteket optimálisan elkülönítő Ki67 LI határértékének megállapításra receiver operating characteristic (ROC) analízist végeztünk. A ROC analízisek során csak a pCR és pNR eseteket vettük figyelembe, mert a pPR státusz puha végpont a prognózis tekintetében. Log-rank teszttel támogatott Kaplan-Meier analízist és multivariáns Cox-regressziót végeztünk a prognosztikus jelentőség megítélésére. (SPSS 22, IBM, Armonk, USA). Valamennyi statisztikai elemzésben $p < 0.05$ szignifikancia szintet alkalmaztunk.

EREDMÉNYEK

Az öt Ki67 antitest validitása

Az öt antitest Ki67 LI értékei közepes egyezést mutattak. A legmagasabb konkordanciát a MIB1 és poly, 30-9 és poly, MIB1 és B56, 30-9 és SP6, illetve a MIB1 és 30-9 között találtuk. A legalacsonyabb egyezést az SP6 és B56, illetve SP6 és MIB1-IF mutatta. Szignifikáns torzítást tapasztaltunk a MIB1 és MIB1-IF kivételével valamennyi összehasonlításban. Továbbá, az egyezés tartománya is túl széles volt. Ezen felül, a MIB1 és poly kivételével valamennyi antitest Ki67 LI értékelése között szisztematikus hibát találtunk. A DFS-t tekintve, a MIB1 IF kivételével valamennyi antitest szét tudta választani a kohorszot, két eltérő túléléssel rendelkező betegcsoportra 20%-os határértéknél. Harminc százalékos vágópontnál, a MIB-1, SP6, 30-9 és poly antitestek Ki67 LI-ei szignifikáns prognosztikus markernek bizonyultak. Ezzel szemben, a B56 és MIB1-IF antitestek nem tudták elkülöníteni a jó és kedvezőtlen prognózisú betegcsoportokat. Megvizsgáltuk az egyes Ki67 antitestek prognosztikus potenciálját, függetlenül a kor, IHC szubtípusok, nyirokcsomó- és T státusz, hisztológiai grádus, mitótikus index, vaszkuláris invázió és tumornekrózis faktoroktól. A poly Ki67 LI és a nyirokcsomó státusz szignifikáns kapcsolatot mutatott a DFS-el, 20%-os vágóponton. Azonban 30%-os határértéken, csak a nyirokcsomó státusz mutatott független összefüggést a túléléssel.

A Ki67 értékelések közötti reprodukálhatóság

Mivel a MIB1 a legszélesebb körben használt Ki67 antitest és egyben a legmagasabb egyezést mutatta a poly antitesttel, ezt használtuk a további vizsgálatainkban a Ki67 LI kimutatására.

A három SQ Ki67 LI értékelés nagyon jó konzisztenciát mutatott az esetek közötti relatív különbséget tekintve. A legjobb interobszerver variabilitás az SQ-2 és SQ-3 között jelentkezett, míg az SQ-1 alacsony konkordanciát mutatott az SQ-2 és SQ-3 értékelésekkel. Szignifikáns torzítást találtunk valamennyi értékelés között. A legkisebb torzítást és az egyezés legszűkebb tartományát az SQ-2 és SQ-3 között találtuk, szisztematikus hiba nélkül. A Ki67 LI értéket dichotomizálva a 14%-os és 20%-os határértékeknél, az SQ-1 továbbra is szignifikáns különbséget és közepes egyezést mutatott az SQ-2 és SQ-3 értékelésekkel. Ezzel ellentétben, az SQ-2 és SQ-3 értékelések nem mutattak szignifikáns különbséget, a kiváló egyezés mellett. A DIA értékelések vizsgálatakor egy referencia Ki67 LI értékelést (SQ-RV) jelöltünk ki az SQ-2 és SQ-3 átlagából, mivel SQ-1 szignifikáns eltérést mutatott azoktól. Az SQ-RV és az automatikus DIA-1 között szignifikáns különbséget és közepes konkordanciát találtunk, míg az adjusztálható DIA-2 kiváló konkordancia mellett nem különbözött az SQ-RV-től. Szignifikáns különbséget, ugyanakkor kiváló konkordanciát találtunk a DIA-1 és DIA-2 között. Szignifikáns torzítást és proporcionális hibát találtunk az SQ-RV és DIA-1 értékelések között,

amelyet nem tapasztaltunk az SQ-RV és DIA-2 között. Emellett, az egyezés tartománya is szűkebb volt az utóbbi esetben. A túlélést tekintve, az SQ-3 kivételével valamennyi Ki67 értékelés szignifikáns prognosztikus markernek bizonyult 14%-os határértéken. Húsz százalékos vágópontnál, a DIA-2, SQ-2 és SQ-3 Ki67 értékelések be tudták sorolni a betegeket egy jó és kedvezőtlen betegcsoportba, míg SQ-1 és DIA-1 nem. Megvizsgáltuk az egyes Ki67 értékelések prognosztikus potenciálját, függetlenül a kor, IHC szubtypusok, nyirokcsomó- és T státusz, hisztológiai grádus, mitotikus index, vaszkuláris invázió és nekrozis faktoroktól. Csak a nyirokcsomó státusz mutatott független összefüggést a DFS-el, 14%-os határértéken. Azonban 20%-os vágóponton a nyirokcsomó státusz mellett az SQ-2 értékelés mutatott szignifikáns kapcsolatot a túléléssel.

A Ki67 LI szerepe a neoadjuváns terápia előrejelzésében

A pCR és pNR eseteket elkülönítő optimális Ki67 LI vágópont 20% volt. A patológiai válasz és Ki67 LI a vizsgált határértékeken szignifikáns összefüggést mutattak. A pNR csoportban az alacsony Ki67-el rendelkezők aránya szignifikánsan magasabb volt, mint a pPR és pCR csoportokban. A szubtypusok eloszlása szignifikáns különbséget mutatott a patológiai válasz csoportjaiban. A legtöbb TNBC esetet a pCR csoportban, míg a legtöbb lúminális A esetet főleg a pPR és pNR csoportban találtuk. A Ki67 kifejeződés bármelyik vizsgált vágóponton szignifikáns összefüggést mutatott a szubtypusokkal. A Lúminális A

alacsony, míg a TNBC és HER2+ esetek döntően magas Ki67 LI-et mutattak. A Ki67 LI, a szubtypus és a patológiai válasz közötti kapcsolatot megvizsgáltuk a lúminális A betegek nélkül is, mivel a NAC általánosságban nem javasolt ebben a szubtypusban a pNR esetek magas aránya és a kedvező prognózis miatt. A lúminális A betegek kizárásával, a Ki67 LI nem mutatott összefüggést sem a patológiai válasszal, sem a szubtypusokkal. Ezzel szemben, patológiai válasz szignifikáns összefüggést mutatott a szubtypusokkal. A lúminális B esetek döntő többsége a pPR és pNR csoportokban, míg a TNBC esetek többnyire a pCR csoportban jelentkeztek. Az OS-t tekintve, a Ki67 15%-os és 20%-os határértéknél nem, de a Ki67 30%-os vágópontnál, továbbá a szubtypus és a patológiai válasz el tudta különíteni a betegeket egy jó és egy kedvezőtlen prognózisú betegcsoportra. A lúminális A betegek kizárásakor sem a Ki67 LI, sem a szubtypus, sem a patológiai válasz nem tudta szétválasztani a kohorszot, két eltérő túléléssel rendelkező betegcsoportra. Megvizsgáltuk a Ki67 LI prognosztikus potenciálját az egyes vágópontokon, függetlenül a kor, patológiai válasz, hormon receptor státusz, szubtypusok, hisztológiai grádus, nyirokcsomó-, cT és pT státusz faktoroktól. A Ki67 LI 30%-os határértéken, illetve a szubtypus mutatott független összefüggést a túléléssel, amely a lúminális A betegek nélkül is szignifikáns maradt.

KÖVETKEZTETÉSEK

A szövettani gyakorlatban a Ki67 antitest kiválasztása és validálása nagy figyelmet igényel. Eredményeink szerint a MIB1, poly és 30-9 antitestek alkalmasak a Ki67 LI kimutatására a napi gyakorlatban, mivel ezek mutatták a legmagasabb teljesítményt. Véleményünk szerint ez a vizsgálat részben magyarázatot ad az irodalomban publikált, különböző emlőrák kohorszokban javasolt számos Ki67 LI vágópontra. A patológus tapasztalata nélkülözhetetlen a DIA beállításában és kontrollálásában a téves értékelések elkerülése érdekében. Azt is demonstráltuk, hogy az adjusztálható DIA alkalmas és reprodukálható eszköz a Ki67 LI értékelésére emlőrákban, ami elősegítheti a sztenderdizációs erőfeszítéseket.

A neoadjuváns kemoterápia hatékonyabb a legalább 20%-os Ki67 LI-el rendelkező emlőtumorokban. A 20%-os vágópont elkülönítette a pCR és pNR eseteket. Eredményeink szerint a magasabb Ki67 LI a kedvezőtlen túléléssel mutat összefüggést, ami azt jelenti, hogy legalább az esetek egy részében a magasabb Ki67 kifejeződés a NAC-ra adott fokozott válasz mellett, rosszabb prognózissal is társul. Továbbá, ha egy tumor nem mutat választ a NAC-ra, akkor a magas Ki67 LI kedvezőtlen prognózist jelent. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a Ki67 LI marker klinikai jelentőséggel bír az emlőrák ellátásában, ugyanakkor önmagában nem alkalmas a neoadjuváns kezelésre adott válasz előrejelzésére.

A DISSZERTÁCIÓHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Acs B, Madaras L, Kovacs A, Micsik T, Tokes AM, Gyorffy B, Kulka J, Szasz AM - **Reproducibility and Prognostic Potential of Ki-67 Proliferation Index when Comparing Digital-Image Analysis with Standard Semi-Quantitative Evaluation in Breast Cancer.** – Pathology & Oncology Research. 2017 Apr 11. doi: 10.1007/s12253-017-0220-8 -IF: 1.736,
<http://dx.doi.org/10.1007/s12253-017-0220-8>
2. Acs B, Zambo V, Vizkeleti L, Szasz AM, Madaras L, Szentmartoni Gy, Tokes T, Molnar BA, Molnar IA, Vari-Kakas S, Kulka J, Tokes AM - **Ki-67 as a controversial predictive and prognostic marker in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy.** – Diagnostic Pathology. 2017 Feb 21. doi: 10.1186/s13000-017-0608-5 – IF: 2.087,
<http://dx.doi.org/10.1186/s13000-017-0608-5>
3. Acs B, Kulka J, Kovacs A, Teleki I, Tokes AM, Meczker A, Gyorffy B, Madaras L, Krenacs T, Szasz AM - **Comparison of five Ki67 antibodies regarding reproducibility and capacity to predict prognosis in breast cancer: Does the antibody matter?** – Human Pathology. 2017 Feb 8. pii: S0046-8177(17)30032-1. doi: 10.1016/j.humpath.2017.01.011 – IF: 3.014,
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2017.01.011>

A DISSZERTÁCIÓTÓL FÜGGETLEN KÖZLEMÉNYEK

1. Acs B, Madaras L, Tokes AM, Kovacs A, Kovacs E, Ozsvari-Vidakovich M, Karaszi A, Birtalan E, Dank M, Szasz AM, Kulka J - **PD-1, PD-L1 and CTLA-4 in pregnancy-related - and in early-onset breast cancer: A comparative study.** - Breast. 2017 Oct;35:69-77. doi: 10.1016/j.breast.2017.06.013 – IF: 2.801, <http://dx.doi.org/10.1016/j.breast.2017.06.013>
2. Molnar IA, Molnar BA, Vizkeleti L, Fekete K, Tamas J, Deak P, Moldvay J, Vari-Kakas S, Szundi Cs, Szasz AM, Acs B, Kulka J, Tokes AM - **Breast carcinoma subtypes show different patterns of metastatic behavior.** - Virchows Archiv. 2017 Jan 19. doi: 10.1007/s00428-017-2065-7.– IF: 2.848, <http://dx.doi.org/10.1007/s00428-017-2065-7>
3. Santarpia L, Bottai G, Raschioni C, Szekely B, Tommaso LD, Szasz AM, Losurdo A, Gyorffy B, Acs B, Torrisi R, Karachaliou N, Tokes T, Caruso M, Kulka J, Roncalli M, Santoro A, Mantovani A, Rosell R, Reis-Filho J. - **AXL associated tumor inflammation as a poor prognostic signature in chemotherapy-treated triple-negative breast cancer patients.** – npj Breast Cancer.2, Article number: 16033 (2016) doi:10.1038/npjbcancer.2016.33.-IF: 0.000, <http://dx.doi.org/10.1038/npjbcancer.2016.33>

4. Agoston EI, Micsik T, Acs B, Fekete K, Hahn O, Baranyai Zs, Dede K, Bodoky Gy, Bursics A, Kulka J, Krenacs T, Gyorffy B, Harsanyi L, Szasz AM. – **In depth evaluation of the prognostic and predictive utility of PTEN immunohistochemistry in colorectal carcinomas: performance of three antibodies with emphasis on intracellular and intratumoral heterogeneity.** - Diagnostic Pathology. 2016 Jul 8;11(1):61. doi: 10.1186/s13000-016-0508-0.- IF: 2.087,
<http://dx.doi.org/10.1186/s13000-016-0508-0>

5. Acs B, Szekely N, Szasz AM, Lotz G, Szekely T, Istok R, Szekely E, Madaras L, Kulka J, Jaray B. - **Reliability of immunocytochemistry and fluorescence in situ hybridization on fine needle aspiration cytology samples of breast cancers: a comparative study.** – Diagnostic Cytopathology. 2016 March, DOI: 10.1002/dc.23463. - IF: 1.161,
<http://dx.doi.org/10.1002/dc.23463>

6. Acs B, Szarvas T, Szekely N, Nyirady P, Szasz AM - **Current State of ERG as Biomarker in Prostatic Adenocarcinoma.** – Current Cancer Drug Targets. 2015;15(8):643-51. - IF: 3.707,
<http://dx.doi.org/10.2174/156800961508151001100829>

7. Cserni G, Bori R, Sejben I, Agoston EI, Acs B, Szasz AM - **The Petersen prognostic index revisited in Dukes B colon cancer– inter-institutional differences.**- Pathology Research and Practice. 2015 September, DOI: 0.1016/j.prp.2015.08.006. – IF: 1.543,
<http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2015.08.006>

8. Kulka J, Tokes AM, Madaras L, Kovacs A, Acs B, Illyes I, Kiss O, Szekely B, Lotz G, Szasz AM – [**Clinico-pathologically focused breast cancer research.**] – Hungarian Oncology. 2015;59(4):286-91.– IF: 0.000,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26665188>

9. Acs B, Szasz AM, Kulka J, Harsanyi L, Zarand A – [**Is radicality enough? Transanal endoscopic microsurgery for the treatment of rectal neoplasia – clinicopathological viewpoint.**] – Hungarian Surgery. 2014; 67(6):329–333. – IF: 0.000,
<http://dx.doi.org/10.1556/MaSeb.67.2014.6.2>

10. Szasz AM, Acs B, Agoston EI, Sztupinszki Zs, Tokes AM, Szittyá L, Szekely B, Szendroi M, Li Q, Harsanyi L, Timar J, Szallasi Z, Swanton C, Gyorffy B, Kulka J – [**Simplified, low-cost gene expression profiling for the prediction of outcome in breast cancer based on routine histologic specimens.**] – Hungarian Weekly Journal of Medicine. 2015; 154(16):627–632. – IF: 0.000, <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2013.29590>