

Primer emlőtumorok és távoli áttétek összehasonlítása

Doktori tézisek

Dr. Székely Borbála

Semmelweis Egyetem
Patológiai tudományok Doktori Iskola



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

Hivatalos bírálók: Dr. Bittner Nóra, Ph.D., osztályvezető főorvos
Dr. Sági Zoltán, D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Bodoky György, Ph.D., egyetemi magántanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nagy Péter, D.Sc., egyetemi tanár
Dr. Lászik András, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2018

I. BEVEZETÉS

A fejlett világ női lakosságának körében a legnagyobb prevalenciájú malignus betegség az emlőrák, körülbelül minden nyolcadik nőt érinti. Magyarországon évente 5-6000 új esetet diagnosztizálnak és átlagosan 2000 nőt veszítünk el a betegség miatt. A klinikai vizsgálatok eredményei alapján Európában a korai emlőrákok esetében (ekkor a diagnózis időpontjában nincsen kimutatható metasztázis) az 5 éves teljes túlélés (overall survival, OS) 80% felett van. Ebben a jó eredményben kiemelt szerepe van a szűrővizsgálatoknak, valamint az egyre fejlődő terápiás eljárásoknak (kemoterápia, sebészi ellátás, sugárterápia, endokrin kezelés és egyéb célzott terápiák).

Az emlőrák szövettani szempontból heterogén entitás, több különböző prognózisú alcsoportot különböztetünk meg. A mindennapi diagnosztikában jelenleg használatos altípusokba történő beosztások alapja a hormonreceptor (HR): ösztrogén (ER) és progesteron (PR), HER2 státusz, valamint a proliferációs aktivitást jellemző Ki67 index. Ezek alapján a tumorok LuminalisA (ER+, PR+, HER2-, alacsony Ki67 index); HER2 negatív LuminalisB (ER+, HER2-, és legalább az egyik az alábbiak közül: PR- vagy alacsony, $\geq 20\%$ Ki67 index); HER2 pozitív LuminalisB (ER+, HER2+ bármilyen Ki67 és bármilyen PR értékkel), HER2 pozitív (ER-, PR-, HER2+ bármilyen Ki67 értékkel) és tripla negatív, azaz TN (ER-, PR- és HER2- bármilyen Ki67 LI értékkel) csoportokra oszthatóak. Az egyes alcsoportok klinikai viselkedése és agresszivitása, valamint a rendelkezésre álló terápiás lehetőségek is igen különbözőek. Munkacsoportunk egy korábbi munkában kimutatta, hogy gyakori az immunfenotípus változás az emlőtumorok távoli áttéteiben a primer tumorokhoz viszonyítva, melyet befolyásol többek között az is, hogy milyen típusú antitestet használunk.

A korai emlőrákkal kezelt páciensek mintegy harmadában jelentkeznek később távoli áttétek. TN tumorok esetén ennek a diagnózist követő első két évben a legnagyobb az esélye, míg luminalis daganatoknál sok évvel a primer tumor detektálását követően is előfordulhat. Bár a szűrővizsgálatok megjelenése miatt az emlődaganatok többségét korai stádiumban fedezik fel, a páciensek egy részében már metasztatikus stádiumban kerül sor a diagnózisra. Ekkor felmerülhet a primer daganat illetve a metasztázisok sebészi rezekciója, mellyel kapcsolatban jelenleg kevés információnk van. Az autopsziák szerepe az egyre fejlettebb diagnosztikus technikák megjelenése miatt egyre csökken, jelenleg

viszonylag kis számban történik kórboncolás, holott ezek jó lehetőséget biztosítanak arra, hogy több érintett szervből, nagyobb mennyiségű minta álljon rendelkezésünkre.

Sokat vizsgált kérdés az onkológiában az áttétképzés mechanizmusa, annak megértése, hogy milyen módon válnak képessé a primer daganatot alkotó sejtek távoli áttétek létrehozására, miért és milyen faktorok hatására illetve közvetítésével alakul ki bizonyos esetekben az áttétes stádium minden lehetséges terápiás beavatkozás ellenére. Hasonlóan fontos kérdések, hogy hogyan változnak az egyes daganatok a betegség progressziója során, miben és mennyire különböznek az áttétek a primer tumortól illetve egymástól, mennyire kapunk reális képet az egész szervezetet érintő betegségről egy távoli áttétből vett minta vizsgálatával.

A metasztázis képzés egyik régebbi elmélete a monoklonális szóródás, mely szerint egy elszabadult tumorsejt klónból alakul ki a távoli áttét. Egyre több olyan kutatási eredmény jelenik meg, mely poliklonális áttétképzést detektált, egyes elméletek szerint ekkor tumorsejt klaszterek jutnak el a távoli szervekbe. Ismert a tumor heterogenitás jelentősége az áttétképzésben; a primer daganat egyes régióinak és az ott található szubklónoknak különböző szerepe lehet a progresszióban. Elfogadott tény, hogy az áttétes sejtek bizonyos arányban hordozzák a parentális sejtek genetikai jellemzőit, majd ezek mellé felhalmozzák a saját privát eltéréseiket, így a progresszió filogenetikai útja utánkövethető. A genetikai változásokat és ezen keresztül a betegség evolúcióját az egy pontos nukleotid variánsok (SNV) és kópiaszám eltérések (CNA) elemzésével jól nyomonkövethetőek. Az utóbbi időben egyre nagyobb hangsúlyt kap az áttétek genetikai jellemzése a keringő tumorsejtek illetve tumor DNS elemzésével, mely a progresszió egy lényegesen kevésbé invazív monitorozását teszi lehetővé.

Egyéb tumorokban (vese, prosztata, tüdő, melanoma) több kutatás foglalkozott részletesen az áttétképzés mechanizmusával, azonban emlőrákok esetében továbbra is sok még a nyitott kérdés. A probléma népegészségügyi és klinikai gyakorlati szempontból is igen lényeges, tekintve az emlőrákos betegek nagy számát és a metasztatikus páciensek egyes terápia váltásaikor felmerülő döntési helyzetek jelentőségét.

II. KÉRDÉSEK

1. A távoli áttétet adó primer emlőtumorok jellemzése szöveti szinten: szövettani és immunfenotípus, differenciáltság. Megfigyelhetőek-e mintázatok az áttétek lokalizációja és a primer tumor altípusok között?
2. Megtartották-e a primer tumorok szövettani és immunhisztokémiai jellemzőiket az áttétekben? Miben különböztek a távoli áttétek a primer tumoroktól?
3. Az ugyanazon primer tumorból származó távoli áttétek között volt-e hasonlóság immunfenotípus szempontjából illetve genetikai szinten?
4. Megfigyelhető-e összefüggés a távoli áttétek megjelenése és a primer tumor diagnózisa között eltelt idő hossza (DFS) és az immunfenotípus változás között?
5. Van-e összefüggés a metasztázis lokalizációja és az immunfenotípus változás között?
6. Monoklonális vagy poliklonális típusú áttétképzés a jellemző a vizsgált emlődaganatokra?
7. Megfigyelhető-e összefüggés a túlélés hossza és a genetikai eltérések jellegzetességei között?
8. Előfordul-e metasztázisból metasztázisba történő szórás a vizsgált beteganyagban?
9. Kimutatható-e klonális kapcsolat a primer tumorok és a metakron ellenoldali emlőrások között?

III. MÓDSZEREK

Betegek és minták: Retrospektív vizsgálatunkban a Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézetének autopsziás adatbázisát (2001-2014 közötti időszakban) tekintettük át az Intézeti Etikai Bizottság engedélyét követően (IKEB #185-1/2007); 25 metasztatikus emlőrákban elhunyt beteg primer és metasztatikus FFPE mintáit dolgoztuk fel. A klinikai információt a Semmelweis Egyetem elektronikus adatbázisaiból nyertük.

Immunhisztokémia (IHC) és fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH): Az ösztrogén- és progesteron-receptor, HER2 és Ki67 IHC reakciókat automatizált Ventana Benchmark XT készülékekben végeztük 4µm vastagságú natív metszeteken. A FISH a HER2 próbákat tartalmazó Kreatech (Poseidon) kit felhasználásával történt.

Makrodisszekció és nukleinsav izolálás: A HE festett metszetek vizsgálatakor kijelöltük a nukleinsav izolálásra alkalmas régiókat, majd makrodisszekciót végeztünk. A DNS izolálás a QIAamp DNA FFPE Tissue Kittel történt a gyári protokoll alapján, 10 betegnél rendelkezünk megfelelő mennyiségű és minőségű DNS-sel a szükséges számú mintában.

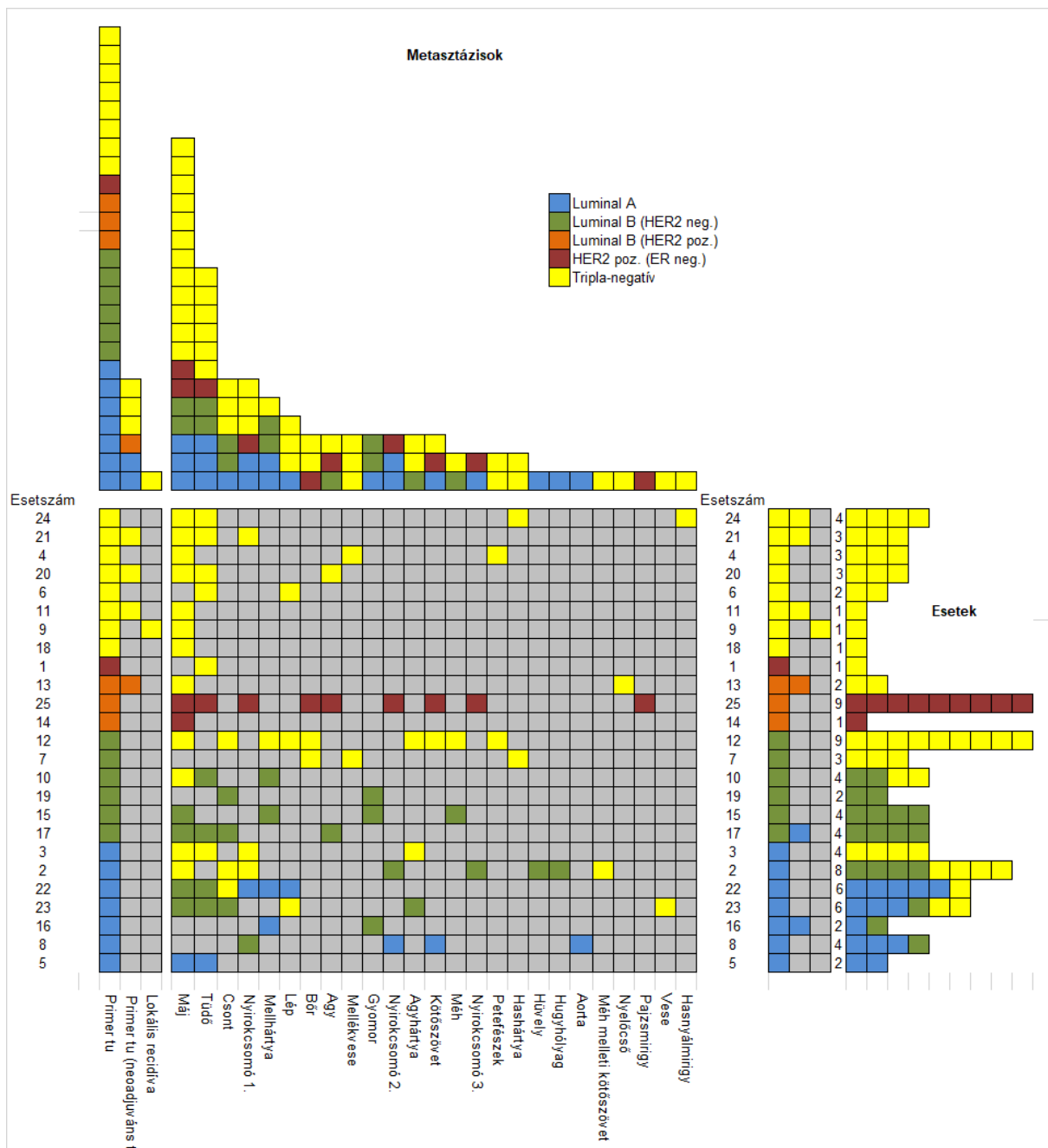
Teljes exom és célzott szekvenálás, kópiaszám analízis: Összesen 51 mintát szekvenáltunk 40x cél-lefedettséggel. A detektált szomatikus SNV-nek vélt elváltozásokat Sequenom MassARRAY-vel validáltuk, majd minden egyes daganatos mintán célzott amplikon mély szekvenálást végeztünk (medián lefedettség 9000x). Az egyes betegknél a filogenitásra a Dollo parszimónia kritériumok használatával következtettünk, a filogenetikai rekonstrukcióhoz a PHYLIP programot használtuk. A kópiaszám meghatározás az Affymetrix Oncoscan FFPE Express 2.0 teszttel történt, a <30% daganatsejt frakcióval (CCF) bíró mintákat kizártuk a további elemzésből. A GAP program által meghatározott minor és major kópiaszámokat a transducer alapú páronkénti összehasonlítási funkcióban modelleztük a MEDICC program használatával.

IV. EREDMÉNYEK

1. A primer tumorok többsége IBC NST volt (80%), lobuláris karcinóma 4 betegnél fordult elő, közülük kettőnél pleiomorf ILC-t diagnosztizáltunk. Az immunhisztokémiai altípusok közül a LuminalisB fordult elő leggyakrabban (n=9), TNBC-t 8, LuminalisA tumort 7 és HER2 alcsoportba tartozó elváltozást 1 esetben detektáltunk. A proliferációs rátát tekintve 6 páciensnél találtunk magas ($\geq 20\%$) Ki67 értéket, míg az átlagos Ki67 érték 17.67%-nak adódott. Az elváltozások többsége alacsonyan differenciált volt.

A vizsgálatban szereplő tumorok leggyakrabban a májba, tüdőbe, távoli nyirokcsomókba és a csontba adtak áttéteket. A TNBC-k leggyakrabban a tüdőbe és a májba (88 és 50%) metasztatizáltak, míg csontáttétet ebben a csoportban nem detektáltunk. A Luminalis A tumorok is jellemzően a májba és a tüdőbe adtak áttétet (71 és 57%), emellett ebben a csoportban a csont metasztázisok is gyakoriak voltak (43%). Az összes, csontokba áttétet adó primer tumor HR pozitív volt. Máj áttétek a Luminalis B csoportban is gyakran előfordultak (78%). A HR+ csoport jellemzően több távoli szervet érintett, ezzel szemben a TNBC-k általában csak 2-3 távoli szervbe metasztatizáltak, jellemzően a májba és a tüdőbe (a 16 HR+ tumor 69 különböző lokalizációba adott áttétet, míg a 8 TNBC összesen 18 távoli szervet érintett) (1. ábra).

2. A TNBC-k minden esetben TNBC áttétet adtak, a leggyakoribb altípus váltás a Luminalis A-ról B-re történt. A Luminalis B tumorok nagyobb arányban őrizték meg a fenotípust, mint a LuminalisA daganatok, azonban még így is az általuk adott áttétek fele TN volt (1. ábra). Az esetek közel felében (12/25) a távoli áttétek megtartották a primer tumor altípusát, itt sem receptor veszteség sem receptor nyereség nem fordult elő. A 16 ER pozitív primer tumorral rendelkező beteg közül 10 (62.5%) veszítette el ER pozitívítását egy vagy több távoli áttétben. A 16 ER pozitív beteg közül 11-ben PR pozitívítást is detektáltunk a primer tumorban, közülük 10 betegnél (90.9%) fordult elő PR veszteség egy vagy több áttétben. 4 betegnél detektáltunk HER2 pozitív primer tumort, melyek közül kettő veszített HER2 receptort egy vagy több távoli áttétben.



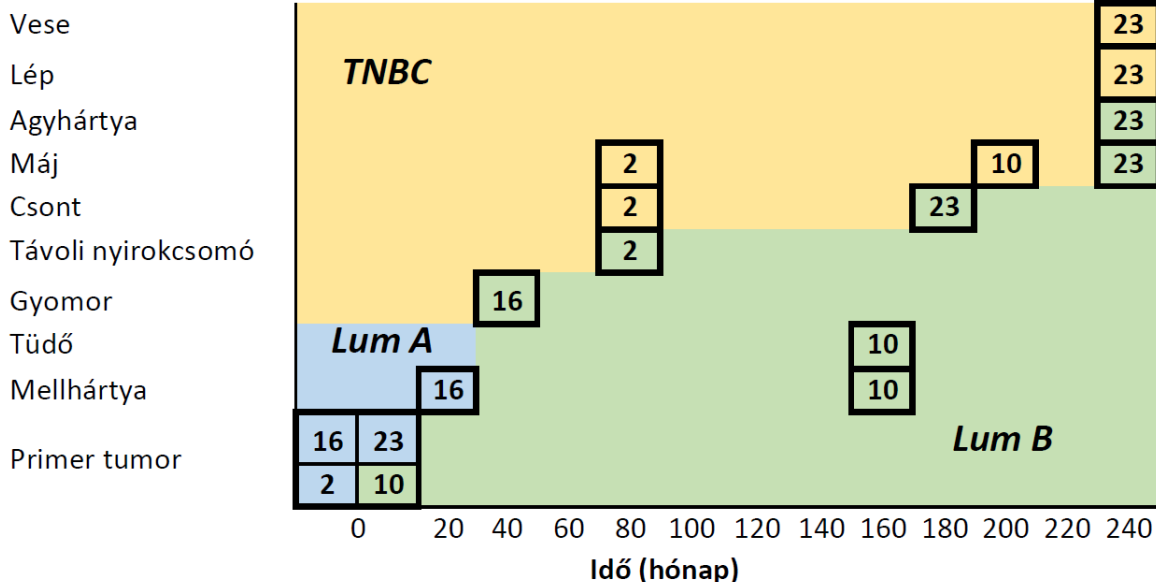
1. ábra: A primer tumorok és távoli áttétek altípusa

3. A metastázisok jobban hasonlítottak egymásra, mint a primer tumorokra, melyekből származtak. Az ER, PR és Ki67 státusz szempontjából összehasonlítottuk egymással a távoli áttéteket: a különböző lokalizációban lévő metastázisok között nem találtunk szignifikáns különbséget.

A metasztázisok klonális kapcsolatban voltak egymással és olyan sejtekből eredtek, melyek a betegség különböző fázisaiban disszeminálódtak a primer tumorokból. Ennek megfelelően bizonyos arányban hordozták a parentális sejtek genetikai jellemzőit, majd ezek mellé felhalmozták a saját privát eltéréseiket, ezek eredményeként jobban hasonlítottak egymásra, mint a primer tumorokra.

4. A teljes anyagot vizsgálva nem volt statisztikailag kimutatható különbség a távoli áttétek immunstátusza között. 7 beteg esetében azonban az áttétek heterogénnek bizonyultak, azaz némelyiküknél történt HR veszteség míg az egyéb lokalizációban detektált metasztázisok megőrizték HR pozitívitásukat. Közülük 4 páciensnél pontos információkkal rendelkezünk a betegség progressziójáról, melyet retrospektíven tudunk elemezni. Ennek alapján minél hosszabb idő telt el a primer betegség diagnózisa és az adott áttét detektálása között, annál valószínűbb volt, hogy az áttét a primer tumortól eltérő IHC profillal rendelkezett. A klinikai detektálás időpontját minden esetben az elvégzett képalkotó vizsgálat időpontja alapján adtuk meg (2. ábra).

Áttét lokalizációja



2. ábra: Heterogén áttéttel rendelkező esetek

5. A távoli áttétek elemzéséhez 3 lépcsős, az áttétek lokalizációján alapuló csoportosítási rendszert hoztunk létre. Az első lépcsőben 5 nagyobb régiót vizsgáltunk; központi idegrendszer (KIR), mellkas, has+kismedence, csont és bőr. A második lepcső szervrendszerek alapján osztotta be az elváltozásokat, majd a harmadik lépésben az egyes szerveket külön vizsgáltuk.

- i. A primer tumorokat és a régiókat összehasonlítva azt találtuk, hogy az ER vesztes a has+kismedence régió áttéteiben volt a legjellemzőbb, míg a PR vesztes a has+kismedence mellett a mellkasi metastázisokban is szignifikánsan magasabb arányban fordult elő.
- ii. A szervrendszerek közül a gasztrointesztinális traktus áttéteiben jellemző volt az ER és PR vesztes is, míg a légzőrendszeri áttétekben csak PR vesztesét detektáltunk.
- iii. A szerveket külön vizsgálva megfigyeltük, hogy a HR vesztes a máj- és a tüdőáttétekben volt jellemző.

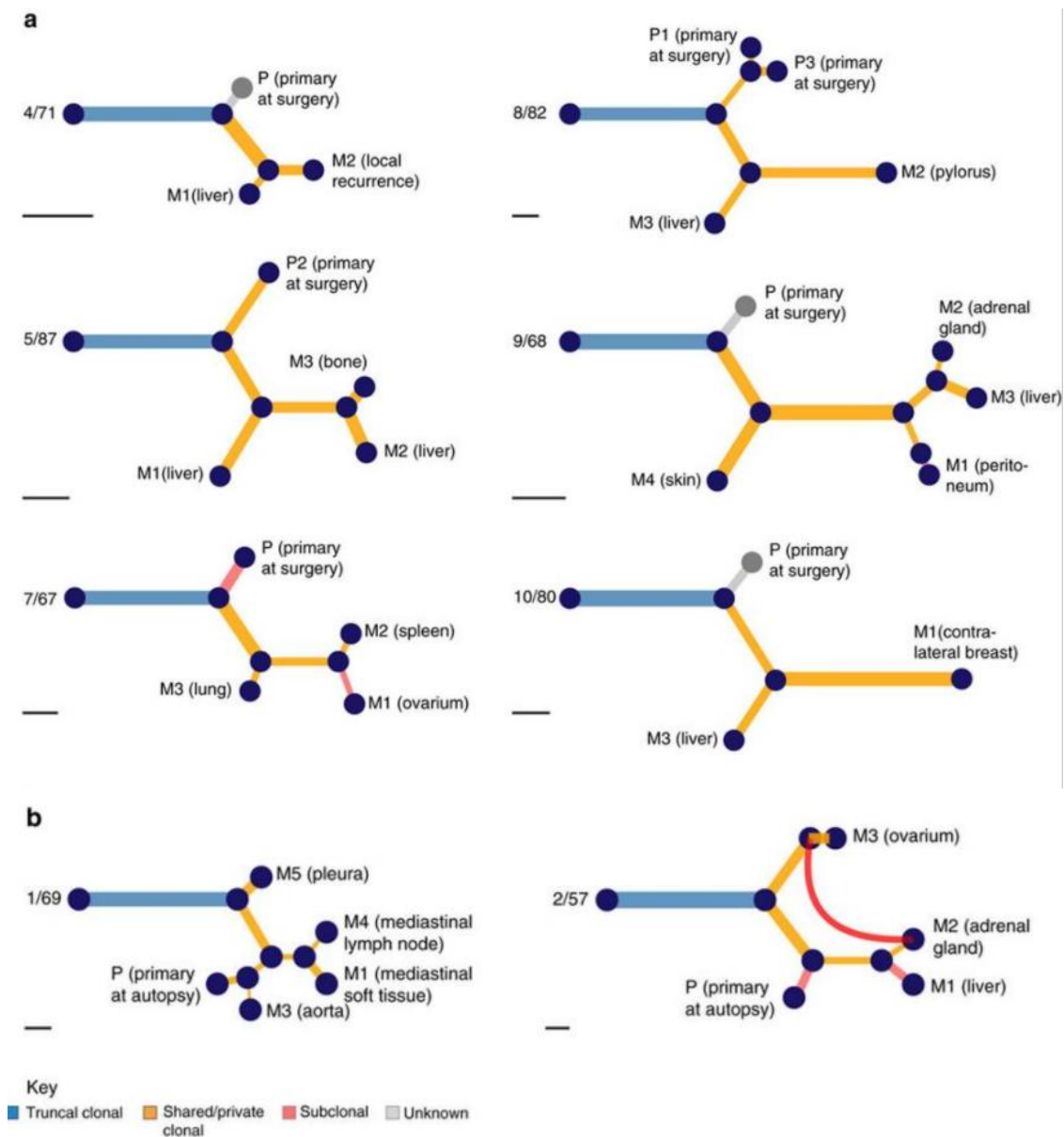
Statisztikailag szignifikáns változás a Ki67 státuszban kizárólag a csontáttétekben fordult elő, ahol is a Ki67 index alacsonyabb volt a primer tumorokban detektálthoz viszonyítva (1.táblázat).

1. táblázat: ER, PR és Ki67 státusz változása a primer tumorok vs régiók, szervrendszerek és szervek áttétei között

	ER	PR	Ki67
Régió	KIR p=0.268	KIR p=0.075	KIR p=0.631
Szervrendszer	Agy/hártya	Agy/hártya	Agy/hártya
Szerv	Agy	Agy	Agy
	Legzőrendszer p=0.304	Legzőrendszer p=0.05	Legzőrendszer p=0.372
	Tüdő p=0.227	Tüdő p=0.049	Tüdő p=0.251
	Mellhártya p=0.829	Mellhártya p=0.829	Mellhártya p=0.933
	Aorta/afal	Aorta/afal	Aorta/afal
	Nyelőcső	Nyelőcső	Nyelőcső
	Pajzsmirigy	Pajzsmirigy	Pajzsmirigy
	Lágyrész	Lágyrész	Lágyrész
	Távoli nyirokcsomó	Távoli nyirokcsomó	Távoli nyirokcsomó
M	Máj p=0.026	Máj p=0.004	Máj p=0.212
E	Emésztőrendszer p=0.026	Emésztőrendszer p=0.001	Emésztőrendszer p=0.213
R	Hasnyálmirigy	Hasnyálmirigy	Hasnyálmirigy
	Gyomor	Gyomor	Gyomor
	Petefészek	Petefészek	Petefészek
	Méh	Méh	Méh
	Hüvely	Hüvely	Hüvely
U	Nemiszervek p=0.123	Nemiszervek p=0.054	Nemiszervek p=0.295
H	Has+ kismencede	Has+ kismencede	Has+ kismencede
M	p=0.002	p=0.000	p=0.216
O	Parametrium	Parametrium	Parametrium
	Mellékvese	Mellékvese	Mellékvese
R	Vese	Vese	Vese
	Hügyhólyag	Hügyhólyag	Hügyhólyag
	Hashártya	Hashártya	Hashártya
	Távoli nyirokcsomó	Távoli nyirokcsomó	Távoli nyirokcsomó
	Lép	Lép	Lép
	Csont	Csont	Csont
	p=0.281	p=0.054	p=0.048
Bőr	Bőr	Bőr	Bőr

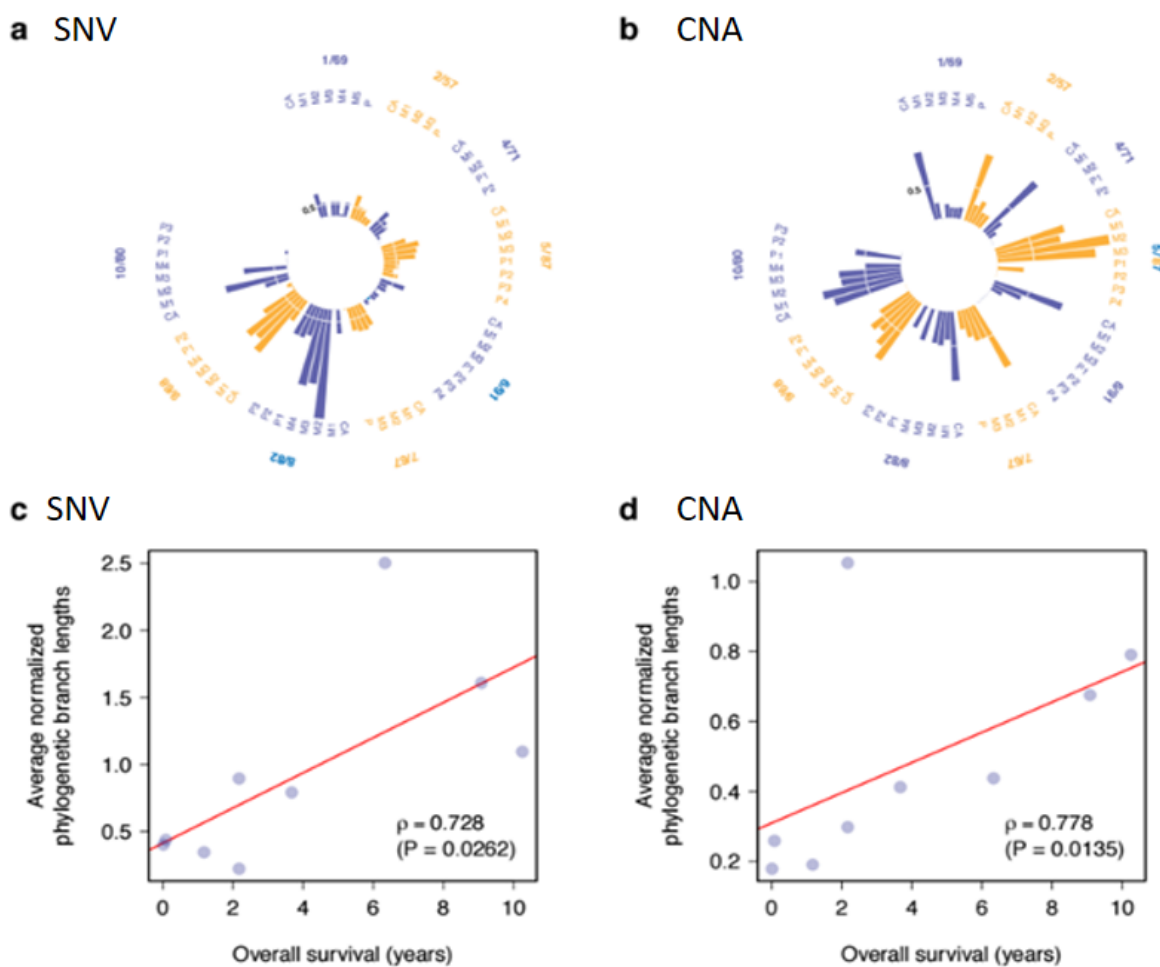
6. A korai stádiumban diagnosztizált emlőtumoros betegek (akik kuratív célú tumoreltávolításon estek át, majd bizonyos betegségmentes túlélést (DFS) követően

megjelentek a távoli áttétek) esetében eredményeink alapján a metasztatikus prekuzoron keresztül történő, kaszkadszerű disszemináció az áttétképzés fő útja. Ezzel ellentétben azon esetekben, melyek IV. stádiumban kerültek diagnosztizálásra és a primer tumor eltávolítása nem történt meg, a primer tumorból több, különböző szórási eseményt azonosítottunk, az egyes áttétek a filogenetikai fa különböző ágain helyezkedtek el. (3. ábra).



3. ábra: Korai (a) vs metasztatikus stádiumban (b) diagnosztizált betegek filogenetikai fái

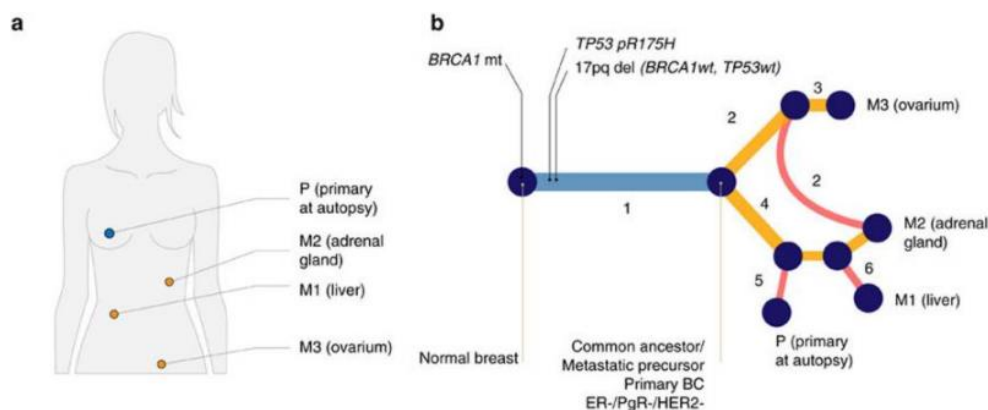
7. A normalizált filogenetikai távolság mutatja meg a genomikai eltérések mértékét, melyek az első metasztatikus eseményt követően alakultak ki, a progresszió módjától függetlenül. Amennyiben ez a távolság rövid, arra utal, hogy a genomikai eltérések többsége a betegség evolúciója szempontjából korán, a metasztázisok megjelenése előtt a filogenetikai fa törzsén alakult ki, eredményeink alapján ezen betegeknél rövidebb OS adódott. Mind az egyponos nukleotid variánsok (SNV), mind a kópiaszám eltérések (CNA) vizsgálatával ezt az összefüggést találtuk (4. ábra).



4. ábra: Genomikai változások dinamikája a metasztatikus progresszió során

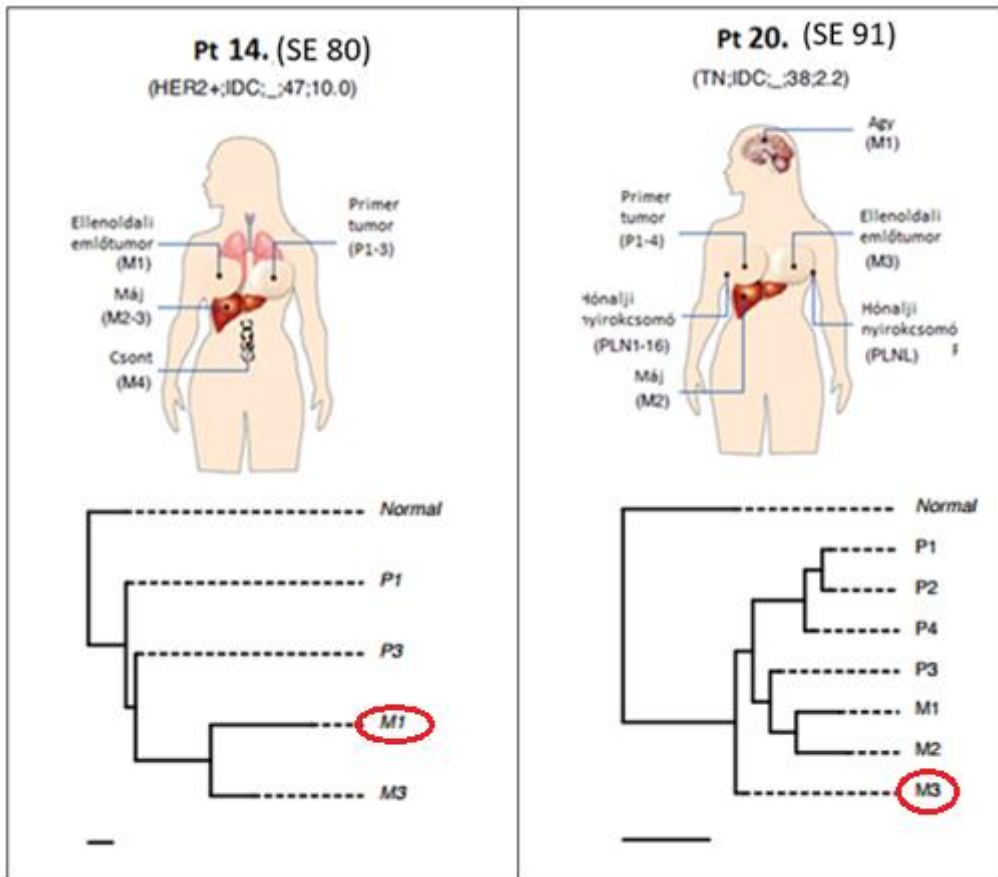
8. Az egyik, metasztatikus stádiumban diagnosztizált betegünkönél a primer tumor és a távoli áttétek vizsgálatakor két, egymástól teljesen független szórási eseményt találtunk a petefészekbe és a májba. Megállapítottuk, hogy a mellékvese áttét a májáttéttel közös

prekurzorból származott, azonban a mellékevese áttétben megtalálhatóak voltak olyan SNV-k, melyek a primer tumor – májjáttét ág késői eltérései voltak, valamint olyan SNV-eket is detekáltunk, melyek kizárólag a petefészek áttétre voltak jellemzőek. A “késői” SNV-k, melyek a petefészek áttéthez tartoztak szubklonális frekvenciában megtalálhatóak voltak a mellékevese áttétben. Eredményeink arra utalnak, hogy a keringő metasztatikus sejtek, melyek a petefészekáttétből indultak el, horizontálisan újra szórták a már áttétes mellékevese szövetet (5. ábra).



5. ábra: Metasztázisból metasztázisba szórás

9. Két betegünk esetében fordult elő metakron ellenoldali emlő tumor, mindkettőnél klonális kapcsolatot tudtunk kimutatni az eredeti primer tumor és az ellenoldali tumor között, amely arra utal, hogy a később kialakult ellenoldali emlőrák az első tumor áttétének felelt meg (6. ábra). Klinikai szempontból érdekes, hogy az egyik esetben egy TN primer daganat után a metakron ellenoldali elváltozás Luminalis B típusú volt, majd az összes vizsgált távoli áttét TN-nak bizonyult, azaz klinikailag minden okunk megvolt feltételezni, hogy egy második primer tumorról állunk szemben.



6. ábra: Metakron ellenoldali emlőtumорок mint metasztatikus depozitok

V. KÖVETKEZTETÉSEK

A primer tumorok és távoli áttétek vizsgálata kiemeleten fontos kérdés, különösen olyan daganatoknál, melyeknél a betegség lefolyása általában időben hosszú folyamat, így emlőrákok esetén is. Vizsgálatainkban egyedülálló módon egy betegből több távoli áttétből származó minta állt rendelkezésünkre, így betekintést nyerhettünk az emlőrák progressziójának mélyebb összefüggéseibe.

Eredményeink alapján a távoli áttétek jellemzően különböznek a primer emlőtumoroktól. Fehérje expresszió (immunhisztokémiai fenotípus) szintjén elsősorban a PR, ennél ritkábban az ER vesztés fordul elő. A közelmúlt eredményei alapján az ER+PR- státusz kedvezőtlenebb prognózisra utal, mint az ER és PR egyidejű pozitivitása, mivel előbbi esetekben rosszabb a terápia fontos részét képező ER antagonisták hatása. A TN tumorok agresszívabb viselkedése is jól ismert, ennek megfelelően a Luminalis A – Luminalis B - TN fenotípus váltás a progresszió logikus útja, mely akár egy adott betegségen belül is megjelenhet, mint ahogy ezt a heterogén áttétekkel bíró esetekben láttuk.

A HR vesztést a máj- és tüdő áttétekben detektáltunk szignifikáns mértékben, melyben fontos szerepet játszhat, hogy ezen lokalizációkban rendelkezünk a legnagyobb számú távoli áttéttel.

Annak a jelenségnek, hogy a HR+ elváltozások jellemzően több távoli szervbe adtak áttétet egyik lehetséges magyarázata, hogy a betegség lassabb lefolyású, terápiával jobban kordában tartható, így a daganatsejtek több távoli szervbe eljutnak. Ezzel szemben a TN betegségekre agresszív klinikai lefolyás és rövidebb DFS és OS jellemző, ezeknél a pácienseknél kevesebb távoli áttéttel érintett szervet találtunk.

A minták genetikai vizsgálata során az áttétképzés két fő útját azonosítottuk. Korai emlőrákok esetén, melyeknél a primer tumor eltávolításra került a távoli áttétek egy ún. “metasztatikus prekurzorból” származtak és kaszkádszerűen jöttek létre egymás után a további léziók. Ezzel szemben azon pácienseknél, akiknél IV. stádiumban diagnosztizálták a betegséget és a primer daganat nem került eltávolításra, a daganatsejtek több különböző szórási folyamat során távoztak az emlőből és hoztak létre távoli áttéteket. Ennek alapján definiálható egy olyan betegcsoport (jellemzően LuminalisA altípusú, kis tumortömeeggel, leginkább szoliter csontáttéttel bírók), akiknél előrehaladott stádiumban diagnosztizált betegség esetén is előnyt adhat a primer tumor eltávolítása.

Humán mintában először igazoltuk azt, hogy emlőrákban is előfordul az önszórás jelensége, melynek kiemelt szerepe van a betegség progressziójában, heterogenitásának fokozásában, emellett új terápiás célpontok megtalálásához is hozzájárulhat.

A filogenetikai fák vizsgálata alapján azon betegek esetében, akiknél hosszabb DFS után alakult ki metasztatikus betegség, a vizsgált áttétek genetikailag jobban különböztek a kiindulási szövettől, az eltelt hosszabb idő alatt több mutációt halmoztak fel.

A fentiek közvetlen hatással vannak a napi klinikai gyakorlatra, amennyiben:

- i. ajánlott a távoli áttétekből szövetminta vétele (a metasztatikus betegség diagnózisakor, illetve annak során hosszabb progressziómentes időszakokat követően),
- ii. lényeges a metakron kontralaterális emlőtumorok genetikai vizsgálata,
- iii. jól definiált betegcsoportban kedvező lehet az előrehaladott stádiumban diagnosztizált betegek esetében is a primer tumor sebészi eltávolítása.

VI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A DISSZERTÁCIÓHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. **Szekely B**, Nagy Z I, Farago Z, Kiss O, Lotz G, Kovacs A, Udvarhelyi N, Dank M, Szentmartoni Gy, Baranyai Z, Tokes AM, Szasz AM, Kulka J (2017). Comparison of immunophenotypes of primary breast carcinomas and corresponding multiple distant metastases – an autopsy study of 25 patients.
Clin Exp Metastasis, 34:103-113 (IF:3.144)
2. Brown D*, Smeets D*, **Szekely B***, Larsimont D, Szász AM, Adnet PY, Rothe F, Rouas G, Nagy ZI, Farago Z, Tokes AM, Dank M, Szentmartoni G, Udvarhelyi N, Zoppoli G, Pusztai L, Piccart M, Kulka J, Lambrechts D, Sotiriou C, Desmedt C (2017). Phylogenetic analysis of metastatic progression in breast cancer using somatic mutations and copy number aberrations.
Nat Commun, 8:14944 (IF:12.124)

A DISSZERTÁCIÓHOZ NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Kulka J, Tokes AM, Toth AI, Szasz AM, Farkas A, Borka K, Jaray B, Szekely E, Harsanyi L, Rusz Z, Laszlo Zs, Istok R, Lotz G, Madaras L, Korompay A, Harsanyi L, Laszlo Z, Rusz Z, Molnar BA, Molnar IA, Kenessey I, Szentmartoni G, **Szekely B**, Dank M (2009). Immunohistochemical phenotype of breast carcinomas predicts the effectiveness of primary systemic therapy. Magy Onkol, 53:335–343.
2. **Szekely B**, Madaras L, Szentmartoni G, Szasz AM, Baranyak Z, Szittya L, Torgyik L, Zergenyi E, Borbenyi E, Kenessey I, Korompay A, Langmar Z, Banhidy F, Kulka J, Dank M (2010). Comparison of breast cancer in young and old women based on clinicopathological features. Magy Onkol, 54:19-26.
3. Dank M, Szentmartoni Gy, **Szekely B**, Langmar Z (2010). Pain management in cancer patients. Hippocrates, RGD:73088/HU/2010.07.12.
4. **Szekely B**, Langmar Z, Somlai K, Szentmartoni Gy, Szalay K, Korompay A, Szasz AM, Kulka J, Banhidy F, Dank M (2010). Treatment of pregnancy associated breast cancer. Orv Hetil, 151:1299-303.
5. Szasz AM, Szendroi A, Szucs M, Idan R, Tokes AM, Kardos M, **Szekely B**, Szabo Gy, Kulka J, Szendroi M, Romics I, Timar J (2010). Role of hypoxia on gene

- expression and their prognostic power in renal cell carcinoma. *Uroonkológia*, 7:74-81.
6. **Szekely B**, Pusztai L (2011). The value of genomic analysis of breast cancer in drug development. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 43:1–3.
 7. **Szekely B**, Szentmartoni G, Kulka J, Szasz AM, Langmar Z, Dank M (2011). Primary systemic therapy in breast cancer--an update for gynecologic oncologists. *Eur J Gynaecol Oncol*, 32:636-41. **(IF: 0.474)**
 8. Stoddard FR II, Szasz AM, **Szekely B**, Tokes AM, Kulka J (2011). Molecular genetic tests in the prediction of the prognosis of breast cancer. *MEMO*, 4:158-162.
 9. Madaras L, Szasz AM, Baranyak Zs, Tokes AM, Szittyá L, Lotz G, **Szekely B**, Szentmartoni Gy, Dank M, Baranyai Zs, Kulka J (2012). Morphological and immunophenotypical heterogeneity in breast cancers of young and elderly women. *Magy Onkol*, 56:75-8.
 10. Tokes T, Somlai K, **Szekely B**, Kulka J, Szentmartoni G, Torgyik L, Galgoczy H, Lengyel Z, Györke T, Dank M (2012). The role of FDG-PET-CT in the evaluation of primary systemic therapy in breast cancer: links between metabolic and pathological remission. *Orv Hetil*, 153:1958-64.
 11. Szasz AM, Li Q, Eklund AC, Sztupinszki Z, Rowan A, Tokes AM, **Szekely B**, Kiss A, Szendroi M, Györffy B, Szallasi Z, Swanton C, Kulka J (2013). The CIN4 chromosomal instability qPCR classifier defines tumor aneuploidy and stratifies outcome in grade 2 breast cancer. *PLoS ONE*, 8:e56707. **(IF=3.534)**
 12. Szasz AM, Acs B, Agoston E, Sztupinszki Z, Tokes AM, Szittyá L, **Szekely B**, Szendroi M, Li Q, Harsanyi L, Timar J, Szallasi Z, Swanton C, Györffy B, Kulka J (2013). Simplified, low-cost gene expression profiling for the prediction of outcome in breast cancer based on routine histologic specimens. *Orv Hetil*, 154:627-32.
 13. **Szekely B**, Iwamoto T, Szasz AM, Qi Y, Szallasi Z, Matsuoka J, Symmans WF, Tokes AM, Kulka J, Swanton C, Pusztai L (2013). 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*, 138:691-8. **(IF=4.198)**
 14. Madaras L, Baranyák Z, Kulka J, Szasz AM, Kovacs KA, Phan Huong Van, **Szekely B**, Dank M, Nagy T, Kiss O, Harsanyi L, Barbay T, Kenessey I, Tokes AM (2013). Retrospective analysis of clinicopathological characteristics and family history data

- of early-onset breast cancer: a single-institutional study of Hungarian patients. *Pathol Oncol Res*, 19:723-9. **(IF=1.806)**
15. Madaras L, Kovacs KA, Szasz AM, Kenessey I, Tokes AM, **Szekely B**, Baranyak Z, Kiss O, Dank M, Kulka J (2013). Clinicopathological features and prognosis of pregnancy associated breast cancer - a matched case control study. *Pathol Oncol Res*, 20:581-90. **(IF=1.855)**
16. Selmecei T, Tokes AM, Rona A, Molnar BA, Kenessey I, **Szekely B**, Madaras L, Szasz AM, Kulka J (2015). Prognostic impact of progesterone receptor expression in HER2-negative luminal-B breast cancer. *J Surg Mol Path*, 1:41-49.
17. Kiss O, Tokes AM, Spisak S, Szilagyi A, Lippai N, **Szekely B**, Szasz AM, Kulka J (2015). Breast- and salivary gland-derived adenoid cystic carcinomas: potential post-transcriptional divergencies. A pilot study based on miRNA expression profiling of four cases and review of the potential relevance of the findings. *Pathol Oncol Res*, 21:29-44. **(IF: 1.94)**
18. Selmecei T, Tokes AM, Rona A, Molnár BA, Kenessey I, **Szekely B**, Szasz AM, Kulka J (2014). A progesteronreceptor kifejeződésének kórjóslati értéke a HER2-negatív Luminalis -B altípusú emlődaganatokban. *Nőgyógy Onk*, 19:45-49.
19. Kulka J, Tokes AM, Madaras L, Kovacs A, Acs B, Illyes I, Kiss O, **Szekely B**, Lotz G, Szasz MA (2015). Clinico-pathologically focused breast cancer research. *Magy Onkol*, 59:286-91.
20. Pusztai L, Ladanyi A, **Szekely B**, Dank M (2016). Immunotherapy opportunities in breast cancer. *Magy Onkol*, 60:34-40.
21. Kulka J, **Szekely B**, Lukacs L, Madaras L, Tokes AM, Lotz G, Kas J, Harsanyi L, Baranyai Z, Fillinger J, Soltesz I, Hanzely Z, Balint K, Arato G, Szendroi M, Szasz AM (2016). Comparison of predictive immunohistochemical marker expression of primary breast cancer and paired distant metastasis using surgical material: a practice-based study. *J Histochem Cytochem*, 64:256-67. **(IF:2.511)**
22. Santarpia L, Bottai G, Kelly CM, Gyorffy B, **Szekely B**, Pusztai L (2016). Deciphering and targeting oncogenic mutations and pathways in breast cancer. *Oncologist*, 21:1063-78.

23. Bottai G, Raschioni C, **Szekely B**, Di Tommaso L, Szasz A, 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 JS, Santarpia L (2016). AXL associated tumor inflammation as a poor prognostic signature in chemotherapy-treated triple-negative breast cancer patients. *NPJ Breast Cancer*, 2:16033.
24. Molnar IA, Molnar BA, Vizkeleti L, Fekete K, Tamas J, Deak P, Szundi C, **Szekely B**, Moldvay J, Vari-Kakas S, Szasz MA, Acs B, Kulka J, Tokas AM (2017). Breast carcinoma subtypes show different patterns of metastatic behavior. *Virchows Arch*, 470:275-83. **(IF:2.848)**
25. **Szekely B**, Silber AL, Pusztai L (2017). New therapeutic strategies for triple-negative breast cancer. *Oncology (Williston Park NY)*, 31:221108.
26. Wei W, Kurita T, Hess KR, Sanft T, **Szekely B**, Hatzis C, Pusztai L (2018). Comparison of residual risk-based eligibility vs tumor size and nodal status for power estimates in adjuvant trials of breast cancer therapies. *JAMA Oncol*, 25:175092. **(IF:16.559)**
27. Pelekanou V, Barlow WE, Nahleh Z, Wasserman B, Lo YC, von Wahlde MK, Hayes DF, Hortobagyi GN, Gralow JR, Tripathy D, Porter P, **Szekely B**, Hatzis C, Rimm DL, Pusztai L (2018). Tumor infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in pre- and post-treatment breast cancers in the SWOG S0800 Phase II neoadjuvant chemotherapy trial. *Mol Cancer Ther*, 17:1324-1331. **(IF:5.764)**

Összesített IF: 56,757